

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

Diana Perin da Silva

EFEITOS DO POLIMORFISMO -866G/A NO GENE *UCP2* SOBRE RESPOSTAS
METABÓLICAS AGUDAS AO EXERCÍCIO AERÓBIO

Porto Alegre

2011

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

Diana Perin da Silva

EFEITOS DO POLIMORFISMO -866G/A NO GENE *UCP2* SOBRE RESPOSTAS
METABÓLICAS AGUDAS AO EXERCÍCIO AERÓBIO

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências do Movimento Humano da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do grau de mestre.

Orientador

Dr. Alvaro Reischak de Oliveira

Colaboradores

Dra. Daisy Crispim Moreira – Serviço de Endocrinologia - HCPA

Dr. Luís Henrique Canani – Serviço de Endocrinologia - HCPA

Local de Realização

Escola de Educação Física da UFRGS

Serviço de Endocrinologia - HCPA

Porto Alegre

2011

AGRADECIMENTOS

Muitas foram as pessoas que contribuíram para a realização deste trabalho, seja participando das discussões ou das análises e coletas de dados, seja apoiando fora do ambiente de trabalho. Serei eternamente grata a todos!

Agradeço aos meus pais, Carlos e Maria, pelo exemplo de batalha, honestidade e humildade e aos meus irmãos Daniela e Diogo, pelo companheirismo e amizade em todos os momentos.

Aos meus queridos amigos Dalila e Leonardo, por estarem sempre tão perto, mesmo geograficamente distantes.

Ao GEFEX, onde aprendi não somente lições técnicas, mas também a respeitar diferenças e a ser paciente e onde tive grandes lições de companheirismo.

Ao meu querido orientador Dr. Alvaro, pela oportunidade, apoio e exemplo de como ser um ótimo professor.

Aos colegas e amigos André Lopes, Bruno Teixeira e Rodrigo Macedo pela disposição durante todas as coletas de dados. A equipe de trabalho deste estudo não poderia ter sido melhor.

À minha colega Fernanda Pezzi por dividir tantos momentos de ansiedade, preocupação e alegria e ao Dr. Giovani Cunha por estar sempre pronto a auxiliar no que for preciso.

Aos professores do PPGCMH, por todos os ensinamentos durante esse período.

Aos funcionários do PPGCMH e do LAPEX, principalmente à “Dani” e ao Luciano, por estarem sempre a disposição.

Ao FIPE-HCPA, pelo apoio financeiro.

À Dra. Daisy Crispim pelo auxílio intelectual e técnico.

A todos os colegas do PPGCMH que dividiram comigo momentos de estresse e de alegrias durante os últimos dois anos.

A todos os voluntários do estudo, sem eles esta dissertação não teria surgido.

RESUMO

Proteínas desacopladoras (UCPs) estão presentes na membrana mitocondrial interna e por meio do transporte de prótons do espaço intermembranas para a matriz mitocondrial desacoplam a oxidação dos substratos da síntese de ATP, dissipando a energia do potencial de membrana e, conseqüentemente, diminuindo a produção de ATP pela cadeia respiratória mitocondrial. O aumento na expressão de UCP2 está relacionado com um risco diminuído de obesidade e risco aumentado de desenvolvimento de diabetes melito. O polimorfismo -866G/A na região promotora do gene da UCP2 está associado a um aumento da expressão do RNAm desta proteína. O objetivo do presente estudo foi avaliar o envolvimento do polimorfismo -866G/A no gene *UCP2* nas respostas metabólicas ao exercício e na taxa metabólica basal em jovens saudáveis. Foram recrutados 27 homens com idades entre 20 e 35 anos, sem histórico de doenças e sem uso de medicamentos, eutróficos e que não estivessem envolvidos em nenhum tipo de treinamento físico. Os indivíduos foram alocados intencionalmente em três diferentes grupos, de acordo com o genótipo para o polimorfismo em questão: A/A(n=9), A/G (n=10) e G/G (n=8). Todos os indivíduos foram submetidos a uma análise de taxa metabólica basal e após uma refeição padrão realizavam 30 minutos de corrida em esteira em intensidade equivalente a 10% abaixo do 2º limiar ventilatório. Em jejum, antes do exercício, logo após realização do exercício, uma hora após e duas horas após o exercício foram realizadas coletas de sangue para a verificação do comportamento das concentrações de glicose, insulina e perfil lipídico. Não foram encontradas diferenças entre as respostas dos três grupos. Este estudo concluiu que isoladamente o polimorfismo -866G/A não exerce influência sobre a TMB e respostas de glicose, insulina e perfil lipídico ao exercício em jovens saudáveis.

Palavras-chave: UCP2, polimorfismo, exercício, taxa metabólica basal, parâmetros metabólicos.

ABSTRACT

Uncoupling proteins (UCPs) are present in the inner mitochondrial membrane and through the transport of protons from the intermembrane space to the mitochondrial matrix to uncouple oxidation of substrates for ATP synthesis, dissipating the energy of the membrane potential and, consequently, decreasing the production of ATP by the mitochondrial respiratory chain. The increased expression of UCP2 is associated with a decreased risk of obesity and increased risk of developing diabetes mellitus. The polymorphism -866G/A in the promoter region of the UCP2 gene is associated with an increased mRNA expression of this protein. The aim of this study was to evaluate the involvement of the polymorphism -866G/A UCP2 gene in the metabolic responses to exercise and basal metabolic rate (BMR) in healthy young adults. We recruited 27 men aged between 20 and 35 years without history of disease and drug treatment, eutrophic and that were not involved in any type of physical training. The individuals were placed intentionally in three different groups according to genotype for the polymorphism related above: A/A (n=9), A/G (n=10) and G/G (n=8). All subjects underwent an analysis of BMR and after a standard meal performed 30 minutes of treadmill running at an intensity equivalent to 10% below the 2nd ventilatory threshold. Fasting, before exercise, immediately after exercise, after one hour and two hours after exercise, blood samples were collected to verify the behavior of glucose, insulin and lipid profile. No differences were found between the responses of the three groups. This study concluded that the polymorphism -866G/A in an isolated way does not influence BMR and responses of glucose, insulin and lipid profile over exercise in young healthy men.

Keywords: UCP2, polymorphism, exercise, basal metabolic rate, metabolic parameters.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Desenho esquemático do experimento principal.....	26
Figura 2: Comportamento das concentrações de triglicerídeos.....	30
Figura 3a: Comportamento das concentrações de insulina.....	31
Figura 3b: Diferenças nas concentrações de insulina entre os momentos para cada grupo separadamente.....	31
Figura 4: Comportamento das concentrações de glicose.....	32
Figura 5: Comportamento das concentrações de colesterol total.....	33
Figura 6: Comportamento das concentrações de colesterol HDL.....	33
Figura 7: Comportamento das concentrações de colesterol LDL.....	34
Figura 8: ASC das concentrações de triglicerídeos nos três grupos.....	35
Figura 9: ASC das concentrações de insulina nos três grupos.....	35
Figura 10: ASC das concentrações de glicose nos três grupos.....	36
Figura 11: ASC das concentrações de colesterol total nos três grupos.....	36
Figura 12: ASC das concentrações de colesterol HDL nos três grupos.....	37
Figura 13: ASC das concentrações de colesterol LDL nos três grupos.....	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Dados de caracterização da amostra.....	28
Tabela 2: Análise dos registros alimentares.....	29
Tabela 3: Valores de TMB e RER.....	29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASC- Área Sob a Curva

ATP- adenosina tri-fosfato

DM1- diabetes melito tipo 1

DM2- diabetes melito tipo 2

DNA- ácido desoxirribonucléico

FADH₂- flavina adenina dinucleotídeo (forma reduzida)

FC- frequência cardíaca

H⁺- íon de hidrogênio

HCPA- Hospital de Clínicas de Porto Alegre

HDL- lipoproteína de alta densidade

IMC- índice de massa corporal

ISAK- *International Society for the Advancement of Kineanthrometry*

LAPEX- Laboratório de Pesquisa do Exercício

LDL- lipoproteína de baixa densidade

LV₁- primeiro limiar ventilatório

LV₂- segundo limiar ventilatório

NADH- nicotinamida adenina dinucleotídeo (forma reduzida)

PCR- reação em cadeia de polimerase

RER- taxa de troca respiratória (*respiratory exchange rate*)

RNAm- RNA mensageiro

RPM- rotações por minuto

TAM- tecido adiposo marrom

UCP- proteína desacopladora (*uncoupling protein*)

VCO₂- produção de gás carbônico

VE- ventilação

VO₂- consumo de oxigênio

VO_{2máx}- consumo máximo de oxigênio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 FOSFORILAÇÃO OXIDATIVA	12
2.2 PROTEÍNAS DESACOPLADORAS (UCPs)	12
2.3 UCP2 e UCP3	13
2.4 POLIMORFISMOS NO GENE <i>UCP2</i>	14
2.5 UCPs, DIABETES E OBESIDADE	15
2.6 UCPs E EXERCÍCIO	16
3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS	19
3.1 PROBLEMA DE PESQUISA	19
3.2 OBJETIVOS	19
3.2.1 OBJETIVO GERAL	19
3.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3.3 HIPÓTESES	20
3.4 DEFINIÇÃO OPERACIONAL DAS VARIÁVEIS	20
3.5 POPULAÇÃO E AMOSTRA	21
3.6 DESENHO DE ESTUDO	21
3.7 GENOTIPAGEM	22
3.8 MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS	22
3.9 DETERMINAÇÃO DO VO_2 máx	22
3.10 TAXA METABÓLICA BASAL	23
3.11 CONTROLE DIETÉTICO	24
3.12 SESSÃO AGUDA DE EXERCÍCIO	25
3.13 COLETAS DE SANGUE	25
3.14 ANÁLISE ESTATÍSTICA	27
4 RESULTADOS	28
4.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA	28
4.2 REGISTROS ALIMENTARES	28
4.3 TAXA METABÓLICA BASAL E RER	29
4.4 TRIGLICERÍDEOS	29
4.5 INSULINA	30
4.6 GLICOSE	32
4.7 COLESTEROL TOTAL	32
4.8 COLESTEROL HDL	33
4.9 COLESTEROL LDL	34
4.10 ÁREA SOB A CURVA	34
5 DISCUSSÃO	37
6 CONCLUSÃO	41
REFERÊNCIAS	42
ANEXOS	47
A ANAMNESE	47
B TERMO DE COMPROMISSO LIVRE E ESCLARECIDO	49
C REGISTRO ALIMENTAR	51

1 INTRODUÇÃO

Proteínas desacopladoras (UCPs) estão presentes na membrana mitocondrial interna e fazem parte de uma superfamília de proteínas transportadoras. A UCP1, a UCP2 e a UCP3 têm similaridades nas suas estruturas, mas possuem uma expressão tecidual diferente. Por meio do transporte de prótons do espaço intermembranas para a matriz mitocondrial, essas UCPs desacoplam a oxidação dos substratos da síntese de ATP, dissipando a energia do potencial de membrana e, conseqüentemente, diminuindo a produção de ATP pela cadeia respiratória mitocondrial. A dissipação de energia pelas UCPs pode ter diversas funções: produção de calor (UCP1), regulação do metabolismo de ácidos graxos livres (UCP2 e UCP3) e diminuição da formação de espécies reativas de oxigênio (UCP1 a 3) (Jezek, 2002).

O aumento na expressão de UCP2 está relacionado a um risco diminuído de obesidade (Ukkola et al, 2001) e risco aumentado de desenvolvimento de diabetes melito. A UCP2, por diminuir a ressíntese de ATP nas células pancreáticas, diminui a secreção de insulina, podendo levar a um quadro de diabetes (Chan et al, 2004).

O polimorfismo -866G/A na região promotora do gene da UCP2 está associado a um aumento da expressão do RNAm desta proteína (Chan et al, 2004). Uma série de estudos tem demonstrado a associação deste polimorfismo com alterações na secreção de insulina (Sesti et al, 2003), resistência à insulina (D'Adamo et al, 2004), diferentes taxas de oxidação de gordura e carboidratos em repouso (Le Fur et al, 2004) e níveis de colesterol HDL (Cha et al, 2007).

Uma série de polimorfismos nos genes de diferentes proteínas relacionadas com o metabolismo tem sido estudada em situação de repouso. Entretanto, estudos que verifiquem a influência destes polimorfismos sobre o metabolismo durante exercício são pouco frequentes (Morita et al, 2009; Buemann et al, 2001). De acordo com o nosso conhecimento não existem estudos que verifiquem a influência do polimorfismo -866G/A no gene *UCP2* sobre parâmetros metabólicos durante exercício.

Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar se o polimorfismo -866G/A no gene *UCP2* está envolvido em respostas metabólicas ao exercício e de taxa metabólica basal. Além disso, visa especificamente, avaliar se este polimorfismo está envolvido nas

respostas de taxa metabólica basal (TMB) e quociente respiratório (RER), glicemia, insulinemia e perfil lipídico ao exercício agudo em jovens saudáveis.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FOSFORILAÇÃO OXIDATIVA

Para manter suas funções, as células necessitam de energia proveniente de fontes externas como os carboidratos e lipídios. Estes combustíveis, após entrada nas células, são metabolizados por diferentes vias, iniciando no citosol. Na maioria dos casos, os intermediários metabólicos gerados no citosol são transportados para dentro da mitocôndria, onde se dá início a fosforilação oxidativa (Hesselink et al, 2003; Krauss et al, 2005).

A fosforilação oxidativa é o processo pelo qual o ATP é sintetizado durante a transferência de elétrons do FADH₂ e NADH para o oxigênio. A transferência de elétrons através da cadeia de transporte de elétrons localizada na membrana interna da mitocôndria provoca o bombeamento dos íons de hidrogênio (H⁺) da matriz interna da mitocôndria para o espaço entre as membranas internas e externas da mitocôndria. A alta concentração de cargas positivas destes íons no espaço intermembranas faz com que os prótons H⁺ voltem para a matriz mitocondrial através do complexo protéico F₀-F₁, localizado na membrana interna. A reentrada do H⁺ provoca uma força propulsora de prótons que é utilizada para a ressíntese de ATP através da ATP sintase, localizada neste complexo (Maughan et al, 2000).

Entretanto, o processo de reentrada de prótons e síntese de ATP não é totalmente eficiente. Isto porque prótons podem retornar à matriz mitocondrial por uma via alternativa a da ATP sintase, liberando a energia proveniente da oxidação e que seria utilizada para a ressíntese de ATP em forma de calor (Krauss et al, 2005).

Sendo assim, nem toda a energia liberada pela oxidação de substratos gera energia química. Mamíferos não hibernantes, como o homem, mantém sua temperatura corporal em torno de 37°C através desta permanente termogênese metabólica. Esta desacoplação da fosforilação oxidativa da síntese de ATP é considerado o mecanismo que explica em grande parte a produção de calor pela termogênese de repouso (Ricquier, 2006).

As proteínas desacopladoras (UCPs) são uma via alternativa para o retorno de prótons para a matriz mitocondrial e, portanto desacoplam a fosforilação oxidativa da síntese de ATP.

2.2 PROTEÍNAS DESACOPLADORAS (UCPs)

As UCPs pertencem ao grupo de proteínas mitocondriais carreadoras de ânions e localizam-se na membrana interna da mitocôndria. Estas proteínas foram identificadas em varias espécies de animais e plantas. Nos mamíferos são descritos cinco homólogos de UCP, UCP1-UCP5 (Krauss et al, 2005).

A UCP1, primeira UCP descoberta e primeiramente observada em animais hibernantes, é responsável pela termogênese no tecido adiposo marrom (TAM). Quando ativado, o TAM rapidamente oxida ácidos graxos e produz calor, isto porque o grande número de UCP1 no TAM permite que a energia liberada pela oxidação seja dirigida para a produção de calor, ou seja, desacopla a fosforilação oxidativa da síntese de ATP (Ricquier, 2006).

O TAM está presente em recém-nascidos e jovens na maioria das espécies animais que necessitam de termogênese independente de tremores para compensar perdas de calor. Em fetos humanos, adipócitos marrons são observados na vigésima semana de gestação e a UCP na vigésima quinta semana. Meses e anos após o nascimento o TAM acumula lípedes. Portanto, em adultos o TAM, em sua grande maioria, desaparece ou torna-se termogenicamente inativo. Pela pequena quantidade de adipócitos marrons encontrados em humanos adultos, provavelmente a atividade termogênica do TAM nesta população seja baixa, contribuindo com 1 a 2% da oxidação de ácidos graxos e do gasto calórico total (Ricquier, 2006).

O retorno de prótons para a matriz mitocondrial mediado pela UCP1 é controlado pelo sistema nervoso simpático. A estimulação de receptores β -adrenérgicos pelas catecolaminas provoca uma resposta celular coordenada e mediada por ácidos graxos, levando à ativação de UCP. Ao mesmo tempo há um aumento do transporte, mobilização e oxidação de substrato, com aumento da produção de NADH e FADH₂, o que é necessário para manter a entrada de prótons mediada por UCP. Os mecanismos pelo qual os ácidos graxos estimulam diretamente a atividade de UCP1 ainda não são amplamente compreendidos (Krauss et al, 2005).

2.3 UCP2 e UCP3

O gene da UCP2 humana está localizado próximo ao gene da UCP3 no cromossomo 11 (região 11q13). Em humanos, a região 11q13 está ligada à taxa metabólica de repouso e ao percentual de gordura corporal (Krauss et al, 2005).

Ao contrário da UCP1, UCP2 e UCP3 são expressas em vários tecidos. A UCP2 humana tem uma distribuição tecidual bastante ampla, sendo expressa nos tecidos adiposos marrom e branco, músculo esquelético, coração, rins, células da retina e ilhotas pancreáticas; enquanto a UCP3 humana está basicamente restrita ao músculo esquelético (Jezek, 2002).

Por terem grande sequência idêntica à UCP1, presume-se que UCP2 e UCP3 também permitam o retorno de prótons para a matriz mitocondrial, desacoplando a fosforilação oxidativa da síntese de ATP (Krauss et al, 2005).

UCP2 e UCP3 participam da regulação metabólica. UCP2 regula negativamente a secreção de insulina e pode controlar a deposição de gordura. A UCP3 provavelmente esteja relacionada com o metabolismo de ácido graxo no músculo esquelético (Rousset et al, 2004). O locus gênico das UCPs 2 e 3 pode estar envolvido na determinação do peso corpóreo e com a obesidade (Yanovski et al, 2000).

2.4 POLIMORFISMOS NO GENE *UCP2*

Qualquer segmento específico de DNA humano com cerca de 1000 pares de bases de tamanho contém, em média, apenas um par de bases que varia entre dois indivíduos da população. Diferentes versões de certa sequência de DNA em um determinado local cromossômico (locus) são chamados de alelos. Quando os alelos são tão comuns que são encontrados em mais de 1% dos cromossomos na população em geral, os alelos constituem o que é conhecido como polimorfismo genético (Nussbaum et al, 2008).

No gene da UCP2 foram descritos três polimorfismos frequentes: o polimorfismo +4787 C/T que causa a troca de uma alanina por uma valina na posição 55 do éxon 4 (Ala55Val) (Nedergaard et al, 2005); o polimorfismo +7941 I/D que é uma inserção/deleção de 45bp na região 3'UTR do éxon 8 (Esteves and Brand, 2005) e o polimorfismo -866G/A na região promotora, o qual está associado a um aumento da expressão do RNAm da UCP2 (Chan et al, 2004). Os resultados dos estudos desses polimorfismos em diferentes populações têm sido bastante variáveis: enquanto alguns estudos mostraram associação de um ou mais desses polimorfismos com gasto energético,

obesidade, níveis reduzidos de secreção de insulina pelas células-beta, resistência à insulina e/ou DM2, outros estudos não foram capazes de encontrar nenhuma associação desses polimorfismos com essas características.

2.5 UCPs, DIABETES E OBESIDADE

Por desacoplar o metabolismo da célula-beta da geração de ATP, a UCP2 tem sido reportada como regulador negativo da secreção de insulina estimulada por glicose (Chan et al, 1999). A secreção de insulina depende de ATP em várias etapas do processo e estima-se que 98% da produção de ATP na célula-beta seja dependente do metabolismo oxidativo mitocondrial (Chan et al, 2004).

O polimorfismo -866G/A resulta no aumento dos níveis de RNAm de UCP2 em células adiposas humanas e é associado com reduzido risco de obesidade mas aumentado DM2 (Esterbauer et al, 2001; Krempler et al, 2002). Ilhotas pancreáticas isoladas de indivíduos não diabéticos com o genótipo -866A/A deste polimorfismo, mostraram menor secreção de insulina em resposta a estimulação com glicose comparado com os genótipos -866G/A e -866G/G (Sesti et al, 2003). Além de afetar a secreção de insulina, este genótipo também parece estar associado à resistência à insulina, suportando a possibilidade de que este polimorfismo pode contribuir para o desenvolvimento de DM2 por afetar tanto a secreção de insulina quanto a sua ação (D'Adamo et al, 2004)

Ao contrário, na população caucasiana estudada, o alelo A do polimorfismo -866 foi associado com reduzido risco de desenvolvimento de DM2 e o genótipo GG foi associado com um aumento de 12% de risco de desenvolvimento de DM2 (Bulotta et al, 2005). Em população obesa, o alelo A foi relacionado com hiperinsulinemia (Srivastava et al, 2009).

O gene da UCP2 parece estar também envolvido no desenvolvimento de complicações provenientes do DM2. Os genótipos G/A e A/A do polimorfismo -866 G/A estão associados com diminuição da velocidade de condução nervosa em pacientes DM2 japoneses, uma indicação de desenvolvimento de neuropatia periférica diabética (Yamasaki et al, 2006).

Em DM1, um risco reduzido significante de desenvolvimento de neuropatia diabética para os heterozigotos ou homozigotos para o alelo A do polimorfismo -866G/A e para o alelo T do polimorfismo C-55T do gene *UCP3* foi observado, sugerindo que altas

expressões de UCPs podem prevenir os danos neuronais mediados pela mitocôndria (radicais livres) e conseqüentemente, a neuropatia diabética (Rudofsky et al, 2006).

Outros polimorfismos no gene da UCP2 parecem apresentar associação com DM2: -5331G>A (AA), -3998C>G (GG) e +320C>T (A55V) (CC), sendo que os genótipos em parênteses apresentam o maior risco de desenvolvimento de DM2 (Lee et al, 2008).

Como potenciais desacopladores da fosforilação oxidativa e conseqüente dissipação de energia, mutações nos genes das UCPs podem contribuir para a variação no balanço energético, regulação do peso corporal e, potencialmente, para o desenvolvimento da obesidade (Ukkola et al, 2001). Em europeus de meia idade o polimorfismo -866G/A do gene da UCP2 parece estar relacionado a obesidade, sendo que o alelo A deste polimorfismo foi associado ao aumento da transcrição do gene da UCP2 e diminuição do risco de obesidade (Esterbauer et al, 2001)

Este mesmo polimorfismo também pode estar associado a modificações na oxidação de diferentes substratos. Jovens obesos, com o genótipo A/A apresentam maiores taxas de oxidação de glicose e menores taxas de oxidação de gordura em situação de repouso (Le Fur et al, 2004). O genótipo A/A desse polimorfismo também foi associado com menores diminuições de IMC e massa de gordura após restrição calórica, indicando novamente a relação deste polimorfismo com a utilização de gordura corporal (Yoon et al, 2007).

Por estarem relacionados com a regulação de oxidação de substratos, os genes da UCP1, 2 e 3 podem contribuir para a recuperação após período com ingesta calórica excessiva, podendo estar envolvidos nas respostas a elevadas cargas calóricas (Ukkola et al, 2001).

Os genes da UCP também podem estar envolvidos com risco de aterosclerose através de seus efeitos no colesterol HDL. Os polimorfismos -866G/A e Ala55Val do gene da UCP2 exibem significante associação com os níveis desta lipoproteína. Os genótipos recessivos A/A para o polimorfismo -866G/A e Val/Val para o polimorfismo Ala55Val estão relacionados com menores níveis de colesterol HDL em coreanos (Cha et al, 2007).

2.6 UCPs E EXERCÍCIO

Os efeitos do exercício aeróbio sobre a redução de peso corporal variam entre os indivíduos. Isto é influenciado por uma série de fatores como intensidade do exercício,

massa muscular, nível de hormônios circulantes, idade e sexo. Os genótipos dos genes envolvidos no gasto energético também afetam a eficiência do exercício aeróbio. Variações nos genes da UCP podem afetar não somente a taxa metabólica basal, mas também podem influenciar o custo energético de exercício (Morita et al, 2009; Buemann et al, 2001).

Avaliando o efeito do polimorfismo Ala55Val do gene da UCP2, Buemann et al testaram a eficiência de exercício, definida como a relação entre o trabalho total e o gasto energético, durante exercício em cicloergômetro. Na população estudada, a eficiência do exercício foi maior no grupo com o genótipo val/val comparado com o grupo de sujeitos ala/ala. Não houve diferença significativa no RER entre os dois grupos, mas houve tendência de maiores valores nos indivíduos val/val (Buemann et al, 2001).

O polimorfismo Trp64Arg do gene β 3-AR, outro gene que parece estar associado com o gasto calórico, foi associado com reduções das taxas de oxidação de gordura. O gasto calórico, avaliado através da calorimetria indireta, foi mensurado durante exercício aeróbio a 60% da frequência cardíaca máxima durante 30 minutos. Os níveis de oxidação de gordura durante repouso e durante exercício aeróbio dos indivíduos do sexo masculino com o genótipo Trp/Arg do gene β 3-AR foi significativamente menor que o genótipo Trp/Trp (Morita et al, 2009).

Polimorfismos nos genes do β 3AR e UCP1 foram associados com melhoras mediadas por exercício na tolerância à glicose e resistência à leptina em japoneses saudáveis. Após programa de exercício a 50% da FC máxima, duas a três vezes por semana, por três meses, os níveis de leptina e frutossamina diminuíram significativamente nos indivíduos com genótipo Trp/Trp e a glicose plasmática diminuiu significativamente nos genótipos Trp/Trp e Trp/Arg do polimorfismo do gene do β 3-AR. Os níveis de glicose e frutossamina foram significativamente reduzidos respectivamente nos genótipos A/G e G/G do polimorfismo da UCP1 (Kahara et al, 2002).

Após exercício agudo há um aumento na expressão de UCPs. Ácidos graxos livres estão associados com uma regulação positiva do RNAm de UCP3 e o exercício é capaz de aumentar os níveis plasmáticos de ácidos graxos. Portanto, o exercício agudo parece não ter um efeito direto sobre a expressão de UCP3, mas sim tem um efeito indireto por elevar os níveis de ácidos graxos livres (Schrauwen et al, 2002).

O treinamento, ao contrário, parece reduzir a atividade da UCP3. O $VO_{2máx}$ é negativamente correlacionado com níveis de UCP3, assim como a eficiência mecânica. Isto sugere que o treinamento produz uma resposta adaptativa fisiológica levando a uma menor

atividade de desacoplamento pela UCP3 no músculo esquelético, aumentando assim a eficiência mecânica (Schrauwen et al, 1999).

3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

3.1 PROBLEMA DE PESQUISA

O polimorfismo -866G/A no gene *UCP2* afeta as respostas metabólicas ao exercício?

3.2 OBJETIVOS

3.2.1 OBJETIVO GERAL

- Verificar a influência do polimorfismo -866G/A no gene *UCP2* sobre as respostas de taxa metabólica basal e parâmetros metabólicos a uma sessão aguda de exercício aeróbio em jovens saudáveis.

3.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar se o polimorfismo -866G/A no gene *UCP2* influencia as respostas de TMB e RER;
- Verificar se o polimorfismo -866G/A no gene *UCP2* influencia as respostas de insulina ao exercício aeróbio;
- Verificar se o polimorfismo -866G/A no gene *UCP2* influencia as respostas de glicemia ao exercício aeróbio;
- Verificar se o polimorfismo -866G/A no gene *UCP2* influencia as respostas de lipemia ao exercício aeróbio.

3.3 HIPÓTESES

H1- o polimorfismo -866G/A no gene *UCP2* influencia as respostas de TMB e RER;

H2- O polimorfismo -866G/A no gene *UCP2* tem efeito sobre as respostas de insulina ao exercício;

H3- O polimorfismo -866G/A no gene *UCP2* tem efeito sobre as respostas glicêmicas ao exercício;

H4- O polimorfismo -866G/A no gene *UCP2* tem efeito sobre as respostas lipêmicas ao exercício.

3.4 DEFINIÇÃO OPERACIONAL DAS VARIÁVEIS

Jovens saudáveis: Homens com idades entre 20 e 35 anos, sem histórico de doenças metabólicas, sem uso de medicamentos e eutróficos.

Genótipos do polimorfismo -866G/A no gene UCP2: são os três genótipos deste polimorfismo: G/G, G/A e A/A.

Sessão aguda de exercício: sessão de exercício realizada em esteira e em intensidade equivalente a 10% abaixo do segundo limiar ventilatório por 30 minutos.

Taxa metabólica basal: Quantidade de energia gasta para a manutenção das funções vitais do organismo, expressa em kcal/dia.

RER: relação entre o volume de CO₂ produzido e o volume de O₂ consumido. Valores desta relação próximos a 0,7 expressam contribuição predominante da oxidação lipídica para o fornecimento energético, enquanto que valores próximos de 1,0 relacionam-se à oxidação de carboidratos.

Glicemia: concentração sanguínea de glicose.

Perfil lipídico: análise de triglicerídeos, colesterol total, colesterol HDL e colesterol LDL.

3.5 POPULAÇÃO E AMOSTRA

Foram recrutados homens, com idades entre 20 e 35 anos, sem histórico de doenças e sem uso de medicamentos, eutróficos e que não estivessem envolvidos em nenhum tipo de treinamento físico. O recrutamento foi realizado por meio de convites em universidades e anúncios em jornais.

Após a realização de um teste de $VO_{2máx}$ para a determinação do nível de capacidade funcional, que deveria estar entre 35 e 50 ml/kg/min, era realizada a análise genética. Dos 70 indivíduos avaliados no primeiro teste, 48 tiveram amostras sanguíneas coletadas para serem genotipadas. O protocolo de estudo foi completado por 27 sujeitos, alocados intencionalmente em cada um dos três grupos, de acordo com o genótipo do gene em questão: A/A (n=9), G/A (n=10) e G/G (n=8).

3.6 DESENHO DE ESTUDO

O estudo foi um ensaio clínico com alocação intencional dos sujeitos nos grupos, de acordo com o seu genótipo para o polimorfismo em questão.

As coletas de dados foram realizadas no Laboratório de Pesquisa do Exercício da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Na primeira visita era realizada uma anamnese (anexo A) e em seguida os voluntários assinavam o Termo de Compromisso Livre e Esclarecido (anexo B), aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre no projeto aprovado sob o número 10-0236. Após realizavam um teste de VO_{2max} e se o resultado fosse entre 35 e 50 ml/kg/min amostras de sangue eram coletadas para serem genotipadas.

Uma segunda visita ao LAPEX era agendada para a realização da sessão aguda de exercício na intensidade determinada através do teste máximo. Nesta visita o voluntário chegava ao laboratório pela manhã, em jejum de 12 horas. Primeiramente era realizada uma avaliação de taxa metabólica basal, após o voluntário recebia uma refeição padrão composta por 60% de carboidratos, 12% de proteínas e 28% de gorduras. Uma hora após o consumo da refeição padrão iniciava-se a sessão aguda de exercício.

Em jejum, antes do exercício, logo após realização do exercício, uma hora após e duas horas após o exercício foram realizadas coletas de sangue para a verificação do comportamento das concentrações de glicose, insulina e perfil lipídico.

Estão detalhados a seguir os protocolos adotados para o estudo.

3.7 GENOTIPAGEM

O DNA foi extraído a partir de leucócitos do sangue periférico utilizando-se o método descrito por Lahiri e Nurnberger Jr., 1987. O polimorfismo -866G/A na região promotora do gene da UCP2 foi determinado através da técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR). Os produtos de PCR obtidos foram submetidos à clivagem com a enzima de restrição *MluI* (Invitrogen Life Technologies, Inc., San Diego, CA, USA), como previamente descrito (Sasahara et al, 2004) e os fragmentos obtidos foram separados em gel de agarose 3% corado com brometo de etídeo e posteriormente visualizados sob luz ultra violeta no aparelho ImageMaster VDS (GE HealthCare, London, UK).

3.8 MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS

Todas as avaliações de composição corporal foram realizadas pelo mesmo avaliador (nível III ISAK- International Society for the Advancement of Kineanthropometry) usando os procedimentos estabelecidos pela ISAK (Marfell-Jones et al, 2006). As medidas de estatura, massa, comprimentos, diâmetros, perímetros e dobras cutâneas foram utilizados para fracionar a massa corporal total em cinco componentes (massa de gordura, muscular, residual, óssea e pele). Massa de gordura e muscular foram utilizadas para a caracterização da amostra.

3.9 DETERMINAÇÃO DO $VO_{2\text{máx}}$

A determinação do $VO_{2\text{máx}}$ foi realizada a partir do analisador metabólico automatizado MGC CPX/D (Medical Graphics Corporation, USA), que era ligado uma

hora antes do teste para aquecimento e estabilização das células analisadoras de O₂ e CO₂. Concluída esta etapa, procede-se à calibração do equipamento.

Durante os testes, foram registrados os seguintes parâmetros: consumo de oxigênio (VO₂), produção de CO₂ (VCO₂), ventilação (VE), pressão de O₂ no final da expiração (PETO₂), pressão de CO₂ no final da expiração (PETCO₂), razão de troca respiratória (RER), frequência cardíaca (FC), tempo e velocidade.

Antes do teste era realizada a colocação de um freqüencímetro (POLAR S610, Finlândia), assim como da máscara de coleta de gases acoplada ao ergoespirômetro.

O teste de carga progressiva máxima foi realizado em esteira rolante. Após aquecimento, o protocolo foi constituído de uma velocidade inicial de 7 km/h, com incrementos adicionais de 1 km/h a cada minuto até a exaustão, e recuperação de 5 minutos a 5 km/h. O teste era interrompido quando: voluntariamente solicitado, RER maior que 1,15, FC próxima da máxima prevista ou quando houvesse platô na curva de VO₂.

A partir dos resultados foram determinados os limiares ventilatórios (LV). A determinação foi feita por análise visual, por dois avaliadores independentes. Em caso de dúvida, a determinação de um terceiro avaliador era solicitada. O VO₂ do LV₁ foi determinado a partir do primeiro aumento (quebra na curva de incremento) na VE, proporcional ao aumento na produção de CO₂. O LV₂, que representa uma intensidade alta com considerável acúmulo de lactato (a produção excede a metabolização) é acompanhado por uma hiperventilação em resposta à acidose, foi determinado através do aumento simultâneo no VE.VO₂⁻¹ e do VE.VCO₂⁻¹ enquanto que a pressão expirada de CO₂ (PETCO₂) começa a diminuir. O VO₂máx foi determinado como o maior valor obtido durante o teste.

3.10 TAXA METABÓLICA BASAL

Os indivíduos foram instruídos a não realizar atividades físicas de intensidade moderada a alta 24 horas antes do teste, bem como não consumir álcool, caféina ou qualquer tipo de medicação nesse período sem comunicação à equipe pesquisadora. No período de 12 horas que antecederam o teste, os indivíduos mantiveram jejum, sendo permitido o consumo de água pura. Foi solicitado que todos tivessem uma noite de sono de, no mínimo, 8 horas. Os participantes foram instruídos a comparecer ao local do teste utilizando veículo motorizado, evitando o aumento do gasto energético antes da coleta de

TMB. Todos os testes de TMB foram realizados em sala climatizada entre 20 e 25°C, com ruídos controlados e com luminosidade baixa.

O protocolo foi constituído de 10 minutos de repouso em maca na posição de decúbito dorsal, seguido de 30 minutos de captação de gases expirados por intermédio de máscara e captador acoplado. Para a determinação dos valores de VO_2 e VCO_2 foi utilizado um analisador de gases computadorizado (*MedGraphics Cardiorespiratory Diagnostic Systems, modelo CPX-D*), o sistema de coleta utilizado foi *breath-by-breath*.

Para a análise dos dados foram descartados os primeiros 10 minutos de captação de gases, sendo assim para o cálculo da TMB utilizados os valores de VO_2 e VCO_2 (l/min) dos 20 minutos finais de cada coleta. Para a obtenção dos valores de Kcal/min foi utilizado a equação proposta por Weir: $(3,9 \times \text{VO}_2) + (1,1 \times \text{VCO}_2)$, que dispensa a utilização do metabolismo protéico ao incorporar um fator de correção. Finalmente o resultado em kcal/min foi multiplicado por 1440, a fim de obtermos o valor para 24 horas.

3.11 CONTROLE DIETÉTICO

Todos os participantes foram instruídos a não consumir bebidas alcoólicas e/ou que continham cafeína por no mínimo 24 horas anteriores ao protocolo. Além disso, outros cuidados nutricionais foram observados, como descritos a seguir:

Registro Alimentar de 24 h: Na visita preliminar, foi entregue e devidamente explanado aos indivíduos um documento para preenchimento do registro alimentar (anexo C). Cada participante registrou todas as bebidas e alimentos consumidos no dia anterior ao experimento principal. As refeições foram descritas com os alimentos em questão, os horários, as quantidades em medidas caseiras e, se houvesse necessidade, a marca do produto. O registro preenchido pelos participantes foi entregue ao nutricionista no dia do experimento principal e todas as anotações foram conferidas e discutidas com o sujeito para evitar erros de interpretação.

Refeição pré-exercício: Previamente ao exercício foi fornecida aos indivíduos uma refeição de composição mista (60% Carboidratos, 28% Lipídios e 12% Proteínas). A mesma era composta de pão tipo bisnaguinha, requeijão cremoso e suco de laranja industrializado. A refeição foi calculada individualmente a fim de cobrir a demanda energética decorrente do exercício, promovendo um balanço energético neutro (isoenergética). O cálculo da quantidade calórica da refeição foi feito a partir da intensidade de exercício (VO_2), duração

do exercício e massa corporal do indivíduo (Ainsworth et al, 2000). Os indivíduos tiveram 15 minutos para consumir a refeição. Foi provida água *ad libitum* durante o experimento.

3.12 SESSÃO AGUDA DE EXERCÍCIO

A sessão aguda de exercício foi realizada pela manhã, sem que os voluntários tivessem realizado atividade física de alta intensidade nas últimas 48 horas.

Primeiramente o voluntário passava por uma avaliação de TMB e após recebia a refeição. Uma hora após consumir a refeição, foi realizado o exercício em esteira, em intensidade equivalente a 10% abaixo do LV_2 .

Primeiramente era realizado um aquecimento por cinco minutos em intensidade equivalente a 50% da intensidade almejada para o protocolo (50% do valor correspondente a 10% abaixo do LV_2). Esta intensidade era aumentada para 100% do valor almejado no 5º minuto. O exercício prosseguiu por mais 30 minutos. Durante toda a sessão de exercício foi realizada a ergoespirometria com os mesmos equipamentos utilizados durante o teste máximo para a manutenção do VO_2 . A velocidade foi ajustada sempre que necessário durante o exercício para manter o VO_2 dentro de uma faixa de 5% abaixo e 5% acima do valor estipulado para o teste. A FC foi monitorada a cada minuto de exercício.

3.13 COLETAS DE SANGUE

Na sessão aguda de exercício houve uma coleta de 6 ml sangue em jejum (momento 0), outra antes da realização do exercício (momento 1), imediatamente após o exercício (momento 2), uma hora após (momento 3) e duas horas após o exercício (momento 4) para as análises de perfil lipídico, insulina e glicose, somando um total de cinco coletas de sangue no dia da sessão aguda de exercício (Figura 1).

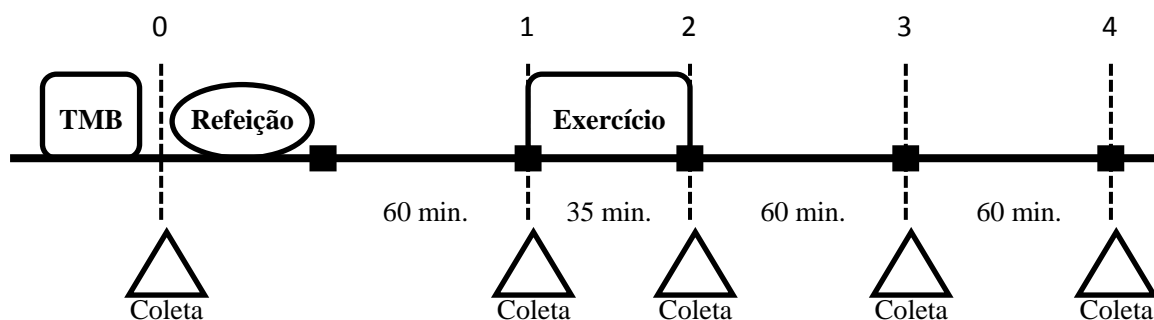


Figura 1: Desenho esquemático do experimento principal.

O sangue coletado foi colocado em tubos com ativador de coágulo. Após, os mesmos foram centrifugados durante 10 minutos em velocidade de 3500 RPM e temperatura de 5°C para que houvesse a separação do soro que foi aliquoteado, armazenado em tubos de ensaio e congelado a -80°C para posterior análise.

As análises bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Bioquímica do HCPA conforme métodos especificados abaixo:

- Colesterol HDL: Enzimático Colorimétrico (Ádvia Bayer®; Mega Bayer®)
- Colesterol LDL: Equação de Friedewald
- Colesterol Total: Enzimático Colorimétrico (Ádvia Bayer®; Mega Bayer®)
- Glicose: Enzimático UV Hexoquinase (Ádvia Bayer®; Mega Bayer®)
- Insulina: Eletroquimioluminescência (Elecsys®)
- Triglicerídios: Enzimático Colorimétrico (Ádvia Bayer®; Mega Bayer®)

Nos cinco momentos de coletas de sangue, amostras adicionais foram coletadas para estabelecer valores de hematócrito e hemoglobina. Para análise de hematócrito foram utilizados 20 µl de sangue em capilares de microhematócrito não heparinizados e para hemoglobina, 12 µl de sangue foram analisados em medidor de hemoglobina portátil (StatSite, M, Brasmédica, Brasil) pelo método de fotometria de refletância. Os valores de hematócrito e hemoglobina foram utilizados para cálculo de volume plasmático, por meio do métodos proposto por Dill e Costill (1974). Os valores pré exercício, ou seja, com o sujeito devidamente alimentado, foram considerados os valores de base e os outros momentos foram ajustados em relação a eles.

3.14 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis foram descritas por meio de média e desvio padrão.

O teste de Shapiro-Wilk foi aplicado para avaliar a distribuição dos dados.

Homogeneidade das variâncias foi verificado pelo teste de Levene e o teste de Mauchly foi aplicado para a verificação da esfericidade.

As variáveis de caracterização da amostra e de registro alimentar, TMB e RER foram comparadas entre os grupos por meio da ANOVA one-way.

Para comparar os três grupos nos cinco momentos testados das análises sanguíneas foi aplicada uma ANOVA de modelo misto (3x5), sendo fatores os grupos e os momentos.

As diferenças nos resultados da lipemia, insulina e glicose entre os diferentes momentos de avaliação foram verificadas por meio da ANOVA para medidas Repetidas com correção para as comparações múltiplas de Bonferroni.

O nível de significância adotado foi de 5% e as análises foram realizadas no programa SPSS versão 19 *for Windows*.

4 RESULTADOS

4.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

A Tabela 1 apresenta os dados de caracterização da amostra. Não foram verificadas diferenças estatisticamente significativas nas variáveis de caracterização da amostra entre os três grupos do estudo.

Tabela 1: Dados de caracterização da amostra expressos em média \pm dp.

	A/A (n=9)	G/A (n=10)	G/G (n=8)	p=
Idade (anos)	26,5 \pm 5	24,3 \pm 3,4	25,6 \pm 4,5	0,53
Massa (kg)	71,9 \pm 7,6	76,8 \pm 8,5	67,6 \pm 8,6	0,08
Estatura (m)	1,76 \pm 0,02	1,76 \pm 0,05	1,76 \pm 0,05	0,99
% Gordura	29,4 \pm 4,4	28,8 \pm 4,7	28,9 \pm 5	0,95
% Massa Muscular	43,6 \pm 2,8	44,3 \pm 4,1	43,9 \pm 2,7	0,89
VO _{2max} (ml/kg/min)	47,8 \pm 3,4	47,8 \pm 3,2	47,1 \pm 3,3	0,9

4.2 REGISTROS ALIMENTARES

A análise dos registros alimentares do dia anterior ao exercício demonstrou que não houve diferença significativa no consumo calórico e proporção de macronutrientes entre os grupos, como apresentado na Tabela 2.

Tabela 2: Análise dos registros alimentares dos três grupos. Valores expressos em média±dp.

	A/A	G/A	G/G	<i>p</i> =
Valor energético total(Kcal)	2327,3±644	1995,9±663,6	2058,5±545,3	0,49
Carboidratos(%)	47±8,9	50,3±8	51,7±8,7	0,50
Carboidratos(g)	270,1±74,5	249,3±79,6	266,9±78,7	0,82
Proteínas(%)	20,4±7,8	17,6±4,6	17,3±6,5	0,54
Proteínas(g)	114,7±41,1	90,3±41,9	91,52±49,4	0,42
Proteína/kg peso corporal	1,57±0,5	1,17±0,5	1,3±0,6	0,31
Lipídeos(%)	32,4±7,3	32±7,8	30,6±5,9	0,86
Lipídeos(g)	87,5±38,1	72,8±33,12	69,4±20,4	0,46

4.3 TAXA METABÓLICA BASAL E RER

A TMB e RER não diferiram entre os grupos estudados, como demonstrado na Tabela 3.

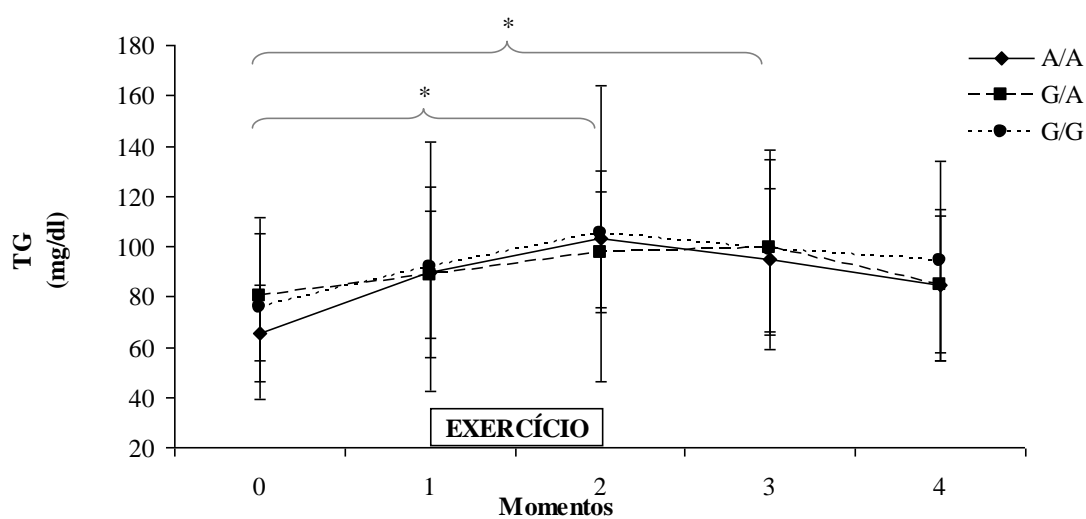
Tabela 3: Valores de TMB e RER. Valores expressos em média±dp.

	A/A	G/A	G/G	<i>p</i> =
TMB (Kcal/dia)	1701,4±279,2	1794,4±315,2	1748,2±256,4	0,36
RER	0,77±0,05	0,75±0,03	0,78±0,04	0,44

4.4 TRIGLICERÍDEOS

A ANOVA de modelo misto apresenta um efeito do momento sobre as concentrações de triglicerídeos ($p < 0,05$), mas não apresenta efeito do grupo ($p = 0,93$) bem como interação entre grupo e momento ($p = 0,57$). As diferenças entre momentos estão apresentados na Figura 2.

Figura 2: Comportamento da concentração de triglicerídeos. *= diferenças estatisticamente significativas para o grupo A/A ($p < 0,05$).



4.5 INSULINA

A ANOVA de modelo misto apresenta um efeito do momento sobre as concentrações de insulina ($p < 0,05$), mas não apresenta efeito do grupo ($p = 0,29$) bem como interação entre grupo e momento ($p = 0,35$). O comportamento das concentrações de insulina estão apresentadas na figura 3a e as diferenças entre momentos para cada grupo separadamente estão apresentados na Figura 3b.

Figura 3a

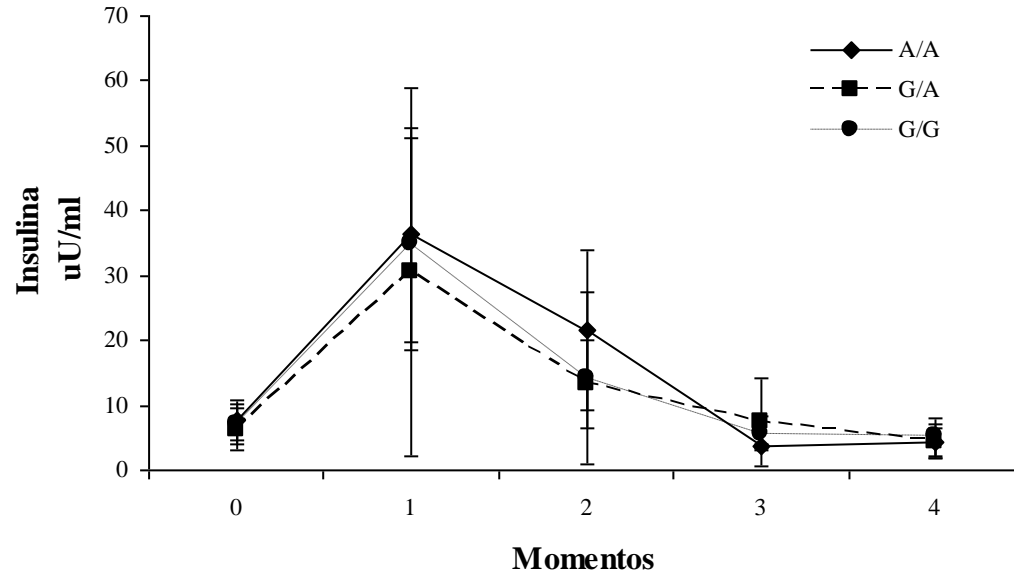
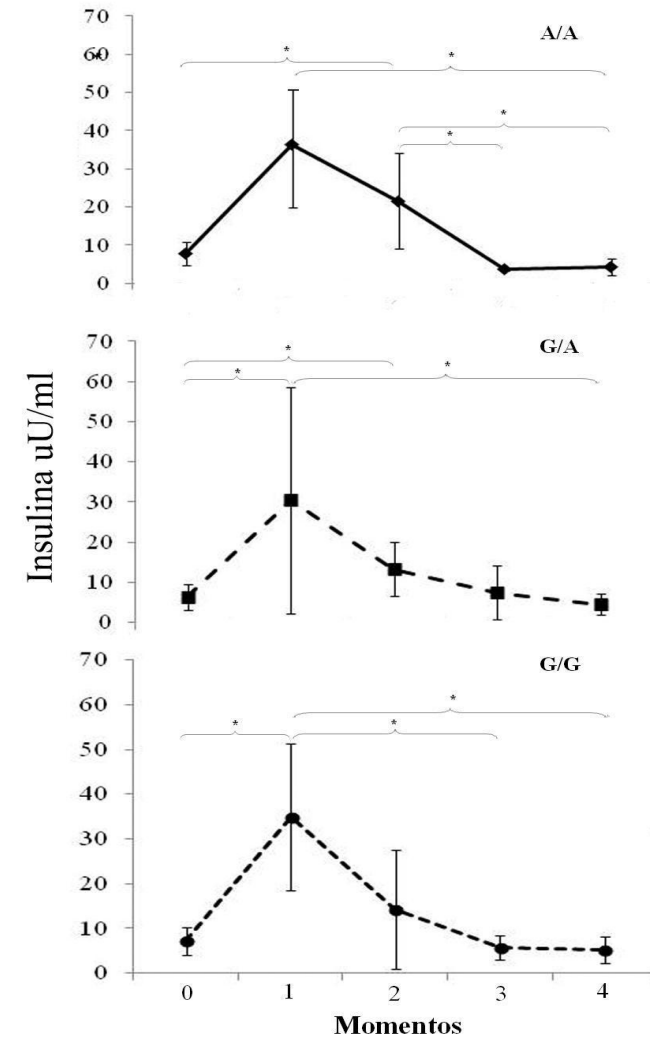


Figura 3a: Comportamento das concentrações de insulina.

Figura 3b: Diferenças nas concentrações de insulina entre os momentos para cada grupo separadamente. *= diferenças estatisticamente significativas para cada um dos três grupos ($p < 0,05$).

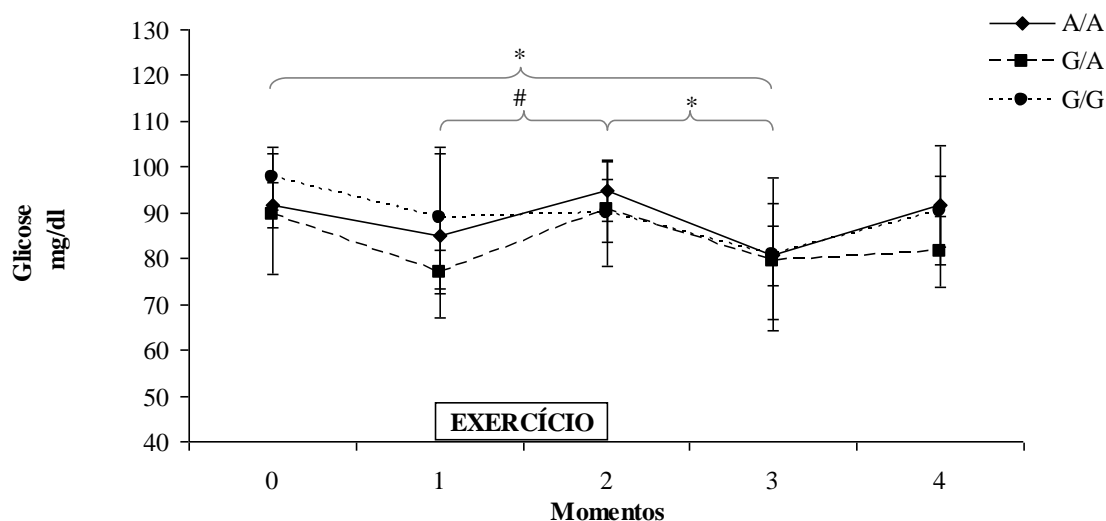
Figura 3b



4.6 GLICOSE

A ANOVA de modelo misto apresenta um efeito do momento sobre as concentrações de insulina ($p<0,05$), mas não apresenta efeito do grupo ($p=0,17$) bem como interação entre grupo e momento ($p=0,45$). As diferenças entre momentos estão apresentados na Figura 4.

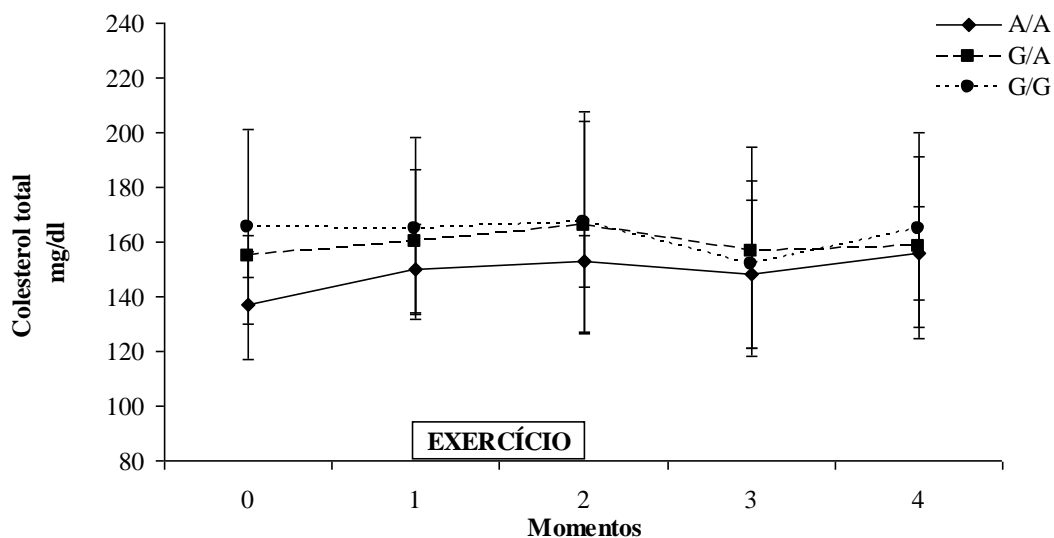
Figura 4: Comportamento da concentração de glicose. *= diferenças estatisticamente significativas para o grupo A/A; #= diferenças estatísticas significativas para o grupo G/A ($p<0,05$).



4.7 COLESTEROL TOTAL

A ANOVA de modelo misto apresenta um efeito do momento sobre as concentrações de colesterol total ($p<0,05$), mas não apresenta efeito do grupo ($p=0,57$) bem como interação entre grupo e momento ($p=0,48$). A ANOVA para medidas repetidas não apontou diferenças entre os momentos para nenhum dos grupos ($p=0,12$ para o grupo A/A; $p=0,9$ para G/A e $p=0,07$ para o G/G). A Figura 5 apresenta o comportamento do colesterol total nos cinco momentos testados.

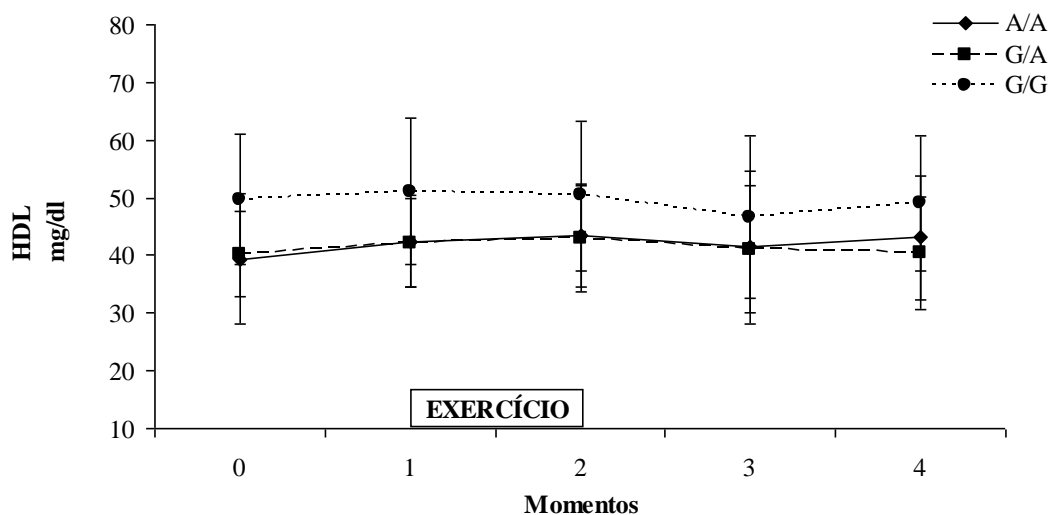
Figura 5: Comportamento da concentração de colesterol total.



4.8 COLESTEROL HDL

A ANOVA de modelo misto não apresenta efeito do momento sobre as concentrações de colesterol HDL ($p=0,06$) e também não apresenta efeito do grupo ($p=0,21$) bem como interação entre grupo e momento ($p=0,59$). A Figura 6 apresenta o comportamento do colesterol HDL nos cinco momentos testados.

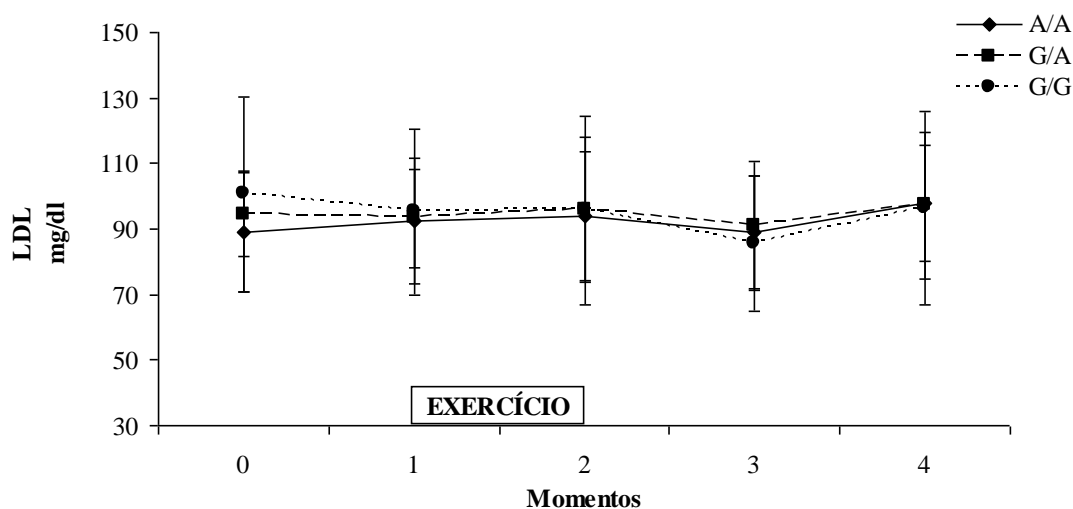
Figura 6: Comportamento da concentração de colesterol HDL.



4.9 COLESTEROL LDL

A ANOVA de modelo misto apresenta um efeito do momento sobre as concentrações de colesterol LDL ($p < 0,05$), mas não apresenta efeito do grupo ($p = 0,96$) bem como interação entre grupo e momento ($p = 0,37$). A ANOVA para medidas repetidas não apontou diferenças entre os momentos para os grupos A/A ($p = 0,23$) e G/A ($p = 0,40$) e indicou diferença para o grupo G/G ($p = 0,008$), entretanto a análise do Post Hoc de Bonferroni não apresenta diferença entre momentos também para este grupo. A Figura 7 apresenta o comportamento do colesterol LDL nos cinco momentos testados.

Figura 7: Comportamento da concentração de LDL.



4.10 ÁREA SOB A CURVA

As áreas sob a curva (ASC) de triglicerídeos (Figura 8), insulina (Figura 9), glicose (Figura 10), colesterol total (Figura 11), colesterol HDL (Figura 12) e colesterol LDL (Figura 13) não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos.

Figura 8: ASC das concentrações de triglicerídeos nos três grupos ($p = 0,95$).

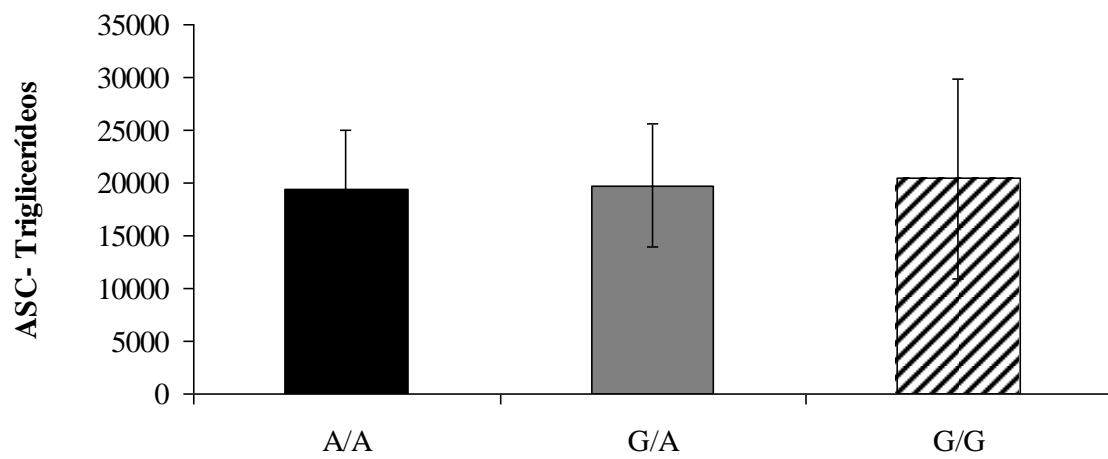


Figura 9: ASC das concentrações de insulina nos três grupos ($p=0,29$).

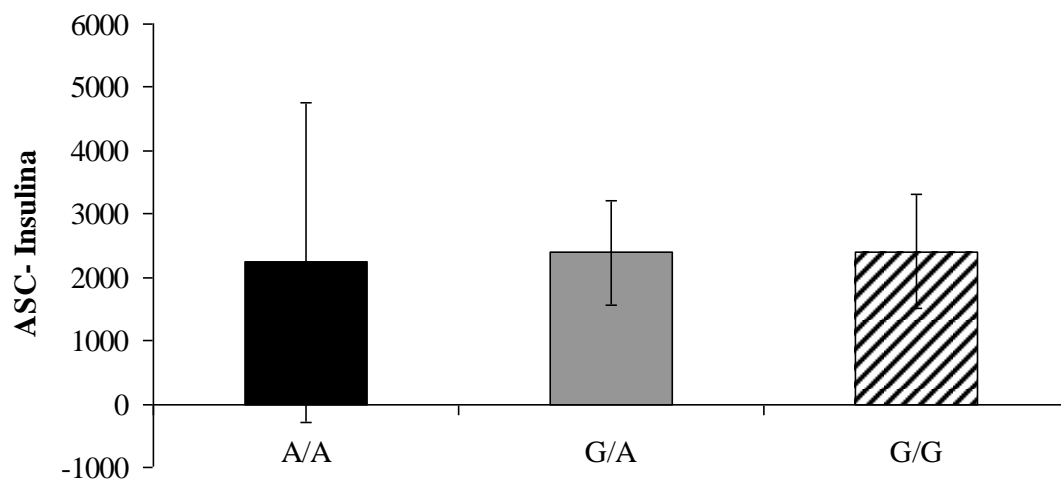


Figura 10: ASC das concentrações de glicose nos três grupos ($p=0,13$).

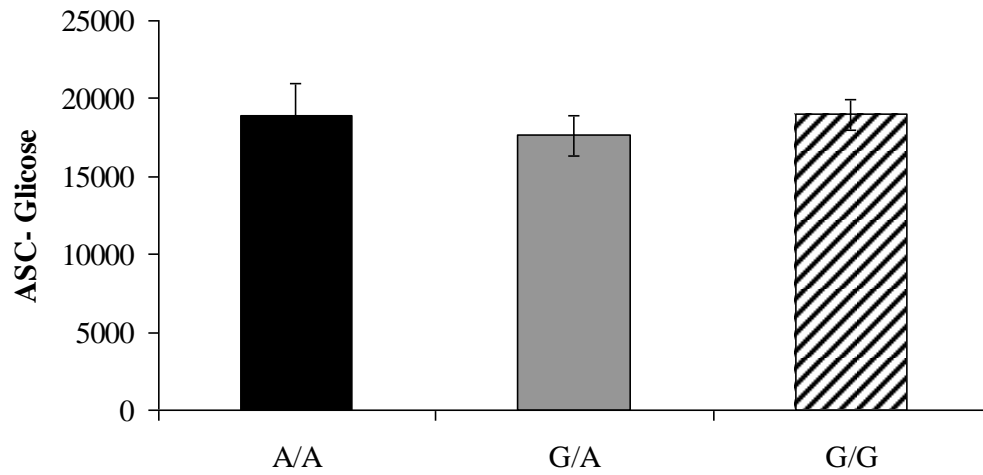


Figura 11: ASC das concentrações de colesterol total nos três grupos ($p=0,43$).

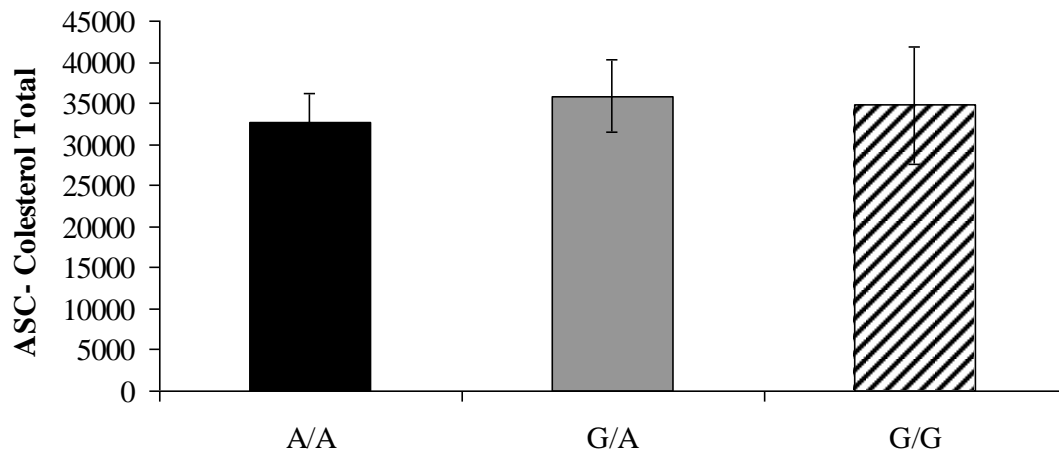
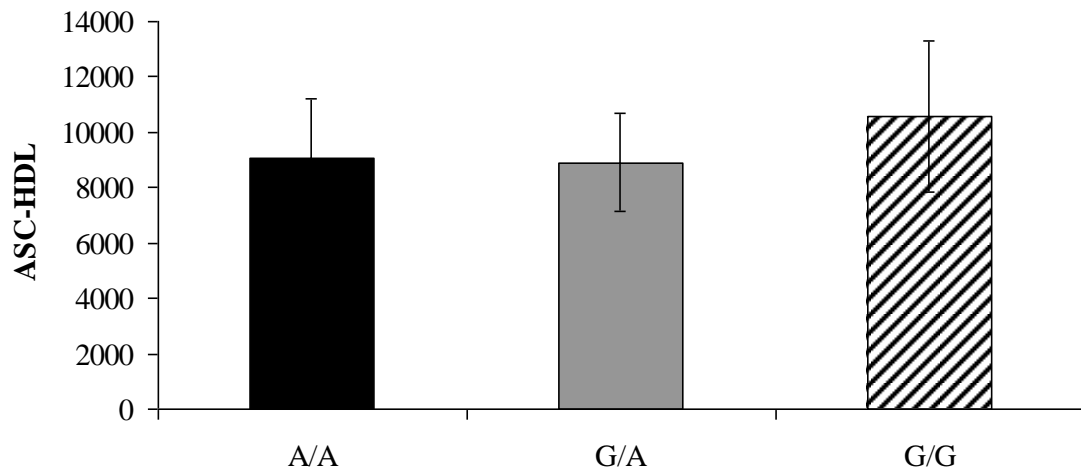
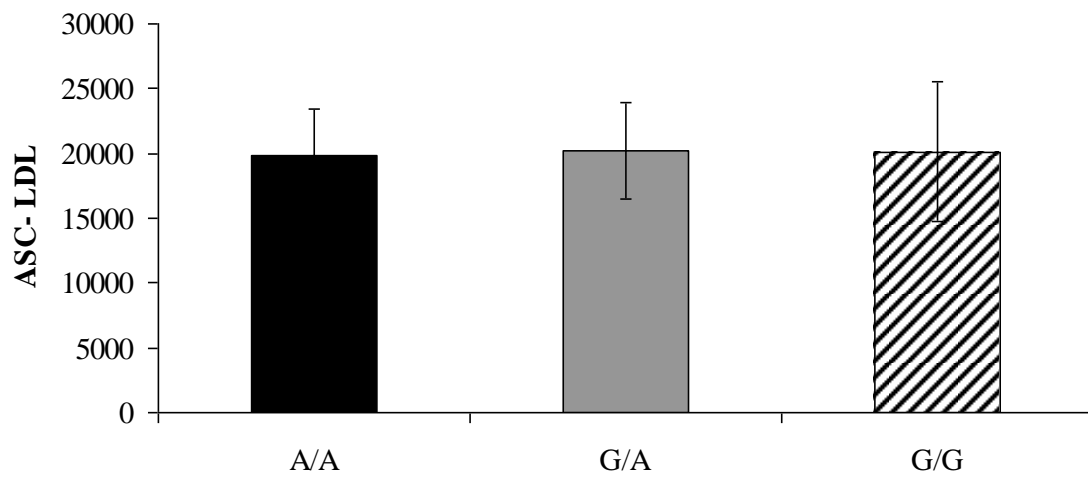


Figura 12: ASC das concentrações de HDL nos três grupos ($p=0,25$).Figura 13: ASC das concentrações de LDL nos três grupos ($p=0,97$).

5 DISCUSSÃO

Não foram encontrados na literatura estudos verificando o efeito de qualquer polimorfismo no gene *UCP2* sobre respostas metabólicas ao exercício. Este parece ser o primeiro estudo que se propôs a avaliar a existência de relação entre diferentes genótipos do polimorfismo -866G/A e parâmetros metabólicos após realização de exercício aeróbio.

Ao contrário de nossas hipóteses, o presente estudo não encontrou nenhuma relação entre o polimorfismo em questão e TMB, comportamento de parâmetros lipêmicos, glicêmicos e insulinêmicos. As variáveis sanguíneas analisadas, triglicerídeos, glicose, insulina, colesterol total, HDL e LDL não difeririam entre os grupos, seja analisando as concentrações em cada um dos momentos testados, seja avaliando a área sob a curva dessas variáveis.

Por serem considerados genes candidatos para o desenvolvimento de obesidade e diabetes tipo 2, os genes *UCP2* e *UCP3* tem sido estudados extensivamente. Existe um pequeno número de variantes genéticas frequentes e estes têm sido investigados em um grande número de estudos. A maioria dos variantes genéticos identificados são pouco frequentes, sendo pouco estudados. No gene *UCP2*, existem três variantes frequentes: -866G/A, codon 55Ala/Val e o 3'UTR ins/del (Nedergaard et al, 2005; Esteves and Brand, 2005; Chan et al, 2004).

O polimorfismo -866G/A está localizado na região promotora do gene *UCP2* e tem sido relacionado com a regulação da expressão tecidual dessa proteína por supostamente mudar um ou mais sítios de ligação para os fatores de transcrição (Dalgaard et al, 2003; Krempler et al, 2002). Vários estudos determinaram se a atividade promotora altera com o genótipo. Em células produtoras de insulina, o fator transcricional PAX6 da célula β liga-se preferencialmente ao alelo A, o qual aumenta a atividade gênica (Sasahara et al, 2004). Comparando-se o genótipo G/A com o G/G, observa-se que a secreção de insulina estimulada por glicose é menor nos portadores do alelo A, sugerindo que o aumento de mRNA de *UCP2* pelo alelo A, aumenta a quantidade da proteína, induzindo a atividade desacopladora, diminuindo a relação ATP/ADP e diminuindo em última análise a secreção de insulina estimulada por glicose (Sesti et al, 2003). Portanto, o alelo A parece apresentar maiores taxas de transcrição na região promotora do gene *UCP2* se comparado com o alelo G.

Entretanto, a literatura tem apresentado dados conflitantes e nem sempre o alelo A se apresenta como protetor contra a obesidade e possível regulador negativo da secreção

de insulina. Em caucasianos o alelo G já foi reportado a predispor a obesidade (Esterbauer et al, 2001), bem como não ter nenhuma relação com a mesma (Dalgaard et al, 2003; Mancini et al, 2003). Na mesma população o alelo A foi relacionado a parâmetros de obesidade (Kring et al, 2008; Ochoa et al, 2007; Dhamrait et al, 2004), a diminuição da oxidação lipídica (Le Fur et al, 2004), aumento dos níveis de triglicerídeos e colesterol total (Reis et al, 2004) e mesmo a diminuição do colesterol total e colesterol LDL (Salopuro et al, 2009). Ainda em caucasianos, o alelo A tem sido associado com aumentado risco de desenvolvimento de diabetes tipo 2, diminuição da sensibilidade a insulina e da secreção de insulina (Gable et al, 2006; Dhamrait et al, 2004; D'Adamo et al, 2004; Sesti et al, 2003; Krempler et al, 2002). Ao mesmo tempo e na mesma população, o alelo G também tem sido relacionado ao desenvolvimento de diabetes (Bulotta et al, 2005; Lyssenko et al, 2005; Wang et al, 2004).

Na região genômica contendo os genes UCP2 e UCP3 foram identificados 14 polimorfismos, incluindo o -866G/A, entre 3782 mulheres de diferentes etnias. Nenhuma associação foi encontrada entre um polimorfismo isolado e diabetes tipo 2, entretanto, análises de haplótipos indicaram associação com aumentado risco de desenvolvimento de diabetes tipo 2. O haplótipo dos quatro polimorfismos avaliados estava em alto desequilíbrio de ligação com o alelo A do polimorfismo -866, o que sugere que variações não identificadas de determinada área gênica podem ser responsáveis pelas relações observadas entre o polimorfismo -866G/A e variáveis metabólicas. A presença de outras variantes funcionais também pode contribuir para as diferenças relacionadas a diferentes alelos para o risco de obesidade e diabetes, como reportado por diversos estudos (Hsu et al. 2008). O presente estudo avaliou somente o polimorfismo -866G/A, que é citado com grande frequência na literatura. A falta de avaliação de outras variantes genéticas da região genômica estudada pode ser considerada uma limitação do estudo, já que inviabiliza a avaliação de haplótipos e possíveis efeitos sobre o metabolismo.

Embora não tenha sido verificada nenhuma diferença nas concentrações e área sob a curva de triglicerídeos entre os grupos, quando observado o comportamento da concentração dessa variável, nota-se que o grupo A/A apresenta maior variação da concentração de triglicerídeos que os outros grupos. Houve uma diferença significativa da concentração de triglicerídeos entre os momentos 0 e 2, bem como entre os momentos 0 e 3, que não foi observada nos outros grupos.

A hiperlipemia pós-prandial está associada com a Síndrome Metabólica, um conjunto de sintomas que incluem adipocidade visceral, hiperlipemia, resistência à

insulina, intolerância à glicose, e hipertensão, a qual aumenta o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (Gott et al, 1998; Jeppesen et al, 1995). Altos níveis pós-prandiais de triglicérides estão relacionados a um prejuízo na função endotelial e consequentemente contribuem para a formação de placa aterosclerótica (Vogel et al, 1997; Patsch et al, 1992; Groot et al, 1991). Mesmo com uma alimentação pré-exercício com um percentual de lipídios de 28%, o grupo A/A apresentou alterações que não foram observadas nos outros grupos, indicando uma possível diferença metabólica nesse grupo.

A refeição pré-exercício utilizada no presente estudo foi composta por 60% de carboidratos, 28% de lipídios e 12% de proteínas, visando que os voluntários consumissem uma refeição padrão. Entretanto, a oferta de uma refeição com um maior percentual de lipídios poderia ter causado maiores alterações nas concentrações das variáveis analisadas, o que talvez gerasse diferentes respostas entre os grupos. Estudos avaliando o efeito do exercício sobre a lipemia pós-prandial em indivíduos saudáveis utilizam, na maioria dos casos, refeições ricas em lipídios (Miyashita et al, 2010; Malkova and Gill, 2006). Entretanto essa variável também é estudada com refeições com moderados percentuais de lipídios. Hurren et al verificaram que o exercício diminui as respostas lipêmicas independente do consumo rico ou moderado de lipídios e encontraram elevações significativas de lipemia após consumo de uma refeição com moderado percentual de lipídios (35%) (Hurren et al, 2010). Ao contrário nos indivíduos do nosso estudo, a amostra do estudo citado era composta por sujeitos com sobrepeso.

Além de serem homogêneos com relação às variáveis de caracterização da amostra, os sujeitos do presente estudo foram classificados como brancos, sendo negros e orientais descartados da amostra. Essa medida foi tomada visando a maior homogeneidade possível entre os grupos. Setenta sujeitos foram avaliados no primeiro dia de teste, mas a maioria foi excluída da amostra por terem uma capacidade cardiorrespiratória acima do esperado, mesmo não estando envolvido em nenhum programa de treinamento, ou por não serem classificados como brancos, ou mesmo por desistência do estudo. Somente vinte e sete sujeitos completaram o protocolo do estudo, limitando o tamanho amostral.

A análise de outros variantes genéticos para estudos de haplótipos bem como a utilização de uma refeição pré-exercício rica em lipídios são sugestões para estudos futuros. Além disso, estudos com outras populações, como obesos e diabéticos, podem ser importantes para entender melhor as interações entre polimorfismos nos genes *UCPs* e metabolismo

6 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que isoladamente o polimorfismo -866G/A não exerce influência sobre a taxa metabólica basal e respostas de triglicerídeos, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, glicose e insulina ao exercício em jovens saudáveis.

REFERÊNCIAS

- Ainsworth, BE; Haskell, WL; Whitt, MC; Irwin, ML; Swartz, AM; Strath, SJ, *et al.* Compendium of physical activities: an update of activity codes and MET intensities. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 32(9): S498-S519, 2000.
- Buemann, B; Schierning, B; Toubro, S; Bibby, BM; Sorensen, T; Dalgaard, L; Pedersen, O; Astrup, A. The association between the val/ala-55 polymorphism of the uncoupling protein 2 gene and exercise efficiency. *International Journal of Obesity* 25:467-471, 2001.
- Bulotta, A; Ludovico, O; Coco, A; Di Paola, R; Quattrone, A; Carella, M; Pellegrini, F; Prudente, S; Trischitta, V. The common -866G/A polymorphism in the promoter region of the UCP-2 gene is associated with reduced risk of type 2 diabetes in Caucasians from Italy. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 90(2):1176-1180, 2005.
- Cha, MH; Kim, IC; Kim, KS; Kang, BK; Choi, SM; Yoon, Y. Association of UCP2 and UCP3 gene polymorphism with serum high-density lipoprotein cholesterol among Korean women. *Metabolism Clinical and Experimental* 56: 806-813, 2007.
- Chan, CB; MacDonald, PE; Saleh, MC; Johns, DC; Marban, E; Wheeler, MB. Overexpression of uncoupling protein 2 inhibits glucose-stimulated insulin secretion from rat islets. *Diabetes* 48:1482-1486, 1999.
- Chan, CB; Saleh, MC; Koshkin, V ; Wheeler, MB. Uncoupling protein 2 and islet function. *Diabetes* 53: 136-142, 2004.
- D'Adamo, M; Perego, L; Cardellini, M; Marini, MA; Fronton, S; Andreozzi, F; Sciacqua, A; Lauro, D; Sbraccia, P; Federici, M; Paganelli, M; Pontiroli, AE; Lauro, R; Perticone, F; Folli, F; Sesti, G. The -866A/A genotype in the promoter of the human uncoupling protein 2 gene is associated with insulin resistance an increased risk of type 2 diabetes. *Diabetes* 53: 1905-1910, 2004.
- Dagaard, LT; Andersen, G; Larsen, LH; et al. Mutational analysis of the UCP2 core promoter and relationships of variants with obesity. *Obesity Research* 11(11):1420-1427, 2003.
- deWeir, JB. New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism. *The Journal of Physiology* 86:1-9, 1949.
- Dhamrait, SS; Stephens, JW; Cooper, JA et al. FT cardiovascular risk in healthy men and markers of oxidative stress in diabetic men are associated with commom variation in the gene for uncoupling protein 2. *European Heart Journal* 25(6):468-475, 2004.
- Dill, DB; Costill, DL. Calculation of percentage changes in volume of blood, plasma and red cells in dehydration. *Journal of Applied Physiology* 1974;37:247-48.

- Esterbauer, H; Schneitler, C; Oberkofler, H; Ebenbichler, C; Paulweber, B; Sandhofer, F; Ladurner, G; Hell, E; Strosberg, AD; Patsch, JR; Krempler, F; Patsch, W. A common polymorphism in the promoter of UCP2 is associated with decrease risk of obesity in middle-aged humans. *Nature Genetics* 28:178-183, 2001.
- Esteves, TC and Brand, MD. The reactions catalyzed by the mitochondrial uncoupling proteins UCP2 e UCP3. *Biochimica et Biophysica Acta* 1709: 35-44, 2005.
- Gable, DR; Stephens, JW; Cooper, JA; Miller, GJ; Humphries, SE. Variation in the UCP2-UCP3 gene cluster predicts the development of type 2 diabetes in healthy middle-aged men. *Diabetes* 55(5):1504-1511, 2006.
- Gott Jr, AM. Triglyceride as a risk factor for coronary artery disease. *The American Journal of Cardiology* 82(8):22-25, 1998.
- Groot, PHE; van Stiphout, WAHJ; Krauss, XH; et al. Postprandial lipoprotein metabolism in normolipidemic men with and without coronary artery disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis & Vascular Biology* 11:653-662, 1991.
- Hurren, NM; Eves, FF; Blannin, AK. Is the effect of prior exercise on postprandial lipaemia the same for a moderate-fat meal as it is for a high-fat meal? *The British Journal of Nutrition* 105(4):506-516, 2010.
- Hesselink, MKC; Mensink, M; Schrauwen. Human uncoupling protein-3 and obesity: an update. *Obesity Research* 11(12):1429-1443, 2003.
- Jeppesen, J; Hollenbeck, CB; Zhou, M-Y, Coulston, AM; Jones, C; Chen, Y-D; Reaven, GM. Relation between insulin resistance, hyperinsulinemia, postheparin plasma lipoprotein lipase activity, and postprandial lipemia. *Arteriosclerosis, Thrombosis & Vascular Biology* 15:320-324, 1995.
- Jezek, P. Possible physiological roles of mitochondrial uncoupling proteins – UCPs. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 34: 1190-1206, 2002.
- Kahara, T; Takamura, T; Hayakawa, T; Nagai, Y; Yamaguchi, H; Katsuki, T; Katsuki, K; Katsuki, M; Kobayashi, K. Prediction of exercise-mediated changes in metabolic markers by gene polymorphism. *Diabetes Research and Clinical Practice* 57: 105-110, 2002.
- Krauss, S; Zhang, CY; Lowell, BB. The mitochondrial uncoupling-protein homologues. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 6:248-260, 2005.
- Krempler, F; Esterbauer, H; Weitgasser, R; Ebenbichler, C; Patsch, JR; Miller, K; Xie, M; Linnemayr, V; Oberkofler, H; Patsch, W. A functional polymorphism in the promoter of UCP2 enhances obesity risk but reduces type 2 diabetes risk in obese middle-aged humans. *Diabetes* 51:3331-3335, 2002.
- Kring, SI; Larsen, LH; Holst, C et al. Genotype-phenotype associations in obesity dependent on definition of the obesity phenotype. *Obesity Facts* 1(3):138-145, 2008.

- Lahiri, DK and Nurnberger, JI, Jr. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Research* 19: 5444, 1987.
- Le Fur, S; Le Stunff, C; dos Santos, C; Boungnères, P. The common -866G/A polymorphism in the promoter of uncoupling protein 2 is associated with increased carbohydrate and decreased lipid oxidation in juvenile obesity. *Diabetes* 53: 235-239, 2004.
- Lee, H; Ryu, H; Shin, H; Park, BL; Kim, JY; Cho, YM; Park, KS; Song, J; Oh, B. Associations between polymorphisms in the mitochondrial uncoupling proteins (UCPs) with T2DM. *Clinica Chimica Acta* 398: 27-33, 2008.
- Lyssenko, V; Almgren, P; Anevski, D et al. Genetic prediction of future type 2 diabetes. *PLoS Medicine* 2(12):345, 2005.
- Mancini, FP; Sabatino, L; Colantuoni, V; et al. Variants of uncoupling protein-2 gene and obesity: interaction with peroxisome proliferator-activated receptor γ 2. *Clinical Endocrinology* 59(6):817-822, 2003.
- Marfell-Jones, M; Olds, T; Stewart, A; Carter, L. International standards for anthropometric assessment. ISAK, Potchefstroom (South Africa), 2006.
- Maughan, R; Gleeson, M; Greenhaff, PL. Bioquímica do exercício e do treinamento. Ed. Manole, 1ªed, 2000.
- Miyashita, M; Burns, SF; Stensel, DJ. Accumulating short bouts of brisk walking reduces postprandial plasma triacylglycerol concentrations and resting blood pressure in healthy young men. *The American Journal of Clinical Nutrition* 88:1225-1231, 2008.
- Morita, E; Taniguchi, H; Sakaue, M. Trp64Arg polymorphism in beta3-adrenergic receptor gene is associated with decrease fat oxidation both in resting and aerobic exercise in the Japanese male. *Experimental Diabetes Research* 1-5, 2009.
- Nedergaard, J; Ricquier, D; Kozak, LP. Uncoupling proteins: current status and therapeutic prospects. *EMBO Reports* 6: 917-921, 2005.
- Ochoa, MC; Santos, JL; Azcona, C et al. Association between obesity and insulin resistance with UCP2-UCP3 gene variants in Spanish children and adolescents. *Molecular Genetics and Metabolism* 92(4):351-358, 2007.
- Patsch JR, Miesenbock G, Hopferwieser T, et al: Relation of triglyceride metabolism and coronary artery disease: Studies in the postprandial state. *Arteriosclerosis, Thrombosis & Vascular Biology* 12:1336-1345, 1992.
- Rai, E; Sharma, S; Koul, A; Bhat, AK; Bhanwer, AJS; Bamezai, RNK. Interaction between the UCP2-866G/A, mtDNA 10398G/A and PGC1 α p.Thr394Thr and p.Gly482Ser polymorphisms in type 2 diabetes susceptibility in North Indian population. *Human Genetics* 122(5):535-540, 2007.

- Reis, AF; Dubois-Laforgue, D; Bellanné-Chantelot, C; Timsit, J; Velho, G. A polymorphism in the promoter of UCP2 gene modulates lipid levels in patients with type 2 diabetes. *Molecular Genetics and Metabolism* 82(4):339-344, 2004.
- Ricquier, D. Fundamental mechanisms of thermogenesis. *Comptes Rendus Biologies* 329:578-586, 2006.
- Rousset, S; Alves-Guerra, MC ; Mozo, J ; Miroux, B ; Cassard-Doulier, AM; Bouillaud, F; Ricquier, D. The biology of mitochondrial uncoupling proteins. *Diabetes* 53:s130-s135, 2004.
- Rudofsky, G; Schroedter, A; Voronko, OE; Schlimme, M; Tafel, J; Isermann, BH; Humpert, PM; Morcos, M; Bierhaus, A; Nawroth, PP; Hamann, A. Functional polymorphisms of UCP2 and UCP3 are associated with a reduced prevalence of diabetic neuropathy in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 29(1): 89-94, 2006.
- Salapuro, T; Pulkkinen, L; Linsdtröm, J et al. Variation in the UCP2 and UCP3 genes associates with abdominal obesity and serum lipids: the Finnish diabetes prevention study. *BMC Medical Genetics* 10:94, 2009.
- Sasahara, M., Nishi, M., Kawashima, H. et al. Uncoupling protein 2 promoter polymorphism 866G/A affects its expression in b-cells and modulates clinical profiles of Japanese Type 2 diabetic patients. *Diabetes* 53:482–485, 2004.
- Sesti, G; Cardellini, M; Marini, MA; Frontoni, S ; D'Adamo, M ; Del Guerra, S ; Lauro, D. ; De Nicolais, P; Sbraccia, P; Del Prado, S; Gambardella, S; Federici, M; Marchetti, P; Lauro, R. A common polymorphism in the promoter of UCP2 contributes to the variation in insulin secretion in glucose-tolerant subjects. *Diabetes* 52:1280-1283, 2003.
- Schrauwen, P; Troost, FJ; Xia, J; Ravussin, E; Saris, WHM. Skeletal muscle UCP2 and UCP3 expression in trained and untrained male subjects. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders* 23(9):966-972, 1999.
- Schrauwen, P; Hesselink, MKC; Vaartjes, I; Kornips, E; Saris, WHM; Giacobino, J; Russell, A. Effect of acute exercise on uncoupling protein 3 is a fat metabolism mediated effect. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism* 282:11-17, 2002.
- Srivastava, N; Prakash, J; Lakhan, R; Agarwal, CG; Pant, DC; Mittal, B. A common polymorphism in the promoter of UCP2 is associated with obesity and hyperinsulinemia in northern Indians. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2009.

- Ukkola, O; Tremblay, A; Sun, G; Chagnon, YC; Bouchard, C. Genetic variation at the uncoupling protein 1, 2 and 3 loci and the response to long-term overfeeding. *European Journal of Clinical Nutrition* 55: 1008-1015, 2001.
- Vogel, RA; Corretti, MC; Plotnick, GD. Effect of a single high-fat meal on endothelial function in healthy subjects. *The American Journal of Cardiology* 79:350-354, 1997.
- Yamasaki, H; Sasaki, H; Ogawa, K; Shono, T; Tamura, S; Doi, A; Sasahara, M; Kawashima, H; Nakao, T; Furuta, H; Nishi, M; Nanjo, K. Uncoupling protein 2 promoter polymorphism -866G/A affects peripheral nerve dysfunction in Japanese type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 29(4):888-894, 2006.
- Yanovski, JA; Diament, AL; Sovik, KN; Nguyen, TT; Li, H; Sebring, NG; Warden, CH. Associations between uncoupling protein 2, body composition, and resting energy expenditure in lean and obese African American, white, and Asian children. *The American Journal of Clinical Nutrition* 71:1405-1412, 2000.
- Yoon, Y; Park, BL; Cha, MH; Kim, KS; Cheong, HS; Choi, YH; Shin, HD. Effects of genetic polymorphisms of UCP2 and UCP3 on very low calorie diet-induced body fat reduction in Korean female subjects. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 359: 451-456, 2007.
- Wang, H; Chu, WS; Lu, T; Hasstedt, SJ; Kern, PA; Elbein, SC. Uncoupling protein-2 polymorphisms in type 2 diabetes, obesity, and insulin secretion. *American Journal of Physiology* 286(1):E1-E7, 2004.

ANEXO A: ANAMNESE

QUESTIONÁRIO PAR-Q

- 1 Alguma vez um médico lhe disse que você possui um problema do coração e recomendou que só fizesse atividade física sob supervisão médica? () **Sim** () **Não**
- 2 Você sente dor no peito causada pela prática de atividade física? () **Sim** () **Não**
- 3 Você sentiu dor no peito no último mês? () **Sim** () **Não**
- 4 Você tende a perder a consciência ou cair, como resultado de tonteira? () **Sim** () **Não**
- 5 Você tem algum problema ósseo ou muscular que poderia ser agravado com a prática de atividade física? () **Sim** () **Não**
- 6 Algum médico já recomendou o uso de medicamento para a sua pressão arterial ou condição física? () **Sim** () **Não**
- 7 Você tem consciência, através da sua própria experiência ou aconselhamento médico, de alguma outra razão física que impeça sua prática de atividade física sem supervisão médica? () **Sim** () **Não**

Se Você Respondeu

- **Sim, para uma ou mais perguntas:** consulte seu médico por telefone ou pessoalmente antes de aumentar sua atividade física e/ou fazer uma avaliação de condicionamento. Diga a seu médico a que perguntas você respondeu sim no PAR-Q.
- **Não, para todas as perguntas:** se você respondeu o PAR-Q precisamente, você possui razoável garantia de sua adaptação para um programa de exercícios progressivos e uma avaliação de condicionamento.

Qual foi o horário da sua última refeição? _____ Horário do teste: _____

O que você comeu na última refeição?

Você faz uso contínuo de algum medicamento? () Sim () Não

Se sim, que medicamentos?

Você participa de algum programa de treinamento? () Sim () Não

Se não, a quanto tempo está em destreino?

Eu, _____,

assumo a veracidade das informações prestadas ao questionário proposto.

Porto Alegre, _____ de _____ de 2011.

Assinatura _____

ANEXO B: TERMO DE COMPROMISSO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado a participar de um estudo que avaliará o efeito de uma alteração do DNA de um gene relacionado à obesidade e diabetes sobre respostas de exercício realizado em esteira.

Os procedimentos do projeto serão os seguintes: avaliação de colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, glicemia e insulina, avaliação da composição corporal, teste de esforço máximo em esteira e exercício de intensidade média em esteira. Para isto, será necessário que você vá até o Laboratório de Pesquisa do Exercício (LAPEX) da Escola de Educação Física da UFRGS duas vezes.

No primeiro dia será realizado um teste de esforço máximo em esteira e além disso serão coletadas amostras de sangue para que o DNA seja extraído e para que sejam determinados os genótipos de cada paciente. O material genético que será coletado para este projeto, após a genotipagem do polimorfismo -866G/A do gene UCP2, será imediatamente descartado, ou seja, não será utilizado para nenhuma outra análise genética.

Para o segundo dia serão selecionados pacientes de acordo com o teste de genética.

Se você for selecionado, no segundo dia será necessário que você compareça no LAPEX pelo turno da manhã em jejum para receber o café da manhã no local. No dia em que realizará o exercício de intensidade média em esteira serão realizadas cinco coletas de 6ml de sangue cada por um profissional devidamente qualificado e certificado para obtermos os valores de insulina, glicose, triglicerídeos, colesterol total, HDL e LDL.

Você terá o resultado do seu percentual de gordura, da sua capacidade cardiorrespiratória, dos parâmetros sanguíneos glicose, triglicerídeos, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL e insulina, além das principais solicitações metabólicas durante a realização do exercício realizado mediante sua capacidade individual.

Durante a realização do teste de esforço máximo você poderá sentir algum desconforto como náuseas e enjôo, devido à alta intensidade imposta pelo exercício. Nesse caso, você terá o acompanhamento adequado de um médico para seu restabelecimento.

A participação no estudo é voluntária, e os participantes terão o direito a acessar seus resultados ao longo do estudo. Os resultados deste estudo serão mantidos confidenciais e quando divulgados preservarão o anonimato dos participantes. Você é livre

para realizar perguntas antes, durante e após o estudo, estando livre para desistir do mesmo em qualquer momento, sem prejuízo algum para as partes.

O pesquisador responsável se compromete a acompanhar os participantes e prestar eventuais informações a qualquer momento do estudo.

Qualquer dúvida ou dificuldade entre em contato com os pesquisadores responsáveis Diana Perin da Silva ou Alvaro Reischak de Oliveira pelos telefones 9304-6410 ou 3318-5861.

Este termo de compromisso livre e esclarecido deverá ser preenchido em duas vias, sendo uma mantida com o sujeito da pesquisa (você) e outra mantida arquivada pelo pesquisador.

Data ___/___/___

Nome do Voluntário: _____

Assinatura: _____

Pesquisador Responsável: _____

ANEXO C: REGISTRO ALIMENTAR

O objetivo deste registro é conhecer os seus hábitos alimentares. Para que eles estejam o mais próximo possível da sua realidade, é importante que você anote TUDO o que comer e beber neste dia, durante as refeições e entre elas. Anote as quantidades (raso, cheio), as medidas caseiras (copo de requeijão, xícara, colher de sopa/chá, concha média, prato raso/fundo). Detalhe o tipo de alimento consumido, se o pão é integral ou branco, se o suco é artificial ou natural, se adoçou com açúcar ou adoçante, se o leite é desnatado ou integral, se comeu alguma fruta ou salada, especificar qual (por exemplo maçã, banana, rúcula, tomate, etc). Sempre que possível, procure anotar as marcas dos fabricantes (por exemplo, requeijão *nestlé*, pão de sanduíche *nutrella*, etc.), indicar quando o alimento for *light* ou *diet*. Seja o mais preciso e honesto possível, é melhor superestimar a quantidade de alimento consumido do que subestimar, ou não fazer nenhuma estimativa.

Preencher o registro alimentar em dois dias da semana e um dia do final de semana.

Exemplo de preenchimento:

Hora	Lugar	Medida Caseira	Alimento	Marca
7:00	Casa	1 copo de requeijão	Leite Integral	Santa Clara
		1 colher de sopa	Achocolatado	Nescau
		2 fatias	Pão de Sanduíche	Seven Boys
		1 colher de sopa	Margarina	Becel
		rasa		
		1 fatia média	Queijo lanche	
10:00	Fora	1 unidade	Barra Cereal Banana	Nutry
13:00	Fora	1 bife grande	Carne de gado magra	
		8 colheres de sopa	Arroz	
		1 concha média	Feijão	
		2 colheres sopa	Vagem Cozida	
		cheias		
		3 folhas médias	Alface	
		1 colher sopa rasa	Azeite de Oliva	
		2 pegadores	Batata Frita	
16:00	Fora	1 unidade média	Maçã	
		1 pote 200 ml	Iogurte de Morango	Elegê

18:00	Casa	6 unidades 1 lata	Bolacha Cream Craker Coca Cola Light	Nestlé
20:30	Casa	1 prato raso cheio 6 colheres de sopa 1 bife médio ½ unidade 2 rodela grandes 1 copo requeijão 2 unidades	Macarrão Cozido Molho de Tomate Peito de Frango Cenoura crua ralada Tomate Suco de Uva Bombom Sonho de Valsa	Pomarola Tang Lacta

Contato:
Nutricionista Rodrigo Macedo
Telefone: (51) 9656-2740

