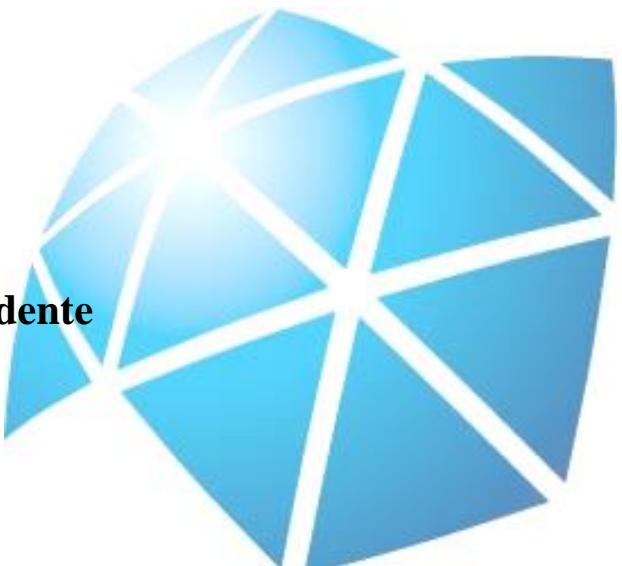

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA MOTRICIDADE
INTERUNIDADES**

TESE DE DOUTORADO

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNOMETABÓLICA EM
MONÓCITOS DE INDIVÍDUOS OBESOS: PAPEL DO PPAR- γ E DA
INTENSIDADE DO EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBIO**

JOSE GEROSA-NETO

**Presidente Prudente
2018**



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA MOTRICIDADE
INTERUNIDADES**

TESE DE DOUTORADO

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNOMETABÓLICA EM
MONÓCITOS DE INDIVÍDUOS OBESOS: PAPEL DO PPAR- γ E DA
INTENSIDADE DO EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBIO**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências e Tecnologia - FCT/UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de doutor em Ciências da Motricidade Humana.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Santos de Lira

Presidente Prudente

2018

Gerosa-Neto, Jose

G377a

Avaliação da resposta imunometabólica em monócitos de indivíduos obesos: papel do PPAR-γ e da intensidade do exercício físico aeróbio / Jose Gerosa-Neto. -- Presidente Prudente, 2018

63 f. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências e Tecnologia, Presidente Prudente

Orientador: Fábio Santos de Lira

1. Treinamento Intermítente de Alta Intensidade. 2. Obesidade. 3.
Doenças Metabólicas. 4. Imunometabolismo. 5. Aptidão Aeróbia. I.
Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências e Tecnologia, Presidente Prudente. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Avaliação da resposta imunometabólica em monócitos de indivíduos obesos: papel do PPAR- γ e da intensidade do exercício físico aeróbio

AUTOR: JOSÉ GEROSA NETO

ORIENTADOR: FABIO SANTOS DE LIRA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em CIÊNCIAS DA MOTRICIDADE , especialidade: BIODINAMICA DA MOTRICIDADE HUMANA pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. FABIO SANTOS DE LIRA

Departamento de Educação Física / Faculdade de Ciências e Tecnologia de Presidente Prudente - SP

Prof. Dr. DIEGO GIULIANO DESTRO CHRISTOFARO

Departamento de Educação Física / Faculdade de Ciências e Tecnologia de Presidente Prudente - SP

Profa. Dra. PATRÍCIA CHIMIN PERANDINI

Departamento de Fundamentos da Educação Física / Universidade Estadual de Londrina

Profa. Dra. ALESSANDRA PERES

Departamento de Ciências Básicas da Saúde / Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

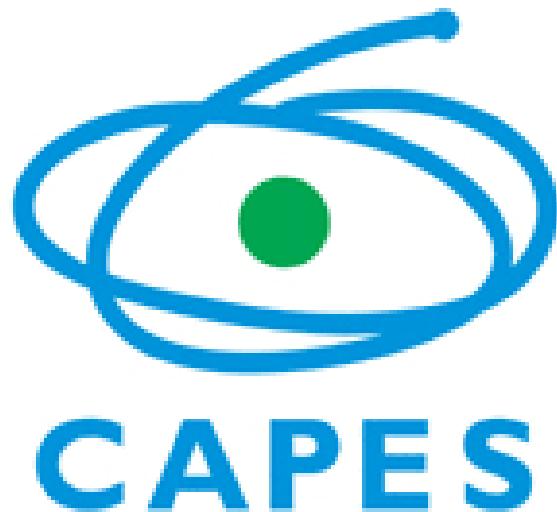
Prof. Dr. ROMULO ARAÚJO FERNANDES

Departamento de Educação Física / Faculdade de Ciências e Tecnologia de Presidente Prudente - SP

Presidente Prudente, 03 de outubro de 2018

O presente projeto de pesquisa teve apoio da:

**Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal
de Nível Superior - Brasil (CAPES)**



Código de Financiamento 001 (Bolsa de Doutorado no País)

Dedico esse trabalho a minha querida e amada mãe. A quem tudo isso seria um orgulho, mas que também não faria diferença alguma, pois seu amor, olhar e tratamento sempre estiveram acima de qualquer coisa material.

AGRADECIMENTOS

Desde o início da minha caminhada na pós-graduação são inúmeras pessoas que devo agradecer. Antes mesmo do ponto de partida, agradeço a Deus por permitir e ajudar em todos os momentos. Agradeço a minha mãe e meu pai pelo apoio incondicional em todas as áreas da minha vida. Sem qualquer exagero, afirmo que isso só foi possível com ajuda deles. A minha esposa Daniela e filha Julian que com suas posturas me dão sustentação e força.

Agradeço ao professor Marcelo Papoti que abriu as portas do grupo de estudos e do LAFE para mim. Sua seriedade e paixão pela profissão, paciência e humildade no trato com as pessoas foram determinantes para as escolhas que fiz naquele momento. Em conjunto, agradeço o professor Pedro Balikian Júnior, rica fonte de conhecimento que nos instigava a cada conversa. Ao professor Ismael F. Freitas Junior que abriu as portas, sem restrições, de seu laboratório CELAPAM para o início e desenvolvimento do meu mestrado.

Agradeço meus companheiros de laboratório que se tornaram minha segunda família. No antigo LAFE e também na Sala 01 aprendi muito com Vitão, Dú Campos, BeiSSo, Paulinho, Rafa, Dú Sangali, Ronaldão, Camilinha e tantos outros q não caberiam aqui. Agradeço ao “Fião” Fabrício Rossi e Tiego Diniz e com eles todos os integrantes do CELAPAM. As amigas Paulinha, Bá e Dani, pela paciência e companheirismo sem os quais esse projeto não se realizaria. A todos os amigos e integrantes do LaFiCE que cresce e se solidifica a cada dia.

Em especial agradeço ao meu orientador professor Fábio Santos Lira pela oportunidade de cursar o doutorado e pela imensa paciência e amizade ao longo de todo esse processo.

Agradeço ao PPG em Ciências da Motricidade e a CAPES pelo apoio financeiro concedido.

Muito obrigado a todos.

RESUMO

Estudos anteriores evidenciaram associações da obesidade e o desenvolvimento de dislipidemia e inflamação crônica de baixo grau. Dessa forma, é possível que alterações imunometabólicas, sistêmicas e teciduais, coordenadas por fatores de transcrição gênica, favoreçam a instalação e progressão de diversas doenças e que o nível de condicionamento físico esteja diretamente envolvido nessas alterações. Diante desses fatos, o objetivo do presente projeto foi examinar a resposta imunometabólica de indivíduos obesos frente a dois programas de exercícios físicos em esteira rolante e a possível participação do fator de transcrição gênica PPAR- γ em monócitos. Homens obesos e inativos ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$, entre 18 e 35 anos) foram recrutados e randomizados em dois grupos: Treinamento intermitente de alta intensidade (HIIT) (10 x 1:1' a 100% - $VO_2\text{max}$) ou Treinamento contínuo moderado (MICT) (65% - $VO_2\text{max}$). O treinamento foi realizado três vezes por semana, durante seis semanas e o gasto energético das sessões foi equalizado. Os valores de $VO_2\text{max}$ e velocidade máxima foram obtidos em teste incremental máximo em esteira rolante. Os parâmetros de composição corporal foram avaliados por bioimpedância e ultrassonografia, as concentrações sanguíneas de IL-6, IL-10, TNF- α , insulina, cortisol, leptina e PAI-1 por ELISA, e perfil lipídico e glicose por ensaio enzimático colorimétrico. As coletas de sangue foram realizadas Pré e Pós seis semanas de treinamento em cinco situações: 1) *Jejum* e 2) *Pré-Sessão*; 3) *Pós-Sessão*; 4) *30min* e 5) *60min* após uma sessão de treinamento. Para cultura de células, amostras foram coletadas nos momentos Pré e Pós e a expressão dos genes IKK, TLR-4, PPAR- γ , PGC-1 α e CD36 realizada por RT-PCR. Após seis semanas de treinamento, aumentos significativos ocorreram no $VO_2\text{max}$, Velocidade Máxima e Massa Livre de Gordura (%). A Gordura Subcutânea, Pressão Arterial Sistólica e Diastólica foram reduzidas. No *Jejum* não houve alterações nas concentrações sanguíneas das citocinas. Nas situações de exercício a IL-6 permaneceu elevada até 60 min após a sessão e a IL-10 apresentou menores concentrações em relação a sessão *Pré* treinamento. Apesar dos resultados positivos encontrados, uma intervenção com maior duração parece mais indicada para adaptações significativas na composição corporal e nos parâmetros sanguíneos avaliados. Os resultados indicaram que a via do fator de transcrição PPAR- γ , em monócitos, não gerou alterações significativas nos mecanismos estudados. Dessa forma, para melhor entender as implicações dos dois modelos de treinamento propostos, novos estudos devem respeitar a equiparação do gasto energético das sessões e ampliar o período de intervenção e avaliar a via do PPAR- γ em outras células do sistema imunológico.

Palavras chaves: Treinamento intermitente de alta intensidade, metabolismo, inflamação crônica, fatores transpcionais.

ABSTRACT

Previous studies have demonstrated associations of obesity and the development of dyslipidemia and low-grade inflammation. Thus, it is possible that immunometabolic, systemic and tissue changes, coordinated by gene transcription factors, favor the establishment and progression of several diseases and that the level of physical activity is directly involved in these alterations. Thus, the aim of this project was to evaluate the immunometabolic response of obese individuals front of two programs of exercise on a treadmill and the possible participation of the gene transcription factor PPAR- γ in monocytes. Obese and inactive men ($BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$, 18-35 years old) were recruited and randomized into two groups: High-intensity Intermittent Training (HIIT) ($10 \times 1:1' \text{ to } 100\% - VO_2\text{max}$) or Moderate Continuous Training (MICT) ($65\% - VO_2\text{max}$). The training was performed three times a week for six weeks and the energy expenditure of the sessions was equalized. The values of $VO_2\text{max}$ and maximum velocity were obtained in maximum incremental test in treadmill. The body composition parameters were evaluated by bioimpedance and ultrasonography, blood concentrations of IL-6, IL-10, TNF- α , insulin, cortisol, leptin and PAI-1 by ELISA, and lipid profile and glucose by enzymatic colorimetric assay. The blood collections were performed Pre and Post six weeks of training in five moments: 1) *Fasting* and 2) *Pre-Session*; 3) *Post-Session*; 4) *30min* and 5) *60min* after a training session. For cell culture, samples were collected at Pre and Post and expression of genes IKK, TLR-4, PPAR- γ , PGC-1 α and CD36 performed by RT-PCR. After six weeks of training, significant increases occurred in $VO_2\text{max}$, Maximum Velocity and Fat Free Mass (%). Subcutaneous fat, Systolic and Diastolic Blood Pressure were reduced. In fasting there were no changes in blood concentrations of cytokines. In exercise sessions IL-6 remained elevated up to 60min after the session and IL-10 presented lower concentrations in relation to the Pre-training session. Despite the positive results found, an intervention with longer duration seems more appropriate for significant adaptations in body composition and blood parameters evaluated. The results indicated that the PPAR- γ transcription factor pathway, in monocytes, did not generate significant changes in the mechanisms studied. Thus, in order to better understand the implications of the two training models proposed, new studies should respect the equalization of the energy expenditure of the sessions and extend the intervention period and evaluate the PPAR- γ pathway in other cells of the immune system.

Key words: High-Intensity Intermittent Training, metabolism, chronic inflammation, transcriptional factors.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Produção e liberação de citocinas na obesidade e no exercício físico.....	2
Figura 2. Mecanismo pelo qual o exercício físico e PPAR-γ promovem o transporte reverso de colesterol.....	5
Figura 3. Ativação do fator de transcrição gênica NF-κB e aumento de estímulos pró-inflamatórios.....	8
Figura 4. Consumo de oxigênio nas intensidades submáximas e equação da regressão linear utilizada para estimativa do VO ₂ condizente com a velocidade máxima atingida no teste incremental.	16
Figura 5. Representação do consumo de oxigênio durante um período de esforço e recuperação do protocolo de HIIT. Componentes levados em consideração para o cálculo do gasto energético da sessão.....	17
Figura 6. Representação do consumo de oxigênio durante uma sessão do protocolo de MICT. Componentes levados em consideração para o cálculo do gasto energético da sessão.....	17
Figura 7. Representação gráfica da “Sessão Teste” que ocorreu antes do primeiro dia de treinamento (<i>Pré</i>) e na última sessão (<i>Pós</i>).....	19
Figura 8. Representação da placa usada para cultura de monócitos e as diferentes substâncias para o tratamento.....	21
Figura 9. Comportamento do consumo máximo de oxigênio (VO _{2max}) de cada participante nos momentos <i>Pré</i> , <i>Sem 3</i> e <i>Pós</i> seis semanas de treinamento.....	24
Figura 10. Valores de média e desvio padrão do consumo máximo de oxigênio (VO _{2max}) de nos grupos HIIT e MICT nos momentos <i>Pré</i> , <i>Sem 3</i> e <i>Pós</i> seis semanas de treinamento.....	25
Figura 11. Valores de média, desvio padrão e diferença percentual (Δ) do consumo máximo de oxigênio (VO _{2max}) nos grupos HIIT e MICT nos momentos <i>Pré</i> , <i>Sem 3</i> e <i>Pós</i> seis semanas	25
Figura 12. Valores de velocidade máxima atingida (Vmax) no teste incremental nos momentos <i>Pré</i> , <i>Sem 3</i> e <i>Pós</i> seis semanas de treinamento.....	27
Figura 13. Representação gráfica em barras da média e desvio padrão do volume da sessão (A), velocidade da sessão (B) nos momentos <i>Pré</i> e <i>Pós</i> seis semanas de treinamento. C: distância total percorrida ao final de seis semanas de treinamento.....	28
Figura 14. Valores de pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD) expressos em média e desvio padrão nos momentos <i>Pré</i> , <i>Pós</i> e da diferença entre eles (Δ).....	29
Figura 15. Valores de média e desvio padrão e média da diferença percentual das variáveis lipídicas na <i>Sessão-Teste</i> nos momentos <i>Pré</i> e <i>Pós</i> treinamento.....	30
Figura 16. Correlações das concentrações de leptina com a massa gorda absoluta (MG) e gordura subcutânea (GS). Valores <i>Pré</i> e <i>Pós</i> dos dois grupos.....	33
Figura 17. Correlações das concentrações sanguíneas de leptina com o percentual de massa livre de gordura (%MLG) e de massa gorda (%MG). Valores <i>Pré</i> e <i>Pós</i> dos dois grupos.....	34

Figura 18. Comportamento das concentrações sanguíneas de interleucina 6 (IL-6) durante a <i>Sessão-Teste</i> antes e após seis semanas de treinamento. a: diferente do <i>Pré-Exerc</i> (<i>Pré</i>); b: diferente do <i>Pré-Exerc</i> (<i>Pós</i>); c: diferente do <i>Pós-Exerc</i> (<i>Pós</i>).....	34
Figura 19. Comportamento das concentrações sanguíneas de interleucina 10 (IL-1-0) durante a <i>Sessão-Teste</i> separados por grupo. Cada barra representa os valores de média e desvio padrão (<i>Pré</i> e <i>Pós</i> juntos) de cada momento nos grupos HIIT e MICT.....	35
Figura 20. Comportamento das concentrações sanguíneas do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) durante a <i>Sessão-Teste</i> antes e após seis semanas de treinamento.....	35
Figura 21. Interleucina 10 (IL-10) - <i>Sessão-Teste</i> . Alterações percentuais em relação ao momento Pré-Exercício. Sangue total periférico estimulado com LPS.....	36
Figura 22. TNF- α - <i>Sessão-Teste</i> . Alterações percentuais em relação ao momento Pré-Exercício. Sangue total periférico estimulado com LPS.....	37
Figura 23. Concentrações das citocinas IL-6, IL-10 e TNF- α no meio de cultura de monócitos incubados por 24 horas com LPS. Valores expressos em percentual de alteração ($\Delta\%$) relativo ao poço Controle, que não recebeu estímulos para incubação.....	38
Figura 24. Percentual de alteração ($\Delta\%$) nas concentrações das citocinas IL-6, IL-10 e TNF- α no meio de cultura de monócitos incubados por 24 horas com LPS somado a rosiglitazona ou somado ao GW9662. Valores relativizados pelo poço estimulado apenas com LPS. Momento <i>Pré</i> e <i>Pós</i> seis semanas de treinamento.....	39
Figura 25. Expressão gênica do PPAR- γ em monócitos cultivados por 24h na presença ou ausência (Controle) de LPS. Valores expressos em com média e desvio padrão das alterações em “número de vezes” comparadas ao gene GAPDH usado como referência.....	40
Figura 26. Expressão gênica do PGC-1, IKK, TLR-4 e CD36 em monócitos cultivados por 24h na presença ou ausência (Controle) de LPS. Valores expressos em com média e desvio padrão das alterações em “número de vezes” comparadas ao gene GAPDH usado como referência.....	41
Figura 27. PBMCs marcadas com anticorpos CD14 e CD16. Média e desvio padrão das subpopulações de monócitos, classificadas de acordo com a magnitude da expressão das proteínas de membrana celular CD14 e CD16.....	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características dos participantes, antes do início do período de treinamento. Valores expostos com média e desvio padrão.....	13
Tabela 2. Sequência dos primers utilizados na análise do PCR-tempo real.....	22
Tabela 3. Valores das variáveis fisiológicas e de desempenho, antes e após seis semanas de treinamento. Resultados expostos com média e desvio padrão.....	26
Tabela 4. Valores das variáveis de composição corporal, pressão arterial e taxa metabólica de repouso, antes e após seis semanas de treinamento. Resultados expostos com média e desvio padrão.....	31
Tabela 5. Valores das concentrações de glicose e variáveis lipídicas, antes e após seis semanas de treinamento HIIT ou MICT. Resultados expostos com média e desvio padrão....	32
Tabela 6. Valores das concentrações de hormônios e citocinas do sangue periférico, antes e após seis semanas de treinamento. Resultados expostos com média e desvio padrão.....	33

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
Exercício físico e metabolismo lipídico	11
Dislipidemia e Resposta Inflamatória.....	15
Papel do PPAR sobre o metabolismo de lipídeos e via inflamatória	16
Justificativa	19
Objetivo Geral	20
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
Recrutamento dos participantes	22
Participantes	22
Protocolos de treinamento	28
Coletas e análises sanguíneas.....	28
Estimulação do Sangue Periférico com PBS ou LPS	29
Procedimentos para cultura de células.....	30
Isolamento dos monócitos	30
Tratamento dos monócitos	31
Citometria de fluxo.....	32
Análise Estatística	33
4. RESULTADOS	34
Consumo Máximo de Oxigênio e características das sessões de treinamento.....	34
Composição Corporal, Pressão Arterial e Taxa Metabólica de Repouso	38
Perfil Lipídico e Glicose sanguínea	38
Citocinas e Hormônios sanguíneos	41
Dosagens de citocinas – <i>Sangue total estimulado com LPS</i>	46
Cultura de Células.....	47
Dosagens de citocinas no sobrenadante.....	47
Expressão Gênica	49
Citometria de Fluxo.....	51
5. DISCUSSÃO	52
6. CONCLUSÃO	57
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
8. ANEXOS	64

1. INTRODUÇÃO

A inatividade física já é considerada um dos maiores problemas de saúde pública no mundo, devido a sua importância como fator de risco para muitas doenças e pela associação com um grande número de mortes (BLAIR et al., 2009; LEE et al., 2012). Monteiro et al. (2003) analisando 11.033 adultos brasileiros de ambos os sexos, observaram sedentarismo em 87,0% dos participantes e um estudo de Colley et al. (2011) utilizando acelerômetros estimou que aproximadamente 85% dos canadenses não realizam o mínimo de atividades físicas recomendadas. Esses hábitos e condições de saúde facilitam o aumento da massa corporal e acúmulo de gordura que podem, muitas vezes, gerar alterações nas concentrações e perfil de marcadores inflamatórios plasmáticos e/ou teciduais (BOOTH, 2012; OSBORN, 2012). O aumento de mediadores pró-inflamatórios, mesmo em repouso, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1 (PAI-1), proteína C-reativa (PCR), interleucina 6 (IL-6) e a redução de citocinas anti-inflamatórias, como interleucina 10 (IL-10) e adiponectina (HOTAMISLIGIL 1993; SHIMOMURA, 1996; LIRA, 2010) são alguns indicadores de que a inflamação sistêmica participa do complexo processo regulatório fisiopatológico de doenças cardiometabólicas (HOTAMISLIGIL, 2006; KING, 2008; ADES, 2009; LIBBY, 2013).

Em contrapartida ao sedentarismo, a participação em programas de exercícios físicos está relacionado ao aumento da qualidade e expectativa de vida (BLAIR, 2009; LEE, 2012). Os efeitos antiaterogênicos e anti-inflamatórios promovidos pelas sessões de treinamento (Figura 1) (PETERSEN & PEDERSEN 2005; LIRA, 2010a; LIRA, 2010b; NETO, 2011; LIRA, 2012; LANCASTER, 2014), bem como o controle das alterações da gordura corporal, atuam na prevenção e no tratamento de muitos distúrbios metabólicos e cardiovasculares (LEE, 2012; KROGH-MADSEN, 2012; LANCASTER, 2014). No entanto, devido à grande diversidade de modalidades possíveis para prática de exercícios físicos, a compreensão da

influência de cada variável nos desfechos para saúde, se torna complexa. A intensidade e o volume são pontos fundamentais no direcionamento e magnitude dos ajustes e adaptações provocados no decorrer do treinamento.

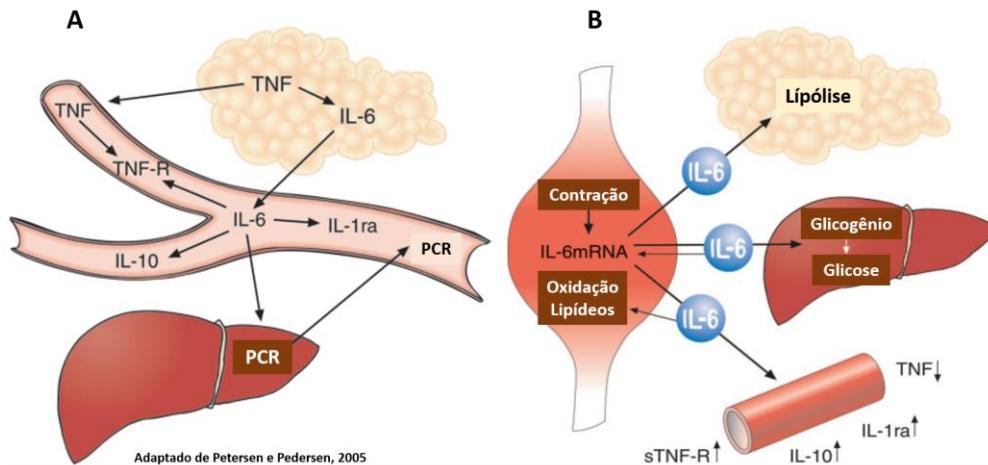


Figura 1. O crescente acúmulo de gordura no tecido adiposo, promove a liberação de citocinas que podem estimular a inflamação local e em outros tecidos quando atingem a corrente sanguínea periférica (A). A prática de exercícios físicos por meio da contração muscular e maior utilização dos estoques de energia diminui a produção de citocinas pró-inflamatórias e aumenta as anti-inflamatórias (B). IL-1ra (antagonista do receptor de interleucina 1); TNF-R (receptor de TNF- α); sTNFR (receptor solúvel de TNF- α).

Exercício físico e metabolismo lipídico

A prática regular de exercícios físicos pode promover efeitos benéficos no perfil lipídico (LIRA, 2012) e dessa forma, tem sido considerada uma das melhores estratégias não farmacológicas na prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares (EPSTEIN, 1995; KNOWLER, 2002; HANDSCHIN, 2008; NETO, 2011).

Estudos abordando os efeitos do exercício físico aeróbio de intensidade baixa a moderada (aproximadamente 50-75% VO_{2max}) estão bem documentados e sugerem que exista um limiar de intensidade para que essas alterações benéficas possam ocorrer. O treinamento realizado em cicloergômetro a 75% da frequência cardíaca máxima (FC_{max}) por 12 semanas foi capaz de modificar o perfil lipídico, levando ao aumento significativo nas concentrações de lipoproteína de alta densidade (HDL do inglês *high density lipoprotein*).

Entretanto, intensidades menores que 65% FC_{max} não surtiram efeito sobre as frações lipídicas de colesterol (STEIN, 1990). Além disso, Ferguson et al. (1998) relataram que, após sessão de exercícios aeróbios (60% VO_{2max}), apenas os indivíduos submetidos à sessões com alto gasto energético ($> 1,100 - 1,500$ kcal) apresentaram redução de triacilglicerol (TAG) e aumento de HDL.

Embora a maioria dos estudos tenha caracterizado os efeitos do exercício físico moderado sobre o metabolismo das lipoproteínas, estudos com exercícios de alta intensidade ainda são escassos. Tsekouras et al. (2008) demonstraram que treinamento aeróbio de alta intensidade (homens jovens sedentários), realizado a 90% VO_{2pico} em esteira rolante (8 semanas, 3 x semana, 8 x 4min = 32min e gasto energético médio de 446 kcal/sessão) foi capaz de proporcionar redução na secreção de VLDL-TAG (do inglês *very low density lipoprotein triglyceride*), sugerindo que o exercício de alta intensidade pode induzir mudanças favoráveis no perfil lipídico. Por outro lado, estudos conduzidos por Spate-Douglas & Keyser (1999) reportaram que, mulheres fisicamente ativas, saudáveis submetidas ao treinamento de moderada ou alta intensidade (60 e 80% da FC de reserva respectivamente) em esteira rolante durante 12 semanas e volume equalizado (duas milhas por semana), obtiveram resultados similares sobre parâmetros do perfil lipídico, como o aumento de HDL-c e HDL2. No entanto, somente o grupo que realizou exercício em maior intensidade reduziu as concentrações plasmáticas de colesterol total, mostrando benefício superior comparado ao exercício moderado.

A partir dessas informações, nosso grupo testou a hipótese de que o exercício de alta intensidade e baixo gasto energético realizado de maneira aguda em bicicleta ergométrica (~90% VO_{2max}) pudesse alterar o perfil lipídico em indivíduos jovens saudáveis. Os resultados encontrados mostraram que, embora a intensidade do exercício agudo de alta intensidade tenha gerado baixo gasto energético (~124 kcal), foi responsável por induzir uma

redução nas concentrações plasmáticas de LDL-c e colesterol total imediatamente e 1 hora após exercício quando comparado aos valores de repouso (LIRA, 2009a). Outros estudos que objetivaram comparar o perfil lipídico após exercício realizado em diferentes intensidades e equalizado por alguma variável, apresentaram resultados controversos com evidências indicando maiores benefícios em exercícios de alta intensidade (TROMBOLD, 2013) ou questionando a importância da intensidade nas alterações geradas pelo exercício (CROUSE, 1995).

Ainda que existam evidências que de maneira crônica o exercício realizado em alta intensidade possa gerar maiores benefícios, os resultados são conflitantes exigindo maior aprofundamento nos mecanismos que promovem suas adaptações (GABRIEL, 2012; TROMBOLD, 2013). A redução da gordura corporal (TRAPP, 2008), reversão de fatores de risco associados à síndrome metabólica (TJONNA, 2008; ALVAREZ, 2018) e o aumento da aptidão aeróbia (HELMERUD, 2007; MILANOVIC, 2015; BATACAN, 2017) são outros efeitos associados a exercícios de alta intensidade.

O transporte reverso do colesterol é outro possível mecanismo benéfico pelo qual o exercício físico pode reduzir a LDL-c e aumentar a HDL (LEAF, 2003; THOMAS, 2012). Esta via metabólica é responsável por remover o excesso de colesterol da circulação e redistribuir para os tecidos periféricos e fígado. A prática de exercícios físicos em intensidade moderada ou intensa, de forma aguda ou crônica pode aumentar a síntese de apolipoproteína A-1 (apo A-1), constituinte primária na formação de HDL, da atividade da enzima lecitina-colesterol aciltransferase (L-CAT), responsável pela transferência do éster de colesterol da partícula da LDL para a de HDL, e pode reduzir a atividade da proteína de transferência de éster de colesterol (CETP), responsável pela transferência do éster de colesterol da partícula da HDL para outras lipoproteínas (Figura 2) (CAMPAIGNE, 1993; SEIP, 1993; FERGUSON, 1998; GRANDJEAN, 2000; DURSTINE, 2002; ELMER, 2016). Outro

potencial mecanismo envolvido é a remoção de VLDL e TAG do plasma, por hidrólise, mediada pela lipase de lipoproteína (LPL) e, possivelmente, pela lipase hepática, transferindo TAG para outras lipoproteínas (por exemplo, a HDL), através de troca de lipídios neutros, conversão da VLDL em LDL e das interações com os receptores hepáticos e/ou periféricos (MAGKOS, 2007; MAGKOS, 2008; TSEKOURAS, 2008; LIRA, 2008).

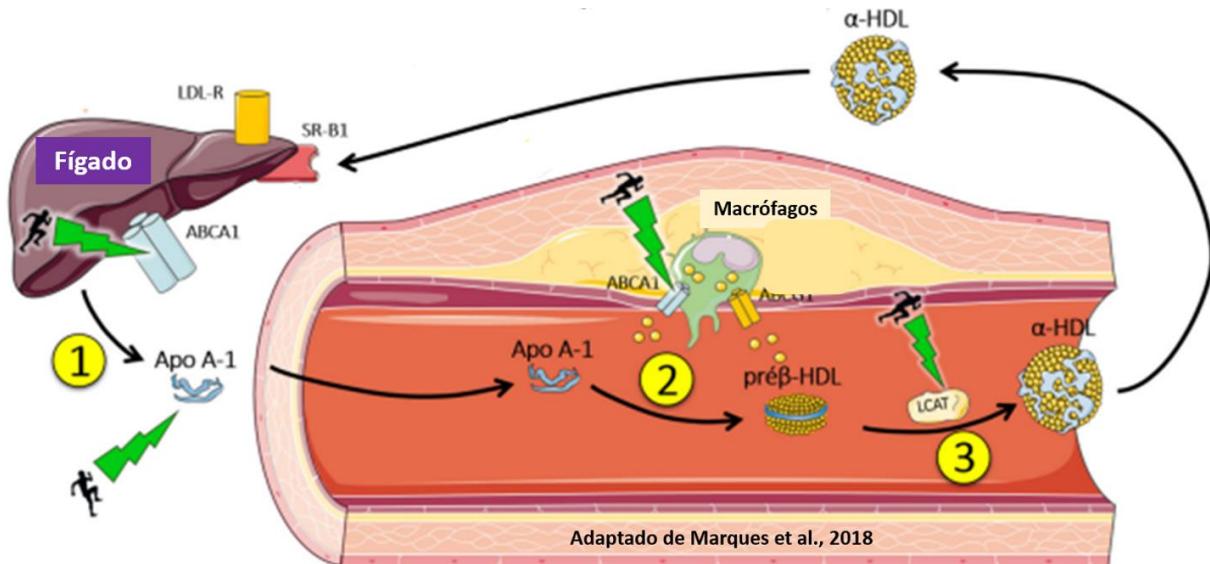


Figura 2. O exercício físico aumenta a atividade da AMPK e estimula PGC-1 α (do inglês *Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha*) que são co-ativadores do fator de transcrição PPAR- γ , responsável por transcrever genes de proteínas fundamentais para o transporte reverso de colesterol, como a Apo A-1 e ABCA-1 (do inglês *ATP binding cassette transporter A1*). Também estimula a ação da LCAT e pode atenuar a atividade da CETP, favorecendo um perfil anti-inflamatório e anti-aterogênico na circulação sanguínea.

A prática regular de exercícios físicos também é capaz de induzir aumento na expressão do gene da LPL e de sua atividade no músculo esquelético (SEIP & SEMENKOVICH, 1998; PILEGAARD, 2000; MAGKOS, 2007), levando a diminuição do TAG plasmático, que está relacionado à redução na produção da VLDL pelo fígado (MONDON, 1984; LIRA, 2008; CHAPADOS, 2009; MAGKOS, 2009; LIRA, 2012). Seip et al. (1997) mostraram que após 1h da execução do exercício de extensão de joelho por 60-90 minutos as concentrações de VLDL e TAG retornaram a seus valores basais, porém o aumento na expressão do gene da LPL muscular manteve-se até 8h pós-exercício,

possibilitando uma menor produção de VLDL pelo fígado mesmo que ainda não apareça reduzida no plasma.

Sumarizando o que foi relatado acima, podemos concluir que o exercício aeróbio moderado, bem como, o de alta intensidade, são capazes de promover melhorias no perfil das lipoproteínas, tanto na redução da VLDL e TAG, quanto da LDL e colesterol total, e em alguns casos, elevar as concentrações da HDL.

Dislipidemia e Resposta Inflamatória

As concentrações circulantes de lipídeos, principalmente ácidos graxos saturados, podem potencializar a ativação de vias de sinalização intracelular, principalmente relacionadas à resposta pró-inflamatória. Os ácidos graxos saturados agem sobre a família de receptores do tipo Toll (TLR do inglês *Toll Like Receptor*), em particular o TLR-4, ativando a via de sinalização do fator nuclear *kappa* B (NF- κ B). Essa via é reconhecidamente associada ao aumento da transcrição de citocinas pró inflamatórias, bem como a resistência à insulina, diabetes do tipo 2 (DM2) e a obesidade (TAKEUCHI, 2001; LEE, 2001; CATTRYSSE, 2017).

Huang et al. (2012) demonstraram que ácidos graxos saturados induzem aumento na expressão proteica de TLR-2 e TLR-4 em monócitos, ocasionando aumento na produção de TNF- α . Anteriormente Földes et al. (2008) demonstraram que indivíduos com doença cardiovascular (falência crônica dos cardiomiócitos) apresentavam aumento nas concentrações plasmáticas de lipídeos associado ao aumento na expressão de TLR-4 em leucócitos.

Dessa forma, a transmissão do sinal mediado pela ligação dos ácidos graxos com o TLR-4 constitui um fenômeno altamente complexo e variado, envolvendo reações de fosforilação e ubiquitinação de proteínas alvo. Essa ligação promove a ativação da proteína MyD88, que por sua vez ativa o complexo IRAK-TRAF 6 (receptor da IL-1 associada à quinase e Fator associado ao receptor do TNF 6 respectivamente), proteína pertencente à

classe das ubiquitina ligases (E3 ligases) com função no desacoplamento do NF-κB da sua proteína inibidora (Iκ-B). Assim, o NF-κB é liberado e pode migrar para o núcleo ligando-se ao DNA e iniciando a amplificação gênica de muitas proteínas relacionadas à inflamação (TAKEDA, 2004).

Em adição, as endotoxinas ou lipopolissacarídeos, ativam a via inflamatória se acoplando aos TLR-4 de maneira similar aos ácidos graxos. Nosso grupo de pesquisa demonstrou recentemente que indivíduos sedentários exibem concentrações elevadas de endotoxinas quando comparados a indivíduos altamente treinados (LIRA, 2010b). Este quadro exibiu correlação positiva com as frações lipídicas no plasma, sugerindo que o quadro inflamatório-metabólico sistêmico exibido pelos sujeitos sedentários está associado ao surgimento de diferentes doenças metabólicas, como diabetes, obesidade, entre outras.

Papel do PPAR sobre o metabolismo de lipídeos e via inflamatória

Os lipídeos circulantes, na forma de lipoproteínas, principalmente as VLDL e LDL, estão em constantes trocas de suas frações lipídicas com células do sistema imunológico e dos diferentes tecidos, principalmente com o músculo esquelético e tecido adiposo. Dessa forma, seu metabolismo exerce importante papel sobre a função de monócitos, particularmente, sobre o transporte reverso de colesterol (CHINETTI, 2001), no controle da sinalização inflamatória (BOUHLEL, 2007), bem como, na adesão de monócitos à parede endotelial, sua migração para o espaço subendotelial e diferenciação em células esponjosas pelos macrófagos, processos cruciais para o desenvolvimento de aterosclerose (ROSS, 1999). Após a absorção por monócitos, componentes das lipoproteínas são processados e podem ser apresentados a apo A-1, formando assim, o HDL-colesterol, que é transportado para o fígado e direcionado para degradação (BREWER, 2004).

Chinetti et al. (2001) demonstraram que a ativação das isoformas PPAR- α e PPAR- γ (do inglês *Peroxisome proliferator-activated receptor*) favorecem o transporte reverso do

colesterol pela modulação na expressão gênica da ABCA1 (do inglês *ATP-binding cassette transporter A1*) em macrófagos. ABCA1 é uma proteína chave no efluxo celular de colesterol, que está envolvida no controle da apoA1, e formação de HDL.

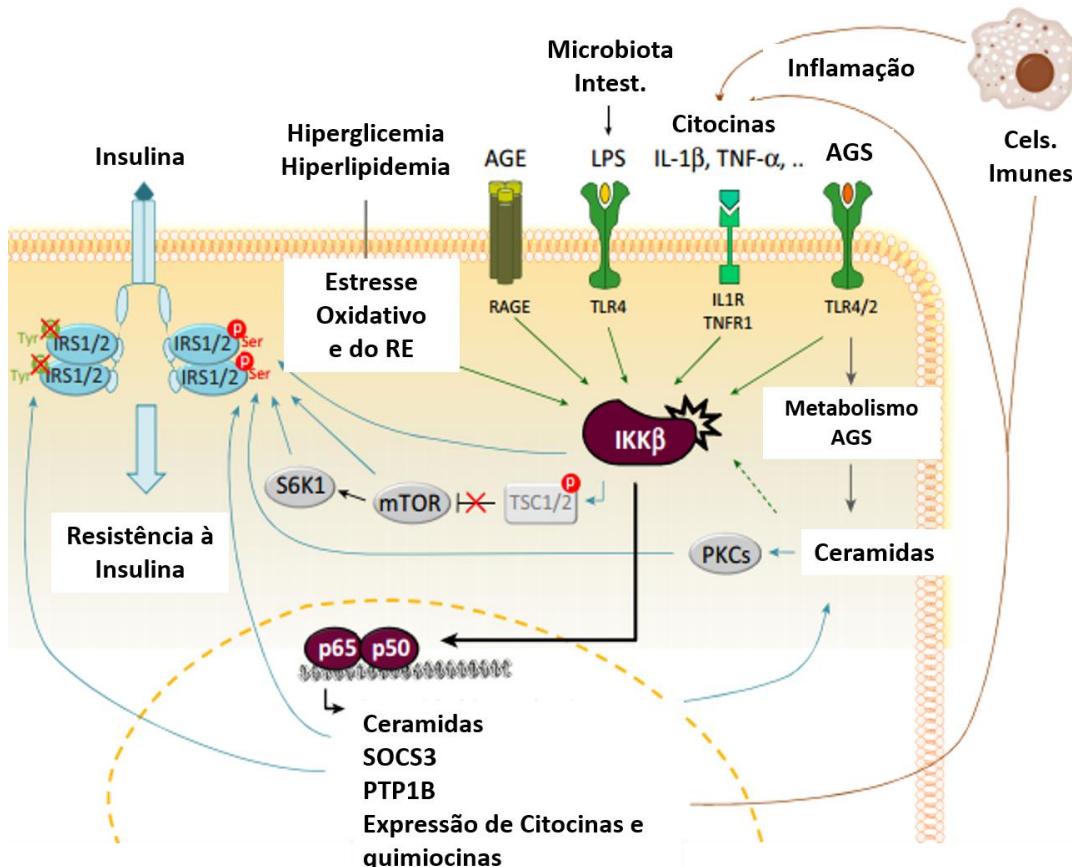


Figura 3. Múltiplas formas de ativação do fator de transcrição gênica NF-κB e os mecanismos consequentes para o aumento de estímulos pró-inflamatórios. (Figura adaptada de Catrysse e van Loo, 2017).

Os PPARs são reguladores da expressão gênica de numerosas proteínas relacionadas ao processo inflamatório e metabolismo de lipídeos (PLUTZKY, 2003). Nos monócitos, especificamente, é bem documentado que o PPAR- γ regula a resposta inflamatória e exerce papel primordial no quadro da aterosclerose através dessas células (NUNN, 2007).

O PPAR γ é membro de uma superfamília de receptores nucleares, sendo altamente expresso em diferentes tecidos, como tecido adiposo e hepático, estimulando a transcrição de genes específicos do metabolismo lipídico (FONSECA-ALANIZ, 2006). É ativado por

ligantes do receptor *9-cis* ácido retinóico (RXR) e o receptor *trans* ácido retinóico (RAR) (JOHNSON, 2000), e para induzir a transcrição dos genes alvos, deve combinar-se com os receptores X retinóide- α (RXR- α), formando um heterodímero que se liga a sequências específicas de reconhecimento (PPREs) na região regulatória dos genes-alvo.

Verificou-se que ácidos graxos e glicose ativam a via do NF- κ B em monócitos, elevando a produção de citocinas pró-inflamatórias (DICKINSONI, 2008), por outro lado, sabe-se que a ativação do PPAR- α e PPAR- γ , contra regula a atividade do NF- κ B, reduzindo a produção de citocinas por monócitos e aumentando a apoptose desse tipo celular, sugerindo que os processos inflamatórios mediados pelo NF- κ B estão intimamente relacionados com fatores de transcrição que controlam genes alvos do metabolismo de lipídeos (CHINETTI, 1998).

Diversos autores (BUTCHER, 2008; YAKEU, 2010; THOMAS, 2012) sugerem que a ativação do PPAR- γ durante o exercício constitui um novo e potencial fator anti-inflamatório e antiaterogênico. No entanto, são incipientes os estudos sobre a relação imunometabólica e as alterações na expressão gênica do PPAR- γ , principalmente nos mecanismos moleculares e fisiológicos modulados pela ausência ou envolvimento em diferentes programas de exercícios físicos.

Justificativa

A prática insuficiente de atividades físicas e uma alimentação com alto teor de calorias, facilita o desequilíbrio entre o gasto e a ingestão de energia. Esses hábitos estão relacionados a um aumento nas dimensões do tecido adiposo. Essa hipertrofia dos adipócitos, principalmente na região visceral, acaba por estimular processos pró-inflamatórios de forma contínua, dificultando sua resolução e permitindo a instalação de um quadro de inflamação crônica de baixo grau.e de processos pró-inflamatórios, que por sua vez eleva o risco de desenvolvimento de doenças crônicas como: dislipidemias, diabetes, hipertensão arterial e doenças cardiovasculares.

Somado a isso, hábitos de vida com frequente desequilíbrio entre o gasto e ingestão calórica, promovem aumento constante do tecido adiposo. Essas condições prejudicam a qualidade e a expectativa de vida desses indivíduos. Dentre as práticas que visam modificar esse ciclo está o exercício físico, que pode diminuir a hipertrofia no tecido adiposo e otimizar processos metabólicos, promovendo benefícios importantes nesse quadro complexo das doenças cardiometabólicas. Uma adequada aptidão física pode proporcionar um perfil anti-inflamatório e antiaterogênico, diminuindo os riscos de desenvolvimento dessas doenças. Recentemente foi evidenciado que essas adaptações são reguladas por respostas imunometabólicas, coordenadas por fatores de transcrição gênica.

Apesar de a literatura ressaltar os efeitos favoráveis da prática de exercícios físicos sobre o quadro inflamatório, é crescente o questionamento sobre o impacto da intensidade e volume das sessões de treinamento sobre tais respostas. Em adição, o conhecimento da participação de fatores transpcionais, como o PPAR- γ , sobre essas respostas é escasso na literatura.

2. OBJETIVO

Objetivo Geral

Verificar a influência da intensidade do exercício físico em esteira rolante, agudo e crônico, nas alterações metabólicas e a participação do fator de transcrição gênica PPAR- γ em monócitos, como possível regulador chave na interação imunometabólica em indivíduos obesos do sexo masculino.

Objetivo específico

Avaliar o perfil metabólico e inflamatório sistêmico *Pré* e *Pós* treinamento.

- a) Avaliar o perfil metabólico e inflamatório em repouso, antes e após seis semanas dos diferentes protocolos de treinamento. Para responder a este objetivo foram realizadas as seguintes dosagens: triacilglicerol (TAG), colesterol total (COL-T), lipoproteína de baixa densidade (LDL-c), lipoproteína de alta densidade (HDL-c), glicose (GLI), insulina, cortisol, inibidor do ativador do plasminogênio 1 (PAI-1), interleucina 10 (IL-10), interleucina 6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α);

Avaliar em monócitos a sinalização intracelular de proteínas relacionadas ao processo inflamatório e dislipidêmico, *Pré* e *Pós* treinamento.

- b) Avaliar a capacidade de produção de citocinas em monócitos dos diferentes grupos, *Pré* e *Pós* seis semanas de treinamento. Para responder a este objetivo os monócitos foram cultivados por 24 horas na presença e ausência de LPS, e em combinação com Rosiglitazona e GW9662 que são agonista e inibidor do PPAR- γ respectivamente. Após esse procedimento foram dosadas as concentrações de citocinas IL-6, IL-10 e do TNF- α no meio de incubação.
- c) Avaliar a via de sinalização do NF- κ B em monócitos. Para responder a este objetivo foi quantificada a expressão gênica por PCR tempo real. Os genes quantificados foram: NF- κ Bp50, NF- κ Bp65, IKK α e TLR4.

d) Avaliar a via de sinalização do PPAR- γ em monócitos. Para responder a este objetivo avaliamos a expressão gênica por PCR tempo real do PPAR- γ , PGC-1 α e também de CD36 nos monócitos isolados e submetidos aos diferentes estímulos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Recrutamento dos participantes

A divulgação do projeto de pesquisa foi realizada pelos membros do Laboratório de Fisiologia Celular e do Exercício (LaFiCE - FCT/UNESP) na imprensa de Presidente Prudente (rádio, TV e jornal), e por meio da assessoria de imprensa da FCT/UNESP. Os interessados entraram em contato por telefone ou pessoalmente. O estudo foi desenvolvido de acordo com a declaração de Helsinque e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (Nº 46948215.8.0000.5402).

Participantes

Os critérios de inclusão para participação foram: ser do sexo masculino, ter entre 18 a 35 anos de idade, índice de massa corporal (IMC) ≥ 30 (kg/m^2) e não praticar atividades físicas de forma regular e sistematizada. Os critérios de exclusão foram: angina instável, infarto e/ou insuficiência cardíaca descompensada, doença valvular grave, hipertensão arterial descontrolada, cardiomiopatia, falência renal, diabetes, limitações ortopédicas/neurológicas, presença de cirurgias planejadas no período do estudo, abuso de álcool, cigarro ou drogas, participação em outro estudo e relutância ao assinar o termo de consentimento livre e esclarecido.

Após esses procedimentos 63 indivíduos foram selecionados e encaminhados a um médico cardiologista para avaliação da aptidão cardiopulmonar. Do número total de participantes, 25 não foram incluídos nas análises do presente estudo por excederem 25% de faltas e/ou não comparecer as avaliações finais. As causas de exclusão foram: necessidades profissionais (n= 10), uso de antibióticos ou anti-inflamatórios (n= 3), não liberado pelo cardiologista (n= 1) e motivos pessoais (n= 11). Dessa forma, serão abordados os resultados de 38 participantes (Tabela1).

Tabela 1. Características dos participantes, antes do início do período de treinamento. Valores expostos com média e desvio padrão.

	HIIT	MICT	p-valor
Idade (anos)	28,6 (5,6)	30,1 (4,5)	0,368
Estatura (cm)	176,1 (6,7)	176,6 (5,1)	0,993
PAS (mmHg)	127,2 (11,2)	126,5 (11,2)	0,857
PAD (mmHg)	84,9 (8,2)	86,7 (8,7)	0,553
MC (kg)	103,6 (12,2)	110,9 (12,8)	0,113
IMC (kg/m²)	33,9 (4,1)	35,1 (4,1)	0,123
CC (cm)	107,1 (8,1)	113,0 (8,3)	0,078
VO_{2max} (mL/kg/min)	35,2 (4,9)	34,8 (4,4)	0,807
TMR (kcal/dia)	2534,9 (338,4)	2548,8 (249,5)	0,905

MC: massa corporal total; IMC: índice de massa corporal; CC: circunferência de cintura; VO_{2max}: consumo máximo de oxigênio; TMR: gasto energético de repouso. HIIT (n= 20), MICT (n= 18). p-valor < 0,05

Desenho experimental

Os participantes que passaram pela triagem inicial foram randomizados em dois grupos: (1) Treinamento intermitente de alta intensidade (HIIT) ou (2) Treinamento contínuo de intensidade moderada (MICT). O treinamento teve frequência de três vezes/semana e duração total de seis semanas. As avaliações foram realizadas antes do início do programa de treinamento (*Pré*), na terceira semana (*Sem 3*) para readequação da intensidade, e ao final da sexta semana (*Pós*). Ao todo os participantes fizeram de 8 a 9 visitas ao laboratório no momento *Pré* e no *Pós*.

Visita 1: Avaliação da Composição Corporal

A avaliação da composição corporal foi realizada por impedância bioelétrica. O aparelho utilizado possui oito eletrodos (E) (InBody 720 - Biospace, Seoul, Korea), que ficam em contato com a palma (E1 e E3) e polegar (E2 e E4) de cada mão e com a parte anterior (E5 e E7) e calcâncar (E6 e E8) de cada pé. Frequências de 1, 5, 50, 250, 500 e 1000 kHz foram

emitidas para aquisição de cinco impedâncias segmentares (braço direito, braço esquerdo, tronco, perna direita e perna esquerda). Os dados adquiridos foram exportados para o computador usando o software Lookin'Body 3.0 (Biospace, Seoul, Coreia).

Valores de massa corporal total (MC) estão expostos em quilos, gordura corporal total (MG) e massa livre de gordura (MLG) estão expressas de forma absoluta (kg) e relativa (%) a MC.

Visitas 2 e 3: Familiarização com o ergômetro (esteira rolante)

Essas visitas serviram para os participantes se familiarizarem com a esteira rolante. Para isso, eles caminharam, trotaram e realizaram saídas da esteira com ela em movimento (salto), simulando o que fariam caso fossem alocados no grupo HIIT.

Visita 4: Teste Incremental Máximo

Na quarta visita os participantes realizaram um teste incremental máximo (IT) (Esteira Ergométrica Inbramed, modelo ATL, Brasil) com objetivo de mensurar o consumo máximo (VO_2max) ou pico de oxigênio (VO_2pico), bem como a velocidade máxima de corrida (V_{max}).

Os participantes realizaram aquecimento com caminhada de 5 a 7 min a 5 km/h, previamente ao IT. A velocidade inicial foi de 5,5 km/h, com incrementos de 0,5 km/h a cada minuto e terminou com a exaustão voluntária do participante. Durante todo o teste a inclinação da esteira foi mantida em 1% e aquisição de gases feita a cada respiração através de uma máscara conectada ao analisador de gases (Quark PFT - Cosmed[®], Rome, Italy).

Os valores de VO_2 foram analisados com médias dos últimos 20 segundos de cada estágio. O termo VO_2pico foi adotado quando a diferença entre os dois maiores valores foi superior a 150 mL/min e o termo VO_2max quando a diferença foi menor.

A maior velocidade sustentada durante todo o estágio foi assumida como Vmax. Quando o participante entrou em exaustão antes do fim do estágio, foi usada a fórmula proposta por Kuipers et al. (1985) que é:

$$\mathbf{Vmax} = \text{velocidade do último estágio completo} + (\text{tempo no estágio incompleto (seg)} / \text{tempo total de estágio (seg)}) * \text{velocidade do incremento (km/h)}$$

Visitas 5 a 7: Testes em Intensidades Submáximas

Os participantes realizaram quatro testes com intensidades submáximas e duração de 7-min (Figura 4) para posterior determinação do custo energético total (EE) da sessão de treinamento. As intensidades foram 40, 50, 75 e 85% da velocidade correspondente ao VO₂max (iVO₂max) ou VO₂pico (iVO₂pico) de cada participante. Esses testes foram feitos em ordem aleatória e intervalo de 24 a 72h. O aquecimento anterior ao IT foi utilizado como um dos testes submáximos para os participantes em que uma das intensidades calculadas foi condizente a do aquecimento.

Visitas 8 e 9: Testes modelo HIIT e MICT

Todos os participantes realizaram uma sessão de treinamento no modelo HIIT. O protocolo adotado foi de dez esforços de um minuto intercalados por um minuto de intervalo passivo (10 x 1:1min). Os esforços foram realizados a 100% da iVO₂max/pico.

Além do teste com modelo HIIT, os participantes do grupo MICT realizaram um teste de 30 minutos de forma contínua a 65% da iVO₂max/pico. Essas sessões foram feitas com máscara para aquisição dos valores da troca de gases e posterior equiparação da EE.

Cálculo do gasto energético da sessão

O cálculo do gasto energético levou em consideração o método de *deficit* de oxigênio (Medbo et al., 1988). Com esse objetivo, os valores médios de VO₂ do último minuto de cada teste submáximo (visita 5 a 7) foram utilizados para desenvolver uma regressão linear, e com a equação gerada estimar o VO₂ necessário (VO₂demandada) na iVO₂max/iVO₂pico. A diferença

entre o VO₂ medido em cada minuto de esforço na sessão HIIT foi subtraído do valor estimado pela regressão linear, e esse valor adotado como a contribuição anaeróbia (ANA_{EE}) para execução de esforços nessas intensidades (Figura 5).

A sessão de exercício contínuo com coleta de gases para o grupo MICT (visita 9) (Figura 6) foi utilizada para a quantificação do custo energético de 30 min a 65% da iVO_{2max}/iVO_{2peak} e possibilitou o cálculo para a equiparação do EE com o modelo HIIT. Quando o EE foi inferior ao promovido na sessão HIIT, o tempo excedente necessário foi adicionado a partir do valor do custo energético por minuto (kcal/min) nessa intensidade, calculado com a média do VO₂ do último minuto do protocolo realizado.

Esses cálculos foram feitos de forma individualizada e consideraram o custo de 20.92 kJ (aprox. 5 kcal) para cada 1L de O₂ utilizado (Gastin, 2001). Dessa forma cada participante do grupo MICT teve seu EE equiparado com o próprio teste de HIIT.

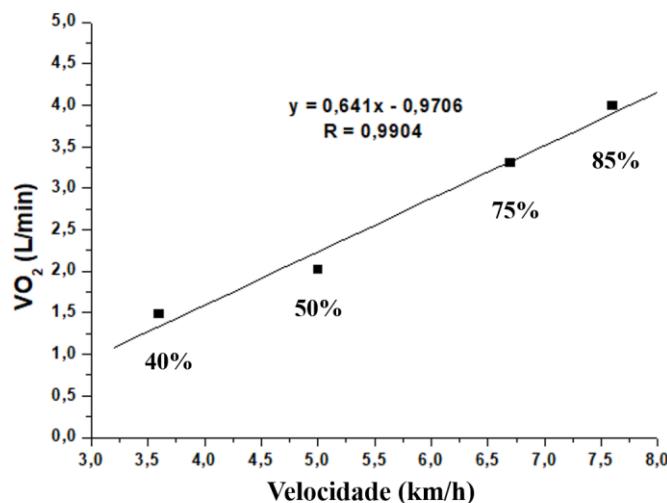


Figura 4. Valores da média do consumo de oxigênio de um participante em quatro intensidades submáximas. Equação da regressão linear utilizada para estimativa do VO₂ condizente com a velocidade máxima atingida no teste incremental.

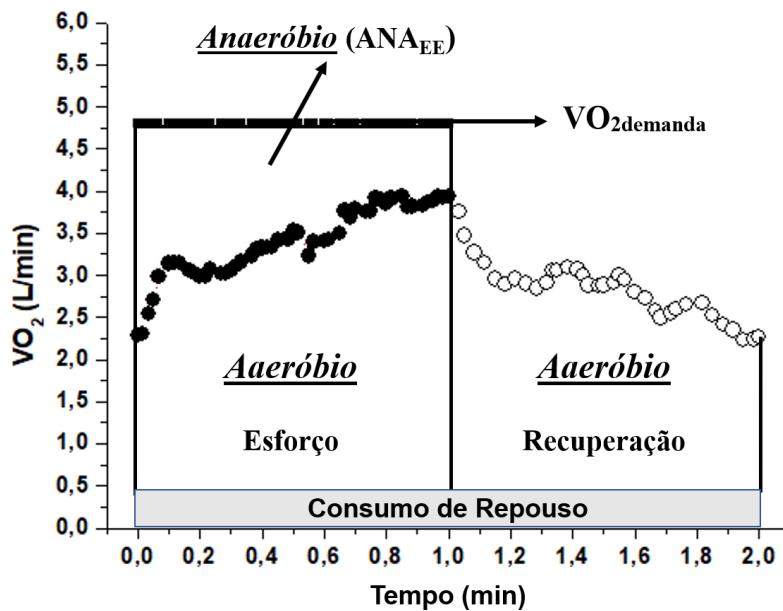


Figura 5. Representação do consumo de oxigênio durante um período de esforço e recuperação do protocolo de HIIT. Componentes levados em consideração para o cálculo do gasto energético da sessão.

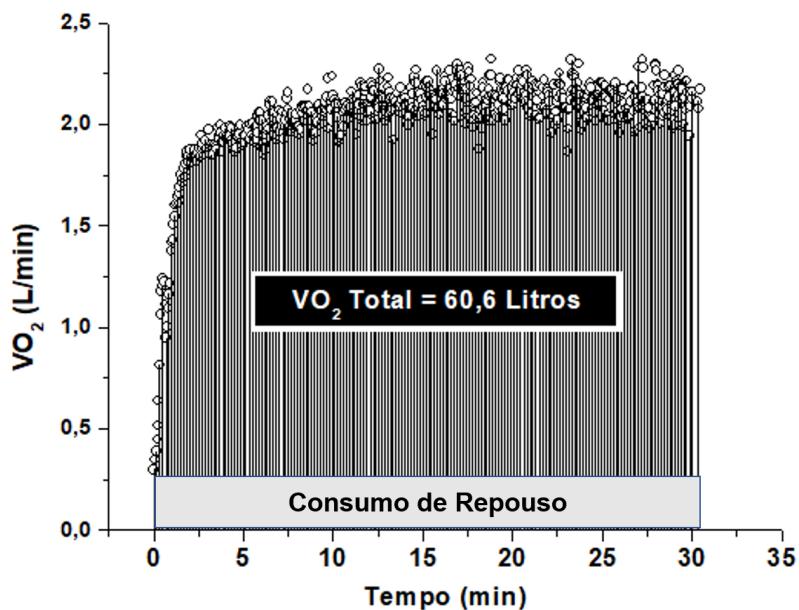


Figura 6. Representação do consumo de oxigênio durante uma sessão do protocolo de MICT. Componentes levados em consideração para o cálculo do gasto energético da sessão.

Protocolos de treinamento

Treinamento intermitente de alta intensidade (HIIT): um minuto de esforço seguido de um minuto de intervalo passivo, até completar dez esforços (10 x 1:1min). Intensidade de esforço de 100% do VO₂max/pico (iVO₂max/pico).

Treinamento contínuo de intensidade moderada (MICT): a intensidade de treinamento para esse grupo foi de 65% da iVO₂max/pico e a duração prescrita de acordo com o gasto energético equalizado com a sessão de HIIT.

Coletas e análises sanguíneas

Na primeira e última sessão de treinamento (*Sessão-Teste*) foram coletadas amostras sanguíneas em cinco momentos: 1- *Jejum* (12 horas), 2- após 90 min de café da manhã padronizado (*Pré-Exerc*), 3- logo após a sessão (HIIT ou MICT) (*Pós-Exerc*), 4- após 30 min e 5- após 60 min (Figura 7).

As amostras foram obtidas por meio da punção da veia do antebraço realizadas por profissionais de enfermagem. Foram coletados 8,5 mL de sangue em tubo com gel separador (BD SST® II Advance®) e mais dois tubos de 4mL, um contendo anticoagulante EDTA K2 para posterior separação do plasma e outro contendo fluoreto para análises de glicose (Becton Dickinson, BD, Juiz de Fora, MG, Brasil). Logo após as coletas os tubos foram centrifugados a 3000 rpm, durante 15 minutos à 4 °C e as alíquotas armazenadas em tubos de polipropileno, tipo eppendorfs, e estocados à – 20 °C.

As dosagens das citocinas e hormônios foram realizadas por ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) com os seguintes kits comerciais: IL-6 (3,1 – 300 pg/mL), IL-10 (7,8 – 500 pg/mL), TNF-α (15,6 – 1000 pg/mL), leptina (31,2 – 2000 pg/mL), PAI-1 (0,31 – 20 ng/mL) (R&D Systems, Inc., MN, USA), cortisol (0 - 50µg/dL) e insulina (0 – 300 uIU/mL) (Monobind Inc., Lake Forest, CA, USA). A quantificação de glicose, colesterol total e HDL-c foram realizadas pelo método colorimétrico e kits das empresas Labtest (Labtest®, Brasil).

Para obtenção das concentrações de LDL-c foi utilizada a equação de Friedewald (1972).

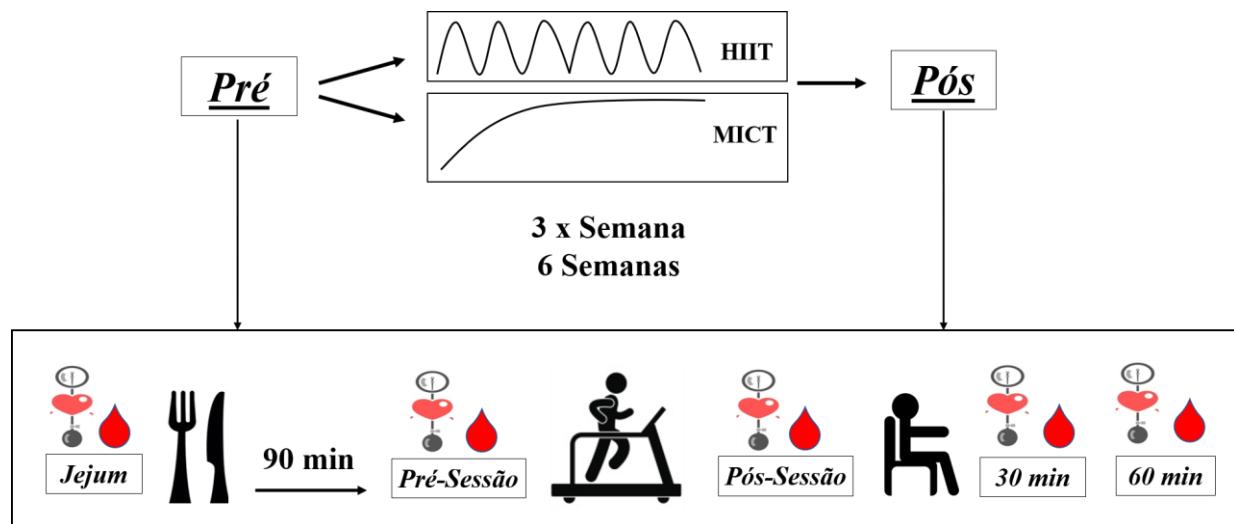


Figura 7. Representação gráfica da *Sessão-Teste* que ocorreu no primeiro dia de treinamento (*Pré*) e na última sessão (*Pós*).

Estimulação do Sangue Periférico com PBS ou LPS

Em todos os momentos de coletas sanguíneas da *Sessão-Teste* (*Pré* e *Pós*), dois tubos com 3 mL (EDTA K2, BD, Juiz de Fora, MG, Brasil) foram coletados para em seguida ser adicionado PBS (3 μ L) em um e LPS (3 μ L, [10 ng/mL]) no outro. Após isso feito permaneceram em uma plataforma giratória de baixa velocidade a 37 °C por 60 minutos. Ao término passaram pelos mesmos procedimentos de centrifugação citados acima. Esse protocolo teve como objetivo avaliar a resposta das células sanguíneas totais a um estímulo pró-inflamatório em um meio com menos interferência (“*ex vivo*”). Com as alíquotas armazenadas foram quantificadas as concentrações de IL-6, IL-10 e TNF- α .

Avaliação adjacente

Além das visitas realizadas na universidade (FCT/UNESP) os participantes realizaram outros procedimentos em locais externos.

Avaliação da Gordura Visceral e Subcutânea

As avaliações da gordura visceral e subcutânea foram realizadas em uma instituição especializada em diagnósticos por imagens. Foi adotado o método de ultrassonografia e a gordura subcutânea definida como a distância entre a pele e a face externa do músculo reto abdominal, e a gordura visceral como a distância entre a face interna do músculo reto abdominal e a parede anterior da artéria aorta. Os métodos e parâmetros para definição da gordura visceral foram baseados nas descrições anteriormente descritas por Ribeiro-Filho et al. (2003). Todas as avaliações (*Pré* e *Pós*) foram realizadas pelo mesmo médico radiologista utilizando um scanner TOSHIBA Eccocee com um transdutor de 3,7 MHz convexo (Tóquio, Japão).

Todos os voluntários foram orientados a permanecerem em jejum, por pelo menos quatro horas antes da avaliação.

Procedimentos para cultura de células

Isolamento dos monócitos

Para separação dos monócitos das outras células do sangue total, foi adotado o seguinte procedimento: ao sangue coletado foi acrescido Histopaque®-1077 (Sigma-Aldrich Co. LLC) (proporção de 1:1) e após 30 minutos de centrifugação por gradiente, com velocidade de 400 x g em uma centrífuga sem freio, ocorreu a sedimentação dos eritrócitos e separação das células mononucleares do sangue periférico (PBMC). Após esse procedimento foi feita a contagem das PBMCs em um hemocitômetro (Câmara de Neubauer) e depois colocadas na concentração de 1 x 10⁶/mL em placas de poliestireno com 12 poços, específicas para cultivo de células (Kasvi - PR/Brasil). As células permaneceram incubadas por duas horas a 37 °C e 5% de CO₂ em solução de meio de cultura de células (RPMI-1640 - Sigma-Aldrich Co. LLC) enriquecido com glutamina ([2mM]), bicarbonato de sódio ([24mM]), HEPES ([20mM]), 10% soro fetal bovino e antibióticos ([10000U/mL] de penicilina e

[10000U/mL] de estreptomicina). Esse procedimento permite a separação dos monócitos dos linfócitos. Os monócitos aderem ao fundo da placa enquanto os linfócitos que permanecem suspensos no meio de cultura, são posteriormente retirados.

Tratamento dos monócitos

Após isolamento dos monócitos, para cada participante foram utilizados seis poços com volume final de 1mL cada. Esse volume compreende o meio de cultura e as substâncias usadas para o tratamento, como exemplificado na figura 8. Os monócitos foram tratados com LPS ([100ng/mL]), Rosiglitazona ([1 μ M]) e GW9662 ([10 μ M]) (todos da empresa Sigma-Aldrich Co. LLC). Também foram feitas associações de LPS com rosiglitazona (LPS + Rosi) e com GW9662 (LPS + GW). Após 24h de incubação, o meio sobrenadante foi coletado e estocado a – 80 °C para posterior determinação das concentrações de TNF- α , IL-6 e IL-10.

Como a diluição do GW9662 é feita em sulfóxido de dimetilo (DMSO - Sigma-Aldrich Co. LLC) a mesma quantidade (5 μ L) também foi acrescentada aos outros poços.

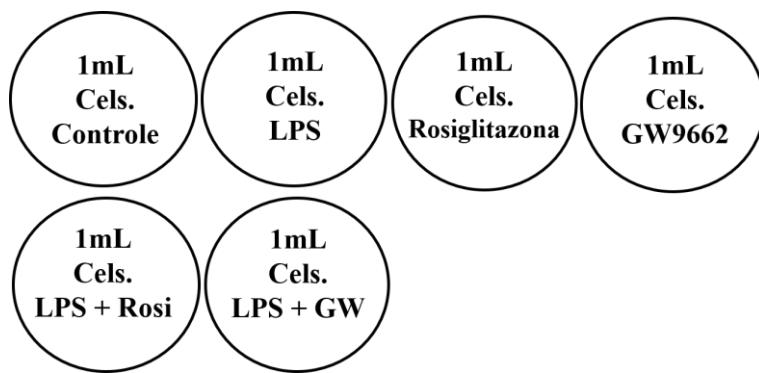


Figura 8. Representação da placa usada para cultura de monócitos. Um poço apenas com células e meio de cultura de células (Controle) e os outros com as diferentes substâncias usadas no tratamento.

Análise da expressão gênica por RT-PCR (real time – polimerase chain reaction) do NF- κ Bp65, IKK, TLR-4, PPAR- γ , PGC-1 α e CD36.

Extração do RNA total. Após 24 horas de incubação, 1mL do reagente Brazol (LGC Biotecnologia Ltda. Cotia/SP) foi adicionado em cada poço para análises por RT-PCR com *Syber Green* como corante fluorescente. O RNA total foi extraído (Chomczynskiand e Sacchi,

1987), as concentrações determinadas por espectrofotometria (260nm/280nm) e o cDNA gerado utilizando a transcriptase reversa (Applied Biosystems, Foster, CA, EUA). A quantificação foi realizada pelo método comparativo descrito por Livak (2001) e o gene GAPDH (gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase) utilizado como controle interno. A tabela abaixo apresenta a sequências de bases utilizadas para cada gene.

Tabela 2. Sequência dos primers utilizados na análise do PCR-tempo real.

Gene	Sequência (5' - 3')	Sequência (3' - 5')
PPAR-γ	CAGCCTTAACGAAATGACCA	TGTGGAGTAGAAATGCTGGA
TLR-4	TTTATCCAGGTGTGAAATCCAG	AGATGCTAGATTGTCTCCACAG
NF-κB	TCTCTATGACCTGGATGACTC	GTTTCATGTCTCCTTGCT
PGC-1α	GCAGACCTAGATTCAAACTCAG	GTATTGCCATCCCTCTGTC
IKK	GACCTTCAGATCACTCCTACAG	CAAATGACCAAACAGCTCCT
CD36	TTTGGCTTAATGAGACTGGGAC	AAAGCAACAAACATCACACAC

Citometria de fluxo

A técnica da citometria de fluxo foi utilizada para caracterização dos monócitos dos participantes, pois sabemos que a obesidade pode gerar adaptações e alterações no fenótipo dessas células.

Para a fenotipagem, as PBMCs (1×10^6) foram marcadas com anticorpos e fluorocromos específicos para as proteínas de membrana CD14 e CD16 (APC Mouse Anti-Human CD14 e PE Mouse Anti-Human CD16 – BD). Esses procedimentos foram realizados em um citômetro de quatro canais, modelo BD FACScalibur (BD Biosciences, Mississauga, ON, Canadá) e os valores analisados no software Infinicity 2.0 (Cytognos, Salamanca, Espanha).

Análise Estatística

A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk. Os dados descritivos estão apresentados com média e desvio padrão. Análise de variância bidirecional (ANOVA) com medidas repetidas foi usada para comparar os valores obtidos nas avaliações nos momentos *Pré*, *Sem 3* e *Pós* intervenção de treinamento nos grupos HIIT e MICT. Foram analisadas alterações e diferenças decorridas do tempo de treinamento (“*Tempo*”), entre os grupos (“*Grupo*”) e também a possível interação do tempo e grupo (“*TxG*”).

Para comparação dos valores percentuais das alterações ocorridas em cada grupo após os respectivos treinamentos, foi utilizado o Teste *t* de student para amostras independentes. Os valores do volume da sessão de treinamento (minutos) e distância total percorrida após as seis semanas (km), não são paramétricos e para comparação entre os grupos foi utilizado o teste de Mann-Whitney.

A significância estatística foi estabelecida em 5% para todas as análises e os cálculos foram realizados usando software SPSS, versão 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL).

4. RESULTADOS

Os resultados serão apresentados em tópicos, para facilitar a organização e compreensão.

Consumo Máximo de Oxigênio e características das sessões de treinamento

O consumo máximo de oxigênio foi avaliado nos momentos *Pré*, *Sem 3* e *Pós* (Figura 9). O treinamento promoveu diferenças importantes, com elevações significativas na terceira e na sexta semana de treinamento em ambos grupos (Tabela 3; Figura 10).

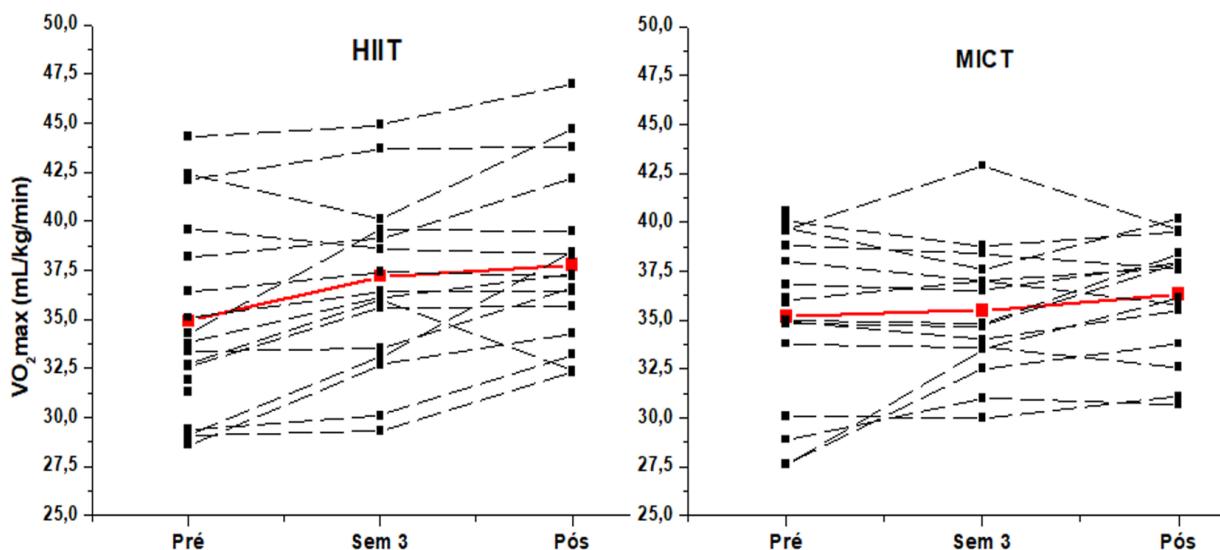


Figura 9. Valores de consumo máximo de oxigênio de todos os participantes nos testes incrementais máximos. Antes do início do período de treinamento (*Pré*), na terceira semana (*Sem 3*) e ao término da sexta semana (*Pós*).

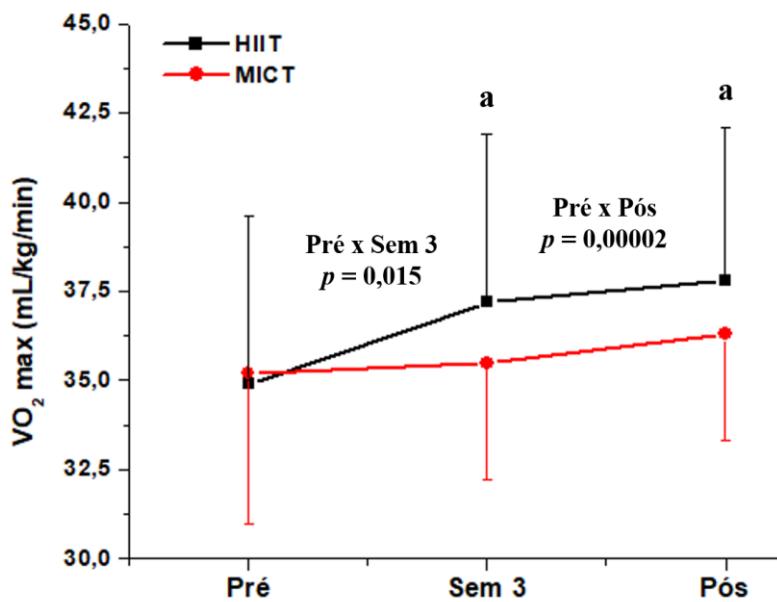


Figura 10. Média e desvio padrão do consumo máximo de oxigênio dos participantes dos grupos HIIT e MICT. Antes do início do período de treinamento (*Pré*), na terceira semana (*Sem 3*) e ao término da sexta semana (*Pós*). a: diferenças do momento *Pré*. *p*-valor < 0,05.

Apesar do valor médio das alterações percentuais serem aparentemente maiores no modelo HIIT, a diferença não foi estatisticamente relevante (Figura 11).

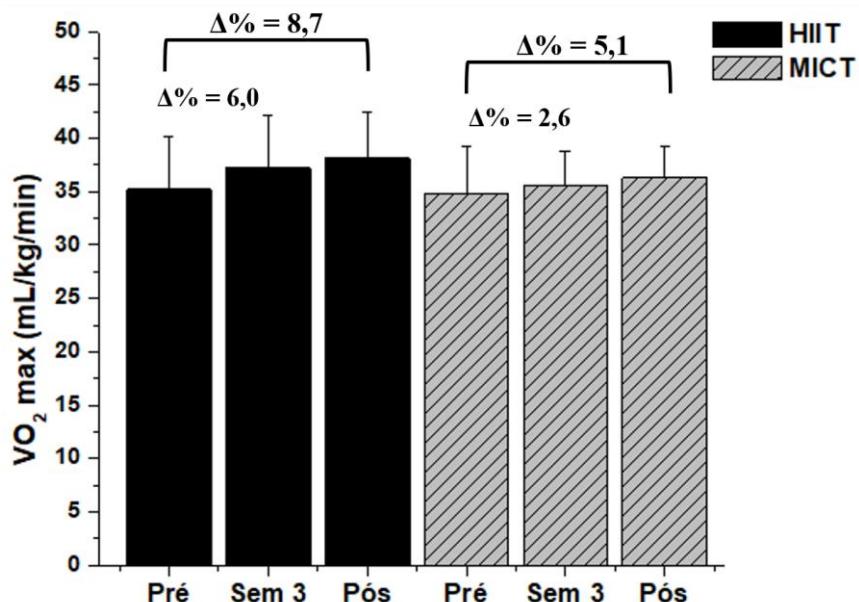


Figura 11. Gráfico de barras com a média e desvio padrão do consumo máximo de oxigênio dos participantes dos grupos HIIT e MICT. Δ%: diferença percentual entre os momentos *Pré x Sem 3* e *Pré x Pós*.

Outra variável muito importante é a Vmax, utilizada no presente estudo como a principal variável de desempenho. A cada três semanas os valores se elevaram, independente do modelo de treinamento (*Pré x Sem 3 e Pré x Pós, p < 0,001; Sem 3 x Pós, p = 0,048*) (Tabela 3; Figura 12). No entanto, quando foram comparados os Δ% entre os momentos *Pré* e *Pós*, o grupo HIIT apresentou maiores valores (Figura 12).

Tabela 3. Valores de média e desvio padrão das variáveis fisiológicas e de desempenho, antes, e após três e seis semanas de treinamento.

		Pré	Sem 3	Pós	Efeitos	F	p-valor	η^2
VO₂max (mL/kg/min)	HIIT	35,2 (4,9)	37,2 (4,9)	38,1 (4,3)	Tempo	11,063	0,000*	0,269
	MICT	34,8 (4,4)	35,5 (3,3)	36,3 (3,0)	Grupo	0,890	0,353	0,029
					TxG	1,297	0,281	0,041
Vmax (km/h)	HIIT	9,8 (1,0)	10,3 (0,8)	10,7 (0,9)	Tempo	46,689	0,000*	0,609
	MICT	9,5 (1,0)	10,0 (0,9)	10,0 (0,9)	Grupo	1,623	0,212	0,051
					TxG	3,471	0,048	0,104
EE (kcal)	HIIT	283,6 (35,7)	-	317,5 (32,1)	Tempo	12,081	0,002	0,354
	MICT	289,1 (30,1)	-	308,0 (36,7)	Grupo	0,031	0,861	0,001
					TxG	0,982	0,332	0,043

VO₂max: consumo máximo de oxigênio; **Vmax:** velocidade máxima no teste incremental; **EE:** gasto energético da sessão de treinamento. *p-valor* < 0,05; * *p-valor* < 0,0001

Em relação as características dos dois modelos de treinamento, uma condição prévia fundamental foi garantir que o custo energético das sessões não fosse diferente entre os dois grupos, e isso foi comprovado com a análise dos resultados. A diferença existente foi apenas no “Tempo” e não entre os grupos (Tabela 3). O volume da sessão (minutos) foi diferente (*p-valor* < 0,001) e isso já era esperado, uma vez que no modelo HIIT o protocolo teve duração fixa de 19 minutos (10 x 1:1) e no MICT (31,9 ± 4,9 min) o volume sofreu variações para se adequar ao gasto calórico da sessão HIIT. A velocidade da sessão (km/h) também foi prescrita propositalmente diferente, com os participantes do grupo HIIT treinando a 100% iVO₂max/pico e do MICT a 65%. Dessa forma a análise estatística foi feita comparando apenas os momentos *Pré* e *Pós* dentro de cada grupo e não entre eles. A comparação mostrou diferenças no “Tempo” para os dois modelos, o que já era esperado, pois a Vmax e VO₂max também aumentaram e a velocidade da sessão é dependente dessas duas variáveis. Esses resultados estão apresentados na figura 13 (A, B).

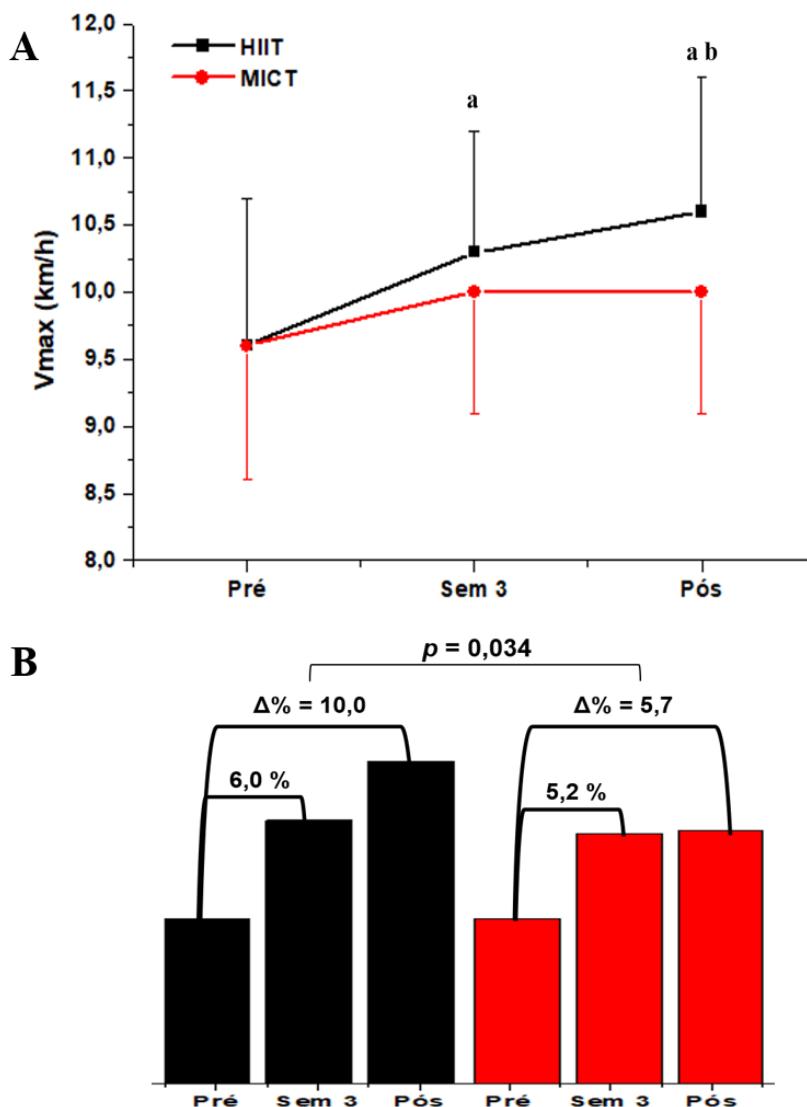


Figura 12. Valores de velocidade máxima atingida (Vmax) no teste incremental nos momentos Pré, Sem 3 e Pós seis semanas de treinamento. **A:** média e desvio padrão nos grupos HIIT e MICT; **B:** diferença percentual ($\Delta\%$) entre os momentos de avaliação. **a:** diferente do momento Pré; **b:** diferente do momento Sem 3. p -valor < 0,05.

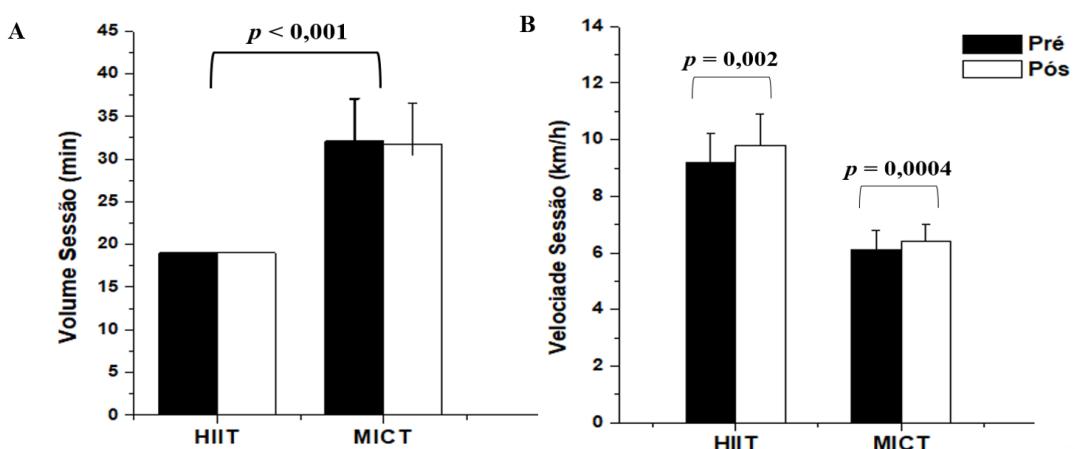


Figura 13. Representação gráfica em barras da média e desvio padrão do volume da sessão (A), velocidade da sessão (B) nos momentos Pré e Pós seis semanas de treinamento. p -valor < 0,05.

Composição Corporal, Pressão Arterial e Taxa Metabólica de Repouso

Após seis semanas de treinamento, os dois modelos, promoveram alterações semelhantes nos parâmetros de composição corporal avaliados, com aumento do %MLG e diminuição da espessura da camada de gordura subcutânea. No entanto, a gordura visceral que no momento *Pré* não apresentava diferenças entre os grupos ($p= 0,348$; Teste *t*) após o período de intervenção, apresentou diferença (Tabela 4). Os valores de MC, IMC, CC, MG, MLG, %MG e TMR não sofreram modificações significativas.

A pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD) foram reduzidas após o treinamento aeróbio. Essas alterações também foram independentes dos modelos de treinamento (Tabela 4; Figura 14).

Perfil Lipídico e Glicose sanguínea

As concentrações sanguíneas das lipoproteínas (HDL-c e LDL-c), TAG e glicose foram avaliadas na situação de *Jejum* (12 horas) e também durante a *Sessão-Teste* (*Pré-Exerc*, *Pós-Exerc*, 30min e 60min) nos momentos *Pré* e *Pós*. A tabela 5 apresenta os valores de *Jejum*, que após o término do período de treinamento não apresentaram alterações significativas, embora praticamente todas as diferenças percentuais ($\Delta\%$) tenham sido negativas.

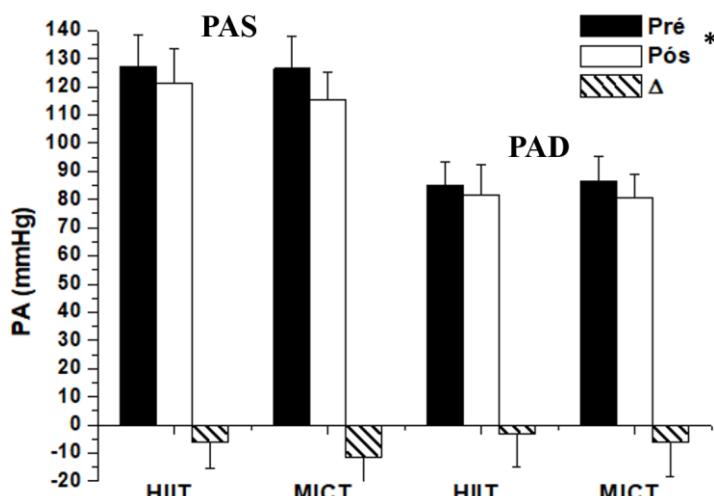


Figura 14. Valores de pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD) expressos em média e desvio padrão nos momentos *Pré*, *Pós* e da diferença entre eles (Δ). * diferenças *Pré* x *Pós*. p -valor < 0,05.

Tabela 4. Valores das variáveis de composição corporal, pressão arterial e taxa metabólica de repouso, antes e após seis semanas de treinamento. Resultados expostos com média e desvio padrão.

Variável	Grupo	Pré	Pós	Δ%	Efeitos	F	p-valor	η²
PAS (mmHg)	HIIT	127,2 (11,3)	121,0 (12,6)	- 4,8	Tempo	24,353	0,000*	0,456
	MICT	126,5 (11,2)	115,1 (10,1)	- 8,7	Grupo	0,816	0,374	0,027
PAD (mmHg)	HIIT	84,9 (8,3)	81,7 (10,5)	- 3,3	Tempo	4,556	0,041	0,136
	MICT	86,7 (8,7)	80,6 (8,5)	- 6,1	Grupo	0,025	0,877	0,001
IMC (kg/m²)	HIIT	33,4 (3,5)	33,2 (3,6)	-	Tempo	1,250	0,273	0,044
	MICT	35,6 (4,1)	35,4 (4,2)	-	Grupo	2,431	0,131	0,083
MC (kg)	HIIT	103,6 (12,2)	103,0 (11,7)	-0,5	Tempo	2,079	0,160	0,069
	MICT	111,1 (12,3)	110,3 (12,8)	-0,7	Grupo	0,031	0,861	0,001
CC (cm)	HIIT	107,1 (8,1)	106,5 (7,8)	-0,6	Tempo	0,987	0,330	0,038
	MICT	113,0 (8,3)	112,6 (8,3)	-0,3	Grupo	3,743	0,064	0,130
MG (kg)	HIIT	37,9 (8,6)	36,7 (9,4)	-3,5	Tempo	0,610	0,441	0,021
	MICT	39,5 (10,9)	38,3 (9,6)	-2,0	Grupo	0,112	0,740	0,004
MLG (kg)	HIIT	66,0 (6,2)	66,7 (6,3)	1,1	Tempo	3,373	0,077	0,108
	MICT	71,0 (6,8)	71,6 (6,4)	0,9	Grupo	0,029	0,866	0,001
% MG	HIIT	36,4 (5,8)	34,9 (5,8)	-4,1	Tempo	0,346	0,561	0,012
	MICT	36,2 (8,0)	34,9 (6,2)	-3,0	Grupo	0,875	0,357	0,030
% MLG	HIIT	63,6 (5,8)	65,1 (5,8)	2,5	Tempo	4,284	0,048	0,133
	MICT	63,8 (8,0)	65,2 (6,0)	2,8	Grupo	1,548	0,224	0,052
Gordura Visceral (cm)	HIIT	5,5 (1,7)	5,4 (1,0)	3,7	Tempo	0,142	0,709	0,005
	MICT	6,9 (1,9)	6,8 (2,0)	-1,0	Grupo	6,287	0,018	0,173
Gordura Subcutânea (cm)	HIIT	3,0 (0,9)	2,8 (1,0)	-7,1	Tempo	5,215	0,030	0,152
	MICT	2,6 (0,8)	2,6 (0,9)	-2,0	Grupo	0,906	0,349	0,030
TMR (kcal/dia)	HIIT	2534,9 (338,4)	2525,4 (327,2)	0,4	Tempo	0,041	0,842	0,002
	MICT	2548,8 (249,5)	2539,5 (228,5)	-0,1	Grupo	0,019	0,892	0,001
					TxG	0,000	0,999	0,000

IMC: índice de massa corporal; **MC:** massa corporal total; **CC:** circunferência de cintura; **MG:** massa de gordura **MLG:** massa livre de gordura; **%MG:** percentual de massa gordura; **%MLG:** percentual de massa livre de gordura; **TMR:** taxa metabólica de repouso. *p*-valor < 0,05 * *p*-valor < 0,001

Quando as concentrações dessas variáveis foram analisadas na *Sessão-Teste* (sem o *Jejum*), diferenças significativas no “*Tempo*” (*Pre* x *Pós*) foram encontradas para GLI (*p*= 0,030), COL-T (*p*= 0,007), LDL-c (*p*= 0,006) e colesterol não-HDL (N-HDL) (*p*= 0,010).

As alterações significativas foram apenas no “Tempo” e por isso a figura 15 apresenta os valores dos grupos HIIT e MICT em conjunto, separados apenas pelos momentos de coleta (*Pré* e *Pós*). Interessante salientar que os valores médios de todas variáveis lipídicas foram menores na *Sessão-Teste* após seis semanas de treinamento (*Pós*), embora nem todos estatisticamente significativos.

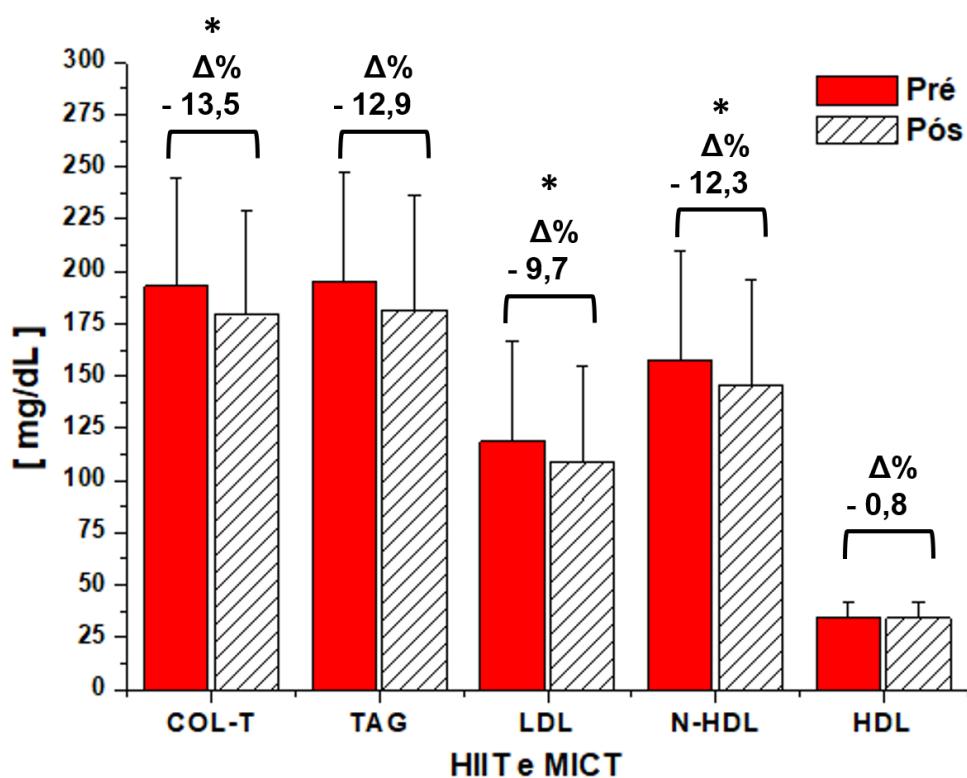


Figura 15. Valores de média e desvio padrão e média da diferença percentual das variáveis lipídicas na *Sessão-Teste* nos momentos *Pré* e *Pós* treinamento. * $p < 0,05$.

Tabela 5. Valores das concentrações de glicose e variáveis lipídicas, antes e após seis semanas de treinamento HIIT ou MICT. Resultados expostos com média e desvio padrão.

Variável	Grupo	Pré	Pós	Δ%	Efeitos	F	p-valor	η^2
COL-T (mg/dL)	HIIT	182,3 (56,4)	174,8 (53,7)	- 2,8	Tempo	1,322	0,260	0,045
	MICT	189,2 (33,3)	184,9 (36,3)	- 1,6	Grupo	0,256	0,617	0,009
HDL-c (mg/dL)	HIIT	34,3 (5,6)	33,2 (6,1)	- 3,1	TxG	0,098	0,756	0,003
	MICT	34,5 (7,3)	32,5 (3,1)	- 3,4	Tempo	2,584	0,119	0,081
LDL-c (mg/dL)	HIIT	114,8 (54,4)	112,1 (49,6)	5,0	Grupo	0,150	0,701	0,005
	MICT	117,8 (32,3)	117,0 (32,1)	2,5	TxG	0,061	0,807	0,002
N-HDL (mg/dL)	HIIT	148,0 (58,1)	141,6 (54,1)	- 1,2	Tempo	0,260	0,400	0,025
	MICT	154,7 (34,6)	152,3 (35,1)	0,4	Grupo	0,153	0,614	0,009
TAG (mg/dL)	HIIT	166,0 (46,9)	147,3 (34,9)	- 8,2	TxG	2,072	0,161	0,067
	MICT	182,0 (48,5)	177,6 (54,3)	- 0,6	Tempo	2,509	0,124	0,080
GLI (mg/dL)	HIIT	93,1 (9,4)	94,6 (9,4)	2,2	Grupo	0,798	0,205	0,053
	MICT	96,7 (25,2)	89,8 (12,4)	- 5,5	TxG	0,061	0,806	0,002

COL-T: colesterol total; **HDL-c:** lipoproteína de alta densidade; **LDL-C:** lipoproteína de baixa densidade; **N-HDL:** colesterol não HDL; **TAG:** triacilglicerol; **GLI:** glicose. *p-valor* < 0,05.

Citocinas e Hormônios sanguíneos

As citocinas plasmáticas também foram analisadas nas situações de *Jejum* e durante a *Sessão-Teste*. A tabela 6 apresenta os valores de *Jejum*, mostrando que não ocorreram alterações significativas nessas variáveis. Quando avaliadas durante a *Sessão-Teste*, as concentrações sanguíneas de IL-6 permaneceram elevadas até 60 minutos após o exercício quando comparadas as concentrações *Pré-Exerc* (Figura 16). Essa alteração no “Tempo” indica que as concentrações IL-6 se mantiveram elevadas independente do modelo de exercício. Já as concentrações de IL-10 não se alteraram significativamente no decorrer das sessões de teste, mas quando analisadas com enfoque no “Grupo” os valores do grupo MICT se mostraram superiores ($p = 0,053$) (Figura 17). As concentrações de TNF- α permaneceram estáveis durante a *Sessão-Teste*, antes e após as seis semanas de treinamento (Figura 18).

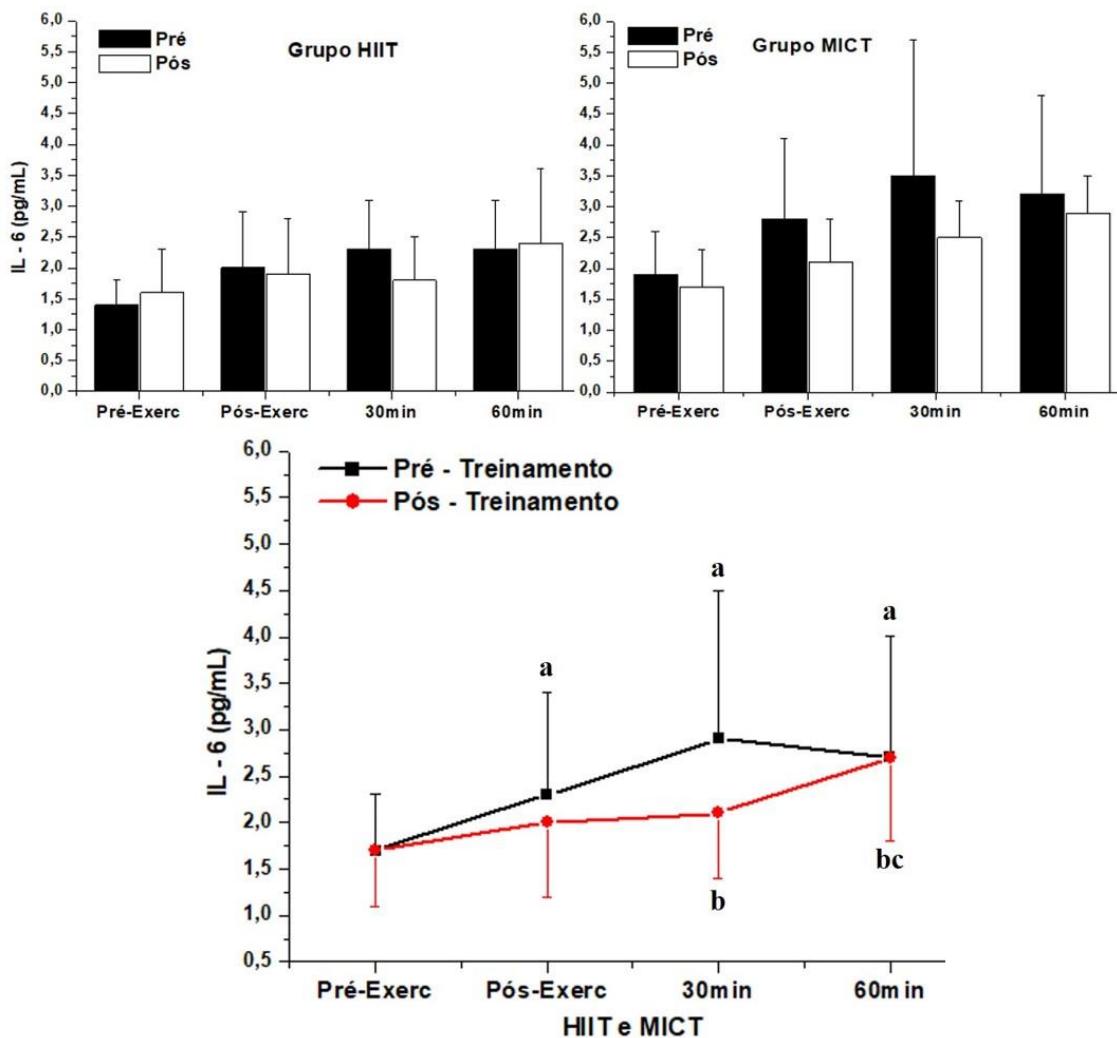


Figura 16. Valores das concentrações de interleucina 6 (IL-6), média e desvio padrão, durante a *Sessão-Teste*, *Pré* e *Pós* seis semanas de treinamento.

Os gráficos em barras apresentam o comportamento nos grupos HIIT e MICT.

O gráfico de linhas apresenta o comportamento da IL-6 com valores de HIIT e MICT agrupados e enfoque nos momentos da *Sessão-Teste*, *Pré* e *Pós*. **a:** diferente do *Pré-Exerc* (*Pré*); **b:** diferente do *Pré-Exerc* (*Pós*); **c:** diferente do *Pós-Exerc* (*Pós*). $p\text{-valor} < 0,05$.

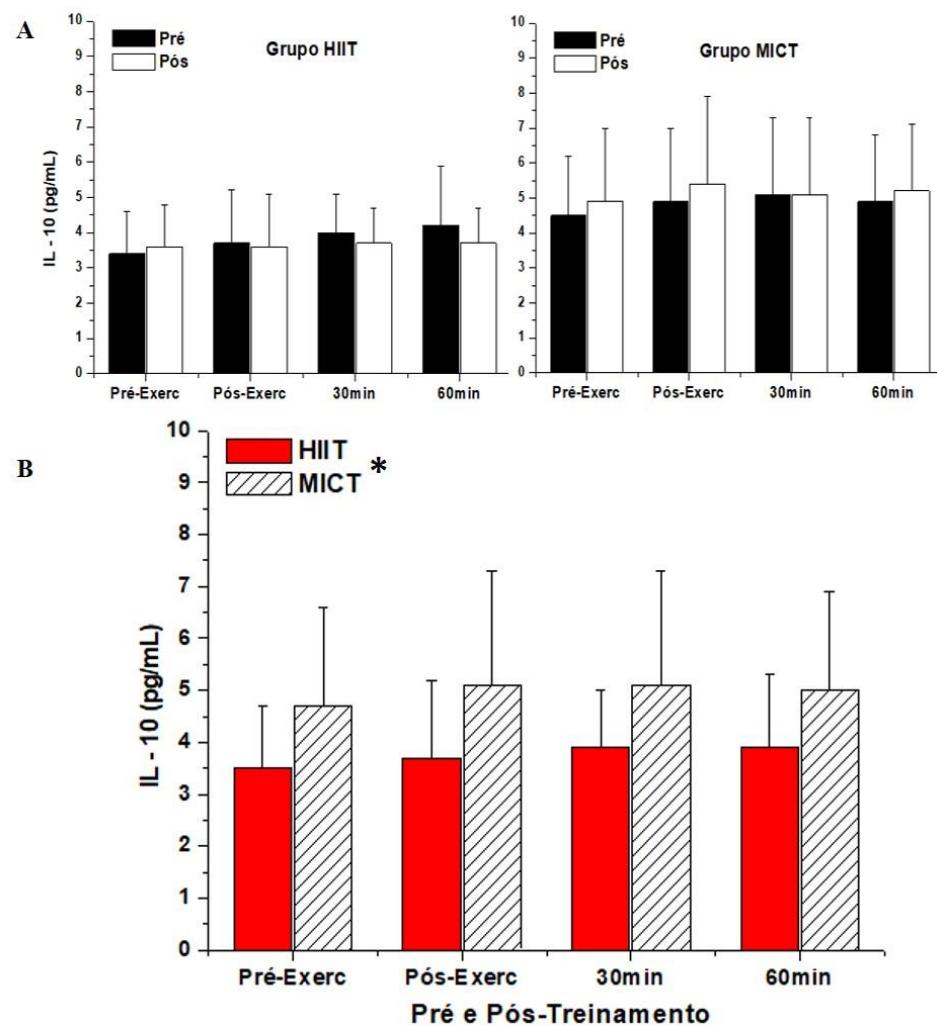


Figura 17. Concentrações sanguíneas de interleucina 10 (IL-1-0) durante a Sessão-Teste. Valores expressos com média e desvio padrão. **A:** grupos HIIT e MICT; **B:** valores *Pré* e *Pós* agrupados. * *p*-valor < 0,05

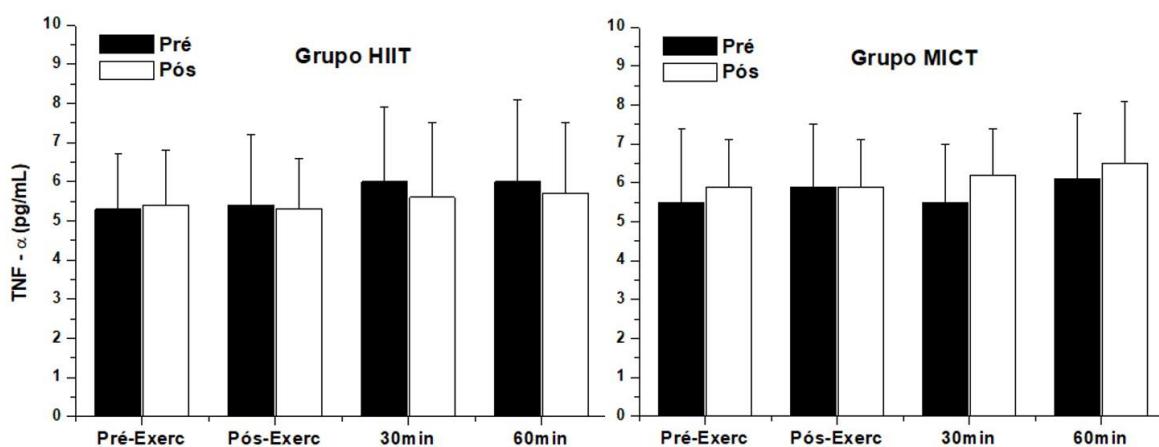


Figura 18. Comportamento das concentrações sanguíneas do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) durante a Sessão-Teste antes e após seis semanas de treinamento.

Os hormônios quantificados não apresentaram alterações significativas após o período de intervenção (Tabela 6). Porém, como ilustrado nas figuras 19 e 20, o hormônio leptina apresentou correlações positivas com MG, gordura subcutânea (Fig. 19) e %MG e correlação inversa com %MLG (Fig. 20), independente do modelo de treinamento.

Tabela 6. Valores das concentrações de hormônios e citocinas do sangue periférico, antes e após seis semanas de treinamento. Resultados expostos com média e desvio padrão.

Variável	Grupo	Pré	Pós	Δ%	Efeitos	F	p-valor	η^2
Insulina (uIU/mL)	HIIT	18,0 (8,2)	15,3 (8,5)	- 5,3	Tempo	2,134	0,155	0,069
	MICT	23,5 (17,2)	21,1 (14,6)	- 3,8	Grupo	1,905	0,178	0,062
Cortisol (μ g/dL)	HIIT	19,8 (9,2)	19,3 (9,2)	8,2	Tempo	1,961	0,172	0,061
	MICT	16,8 (9,6)	21,1 (8,4)	41,4	Grupo	0,010	0,919	0,000
Leptina (ng/mL)	HIIT	26,3 (11,5)	25,2 (12,6)	- 1,4	Tempo	0,335	0,568	0,012
	MICT	28,7 (22,1)	26,7 (14,7)	18,0	Grupo	0,160	0,693	0,006
PAI-1 (ng/mL)	HIIT	49,6 (35,4)	52,9 (35,6)	44,1	Tempo	2,286	0,143	0,081
	MICT	58,3 (34,3)	63,3 (32,8)	41,6	Grupo	0,666	0,422	0,025
IL-6 (pg/mL)	HIIT	1,6 (0,4)	1,7 (0,7)	14,2	Tempo	0,031	0,862	0,001
	MICT	1,9 (0,8)	1,7 (0,7)	- 5,6	Grupo	0,201	0,657	0,007
IL-10 (pg/mL)	HIIT	4,1 (2,2)	4,3 (1,9)	10,1	Tempo	0,518	0,478	0,020
	MICT	4,9 (1,9)	5,0 (2,4)	2,2	Grupo	0,845	0,367	0,033
TNF-α (pg/mL)	HIIT	5,6 (1,2)	5,3 (1,3)	- 4,5	Tempo	1,184	0,286	0,041
	MICT	5,8 (3,0)	5,3 (1,5)	6,6	Grupo	0,040	0,843	0,001
					TxG	0,015	0,903	0,001

PAI-1: inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1; **IL-6:** interleucina 6; **IL-10:** interleucina 10; **TNF- α :** fator de necrose tumoral alfa. p-valor < 0,05.

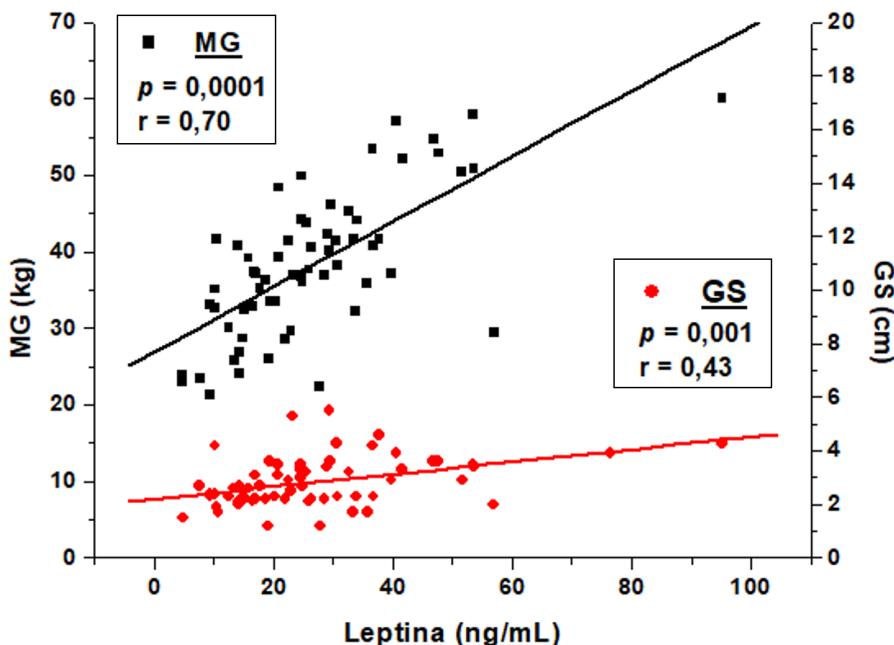


Figura 19. Correlações das concentrações de leptina com a massa gorda absoluta (MG; em preto) e gordura subcutânea (GS; em vermelho). Valores dos dois grupos agrupados (*Pré* e *Pós*). p -valor < 0,05

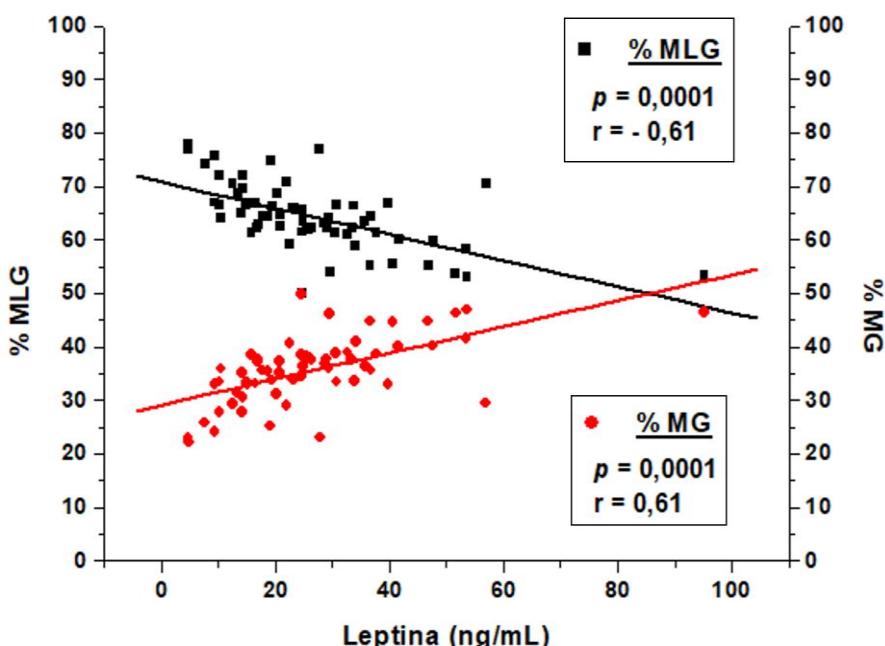


Figura 20. Correlações das concentrações sanguíneas de leptina com o percentual de massa livre de gordura (%MLG; em preto) e de massa gorda (%MG; em vermelho). Valores dos dois grupos agrupados (*Pré* e *Pós*). p -valor < 0,05

Dosagens de citocinas – Sangue total estimulado com LPS

O comportamento das concentrações de IL-10 e TNF- α estão apresentados em percentual de alteração em relação ao momento *Pré-Exerc.* A análise estatística mostrou diferença no “Tempo”, que compreende os momentos *Pré* e *Pós*, indiferente dos modelos de treinamento. Separadamente os grupos não apresentaram diferenças, porém a cinética das concentrações no momento *Pós* são aparentemente distintas (Figura 21; A) e indicam que o grupo MICT pode ter maior contribuição na diferença encontrada *Pré* e *Pós* treinamento (Figura 21; B).

Nas concentrações de TNF- α não houveram alterações significativas, porém semelhante a IL-10 o grupo MICT apresentou, visualmente, um aspecto de elevação no momento *Pós*.

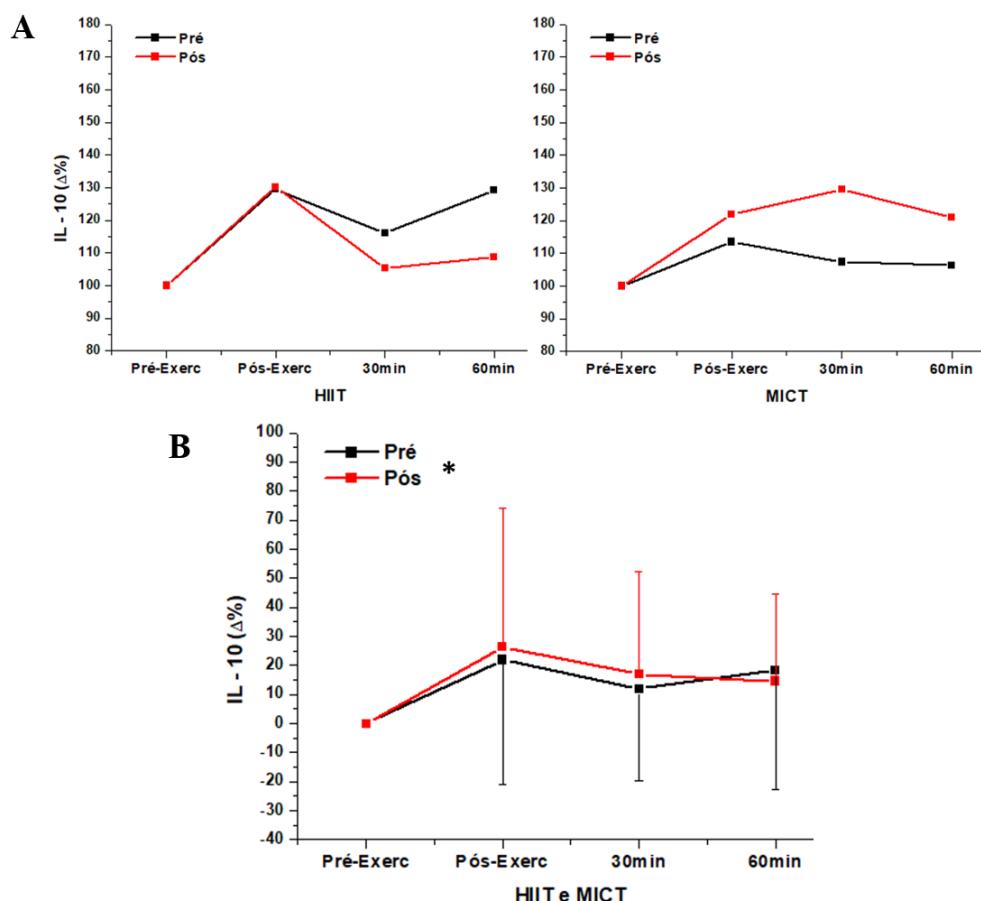


Figura 21. Interleucina 10 (IL-10) - Sessão-Teste. Alterações percentuais em relação ao momento Pré-Exercício. Sangue total periférico estimulado com LPS. * diferenças entre os momentos *Pré* e *Pós* seis semanas de treinamento. $p\text{-valor} < 0,05$

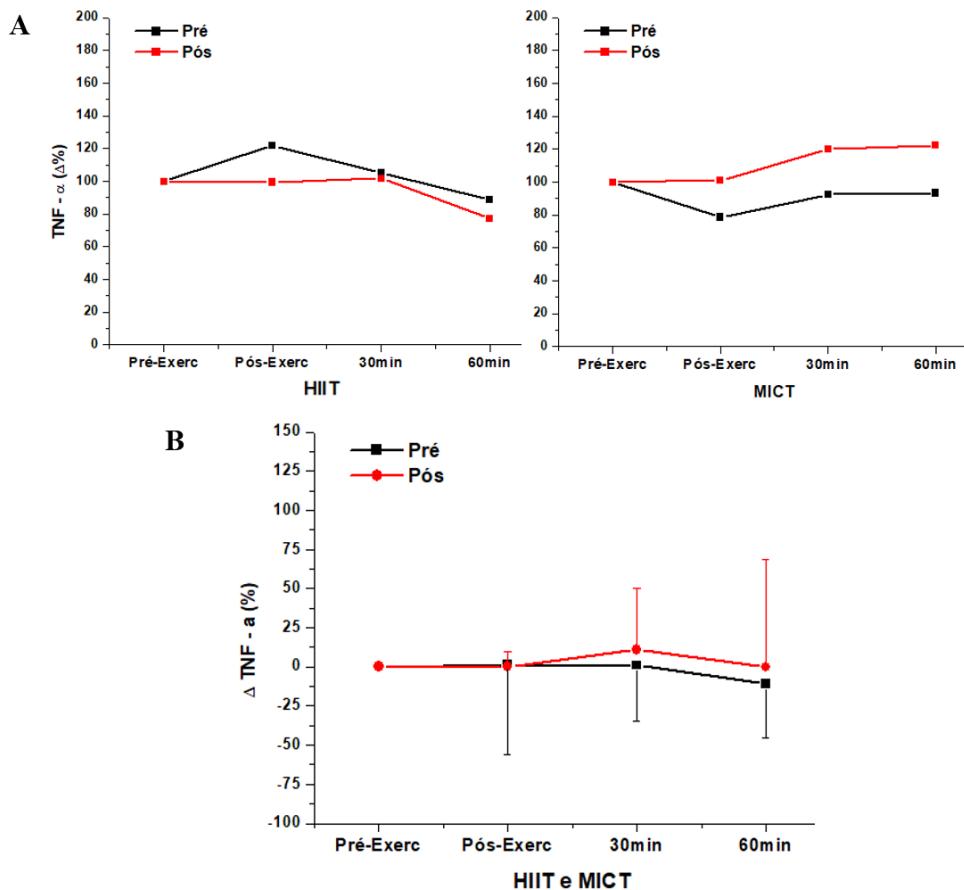


Figura 22. TNF- α - Sessão-Teste. Alterações percentuais em relação ao momento Pré-Exercício. Sangue total periférico estimulado com LPS.

Cultura de Células

Dosagens de citocinas no sobrenadante

As citocinas IL-6, IL-10 e TNF- α quantificadas no sobrenadante da cultura de monócitos foram analisadas com os dois modelos de treinamento juntos. Dessa forma, o foco foi nos estímulos (LPS, LPS + Rosiglitazona e LPS + GW9662) e o momento de treinamento (*Pré* e *Pós*). A figura 23 mostra o percentual de alteração das citocinas comparando a concentração do poço estimulado com LPS com o poço Controle que não recebeu estímulos. As concentrações de TNF- α foram significativamente elevadas após a incubação com LPS ($p=0,040$).

As concentrações absolutas das citocinas após a incubação com LPS foram usadas como referência para comparação com os poços que receberam rosiglitazona ou GW9662 além de LPS. A figura 24 mostra esses valores relativizados pelo poço LPS. nos momentos *Pré* e *Pós* treinamento. Após as seis semanas de treinamento as concentrações de TNF- α foram significativamente maiores que o momento *Pré* ($p = 0,002$).

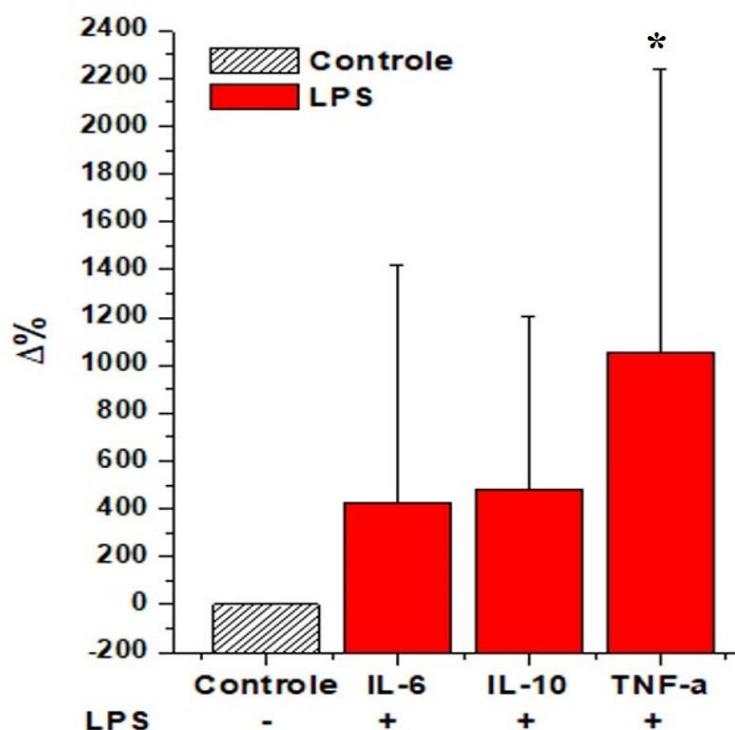


Figura 23. Concentrações das citocinas IL-6, IL-10 e TNF- α no meio de cultura de monócitos incubados por 24 horas com LPS. Valores expressos em percentual de alteração ($\Delta\%$) relativo ao poço Controle, que não recebeu estímulos para incubação. * p -valor < 0,05

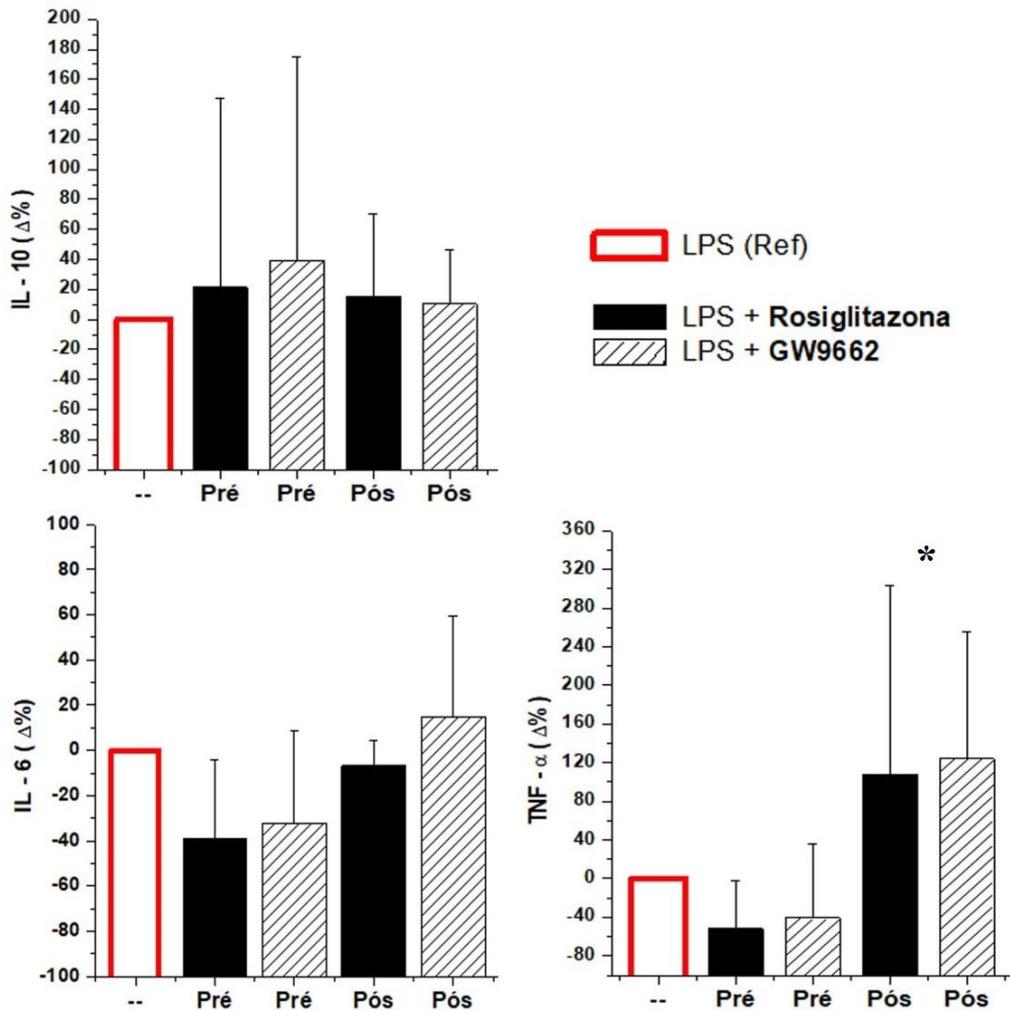


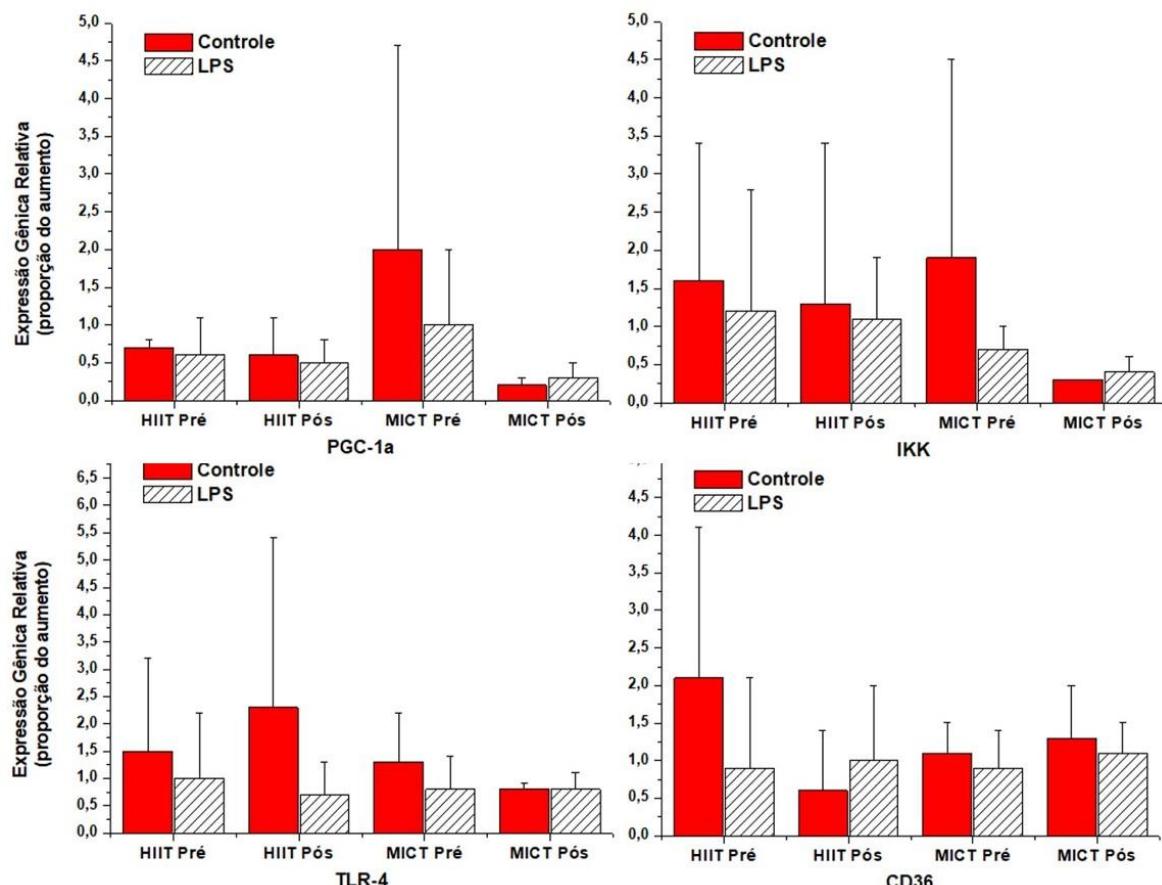
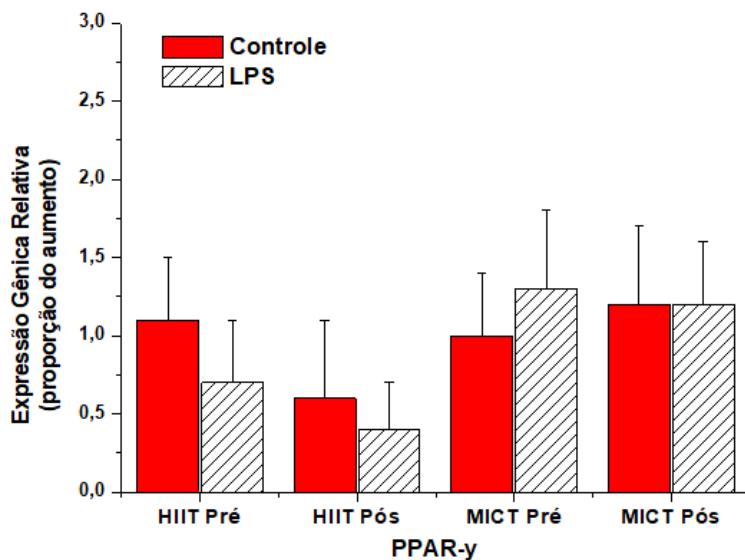
Figura 24. Percentual de alteração ($\Delta\%$) nas concentrações das citocinas IL-6, IL-10 e TNF- α no meio de cultura de monócitos incubados por 24 horas com LPS somado a rosiglitazona ou somado ao GW9662. Valores relativizados pelo poço estimulado apenas com LPS. Momento Pré e Pós seis semanas de treinamento.

* diferença Pré x Pós p -valor < 0,05

Expressão Gênica

Os resultados de expressão gênica estão apresentados de acordo com as alterações dos genes avaliados em relação (número de vezes) ao gene GAPDH usado como “controle” (Figuras 25 e 26).

Após as seis semanas de treinamento, a expressão de nenhum dos genes avaliados foi alterada de forma significativa.



Citometria de Fluxo

A técnica de citometria de fluxo foi utilizada no momento *Pré* para avaliar o perfil dos monócitos dos participantes. Como já detalhado na seção de métodos, foram utilizados os marcadores CD14 e CD16. A figura 27 mostra os resultados do conjunto de monócitos estratificados de acordo com a intensidade de fluorescência apresentada. A nomenclatura adotada é a mesma amplamente utilizada na literatura, denominando como “Clássicos” os monócitos que apresentam grande expressão de CD14 e reduzida de CD16, de “Intermediários” os com grande expressão de CD14 e menos de CD16 e de “Não-clássicos” aquela parcela que apresenta menor expressão de CD14 e elevada CD16.

Os resultados evidenciam, nitidamente, uma maior parcela dos monócitos de características clássicas. Isso era esperado com o perfil de sedentários e obesos dos avaliados. Monócitos *Clássicos* são reconhecidos por sua maior produção de citocinas pró-inflamatórias e polarização para macrófagos “M1” quando se infiltram nos tecidos que os atraem. Nossa laboratório de pesquisa (LaFiCE) também realiza projetos com indivíduos eutróficos com diferentes níveis de condicionamento físico e quando comparamos o perfil dos monócitos entre eles, os indivíduos obesos apresentaram valores significativamente maiores de monócitos *Clássicos* (dados ainda não publicados).

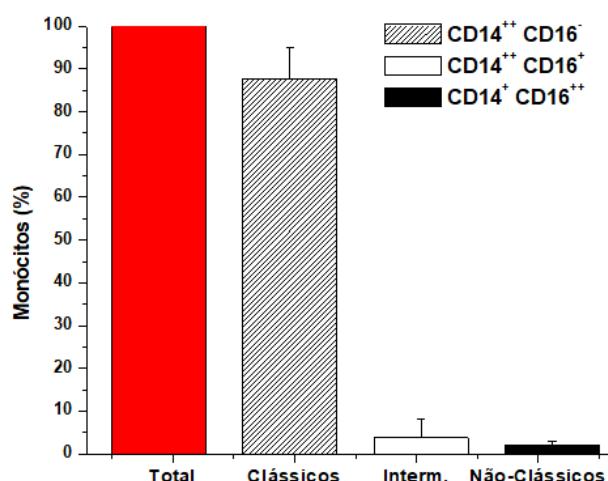


Figura 27. PBMCs marcadas com anticorpos CD14 e CD16. Média e desvio padrão das subpopulações de monócitos, classificadas de acordo com a magnitude da expressão das proteínas de membrana celular CD14 e CD16.

5. DISCUSSÃO

No presente estudo, após seis semanas de treinamento HIIT ou MICT os participantes, obesos e insuficientemente ativos, aprimoraram a aptidão aeróbia e o desempenho de corrida, representados pelo VO₂max e Vmax respectivamente. Medidas hemodinâmicas importantes como a pressão arterial sistólica e diastólica diminuíram e as variáveis de composição corporal se modificaram com aumento no percentual de massa livre de gordura e redução dos estoques de gordura subcutânea.

As concentrações sanguíneas em jejum dos hormônios, citocinas, componentes do perfil lipídico e glicose não se modificaram. No entanto, os valores de COL-T, LDL-c e N-HDL coletados na *Sessão-Teste* foram menores após as seis semanas de treinamento nos dois modelos de exercício testados. A cinética das concentrações de IL-6 se alterou, elevando-se em menor proporção logo após a sessão de exercícios. Os resultados de cultura de células e expressão gênica foram inconclusivos e necessitam ser complementados com um número maior de participantes e outros genes, respectivamente.

Um dos principais resultados do presente estudo, foi a melhora na potência aeróbia dos participantes. Esse índice é muito utilizado no âmbito das avaliações esportivas e também por cardiologistas para averiguação da condição cardiopulmonar. O valor de VO₂, definido pelo produto do débito cardíaco e diferença arteriovenosa de O₂ (equação de Fick), agrupa mecanismos de captação, transporte e absorção de oxigênio e por isso é muito confiável para avaliar a capacidade aeróbia funcional (HERDY & CAIXETA, 2016). Para que os valores de VO₂max sejam aumentados, são mobilizados muitos mecanismos fundamentais para o funcionamento cardiovascular, e por esse motivo é um importante indicativo de riscos de doenças nesse sistema. Muitos estudos têm evidenciado as associações da baixa aptidão aeróbia com mortes por DCV e todas as outras causas (BARRY et al., 2014; KAMINSKY et al., 2013; SWIFT et al., 2013; VUORI et al., 2013; FRANKLIN et al., 2013; LEE et al., 2011;

KODAMA et al., 2009). A meta-análise de Kodama et al. (2009) que contemplou mais de cem mil indivíduos, indicou que o aumento de um MET (3,5 mL/kg/min) na aptidão aeróbia corresponde a redução de 15% nas mortes por DCV e doenças coronárias e em 13% nas relacionadas a todas outras causas. Lee et al. (1999) usando o banco de dados (n= 21.925) do projeto ACLS (*Aerobics Center Longitudinal Study*) mostrou que o risco relativo de morte por DCV de indivíduos obesos e treinados não foi diferente dos eutróficos treinados, mas era três vezes menor quando comparados aos indivíduos obesos e inativos. Os resultados desses e outros estudos não descartam a importância do controle da hipertrofia do tecido adiposo e suas influências metabólicas pró-inflamatórias, mas deixam evidente a maior relevância da capacidade funcional do sistema cardiorrespiratório no âmbito geral da saúde.

O desempenho de corrida (Vmax) melhorou nos dois grupos, mas o percentual de aumento foi superior no grupo HIIT ($\Delta\% = 10,0$). Adaptações motoras, ao padrão de movimento de corrida, e nos mecanismos de absorção de O₂ e nutrientes e remoção de CO₂ e outros metabólitos, promovem maior eficiência mecânica e metabólica possibilitando aumento na velocidade de corrida. A melhora do VO₂max e da Vmax tornam as atividades diárias menos desgastantes, e as sensações de bem-estar mais frequentes. Esses são componentes importantes para estimular a adesão e permanência dos indivíduos em programas de exercícios físicos.

Outro aspecto importante, principalmente em obesos, são as alterações que o treinamento pode promover na composição corporal. Em recente meta-análise Keating et al. (2017) compararam as alterações na MG e %MG entre estudos que utilizaram HIIT/SIT (SIT= *sprint interval training*) ou MICT, indicando não haver diferenças importantes entre os modelos e que nenhum dos estudos promoveu redução clinicamente relevante nessas variáveis. Interessante ressaltar que embora não significativo, nos estudos em que as sessões não são equiparadas (trabalho ou gasto energético) os resultados favorecem o MICT, porém

quando equiparados essa vantagem desaparece. Em outra meta-análise, Batacan et al. (2017) mostraram só haver redução no %MG nos estudos com sobrepesados/obesos e tempo de intervenção igual ou superior a 12 semanas. No presente estudo, após seis semanas de treinamento também não houve modificações nas variáveis citadas acima, mas o %MLG aumentou e a GS diminuiu em ambos os grupos. O valor de %MLG é relativo a massa corporal total e dessa forma, a redução da MG e aumento de MLG, embora não significativos, justificam esse resultado. Quanto aos diferentes locais de deposição de gordura, apenas o depósito subcutâneo foi reduzido. A meta-análise de Vissers et al. (2013) mostrou que programas de exercícios aeróbios, principalmente os de maior intensidade, podem diminuir a gordura visceral mesmo na ausência de dietas específicas. E recentemente em outra meta-análise, Maillard et al. (2017) reafirmaram esses resultados. Considerando esses estudos, nota-se a importância de se considerar o gasto energético da sessão e que a intervenção deve ter preferencialmente duração maior ou igual 12 semanas.

As coletas sanguíneas realizadas no início e ao final do período de treinamento permitiram a avaliação de hormônios que têm participação importante em processos metabólicos que são influenciados negativamente com a hipertrofia do tecido adiposo e constante sobrecarga calórica oriunda de padrões alimentares inadequados. Insulina e leptina em conjunto contribuem diretamente para sensação de saciedade e consequente redução da ingestão de alimentos. No quadro complexo da obesidade, muitas vezes a ação desses hormônios é ineficiente por mecanismos relacionados a seus receptores. Essa ineficiência na transmissão dos estímulos, alimenta um ciclo que promove a síntese e liberação de grandes quantidades desses hormônios na corrente sanguínea. Dessa forma, a redução média de aproximadamente 3uIU/mL nas concentrações basais de insulina, mesmo não significativas estatisticamente, podem ser relevantes para essa população. As concentrações de leptina também não se modificaram, mas como relatado acima, houve redução da GS e aumento de

%MLG, duas variáveis significativamente correlacionadas a ela. Em conjunto, esses resultados indicam que melhorias significativas podem ocorrer com a continuidade do treinamento por períodos superiores a seis semanas.

As concentrações das lipoproteínas, glicose, IL-6, IL-10 e TNF- α no sangue periférico foram quantificadas e avaliadas com enfoque agudo, nos momentos dentro de cada *Sessão-Teste*, e de forma crônica quando os valores de *Jejum* e da *Sessão-Teste* foram comparados nos momentos *Pré* e *Pós*. Nenhuma alteração significativa ocorreu nos valores basais após seis semanas de treinamento. Porém, na *Sessão-Teste* onde a dinâmica metabólica está alterada para suprir as demandas impostas pelos estímulos do modelo HIIT ou MICT, as diferenças apareceram. Nas variáveis do perfil lipídico, reduções significativas nos valores de COL-T, LDL-c e N-HDL indicam que mecanismos de liberação e captação das lipoproteínas foi otimizado. Neste estudo não foram avaliados outros marcadores necessários para melhor entendimento dessas vias específicas.

As citocinas do sangue periférico apresentaram diferenças nas concentrações e padrões de comportamento após treinamento aeróbio. Para IL-6 foi visto que as concentrações diminuíram após o período de treinamento aeróbio nos dois grupos. Sua elevação no momento *Pós-Exerc* da *Sessão-Teste* foi atenuada, e por isso as diferenças significativas ocorreram apenas a partir de 30 minutos após o fim da sessão. Esses resultados em conjunto com o melhor desempenho de corrida apresentado pelos participantes, indica adaptações importantes, uma vez que essa interleucina tem participação nos mecanismos de mobilização e metabolismo de substratos energéticos.

Por outro lado, as concentrações de IL-10 apresentaram diferenças entre os grupos. Quando os valores da *Sessão-Teste* nos momentos *Pré* e *Pós* foram analisados juntos, o grupo MICT mostrou valores significativamente maiores que os do grupo HIIT. Nas dosagens do sangue periférico estimulado por uma hora com LPS, a diferença estatística para IL-10,

ocorreu apenas entre os momentos *Pré* e *Pós* e não entre grupos. No entanto, o constante aumento ocorrido no grupo MICT (Figura 21) pode ter sido o responsável por essa diferença.

Considerando as propriedades anti-inflamatórias da IL-10 e somando-se a isso, a redução de IL-6 e estabilização de TNF- α , pode-se entender que após um período de treinamento, as adaptações impostas pelo estresse dos dois modelos exercício, são favoráveis para auxiliar a atenuação e prevenção de processos pró-inflamatórios, recorrentes na obesidade e outras doenças metabólicas.

As concentrações das citocinas dosadas no meio de cultura de células, mostraram que após 24 horas de estímulo com LPS, apenas a secreção de TNF- α foi aumentada. Esse comportamento também se manteve quando rosiglitazona ou GW9662 foram acrescentados ao LPS, compostos que são, respectivamente, agonista e antagonista do PPAR- γ . Esses resultados somados a não alteração da expressão dos genes avaliados, indicam que a intervenção proposta não provocou alterações significativas nas vias metabólicas em questão.

Frente aos resultados aqui apresentados, é importante ressaltar que ao final das seis semanas treinamento o grupo HIIT realizou, na média, menos da metade do volume do grupo MICT (28,9 e 59,3 km respectivamente). E que esse é o primeiro estudo, de nosso conhecimento, que considerou a participação do metabolismo anaeróbio para equalização do gasto energético das sessões dos dois modelos de treinamento. Isso nos permite analisar os resultados com enfoque nas diferenças do volume, intensidade e tipo específico dos estímulos de cada modelo de exercício.

6. CONCLUSÃO

Os dois modelos de treinamento aeróbio realizados em esteira rolante por seis semanas promoveram melhoras significativas e semelhantes na aptidão aeróbia, desempenho de corrida, redução da pressão arterial e gordura subcutânea. O gasto energético da sessão equalizado entre os grupos de treinamento se mostrou mais importante que as diferenças de volume e intensidade dos protocolos, para as adaptações nas variáveis aqui estudadas. Dessa forma, a quantificação e equalização do gasto energético contemplando o componente anaeróbio é fundamental quando o objetivo é a comparação de modelos de treinamento.

Limitações e Considerações finais

Os resultados das concentrações das citocinas e expressão gênica da cultura de células serão complementados, pois devido a alguns problemas técnicos, estão com algumas lacunas importantes. Por esse motivo foram discutidos brevemente a partir da parcela que está adequadamente finalizada.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AUGUSTEMAK DE LIMA LR, RECH CR, PETROSKI EL. Use of bioelectrical impedance for the estimation of skeletal muscle mass in elderly men. *Arch Latinoam Nutr.* 2008;58(4):386–391.
- ADES PA, SAVAGE PD, TOTH MJ, et al. High-calorie-expenditure exercise: a new approach to cardiac rehabilitation for overweight coronary patients. *Circulation.* 2009;119(20):2671-8.
- ALVAREZ C, RAMIREZ-CAMPILLO R, MARTINEZ-SALAZAR C, et al. High-Intensity Interval Training as a Tool for Counteracting Dyslipidemia in Women. *Int J Sports Med.* 2018;05: 397-406.
- BATACAN RB JR, DUNCAN MJ, DALBO VJ, et al. Effects of high-intensity interval training on cardiometabolic health: a systematic review and meta-analysis of intervention studies. *Br J Sports Med.* 2017;51:494-503
- BLAIR SN. Physical inactivity: the biggest public health problem of the 21st century. *Br J Sports Med.* 2009;43:1-2.
- BOOTH FW, ROBERTS CK, LAYE MJ. Lack of exercise is a major cause of chronic diseases. *Compr Physiol.* 2012;2(2):1143-211.
- BOUHLEL MA, DERUDAS B, RIGAMONTI E, et al. PPAR γ Activation Primes Human Monocytes into Alternative M2 Macrophages with Anti-inflammatory Properties. *Cell Metabolism.* 2007;6,(2):137-143.
- BORG G. Escalas de Borg para a Dor e o Esforço Percebido. São Paulo: Manole; 2000.
- BRADFORD MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976;72,(1-2):248-254.
- BREWER HB Jr. High-density lipoproteins: a new potential therapeutic target for the prevention of cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24:387–91.
- BUSTIN SA. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. *J Mol Endocrinol.* 2000;25(2), 169-193.
- BUTCHER LR, THOMAS A, BACKX K, et al. Low-intensity exercise exerts beneficial effects on plasma lipids via PPARgamma. *Med Sci Sports Exerc.* 2008;40(7):1263–1270.
- CAMPAIGNE BN, FONTAINE RN, PARK MSC. Reverse cholesterol transport with acute exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 1993, 25 (12): 1346-51.
- CATRYSSE L, VAN LOO G. Inflammation and the Metabolic Syndrome: The Tissue-Specific Functions of NF- κ B. *Trends Cell Biol.* 2017;27,(6):417-429.
- CHAPADOS NA, SEELAENDER M, LEVY E, et al. Effects of exercise training on hepatic microsomal triglyceride transfer protein content in rats. *Horm Metab Res.* 2009;41(4):287–293.

- CHINETTI G, LESTAVEL S, BOCHER V, et al. PPAR-alpha and PPAR-gamma activators induce cholesterol removal from human macrophage foam cells through stimulation of the ABCA1 pathway. *Nature Medicine*. 2001;7(1):53–58.
- CHINETTI G, GRIGLIO S, ANTONUCCI M, et al. Activation of proliferator-activated receptors alpha and gamma induces apoptosis of human monocyte-derived macrophages. *J Biol Chem*. 1998;273:25 573–25580
- CROUSE SF, O'BRIEN BC, ROHACK JJ, et al. Changes in serum lipids and apolipoproteins after exercise in men with high cholesterol: influence of intensity. *J Appl Physiol*. 1995;79(1):279–86
- DICKINSON S, HANCOCK DP, PETOCZ P, et al. High-glycemic index carbohydrate increases nuclear factor-kappaB activation in mononuclear cells of young, lean healthy subjects. *Am J Clin Nutr*. 2008;87:1188–1193
- ELMER DJ, LAIRD RH, BARBERIO MD, et al. Inflammatory, lipid, and body composition responses to interval training or moderate aerobic training. *Eur J Appl Physiol*. 2016;116:601–609.
- EPSTEIN LH, VALOSKI AM, VARA LS, et al. Effects of decreasing sedentary behavior and increasing activity on weight change in obese children. *Health Psychol*. 1995;14(2):109–15
- DURSTINE JL, GRANDJEAN PW, COX CA, et al. Lipids, lipoproteins, and exercise. *J Cardiopul Rehabil*. 2002;22:385–98.
- FERGUSON MA, ALDERSON NL, TROST SG, et al. Effects of four different single exercise sessions on lipids, lipoproteins and lipoprotein lipase. *J Appl Physiol*. 1998;85:1169–74
- FÖLDES G, VON HAEHLING S, OKONKO DO, et al. Fluvastatin reduces increased blood monocyte toll-like receptor 4 expression in whole blood from patients with chronic heart failure. *Int J Cardiol*. 2008;124:80–85.
- FONSECA-ALANIZ MH, TAKADA J, ALONSO-VALE MIC, et al. O Tecido Adiposo Como centro Regulador do Metabolismo. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2006;50/2, 216-229.
- FOSTER C, FLORHAUG JA, FRANKLIN J, et al. A new approach to monitoring exercise training. *J Strength Cond Res*. 2001;15(1):109-115.
- GABRIEL B, RATKEVICIUS A, GRAY P, et al. High-intensity exercise attenuates postprandial lipaemia and markers of oxidative stress. *Clin Sci (Lond)*. 2012;123(5):313–21.
- GRANDJEAN PW, CROUSE SF, ROHACK JJ. Influence of cholesterol status on blood lipid and lipoprotein enzyme responses to aerobic exercise. *J Appl Physiol*. 2000;89(2):472–480.
- HANDSCHIN C, SPIEGELMAN BM: The role of exercise and PGC1alpha in inflammation and chronic disease. *Nature*.2008;454:463–469.
- HELMERUD J, HØYDAL K, WANG E, et al. Aerobic high-intensity intervals improve VO₂max more than moderate training. *Med Sci Sports Exerc*. 2007;39(4):665-71.

HERDY AH, CAIXETA A. Brazilian Cardiorespiratory Fitness Classification Based on Maximum Oxygen Consumption. *Arq. Bras. Cardiol.* 2016;106,5

HOTAMISLIGIL GS, SHARGILL NS, SPIEGELMAN BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*. 1993;259:87–91

HOTAMISLIGIL GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*. 2006;444, 860–867

HUANG Z, YANG Y, JIANG Y, et al. Anti-tumor immune responses of tumor-associated macrophages via toll-like receptor 4 triggered by cationic polymers. *Biomaterials*. 2013;34:746–55.

JOHNSON BA, et al. Ligand-induced stabilization of PPARgamma monitored by NMR spectroscopy: implications for nuclear receptor activation. *J Mol Biol*. 2000;298:187–94.

KING GL. The role of inflammatory cytokines in diabetes and its complications. *J Periodontol*. 2008; 79: 1527– 1534

KNOWLER WC, BARRETT-CONNOR E, FOWLER SE, et al.; Diabetes Prevention Program Research Group. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med*. 2002;346:393–403

KODAMA S, SAITO K, TANAKA S, et al. Cardiorespiratory fitness as a quantitative predictor of all-cause mortality and cardiovascular events in healthy men and women: a meta-analysis. *JAMA*. 2009;301:2024–2035

KRAUS WE, HOUWARD JA, DUSCHA BD, et al. Effects of the amount and intensity of exercise on plasma lipoproteins. *N Engl J Med*. 2002;347(19):1483-92.

KROGH-MADSEN R, PEDERSEN M, SOLOMON TP, et al. Normal physical activity obliterates the deleterious effects of a high-caloric intake. *J Appl Physiol* (1985). 2014;116: 231–239.

LASKEY MA, CRISP AJ, COLE TJ, et al. Comparison of the effect of different reference data on Lunar DPX and Hologic QDR-1000 dual-energy X-ray absorptiometers. *Br J Radiol*. 1992;65(780):1124-9

LEAF DA. The effect of physical exercise on reverse cholesterol transport. *Metabolism*. 2003;52:950–7.

LEE IM, SHIROMA EJ, LOBELO F, et al. Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: an analysis of burden of disease and life expectancy. *Lancet*. 2012;380(9838):219-29.

LEE JY, SOHN KH, RHEE SH, et al. Saturated fatty acids, but not unsaturated fatty acids, induce the expression of cyclooxygenase-2 mediated through Toll-like receptor 4. *J Biol Chem*. 2001;276:16683–16689

LIBBY P, LICHTMAN AH, HANSSON GK. Immune effector mechanisms implicated in atherosclerosis: from mice to humans. *Immunity*. 2013;38(6):1092-104.

LIRA FS, TAVARES FL, YAMASHITA AS, et al. Effect of endurance training upon lipid metabolism in the liver of cachectic tumour-bearing rats. *Cell Biochem Funct.* 2008;26:701-8.

LIRA FS, ROSA JC, YAMASHITA AS, et al. Endurance training induces depot specific changes in IL-10/TNF- α ratio in rat adipose tissue. *Cytokine.* 2009; 45, 2: 80–85.

LIRA FS, ZANCHI NE, LIMA-SILVA AE, et al. Acute high-intensity exercise with low energy expenditure reduced LDL-c and total cholesterol in men. *Eur J Appl Physiol.* 2009, 107: 203-10

LIRA FS, ROSA JC, PIMENTEL GD, et al. Inflammation and adipose tissue: effects of progressive load training in rats. *Lipids Health Dis.* 2010;9:109.

LIRA FS, ROSA JC, PIMENTEL GD, et al. Endotoxin levels correlate positively with a sedentary lifestyle and negatively with highly trained subjects. *Lipids Health Dis.* 2010;9:82.

LIRA FS, ROSA JC, LIMA-SILVA AE, et al. Sedentary subjects have higher PAI-1 and lipoproteins levels than highly trained athletes. *Diabetol Metab Syndr.* 2010;2:7.

LIRA FS, CARNEVALI LC, ZANCHI NE, et al. Exercise intensity modulation of hepatic lipid metabolism. *J Nutr Metab.* 2012;2012:809576.

LIVAK KJ, SCHMITTGEN TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods.* 2001;25(4):402-8

LOHMAN TG, ROCHE AF, MARTORELL R, editors. Anthropometric standardization reference manual. Champaign (IL): *Human Kinetics.* 1988;3-8.

MAGKOS F, PATTERSON BW, MOHAMMED BS, et al. A single 1-h bout of evening exercise increases basal FFA flux without affecting VLDL-triglyceride and VLDL-apolipoprotein B-100 kinetics in untrained lean men. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism.* 2007;292:E1568–1574.

MAGKOS F, TSEKOURAS YE, PRENTZAS KI, et al. Acute exercise-induced changes in basal VLDL-triglyceride kinetics leading to hypotriglyceridemia manifest more readily after resistance than endurance exercise. *J Appl Physiol.* 2008;105(4):1228–36

MAGKOS F. Basal very low-density lipoprotein metabolism in response to exercise: mechanisms of hypotriacylglycerolemia. *Prog Lipid Res.* 2009;48(3-4):171–90

MAILLARD F, PEREIRA B, BOISSEAU N. Effect of high-intensity interval training on total, abdominal and visceral fat mass: a meta-analysis. *Sports Med.* 2018;48, 269–288.

MILANOVIĆ Z, SPORIŠ G, WESTON M. Effectiveness of High-Intensity Interval Training (HIT) and Continuous Endurance Training for VO₂max Improvements: A Systematic Review and Meta-Analysis of Controlled Trials. *Sports Med.* 2015;45(10):1469-81.

MONDON CE, DOLKAS CB, TOBEY T, et al. Causes of the triglyceride-lowering effect of exercise training in rats. *J Appl Physiol.* 1984;57:1466–71

- MOHOLDT TT, AMUNDSEN BH, RUSTAD LA, et al. Aerobic interval training versus continuous moderate exercise after coronary artery bypass surgery: A randomized study of cardiovascular effects and quality of life. *Am Heart J.* 2009;158:1031–1037.
- MONTEIRO CA, CONDE WL, MATSUDO SM, et al. A descriptive epidemiology of leisure-time physical activity in Brazil, 1996-1997. *Rev Panam Salud Publica.* 2003;14(4):246-54
- NETO JC, LIRA FS, de MELLO MT, et al. Importance of exercise immunology in health promotion. *Amino Acids.* 2011;41(5), 1165-1172.
- Nunn AVW, BELL J, BARTER P. The integration of lipid-sensing and anti-inflammatory effects: how the PPARs play a role in metabolic balance. *Nuclear Receptor.* 2007;5: 1-13.
- OSBORN O, OLEFSKY JM. The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease. *Nat Med.* 2012;18:363–374.
- PETERSEN AM, PEDERSEN BK. The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol* (1985). 2005;98(4):1154-62.
- PILEGAARD H, ORDWAY GA, SALTIN B, et al. Transcriptional regulation of gene expression in human skeletal muscle during recovery from exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000;279: E806–E814.
- PLUTZKY J. The potential role of peroxisome proliferator-activated receptors on inflammation in type 2 diabetes mellitus and atherosclerosis. *Am J Cardiol.* 2003;92:34J–41J.
- RIBEIRO-FILHO FF, FARIA AN, AZJEN S, et al. Methods of estimation of visceral fat: advantages of ultrasonography. *Obes Res.* 2003;11:1488–1494
- RODRIGUEZ NR, DI MARCO NM, LANGLEY S. American college of sports medicine position stand. nutrition and athletic performance. *Medicine and science in sports and exercise,* Madison. 2009;41,3,709-731.
- ROGNMO O, HETLAND E, HELGERUD J, et al. High intensity aerobic interval exercise is superior to moderate intensity exercise for increasing aerobic capacity in patients with coronary artery disease. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2004;11: 216–222.
- ROGNMO O, MOHOLDT T, BAKKEN H, et al. Cardiovascular risk of high- versus moderate-intensity aerobic exercise in coronary heart disease patients. *Circulation.* 2012;126: 1436–1440.
- ROSS R. Atherosclerosis — an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999;340:115-26.
- SALVO VLMA, GIMENO SGA. Reprodutibilidade e validade do questionário de frequência de consumo de alimentos. *Rev. Saúde Pública.* 2002;36,4,505-512.
- SCHREIBER SS, KAMAHORA T, LAI MMC. Sequence analysis of the nucleocapsid protein gene of human coronavirus 229E. *Virology.* 1989;169:152–151.
- SCHJERVE IE, TYLDUM GA, TJØNNA AE, et al. Both aerobic endurance and strength training programs improve cardiovascular health in obese adults. *Clin Sci.* 2008;115:283–293.

SEIP RL, MOULIN P, COCKE T, et al. Exercise training decreases plasma cholesteryl ester transfer protein. *Arterioscler Thromb*. 1993;13: 1359–1367.

SEIP RL, MAIR K, COLE TG, et al. Induction of human skeletal muscle lipoprotein lipase gene expression by short-term exercise is transient. *American Journal of Physiology*. 1997;272:E255–261

SEIP RL, SEMENKOVICH CF. Skeletal muscle lipoprotein lipase: molecular regulation and physiological effects in relation to exercise. *Exerc Sport Sci Rev*. 1998;26:191-218.

SHIMOMURA I, FUNAHASHI T, TAKAHASHI M, et al. Enhanced expression of PAI-1 in visceral fat: possible contributor to vascular disease in obesity. *Nat Med*. 1996;2:800–803.

SPATE-DOUGLAS T, KEYSER RE. Exercise intensity: its effect on the high-density lipoprotein profile. *Arch Phys Med Rehabil*. 1999;80 (6):691-695.

STEIN RA, MICHELLI DW, GLANTZ MD, et al. Effects of different exercise training intensities on lipoprotein cholesterol fractions in healthy middle-aged men. *Am Heart J*. 1990;119,2, Part 1,277-283.

TAKEDA K., AKIRA S. TLR signaling pathways. *Semin Immun*. 2004;16,1,3–9.

TAKEUCHI O, AKIRA S. Toll-like receptors; their physiological role and signal transduction system. *Int Immunopharmacol*. 2001;1(4):625–635

THOMAS AW, DAVIES NA, MOIR H, et al. Exercise-associated generation of PPAR γ ligands activates PPAR γ signaling events and upregulates genes related to lipid metabolism. *J Appl Physiol*. 2012;112:5, 806-815

TJONNA AE, LEE SJ, ROGNMO O, et al. Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise as a treatment for the metabolic syndrome—a pilot study. *Circulation*. 2008;118:346–354.

TRAPP EG, CHISHOLM DJ, FREUND J, et al. The effects of high-intensity intermittent exercise training on fat loss and fasting insulin levels of young women. *Int J Obes*. 2008;32(4):684–691.

TROMBOLD JR, CHRISTMAS KM, MACHIN DR, et al. Acute high-intensity endurance exercise is more effective than moderate-intensity exercise for attenuation of postprandial triglyceride elevation. *J Appl Physiol*. 2013;114:792–800.

TSEKOURAS YE, MAGKOS F, KELLAS Y, et al. High-intensity interval aerobic training reduces hepatic very low-density lipoprotein-triglyceride secretion rate in men. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2008;295:4, E851-E858

8. ANEXOS

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da Pesquisa: “.....”

Nome do (a) Pesquisador (a): Fábio Santos de Lira

Nome do (a) Orientador (a): Fábio Santos de Lira

1. **Natureza da pesquisa:** o sr. está sendo convidado a participar desta pesquisa que tem como finalidade examinar o impacto do exercício aeróbio (contínuo e intervalado de alta intensidade) sobre a gordura corporal, aspectos inflamatórios, metabólicos e cognitivos em jovens adultos sobrepeso/obesos.
2. **Participantes da pesquisa:** Participarão da pesquisa homens adultos do sexo masculino, sedentários, que estão acima do peso ($IMC \geq 27 \text{ Kg/m}^2$), não-fumantes, sem quaisquer alterações cardíacas, vasculares, respiratórias e renais, sem problemas ortopédicos, neurológicos, sem depressão e que apresentem atestado médico cardiológico. Os participantes serão divididos aleatoriamente em um dos três grupos por meio de sorteio. Os grupos serão: 1- aeróbio contínuo moderado (Contínuo), 2- exercício aeróbio intervalado de alta intensidade (HIIT) e 3- não farão qualquer atividade física regular e sistematizada, porém realizará as mesmas avaliações dos demais grupos (Controle). Todos participantes, obrigatoriamente, terão que apresentar atestado médico com liberação à prática de exercícios físicos de alta intensidade. Os grupos HIIT e Contínuo realizarão um período de adaptação física (duas semanas) seguidas de seis semanas de treinamento físico com três sessões de exercícios semanais.
3. **Envolvimento na pesquisa:** ao participar deste estudo o sr. permitirá que o (a) pesquisador (a) realize testes físicos, cognitivos e análises do sangue coletado, e se comprometerá em participar das seguintes etapas da pesquisa: (1) avaliação da composição corporal; (2) avaliação da gordura visceral; (3) avaliação da função cognitiva; (4) avaliação da aptidão aeróbia; (5) medida do gasto energético em repouso, (6) avaliação do consumo alimentar; (7) coleta de sangue para o teste oral de tolerância à glicose; (8) duas semanas de adaptação na esteira rolante; (9) coleta de sangue, medida da pressão arterial e medida dos batimentos cardíacos (frequência cardíaca) na primeira sessão de exercício após determinação da velocidade de corrida/caminhada para o treino; (10) seis semanas de treinamento físico. Haverá reavaliações na terceira e sexta semana. Os testes físicos serão realizados em esteira rolante e aparelhos que

Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa: Profa. Dra. Edna Maria do Carmo

Vice-Coordenadora: Profa. Dra. Renata Maria Coimbra Libório

Telefone do Comitê: 3229-5315 ou 3229-5526

E-mail cep@fct.unesp.br

avaliam a gordura corporal. Para a avaliação da função cognitiva serão utilizados testes diversificados que serão aplicados por psicólogo. A avaliação do consumo alimentar será realizada mediante questionário. O gasto energético de repouso será realizado por um aparelho que capta o seu consumo de oxigênio e liberação de gás carbônico, mediante o uso de uma máscara conectada ao aparelho. Neste teste você poderá sentir um desconforto de pressão da máscara em seu rosto. O sangue será coletado por técnicos de laboratório, sendo que em um dia será realizado o teste de tolerância oral à glicose e em outro dia a coleta de sangue referente à primeira sessão de exercício de cada etapa do treinamento que consiste nos seguintes momentos e volumes de sangue: a) jejum de 12 horas (62 ml); b) pré-exercício (12 ml); c) imediatamente após o exercício (12 ml); d) 30 minutos pós-exercício (12 ml) e e) 60 minutos pós-exercício (12 ml) para verificar o comportamento hormonal e metabólico em resposta ao treinamento físico. Para a captação dos batimentos cardíacos será colocado no sr. uma cinta com sensor em seu tórax e um receptor (relógio) em seu punho. Neste procedimento não há desconfortos. A sua pressão arterial também será avaliada na primeira sessão de exercício, a qual será medida imediatamente antes do exercício e nos minutos 15, 30, 45 e 60 após exercício utilizando um aparelho automático. As avaliações de aptidão física e cognitiva bem como as coletas de sangue na sessão de exercício ocorrerão nas dependências do Laboratório de Fisiologia Celular do Exercício e as sessões de treinamento ocorrerão no prédio do ASA, localizado no Departamento de Educação Física da FCT-UNESP, sempre supervisionado por profissional de educação física. As coletas de sangue para o teste oral de tolerância à glicose ocorrerão no laboratório de análises clínicas da UNILAB. E a avaliação da gordura visceral será realizado por médico radiologista na empresa RADISSET.

4. **Sobre as entrevistas:** Serão realizadas entrevistas para a verificação dos critérios de inclusão dos participantes.
5. **Riscos e desconforto:** a participação nesta pesquisa não infringe as normas legais e éticas. Podem eventualmente causar dores e desconfortos comuns a prática de exercícios físicos. Além disso, devido ao número de coletas de sangue realizados através de punção da veia do antebraço, poderá haver dores e/ou hematomas, ou ainda outro desconforto no local da coleta. Ainda que raros e passageiros, poderão ocorrer desmaios ou infecções no local de punção. Cuidados serão tomados para minimizar os riscos. Você poderá experimentar efeitos colaterais que não são conhecidos até o momento ou não foram relatados. Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem

Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa: Profa. Dra. Edna Maria do Carmo

Vice-Coordenadora: Profa. Dra. Renata Maria Coimbra Libório

Telefone do Comitê: 3229-5315 ou 3229-5526

E-mail cep@fct.unesp.br

aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme Resolução no. 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. Nenhum dos procedimentos usados oferece riscos à sua dignidade.

6. **Confidencialidade:** todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente o (a) pesquisador (a) e seu (sua) orientador (a) (e/ou equipe de pesquisa) terão conhecimento de sua identidade e nos comprometemos a mantê-la em sigilo ao publicar os resultados dessa pesquisa.
7. **Benefícios:** ao participar desta pesquisa a sra (sr.) não terá nenhum benefício direto. Entretanto, esperamos que este estudo traga informações importantes sobre os benefícios da prática regular do exercício e acesso a todas as informações dos testes aplicados, de forma que o conhecimento que será construído a partir desta pesquisa possa contribuir para melhora da qualidade de vida da população com obesidade no âmbito nacional e mundial onde o pesquisador se compromete a divulgar os resultados obtidos, respeitando-se o sigilo das informações coletadas, conforme previsto no item anterior.
8. **Pagamento:** o sr. não terá nenhum tipo de despesa para participar desta pesquisa, bem como nada será pago por sua participação.

O sr. tem liberdade de se recusar a participar e ainda se recusar a continuar participando em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer prejuízo para o sr. Sempre que quiser poderá pedir mais informações sobre a pesquisa através do telefone do (a) pesquisador (a) do projeto e, se necessário através do telefone do Comitê de Ética em Pesquisa.

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para participar desta pesquisa. Portanto preencha, por favor, os itens que se seguem: Confirmo que recebi cópia deste termo de consentimento, e autorizo a execução do trabalho de pesquisa e a divulgação dos dados obtidos neste estudo.

Obs: Não assine esse termo se ainda tiver dúvida a respeito.

Consentimento Livre e Esclarecido

Tendo em vista os itens acima apresentados, eu, de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento em participar da pesquisa

Nome do Participante da Pesquisa

Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa: Profa. Dra. Edna Maria do Carmo
Vice-Cordenadora: Profa. Dra. Renata Maria Coimbra Libório
Telefone do Comitê: 3229-5315 ou 3229-5526
E-mail cep@fct.unesp.br

Assinatura do Participante da Pesquisa

Assinatura do Pesquisador

Assinatura do Orientador

Pesquisador: Fábio Santos de Lira, contato: (18) 3229-5724

Orientador: Fábio Santos de Lira, contato: (18) 3229-5724

Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa: Profa. Dra. Edna Maria do Carmo

Vice-Cordenadora: Profa. Dra. Renata Maria Coimbra Libório

Telefone do Comitê: 3229-5315 ou 3229-5526

E-mail cep@fct.unesp.br

Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa: Profa. Dra. Edna Maria do Carmo

Vice-Cordenadora: Profa. Dra. Renata Maria Coimbra Libório

Telefone do Comitê: 3229-5315 ou 3229-5526

E-mail cep@fct.unesp.br

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: "Impacto de dois tipos de treinamento aeróbio sobre a função cognitiva, alterações morfológicas e imunometabólicas sistêmica de jovens com obesidade".

Pesquisador: FABIO SANTOS LIRA

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 46948215.8.0000.5402

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.408.549

Apresentação do Projeto:

O projeto de pesquisa é relevante e demonstra clareza científica, estando de acordo com as normas da Resolução CNS 466/2012 do CONEP.

Objetivo da Pesquisa:

Verificar o impacto de dois diferentes tipos de treinamento aeróbio sobre a função cognitiva, composição corporal e respostas imunometabólicas em jovens adultos sobrepeso/obesos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os pesquisadores informam que os voluntários correm o risco de sentirem dor muscular e articular após as sessões de exercício, bem como, devido ao número de coletas de sangue realizados através de punção da veia do antebraço, poderão haver dores e/ou hematomas no local da punção. Ainda que raros e passageiros, poderão ocorrer desmaios ou infecções no local de punção. Os pesquisadores afirmam que serão tomados cuidados para minimizar os riscos.

Os pesquisadores informam que, como benefício indireto, os resultados encontrados poderão auxiliar na prevenção e tratamento da obesidade, bem como que os benefícios resultantes do projeto retornarão aos participantes da pesquisa, seja em termos de retorno social, acesso aos

Endereço: Rua Roberto Simonsen, 305

Bairro: Centro Educacional

CEP: 19.060-900

UF: SP

Município: PRESIDENTE PRUDENTE

Telefone: (18)3229-5315

Fax: (18)3229-5353

E-mail: cep@fct.unesp.br

**FACULDADE DE CIÊNCIAS E
TECNOLOGIA - UNESP/
CAMPUS DE PRESIDENTE**



Continuação do Parecer: 1.408.549

procedimentos, produtos ou agentes da pesquisa.

As informações quanto aos riscos constam no TCLE.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é relevante e pode gerar benefícios para a população estudada, além de poder contribuir para pesquisas futuras.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos foram apresentados e estão de acordo, porém o título da pesquisa deve ser devidamente preenchido no TCLE.

Recomendações:

Inserir o título do projeto de pesquisa no TCLE.

Informar verbalmente aos participantes a respeito dos riscos da pesquisa, além da informação escrita no TCLE, deixando-os a vontade para participarem ou não da pesquisa.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Após as reformulações sugeridas, o projeto está adequado, porém as recomendações supracitadas devem ser respeitadas.

Considerações Finais a critério do CEP:

Em reunião realizada no dia 12.02.2016, o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências e Tecnologia - Unesp - Presidente Prudente, em concordância com o parecerista, considerou o projeto APROVADO.

Obs: Lembramos que ao finalizar a pesquisa, o (a) pesquisador (a) deverá apresentar o relatório final.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJECTO_545270.pdf	03/12/2015 15:34:48		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_Pesquisa.doc	03/12/2015 15:31:46	Daniela Sayuri Inoue Yoshimura	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento /	TCLE.doc	03/12/2015 15:31:30	Daniela Sayuri Inoue Yoshimura	Aceito

Endereço: Rua Roberto Simonsen, 305

Bairro: Centro Educacional

CEP: 19.060-900

UF: SP

Município: PRESIDENTE PRUDENTE

Telefone: (18)3229-5315

Fax: (18)3229-5353

E-mail: cep@fct.unesp.br

**FACULDADE DE CIÊNCIAS E
TECNOLOGIA - UNESP/
CAMPUS DE PRESIDENTE**



Continuação do Parecer: 1.408.549

Justificativa de Ausência	TCLE.doc	03/12/2015 15:31:30	Daniela Sayuri Inoue Yoshimura	Aceito
Outros	declaracao_unilab.pdf	02/12/2015 10:05:32	Daniela Sayuri Inoue Yoshimura	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_Tecnica_de_Laboratorio.pdf	30/09/2015 19:27:56	Daniela Sayuri Inoue Yoshimura	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_Psicologo.pdf	30/09/2015 19:25:53	Daniela Sayuri Inoue Yoshimura	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_Radiologista.pdf	30/09/2015 19:24:36	Daniela Sayuri Inoue Yoshimura	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_Ultrasonografia.pdf	30/09/2015 19:21:16	Daniela Sayuri Inoue Yoshimura	Aceito
Folha de Rosto	folha de rosto.pdf	07/07/2015 16:27:36		Aceito
Outros	termo de responsabilidade e compromisso.pdf	06/07/2015 17:22:53		Aceito
Outros	termo de compromisso.pdf	06/07/2015 17:21:52		Aceito
Outros	autorizacao fct.pdf	03/07/2015 17:42:01		Aceito
Outros	autorizacao lafice.pdf	03/07/2015 17:40:24		Aceito
Outros	autorizacao chefe departamento.pdf	03/07/2015 17:34:20		Aceito
Outros	autorizacao celapam.pdf	03/07/2015 17:33:45		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PRESIDENTE PRUDENTE, 15 de Fevereiro de 2016

Assinado por:
Edna Maria do Carmo
(Coordenador)

Endereço: Rua Roberto Simonsen, 305

Bairro: Centro Educacional

CEP: 19.060-900

UF: SP

Município: PRESIDENTE PRUDENTE

Telefone: (18)3229-5315

Fax: (18)3229-5353

E-mail: cep@fct.unesp.br