

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA

**RELACIONAMENTO ENTRE ESTRUTURA E FUNÇÃO MUSCULAR PERIFÉRICA,
INFLAMAÇÃO SISTÊMICA E REGULAÇÃO AUTONÔMICA NA CAPACIDADE
FUNCIONAL DE ADULTOS OBESOS COM OU SEM DISTÚRBIOS
METABÓLICOS**

Estudo I: Predição da aptidão cardiorrespiratória pelo teste de degrau de seis minutos e sua associação com força e potência musculares em mulheres sedentárias obesas e eutróficas.

Estudo II: A influência da síndrome metabólica na modulação autonômica e aptidão cardiorrespiratória em resposta ao exercício em adultos obesos.

Estudo III: Miostatina e adipocinas: a influência da Síndrome Metabólica e resistência insulínica na função muscular e capacidade aeróbia em adultos obesos.

Aluna: Lívia Pinheiro Carvalho

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Audrey Borghi e Silva

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Renata Gonçalves Mendes

São Carlos – SP

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA

**RELACIONAMENTO ENTRE ESTRUTURA E FUNÇÃO MUSCULAR PERIFÉRICA,
INFLAMAÇÃO SISTÊMICA E REGULAÇÃO AUTÔNOMICA NA CAPACIDADE
FUNCIONAL DE ADULTOS OBESOS COM OU SEM DISTÚRBIOS
METABÓLICOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutora em Fisioterapia, área de concentração: Processos de Avaliação e Intervenção em Fisioterapia.

Aluna: Livia Pinheiro Carvalho
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Audrey Borghi e Silva
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Renata Gonçalves Mendes

Projeto desenvolvido com o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP 2013/15681-3)

São Carlos – SP

2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia

Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Tese de Doutorado da candidata Livia Pinheiro Carvalho, realizada em 15/05/2017:

Prof. Dra. Audrey Borghi e Silva
UFSCar

Prof. Dr. Ricardo Luís Fernandes Guerra
UNIFESP

Prof. Dra. Luciana Maria Malosá Sampaio Jorge
UNINOVE

Prof. Dr. Rodrigo Polaquini Simões
UFSCar

Prof. Dra. Valeria Amorim Pires Di Lorenzo
UFSCar

Dedicatórias

Dedico este trabalho aos meus queridos pais, Valéria e Roberto, à minha amiga e irmã Júlia e ao meu companheiro e amor eterno, Madjer.

Dedico, acima de tudo, àqueles que se interessem pela leitura deste trabalho feito com tanta dedicação, cuidado e amor pela pesquisa. Que este estudo seja mais uma estrela a brilhar numa imensa e esplêndida constelação chamada ciência.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente à Deus pela vida que me foi concedida, à saúde, à oportunidade de conviver, de amar e ser amada pelas pessoas que me cercaram e me cercam até hoje. Agradeço muito. Só há a agradecer por tantas bênçãos recebidas em minha vida, sem que no entanto seja possível enumerá-las ou expressá-las da maneira que as sinto dentro de mim. Agradeço pelos valores, apoio e, sobretudo, o amor de minha família de origem e a da linda família que começo a formar com meu esposo e futuros filhos. Agradeço aos amigos, colegas de profissão e mestres que me inspiraram. Agradeço por ter tido a oportunidade do aprendizado da crítica e auto-crítica; da paciência e perseverança quando situações fogem do nosso (suposto) controle; pela oportunidade da reflexão para silenciar ou falar no momento oportuno; pela oportunidade de me tornar um novo veículo de transmissão do conhecimento e, finalmente, pela oportunidade de ter pessoas à minha volta com quem ainda tenho muito que aprender. Agradeço...

À minha orientadora, Prof^ª. Dr^ª. Audrey Borghi-Silva, primeiramente pelo acolhimento desde o nosso primeiro encontro, pelo incentivo e encorajamento em cada palavra e por ter me dado a oportunidade de conhecer o seu laboratório e uma linha de pesquisa pela qual me apaixonei. Pela orientação, pelo exemplo de ousadia e trabalho e pela dedicação para o desenvolvimento de seus alunos e de seu laboratório. Agradeço, Profa Audrey, por ter me acolhido neste laboratório que muito me ensinou e continuará me ensinando e do qual tenho muito orgulho de fazer parte.

À Prof^ª Renata Gonçalves Mendes, amiga e coorientadora deste trabalho, agradeço pelo auxílio e disponibilidade e pela grande inspiração de pessoa e de profissional que é.

Agradeço aos voluntários deste projeto, sem os quais nada disso seria possível, pela convivência e, acima de tudo, por terem doado horas de seus dias para o desenvolvimento desta pesquisa. Desejo imensamente ter contribuído de alguma forma com a vida de vocês. Nunca me esquecerei do rostinho de cada um.

Em especial, ao meu companheiro Madjer, com quem divido minha vida, minhas felicidades, conquistas, angústias e dificuldades desde a faculdade e com quem divido há 5 anos a bênção da vida

de um casamento com muito amor, cumplicidade, companheirismo, respeito e suporte. Muito suporte, como diríamos um ao outro. Obrigada pela compreensão (e, mais do que isso, pelo apoio incondicional e motivação para cada etapa deste processo) nos momentos de ausência da convivência familiar e social para cumprir com os compromissos assumidos com a carreira; pelas longas conversas, carinhos e “chacoalhões” quando foi preciso; por me trazer paz, tranquilidade e serenidade. Agradeço também por você ter trazido à minha vida meus tão queridos sogros, Lidney e Dinaldo e cunhados Hugo e Ana Paula e as mais novas pedras preciosas da família, que nos enchem de alegria e nos encantam a cada olhar, Arthur e Caio.

Aos meus pais, Valéria e Roberto, pelos valores que julgo mais importantes na vida e que ensinaram a mim e à minha amada irmã, Júlia: a perseverança, a dedicação, o respeito e a honestidade. Agradeço por terem abdicado de suas próprias vontades (e às vezes necessidades) para nos proporcionar tudo o que fosse possível. Agradeço por terem me compreendido e apoiado a cada momento. Agradeço por terem sido sempre tão presentes mesmo estando a muitos quilômetros de distância física. Agradeço por terem dividido comigo cada sucesso e conquista e terem me apoiado ou consolado em momentos menos felizes. “Obrigada” não seria suficiente para expressar minha gratidão e amor por vocês, meus exemplos de vida.

Agradeço de forma extremamente especial por Deus ter colocado em minha vida uma excelente e competente companheira de trabalho que veio a se tornar parte de minha família, a família do coração, e a quem tenho enorme gratidão e admiração. Agradeço imensamente você, Luciana Di Thommazo Luporini, seu esposo Rafael Luporini e meus segundos “irmãos” Felipe e Henrique, pela iluminada presença de vocês em minha vida. Pelo apoio e amizade incondicionais.

Aos colegas de trabalho e apoios técnicos do Laboratório de Fisioterapia Cardiopulmonar, em especial aos que efetivamente estiveram mais próximos atuando na concretização desse trabalho. Além desses, agradeço aos não somente colegas de laboratório, mas também grandes amigos que fiz - e suas respectivas famílias - com quem dividi durante esses anos o agradável convívio, ricas discussões, desde as banais às mais filosóficas e profundas e risadas nas horas mais inesperadas: Daniela Andakü e sua querida família, Ramona Cabiddu, Adriana Mazzuco Bonança, Guilherme Arêas e sua esposa Luana, Bruno Archiza, Camila Pantoni e seu esposo Daniel Mezzalira, Renata P.B. Vanelli, Paula Angélica Ricci, Larissa André, Soraia P. Jürsengen, Flávia Caruso, Renata Trimer, Luís Carvalho

Junior, Rodrigo Polaquini Simões, Clara Monteiro, Érika Zavaaglia Kabbach, Ana Cláudia Farche e Daniela Bassi. Agradeço aos médicos envolvidos neste projeto que dedicaram seu tempo para o auxílio nos testes cardiopulmonares realizados nessa pesquisa: Rafael Luporini, José Carlos Bonjorno Junior e Cláudio Ricardo de Oliveira.

Agradeço aos meus colegas de trabalho e supervisora no exterior Mylène Aubertin Leheudre, por todo o acolhimento na Universidade do Quebec em Montreal, pelos ensinamentos, pelas ricas discussões e pelo incentivo. Agradeço aos idosos que fizeram parte do meu projeto de pesquisa no exterior e às suas alegres e motivadas presenças nas minhas manhãs de trabalho.

Agradeço aos meus tão amados amigos de graduação e, em seguida, de pós-graduação, pelos momentos (importantíssimos) de descontração, apoio e amizade durante esta fase de nossas vidas: Vinicius Minatel, Júlia Gianjoppe dos Santos, Fabiana Foltran e Gabriela Lopes dos Santos.

Agradeço aos alunos e professores dos demais Laboratórios do Departamento de Fisioterapia pelo apoio, seja material ou intelectual, durante etapas deste projeto: Professor Tiago Russo, Profa Stela Mattiello e Profa Tânia Salvini, Carolina Alcântara e Jean Ferreira.

Agradeço ao Prof Rodolfo Vieira e seu aluno Manoel Carneiro de Oliveira Junior da Universidade Nove de Julho de São Paulo pelo apoio e paciência durante todo o processo de análise dos biomarcadores.

Agradeço os professores e supervisores do Departamento de Fisioterapia da UFSCar que me transmitiram seus conhecimentos ao longo da minha formação como aluna e fisioterapeuta e contribuíram, de alguma forma, para o meu crescimento profissional e pessoal.

Agradeço, com um carinho especial ao Prof Fábio Viadanna Serrão e seu então aluno de Mestrado, Rodrigo de Marche Baldon, por terem me passado todos os ensinamentos iniciais para uma vida acadêmica e terem em mim depositado toda a confiança enquanto aluna de iniciação científica há dez anos, quando ainda mal sabia o que era Fisioterapia. Vocês continuam sendo grandes exemplos nos quais me espelho e foram, sem dúvida, fundamentais para o meu desenvolvimento profissional. O meu “muito obrigada” eterno.

Agradeço os queridos colegas de graduação, do aprimoramento e de Residência - e tantos outros que não caberiam aqui - pelas experiências divididas que tanto me fizeram crescer, pelas incontáveis conversas ou reuniões, divergências ou apoio e incentivo. Obrigada por terem feito parte dessa caminhada que me trouxe até aqui.

Aos secretários do PPG-Ft, Emerson e Vagner, além da colaboradora do Departamento de Fisioterapia da UFSCar, Iolanda, pelo auxílio e gentileza ao longo desse período.

Aos professores da banca examinadora, tanto da qualificação, como da defesa de doutorado, pela disponibilidade, leitura cuidadosa e pelas valiosas contribuições para este trabalho.

À FAPESP (processo 2013/15681-3; 2015/12751-6) pelo precioso apoio financeiro durante o doutorado e pela possibilidade de realização do estágio em pesquisa no exterior.

“Com a minha experiência aprendi pelo menos isso: que se uma pessoa avançar confiantemente na direção de seus sonhos, e se esforçar por viver a vida que imaginou, há de se encontrar com um sucesso inesperado nas horas rotineiras. Há de deixar para trás uma porção de coisas e atravessar uma fronteira invisível; leis novas, universais e mais abertas começarão por se estabelecer ao redor e dentro dela... Se construístes castelos no ar, não terá sido em vão vosso trabalho; eles estão onde deviam estar. Agora colocai os alicerces por baixo”.

~ Henry David Thoreau

RESUMO

A obesidade é considerada uma epidemia mundial, exercendo grande impacto na morbimortalidade de causa cardiometabólica. Indivíduos obesos cursam, frequentemente, com piora da aptidão cardiorrespiratória (ACR), dos ajustes cardiovasculares e da função muscular tendo, por conseguinte, um relevante impacto na capacidade funcional. No entanto, uma subpopulação, os denominados “obesos metabolicamente saudáveis”, parece apresentar uma menor probabilidade de desenvolver tais comprometimentos devido a um perfil metabólico mais favorável, apesar do excesso de gordura corporal. Nesse contexto, propusemos a realização de três estudos observacionais e transversais que poderiam contribuir no entendimento das capacidades e respostas fisiológicas globais na população adulta jovem (20-45 anos) frente a diferentes testes de exercício, incluindo o teste máximo de exercício cardiopulmonar (TECP) e testes funcionais de campo, de grande potencial para aplicabilidade clínica. Os testes submáximos, em contraste com o padrão-ouro para avaliação da ACR (TECP), tem a característica de serem menos onerosos e interessantes por mimetizarem atividades usuais de vida diária, como o teste de degrau de seis minutos (TD6) (estudo I) e o teste de caminhada de seis minutos (TC6) (estudo II). Posteriormente (estudos II e III), visamos investigar se haveria uma influência do perfil metabólico, a saber a associação com a Síndrome Metabólica (SM), resistência insulínica (RI) e a inflamação sistêmica, em tais desfechos clínicos. O primeiro estudo avaliou, em um primeiro momento, uma amostra (n=31) composta somente de mulheres adultas eutróficas (GE) e obesas sedentárias (GO) e teve como objetivos investigar a concordância entre as respostas cardiorrespiratórias durante o TD6 e o TECP; desenvolver uma equação preditiva a partir do TD6 para estimar a capacidade aeróbia máxima (VO_{2pico} no TECP); e investigar a magnitude da associação entre a capacidade aeróbia/funcional e a força e potência musculares (pico de torque isocinético/isométrico, potência e trabalho total extensores de joelho). Identificamos que a ACR, a capacidade funcional no TD6, a força e a potência musculares relativas foram menores em GO do que em GE. Demonstramos que o IMC, a idade e o desempenho (ciclos subida-descida de degrau, CSD) no TD6 explicam 83% da variância total do VO_{2pico} no TECP, tendo sido possível a elaboração de uma equação preditiva. Foram encontradas correlações de significativas entre a ACR, a capacidade funcional (TD6) e força e potência musculares. O estudo II (n=66)

visou avaliar as respostas cardiorrespiratórias nos testes submáximos de caminhada de seis minutos (TC6) e o TD6 e a modulação autonômica cardíaca (MAC) pela variabilidade da frequência cardíaca (VFC), por índices lineares e não lineares tanto em repouso quanto durante os testes, e suas associações com a RI e a inflamação sistêmica em homens e mulheres eutróficos (GE), obesos saudáveis (GOS) e com SM (GONS). Verificamos que as respostas cardiorrespiratórias (metábolico-ventilatórias) durante o exercício são afetadas pela obesidade por si só e não refletem a influência da SM em obesos. No entanto, em indivíduos obesos com SM, a MAC em repouso e em resposta ao exercício está alterada, a saber uma reduzida modulação parassimpática e VFC global em repouso bem como uma alterada complexidade em resposta ao exercício. A RI esteve associada a uma alterada ACR, mas não à VFC, e níveis séricos de IL-10 e TNF- α estiveram associados à VFC. Finalmente, demonstramos que o TD6 induz maior estresse cardiovascular do que o TC6, podendo ser aplicável para a avaliação da MAC na prática clínica. O estudo III (n=61) teve como objetivo comparar o perfil metabólico e inflamatório, sobretudo o papel de biomarcadores específicos leptina (LP),; adiponectina (ADP) e miostatina (MSTN) e a função muscular, o gasto energético basal e a ACR entre GE, GOS e GONS, sendo que o último, desta vez, foi caracterizado pela associação da SM com a presença de RI. Concluímos por este estudo que elevados níveis de MSTN e LP/ADP estão associados à SM e à RI, à inflamação crônica de baixa intensidade e à reduzida massa muscular. LP/ADP está associada a parâmetros de obesidade por si só e à ACR e, nem LP/ADP nem MSTN estão associados ao gasto energético basal e à função muscular, como fora previamente sugerido em modelos experimentais animais.

Apoio financeiro: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP 2013/15681-3).

ABSTRACT

Obesity is considered a worldwide epidemic, exerting great impact on cardiometabolic morbidity and mortality. Obese individuals often present poor cardiorespiratory fitness (CRF), altered cardiac autonomic modulation (CAM) and muscle functioning and, therefore a higher risk of developing physical disabilities and life-threatening events later in life. However, a subpopulation, the so-called "metabolically healthy obese," appears to be less likely to develop such impairments because of a more favorable metabolic profile, despite excessive body fat. In this context, we proposed the accomplishment of three observational and cross-sectional studies that could contribute to the comprehension of the global capacity and physiological responses in young adults aged 20 to 45 years when submitted to different exercise tests, including the cardiopulmonary exercise testing (CPX), the gold standard method for evaluating CRF, and field functional tests, which are less costly and interesting because they mimic usual activities of daily living, such as the six-minute step test (6MST) (Study I) and the six-minute walking test (Study II). Thereafter (Studies II and III), we aimed to investigate whether there would be an influence of the metabolic profile, namely the association with Metabolic Syndrome (MetS), insulin resistance (IR) and systemic inflammation, in such clinical outcomes. The first study evaluated a sample composed only of sedentary normal-weight (NW) and obese (OB) women ($n=31$) to investigate the agreement between cardiorespiratory responses from the 6MST and CPX; to develop a predictive equation from the 6MST to estimate the maximal aerobic capacity (VO_{2peak} in the CPX); and to investigate whether aerobic/functional capacities are related to muscle strength and power (knee extensor peak isokinetic/isometric torque, power and total work). We found that CRF, functional capacity (6MST), relative muscle strength and power were lower in OB than in NW women. We demonstrated that body mass index (BMI), age and performance (up-and-down cycles) in the 6MST explain 83% of maximal VO_{2peak} total variance, and it was possible to elaborate the predictive equation. Moderate to strong correlations were found between CRF, functional capacity (6MST) and muscular strength and power. Study II ($n=66$) aimed at evaluating cardiorespiratory responses to exercise and CAM (at rest and during the submaximal six-minute walking test [6MWT] and 6MST) by linear and nonlinear indices of heart rate variability (HRV), and their associations with IR and systemic in NW and OB men and women, with or without MetS. We found that cardiorespiratory responses to

exercise are affected by obesity per se and do not reflect the influence of MetS in obese patients. However, MetS seems to affect CAM at rest and in response to exercise, since we observed reduced parasympathetic modulation and overall HRV at rest as well as an altered complexity in response to exercise in the OB group with MetS. IR was associated with altered CRF, but not with HRV, and serum levels of IL-10 and TNF- α were associated with HRV. Finally, we demonstrated that the 6MST induces greater cardiovascular stress than the 6MWT, and may be applicable for MAC evaluation in clinical practice. Study III (n=61) aimed to compare the metabolic and inflammatory profile, especially the role of specific biomarkers (leptin, LP, adiponectin, ADP and myostatin, MSTN) and muscle function, energy expenditure and CRF between the same groups. The last group, however, was characterized by the association of MetS with IR. We concluded from this study that high levels of MSTN and LP-to-ADP ratio are associated with MetS and IR, low-grade chronic inflammation and low muscle mass. LP/ADP is associated with parameters of obesity alone and with CRF, and neither LP/ADP nor MSTN are associated with energy expenditure and muscle function, as suggested in previous studies in animal models.

Financial support: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP 2013/15681-3).

Lista de abreviaturas e siglas

AAC	Área abaixo da curva
ACR	Aptidão cardiorrespiratória
ActRIIb	Receptor de membrana activina RIIB
ADP	Adiponectina
AF	Componente de alta frequência da análise espectral
BF	Componente de baixa frequência da análise espectral
CCI	Coefficiente de correlação intraclasse
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CI	Capacidade inspiratória
CSD	Ciclos subida e descida de degrau
CT	Colesterol total
CVF	Capacidade vital forçada
DP	Desvio padrão
DFAα1	Expoente fractal de curto prazo da análise de flutuação depurada de tendência
DFAα2	Expoente fractal de longo prazo da análise de flutuação depurada de tendência
EDTA	<i>Ethylene diamine tetra acetic acid</i>
EP	Erro padrão
EWGSOP	<i>European Working Group on Sarcopenia in Older People</i>
FC	Frequência cardíaca
GOS	Grupo de obesos metabolicamente saudáveis
GONS	Grupo de obesos metabolicamente não saudáveis

VO₂	Consumo de oxigênio
TD6	Teste de degrau de seis minutos
TECP	Teste máximo de exercício cardiopulmonar
GE	Grupo eutróficos
GO	Grupo de obesas
H	Homens (n)
HDL-c	Lipoproteína de alta densidade de colesterol
HOMA-IR	<i>Insulin resistance Homeostasis Model Assessment Method</i>
IC	Intervalo de confiança
IL	Interleucina
IMC	Índice de massa corporal
iRR	R-R intervals
IGF-1	Fator de crescimento semelhante à insulina tipo I
LDL-c	Lipoproteína de baixa densidade de colesterol
LP	Leptina
M	Mulheres (n)
MAC	Modulação autonômica cardíaca
MC	Massa corporal
MC_{MD}	Massa corporal do membro inferior dominante
meanHR	Média da frequência cardíaca
meanRR	Média dos iRR
MM	Massa magra
MMII	Membros inferiores
MM_{AppD}	Massa magra apendicular do membro inferior dominante
MM_{AppT}	Massa magra apendicular total

MSTN	Miostatina
NCEP/ATPIII	<i>Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults Treatment Panel III</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
PA	Pressão arterial
PAD	Pressão arterial diastólica
PAS	Pressão arterial sistólica
PCR	Proteína C Reativa
pNN50	Percentual de intervalos RR normais que diferem mais que 50 milissegundos de seu subjacente
PT	Pico de torque
QUICKI	Índice de sensibilidade à insulina
RER	Razão de troca respiratória (VCO_2/VO_2)
RI	Resistência insulínica
RMSSD	Raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre os iR-R sucessivos
ROC	Análise de curva <i>Receiver operating characteristic</i>
RRtri	Índice triangular
SD1	Variabilidade instantânea batimento a batimento
SD2	Variabilidade contínua de longo prazo batimento a batimento
SDNN	Desvio-padrão de todos os intervalos R-R normais
ShanEn	Shannon entropy

SM	Síndrome Metabólica
STDHR	Desvio padrão da frequência cardíaca
TC6	Teste de caminhada de seis minutos
TGF-β	Fator de transformação do crescimento β
TGL	Triglicérides
TINN	Interpolação triangular dos intervalos RR
TNF-α	Tumor necrosis factor α
TT	Trabalho total
VVM	Ventilação voluntária máxima
UFSCar	Universidade federal de São Carlos
VCO₂	Produção de dióxido de carbono
V_E	Ventilação minuto
VEF₁	Volume expiratório forçado no primeiro segundo
VFC	Variabilidade da frequência cardíaca

SUMÁRIO

Lista de tabelas	xix
Lista de figuras	xx
RESUMO	x
<i>ABSTRACT</i>	xii
CONTEXTUALIZAÇÃO	22
ESTUDO I	32
<i>Abstract</i>	32
Resumo	34
Introdução	35
Materiais e métodos	36
Resultados	46
Discussão	54
Conclusão	60
Referências	61
ESTUDO II	66
<i>Abstract</i>	66
Resumo	69
Introdução	70
Materiais e métodos	72
Resultados	78
Discussão	86
Conclusão	92
Referências	93
ESTUDO III	98
<i>Abstract</i>	98
Resumo.....	101
Introdução.....	102
Materiais e Métodos.....	105
Resultados.....	110
Discussão.....	115
Conclusão	121
Referências	122
CONSIDERAÇÕES FINAIS E DESDOBRAMENTOS FUTUROS	128
ANEXOS	131
Anexo A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa	132
Anexo B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	133

Lista de tabelas

ESTUDO I

Tabela 1. Dados antropométricos e demográficos, medidas de composição e distribuição corporal; e de massa e função muscular dos grupos de eutróficas e obesas	48
Tabela 2. Perfil metabólico dos grupos de eutróficas e obesas.....	49
Tabela 3. Variáveis cardiovasculares, metabólicas, ventilatória, perceptuais e de desempenho mensuradas no teste máximo (TECP) e no teste funcional (TD6).....	50
Tabela 4. Coeficientes de correlação entre VO_{2pico} no TECP, VO_{2pico} no TD6, desempenho no TD6 (CSD) e composição corporal com as variáveis de função muscular.....	54

ESTUDO II

Tabela 1. Características amostrais.....	80
Tabela 2. Variáveis cardiovasculares, metabólicas e ventilatórias no pico dos testes máximo e submáximos.....	82
Tabela 3. Índices de variabilidade da frequência cardíaca em repouso e durante os testes funcionais de degrau e de caminhada de seis minutos.....	84

ESTUDO III

Tabela 1. Características antropométricas e de composição corporal, metabólicas e de capacidade aeróbia e função muscular entre os grupos GE, GOS e GONS.....	112
--	-----

Lista de figuras

ESTUDO I

- Figura 1.** Ilustração do teste de exercício cardiopulmonar com uma voluntária eutrófica demonstrando (A) a monitorização pelo ergoespirômetro portátil e eletrocardiograma e o posicionamento para o teste em esteira ergométrica e (B) o posicionamento do pesquisador e do voluntário para mensuração da pressão arterial..... 40
- Figura 2.** Ilustração do teste de degrau de seis minutos de uma voluntária obesa, iniciando o teste com o membro dominante e em uso do cardiofrequencímetro e ergoespirômetro portátil..... 42
- Figura 3.** Ilustração da avaliação por dinamometria isocinética para avaliação da força e potência musculares de uma voluntária obesa..... 44
- Figura 4.** Fluxograma representando o recrutamento, avaliação e perda amostras e suas causas 46
- Figura 5.** Correlações para GE e GO entre aptidão cardiorrespiratória (VO_{2pico} no TECP) e variáveis-desfecho do TD6 (VO_{2pico} e CSD)..... 51

ESTUDO II

- Figura 1.** Ilustração da análise das variáveis ergoespirométricas de consumo de oxigênio (VO_2) e produção de dióxido de carbono (VCO_2) durante o teste de caminhada de seis minutos (TC6) (A) e durante o teste de degrau de seis minutos (TD6) (B) e seus respectivos sinais da análise.... de variabilidade da frequência cardíaca no TC6 (C) e no TD6 (D) de um voluntário eutrófico (homem)..... 77

Figura 2. Fluxograma representando o recrutamento, avaliação e perda amostral e suas causas..... 79

Figura 3. A ilustração demonstra uma progressiva redução dos índices não lineares SD1 e SD2, representados em vermelho e verde, respectivamente, e uma progressiva redução da dispersão dos pontos representando a variabilidade global da frequências cardíaca em uma (A) voluntária do grupo GE; (B) voluntária do grupo GOS; e (C) voluntária do grupo GONS (todas mulheres)..... 85

ESTUDO III

Figura 1. Comparação entre os grupos, de acordo com o sexo, para os biomarcadores miostatin e razão leptina/adiponectina..... 113

Figura 2. Análise da curva *Receiver operating characteristic (ROC)* demonstrando a acurácia e os pontos de corte para discriminação do fenótipo metabólico não saudável a partir das concentrações séricas das citocinas miostatina e razão leptina/adiponectina..... 115

CONTEXTUALIZAÇÃO

A obesidade é caracterizada pelo aumento da adiposidade e é comumente definida pelo índice de massa corporal (IMC) igual ou superior a 30 kg/m², o qual foi inicialmente estabelecido para diagnóstico clínico desta condição que se enquadra no grupo de doenças crônicas não-transmissíveis e não infecciosas pela Organização Mundial da Saúde (OMS), que são responsáveis por aproximadamente 70% de mortes ocorridas no mundo. Ainda, a Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas (Vigitel, Ministério da Saúde, 2015), evidenciou que a obesidade tem aumentado progressiva e substancialmente no país, sendo que aumentou de 12% para quase 20% entre 2008 e 2015. Mundialmente, a prevalência mais do que dobrou desde a década de 80 e, em 2014, 13% dos adultos (11% homens e 15% mulheres) eram considerados obesos e 39%, sobrepeso (WHO, 2016).

Hoje, a obesidade é considerada uma epidemia mundial e uma grave problemática em saúde pública (Mitchell *et al.*, 2011). Isto porque exerce grande impacto no desenvolvimento de morbidades cardiometabólicas e mortalidade associada a essas causas em virtude de cursar, frequentemente, com piora da aptidão cardiorrespiratória (ACR) (Di Thommazo-Luporini *et al.*, 2015; Kachur *et al.*, 2017), da saúde cardiovascular (Bastien *et al.*, 2014), da modulação autonômica cardíaca (MAC) (Yadav *et al.*, 2017), da função muscular (Tomlinson *et al.*, 2016) e, por conseguinte, da capacidade físico-funcional (Pataky *et al.*, 2014) e qualidade de vida (Larsson *et al.*, 2002; Taylor *et al.*, 2013).

Acredita-se que os mecanismos pelos quais a obesidade está relacionada ao desenvolvimento de tais comprometimentos seja, pelo menos em parte, atribuído à disfunção dos mecanismos barorreflexos reguladores da frequência cardíaca (FC) e da ação conjunta dos mecanorreceptores e metaborreceptores (Rowell, 1992; Dipla *et al.*, 2012), à inflamação sistêmica crônica ou subclínica obesidade-dependente (Gregor e Hotamisligil, 2011) e, principalmente, à resistência insulínica (RI) e distúrbios do metabolismo lipídico (Rader, 2007) que estão frequentemente, mas não invariavelmente, associados à obesidade.

Nesse sentido, nos últimos anos, grandes esforços tem se voltado para a caracterização de fenótipos que seriam considerados “metabolicamente saudável” e “não saudável” na presença da obesidade, para melhor caracterizar a prevalência, as características fisiológicas e, por consequência, identificar os riscos à saúde em longo

prazo destas subpopulações de indivíduos obesos que, por apresentarem distintos perfis metabólicos, apresentariam também distintas trajetórias de desenvolvimento de comorbidades e outras doenças crônicas. No entanto, em virtude da classificação de tal fenótipo ser ainda bastante heterogênea, torna-se difícil comparar os estudos existentes até o presente com relação a sua prevalência na população obesa, a qual varia de 6 a 40% a depender do critério utilizado (Pataky *et al.*, 2010; Phillips, 2013). Entretanto, há uma certa consistência entre eles em estabelecer o critério baseado no diagnóstico de Diabetes e, mais frequentemente, em pontos de cortes para resistência e/ou sensibilidade insulínica (mais frequentemente o índice *HOMA-IR-Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance*) bem como glicemia e/ou insulinemia de jejum, e componentes da Síndrome Metabólica (SM) pelos critérios mais comumente utilizados da NCEP-ATPIII e da Federação Internacional de Diabetes (IDF) (Pataky *et al.*, 2010; Phillips, 2013). A homogeneização deste critério seria de fundamental relevância para, não somente caracterizar a prevalência, mas identificar alterações de tais perfis ao longo dos anos e verificar se haveria uma provável transição do fenótipo “saudável” para um fenótipo “não saudável”, como se tem especulado recentemente.

Soriguer *et al.*, 2013 em “*Metabolically healthy but obese, a matter of time? Findings from the prospective Pizarra Study*”, demonstraram que indivíduos obesos saudáveis em princípio, tornaram-se “não saudáveis” após um período de *follow-up* de seis anos. Além disso, este mesmo grupo de indivíduos apresentou um risco menor do que indivíduos obesos “não saudáveis”, mas ainda assim significativo, de desenvolver Diabetes tipo 2 após onze anos de acompanhamento.

No que diz respeito à caracterização destas populações, não há na literatura, para o nosso conhecimento, estudos que tenham comparado indivíduos obesos saudáveis e com distúrbios metabólicos com relação aos preditores de doenças cardiovasculares e incapacidades físicas, como ACR e respostas adaptativas ao exercício, massa e função musculares, e MAC, principalmente durante o exercício.

É plausível acreditar que, para além das consequências da obesidade propriamente dita, obesos com desordens metabólicas tem limitações mais importantes e ajustes adaptativos ao exercício menos eficientes do que aqueles sem alterações metabólicas tendo, portanto, uma menor capacidade funcional (Bouchard *et al.*, 2011). Nesse sentido, quando da aplicação de um estímulo externo, como o exercício físico, tais ajustes seriam insuficientes para prover fluxo sanguíneo adequado à elevada demanda metabólica, levando a uma acentuada resposta

cronotrópica e pressórica, além de maior susceptibilidade à fadiga muscular precoce e retardo no reajuste das condições hemodinâmicas basais no período pós-exercício (Dipla *et al.*, 2012). Estes, associados à pobre ACR, podem ser os mecanismos pelos quais obesos com SM e RI apresentariam uma inadequada resposta fisiológica frente ao estresse induzido pelo exercício e reduzida funcionalidade global.

Sugere-se que a influência da obesidade na MAC dependa, em grande parte, da sua associação com alterações metabólicas, como a Síndrome Metabólica (SM) e a RI (Tentolouris *et al.*, 2008; Lambert *et al.*, 2010; Perugini *et al.*, 2010; Stuckey *et al.*, 2014). Portanto, a avaliação e o acompanhamento da evolução frente a uma intervenção física em resposta ao exercício e no período de recuperação do mesmo (Castello *et al.*, 2011; El Agaty *et al.*, 2016) torna-se fundamental na medida em que, durante tais condições, há uma exigência de ajustes mais complexos do que em condições de repouso.

Para o nosso conhecimento, não há na literatura até o presente momento, entretanto, estudos que tenham avaliado a MAC durante o exercício e, sobretudo, por meio de índices não lineares da variabilidade da frequência cardíaca (VFC), os quais tem a capacidade de detectar a dinâmica da resposta da VFC e sua complexidade sendo, portanto, complementar à avaliação do balanço simpatovagal obtido por métodos lineares (Vanderlei *et al.*, 2009; Godoy, 2016).

Paralelamente ao fatores expostos, sugere-se que haveria um outro componente contribuindo para o declínio da qualidade muscular (i.e., massa, força e função musculares), aumento da susceptibilidade à fadiga muscular precoce e piora da capacidade funcional, qual seja a infiltração de tecido adiposo inter e intramuscular (Addison *et al.*, 2014; Rahemi *et al.*, 2015), que parece também ser variável de acordo com o fenótipo metabólico. A lipotoxicidade induzida por este acúmulo da adiposidade é caracterizada pela secreção de citocinas inflamatórias nos tecidos, nesta ocasião o tecido muscular, que mesmo na ausência de hipotrofia/atrofia, poderia ser responsável pela disfunção dos miócitos e piora da função muscular global, perpetuando, assim, um ciclo vicioso fisiologicamente deletério que converge para o desenvolvimento de doenças subsequentes (Marcus *et al.*, 2012).

Tais citocinas, ou proteínas bioativas, de caráter antiinflamatório e/ou proinflamatório, são denominadas adipocinas (Leal e Mafra, 2013) (secretadas por adipócitos) e miocinas (Allen *et al.*, 2011) (secretadas por miócitos) e tem, em sua maioria, uma ação parácrina, autócrina e endócrina. Estas citocinas, as mais

conhecidas adiponectina (ADP) e leptina (LP), são grandemente responsáveis pela regulação do balanço energético, homeostase glicêmica e sensibilidade insulínica, síntese proteica, oxidação lipídica, dentro outros. Por outro lado, o aumento da concentração do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), uma citocina proinflamatória também característica do aumento excessivo de tecido adiposo branco na obesidade, além de prejudicar a sinalização de citocinas antiinflamatórias como a ADP, influencia a expressão de genes envolvidos na captação e armazenamento de ácidos graxos livres e glicose; a supressão de genes de fatores de transcrição envolvidos na lipogênese; o aumento da expressão de interleucina-6 e, indiretamente, a produção de outros biomarcadores proinflamatórios de fase aguda, como a proteína C-reativa (PCR) (Wisse, 2004; Leite *et al.*, 2009).

Uma das primeiras miocinas descobertas, a miostatina (MSTN), é conhecida por atuar não somente na homeostase glicêmico-insulínica, mas sobretudo na regulação da miogênese, inibindo o crescimento muscular e sua regeneração. Apesar de ser sugerida uma associação negativa entre os níveis de miostatina e a massa muscular e uma associação positiva com a presença da SM, RI e Diabetes tipo 2, tais achados são ainda controversos em humanos, e ainda não se conhece integralmente a sua influência no metabolismo energético, função e consumo de oxigênio musculares (aqui representado pela ACR), principalmente em adultos obesos (Mcpheeron *et al.*, 1997; Mcpheeron, 2010; Pedersen e Febbraio, 2012).

Assim, o resultante desbalanço de citocinas proinflamatórias mais abundantes em detrimento daquelas de ação antiinflamatória, promovem o que se denominou “metainflamação” (Lumeng e Saltiel, 2011), o que também explica o mecanismo pelo qual o acúmulo excessivo de gordura, e subsequente alteração do metabolismo adiposo e muscular, está relacionado aos inúmeros distúrbios cardiometabólicos e outras doenças crônicas, como a Diabetes Mellitus tipo 2 e as doenças cardiovasculares. Além disso, uma equiparável condição denominada obesidade sarcopênica ou dinapênica (i.e., acúmulo de gordura e redução da massa e função musculares) (Cruz-Jentoft *et al.*, 2010; Sakuma e Yamaguchi, 2013; Kim e Choi, 2015), também demonstra elevado risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares e metabólicas, assim como está envolvida com uma mais proeminente redução da capacidade funcional, mobilidade e vitalidade em idosos (Prado *et al.*, 2012). Assim, seria de extrema importância identificar indivíduos com

potencial para o desenvolvimento desta síndrome na fase adulta, a fim de prevenir o desenvolvimento de doenças crônicas na idade avançada.

Neste contexto, o Consenso Europeu em Sarcopenia (EWGSOP) (Cruz-Jentoft *et al.*, 2010), neste caso para a população idosa, preconiza a avaliação da força e resistência musculares bem como de desempenho em testes funcionais, além daquelas de massa muscular tão somente. Ainda, o *Cardiovascular Health Study*, um estudo longitudinal, constatou que a avaliação e intervenção visando a melhora da função muscular seria extremamente relevante no que diz respeito à proteção contra o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (Stephen e Janssen, 2009).

Assim, avaliar e caracterizar os diferentes fenótipos metabólicos na obesidade com relação aos componentes envolvidos na capacidade funcional para estratificação do risco e futura elaboração de estratégias mais eficazes e direcionadas, seria importante para permitir um melhor entendimento do comportamento fisiológico desta população. Neste sentido, os testes de campo são interessantes para avaliação dos componentes envolvidos na capacidade funcional na medida em que são testes submáximos que requerem estrutura, equipe e investimento bastante reduzidos quando comparados ao teste ergoespirométrico, além de serem atraentes por sua fácil aplicabilidade e representatividade com relação às atividades de vida diária.

Entretanto, ainda pouco se conhece sobre as respostas a testes de exercício submáximos na população obesa em relação à demanda muscular, ventilatória, cardiometabólica e da função autonômica requeridas nestas atividades e, principalmente, se indivíduos considerados “obesos metabolicamente saudáveis” teriam efetivamente uma vantagem biológica, mais similar a de indivíduos de peso normal, do que aqueles com desordens metabólicas com relação à capacidade funcional global. Além disso, não é completamente conhecida a relação entre a capacidade funcional e a força e resistência musculares em obesos, tampouco a sua relação com o perfil metabólico-inflamatório desta população.

A partir do exposto, tivemos como objetivo avaliar a ACR, a função muscular e as respostas cardiometabólicas e autonômicas durante testes de avaliação funcional de indivíduos obesos, primeiramente considerando a obesidade única e exclusivamente (estudo I) e, posteriormente, estratificando-os em “metabolicamente saudáveis” e “não saudáveis” conforme presença ou não da SM e/ou RI (estudo II e III). Secundariamente, objetivamos investigar mais especificamente a influência de biomarcadores específicos da obesidade, especialmente a miostatina, que foram até

o presente momento majoritariamente investigados em estudos experimentais, mas pouco explorados em relação ao metabolismo humano, principalmente em estudos clínicos. Hipotetizamos que indivíduos obesos com SM e RI apresentariam mais expressivos comprometimentos em nível de ACR, massa e função musculares e alterada MAC, não somente em repouso, mas também em resposta ao estresse induzido pelo exercício. Além disso, hipotetizamos que altos níveis de biomarcadores pró-inflamatórios (LP/ADP) e inibitórios do crescimento muscular (MSTN) estariam associados ao pior perfil metabólico, inflamatório bem como ao pior perfil aeróbico-funcional e muscular e que um ponto de corte de tais biomarcadores, ainda inexistentes na literatura, poderia indicar um parâmetro a partir do qual se espera identificar um fenótipo metabólico não saudável.

Nesse sentido, foi realizado um primeiro estudo comparando mulheres obesas e eutróficas com relação à capacidade aeróbia e funcional no teste de degrau de seis minutos (TD6) e sua capacidade preditiva em estimar a ACR máxima, bem como sua associação com a função muscular. Tal estudo foi publicado em 2015 no periódico PlosOne (**APÊNDICE I**). Em seguida, desenvolvemos um segundo trabalho (estudo II) que foi submetido à avaliação do corpo editorial do periódico científico *European Journal of Physical and Rehabilitation Medicine* (**APÊNDICE II**). Tal estudo teve como objetivo avaliar as respostas cardiorrespiratórias e autonômicas e suas associações com a RI e inflamação sistêmica em eutróficos e obesos, com e sem SM. Finalmente, o terceiro trabalho (estudo III), submetido à avaliação do corpo editorial do periódico científico *Cytokine* teve como objetivo avaliar a ACR, o metabolismo energético basal e a função muscular e suas associações com os biomarcadores leptina, adiponectina e miostatina em eutróficos e obesos, com e sem SM e RI. Neste último estudo, buscamos também sugerir pontos de corte desses biomarcadores para identificação do fenótipo metabolicamente saudável em obesos.

Um melhor entendimento dos determinantes moleculares e clínicos que permeiam a obesidade e seus subtipos metabólicos auxiliará, certamente, nas estratégias preventivas individualizadas para atenuar o desenvolvimento das doenças crônicas, mais particularmente aqueles com maior risco cardiometabólico.

Referências

ADDISON, O. et al. Intermuscular fat: A review of the consequences and causes. **Int J Endocrinol**, 2014.

ALLEN, D. L.; HITTEL, D. S.; MCPHERRON, A. C. Expression and function of myostatin in obesity, diabetes, and exercise adaptation. **Med Sci Sports Exerc**, v. 43, n. 10, p. 1828-35, Oct 2011. ISSN 0195-9131.

BASTIEN, M. et al. Overview of epidemiology and contribution of obesity to cardiovascular disease. **Progress in Cardiovascular Diseases**, v. 56, n. 4, p. 369-381, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pcad.2013.10.016>.

BOUCHARD, D. R. et al. Metabolically healthy obese women and functional capacity. **Metab Syndr Relat Disord**, v. 9, n. 3, p. 225-9, Jun 2011. ISSN 1540-4196.

CASTELLO, V. et al. Impact of aerobic exercise training on heart rate variability and functional capacity in obese women after gastric bypass surgery. **Obes Surg**, v. 21, n. 11, p. 1739-49, Nov 2011. ISSN 0960-8923.

CRUZ-JENTOFT, A. J. et al. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. **Age and Ageing**, v. 39, n. 4, p. 412-423, 04/13 2010. ISSN 0002-0729

DI THOMMAZO-LUPORINI, L. et al. The six-minute step test as a predictor of cardiorespiratory fitness in obese women. **Eur J Phys Rehabil Med**, v. 51, n. 6, p. 793-802, 2015

DIPLA, K.; NASSIS, G. P.; VRABAS, I. S. Blood Pressure Control at Rest and during Exercise in Obese Children and Adults. **J Obes**, v. 2012, p. 147385, 2012. ISSN 2090-0708.

EL AGATY, S. M.; KIRMANI, A.; LABBAN, E. Heart rate variability analysis during immediate recovery from exercise in overweight/obese healthy young adult females. **Ann Noninvasive Electrocardiol**, Dec 24 2016. ISSN 1082-720x.

GODOY, M. Nonlinear analysis of heart rate variability: a comprehensive review. **J Cardiol Ther**, v. 3, n. 3, p. 528-533, 2016.

GREGOR, M. F.; HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammatory mechanisms in obesity. **Ann Rev Immunol**, v. 29, p. 415-445, 2011. ISSN 1545-3278 (Electronic)\n0732-0582 (Linking).

KACHUR, S. et al. Obesity and cardiovascular diseases. **Minerva Med**, Feb 01 2017. ISSN 0026-4806.

KIM, T. N.; CHOI, K. M. The implications of sarcopenia and sarcopenic obesity on cardiometabolic disease. **J Cell Biochem**, v. 116, n. 7, p. 1171-8, Jul 2015. ISSN 0730-2312.

LAMBERT, G. W. et al. Sympathetic nervous activation in obesity and the metabolic syndrome--causes, consequences and therapeutic implications. **Pharmacol Ther**, v. 126, n. 2, p. 159-72, May 2010. ISSN 0163-7258.

LARSSON, U.; KARLSSON, J.; SULLIVAN, M. Impact of overweight and obesity on health-related quality of life--a Swedish population study. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v. 26, n. 3, p. 417-24, Mar 2002.

LEAL, V. D. O.; MAFRA, D. Adipokines in obesity. **Clinica Chimica Acta**, v. 419, p. 87-94, 2013. ISSN 9783805584296. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2013.02.003>>.

LEITE, L.; ROCHA, É.; NETO, J. Obesidade : uma doença inflamatória Obesity : an inflammatory disease. **Revista Ciência & Saúde**, v. 2, p. 85-95, 2009.

LUMENG, C. N.; SALTIEL, A. R. Review series Inflammatory links between obesity and metabolic disease. **Life Sciences**, v. 121, n. 6, p. 2111-2117, 2011. ISSN 0021-9738.

MARCUS, R. L. et al. Intramuscular adipose tissue, sarcopenia, and mobility function in older individuals. **Journal of Aging Research**, v. ID 629637, p. doi: 10.1155/2012/629637-doi: 10.1155/2012/629637, 2012.

MCPHERRON, A. C. METABOLIC FUNCTIONS OF MYOSTATIN AND GDF11. **Immunol Endocr Metab Agents Med Chem**, v. 10, n. 4, p. 217-231, Dec 2010. ISSN 1871-5222 (Print)

MCPHERRON, A. C.; LAWLER, A. M.; LEE, S. J. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member. **Nature**, v. 387, n. 6628, p. 83-90, May 01 1997. ISSN 0028-0836 (Print)

MITCHELL, N. S. et al. Obesity: overview of an epidemic. **Psychiatr Clin North Am**, v. 34, n. 4, p. 717-32, Dec 2011. ISSN 0193-953x.

PATAKY, Z. et al. Effects of obesity on functional capacity. **Obesity (Silver Spring)**, v. 22, n. 1, p. 56-62, Jan 2014. ISSN 1930-7381.

PATAKY, Z. et al. Open questions about metabolically normal obesity. **Int J Obes**, v. 34, Suppl 2: S18-23, p. 56-62, 2010.

PEDERSEN, B. K.; FEBBRAIO, M. A. Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 8, n. 8, p. 457-465, 2012. ISSN 1759-5029. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nrendo.2012.49>.

PERUGINI, R. A. et al. Reduced heart rate variability correlates with insulin resistance but not with measures of obesity in population undergoing laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass. **Surg Obes Relat Dis**, v. 6, n. 3, p. 237-41, May-Jun 2010. ISSN 1550-7289.

PHILLIPS, C. M. Metabolically healthy obesity: definitions, determinants and clinical implications. **Rev Endocr Metab Disord**, v. 14, n. 3, p. 219-27, Sep 2013. ISSN 1389-9155.

PRADO, C. M. et al. Sarcopenic obesity: A Critical appraisal of the current evidence. **Clin Nutr**, v. 31, n. 5, p. 583-601, Oct 2012. ISSN 0261-5614.

RADER, D. J. Effect of insulin resistance, dyslipidemia, and intra-abdominal adiposity on the development of cardiovascular disease and diabetes mellitus. **Am J Med**, v. 120, n. 3 Suppl 1, p. S12-8, Mar 2007. ISSN 0002-9343.

RAHEMI, H.; NIGAM, N.; WAKELING, J. M. The effect of intramuscular fat on skeletal muscle mechanics: implications for the elderly and obese. **J R Soc Interface**, v. 12, n. 109, p. 20150365, Aug 06 2015. ISSN 1742-5662.

ROWELL, L. B. Reflex control of the circulation during exercise. **Int J Sports Med**, v. 13 Suppl 1, p. S25-7, Oct 1992. ISSN 0172-4622 (Print) 0172-4622.

SAKUMA, K.; YAMAGUCHI, A. Sarcopenic obesity and endocrinal adaptation with age. **International Journal of Endocrinology**, v. 2013, 2013. ISSN 1687-8337\n1687-8345.

SORIGUER, F. et al. Metabolically healthy but obese, a matter of time? Findings from the prospective Pizarra Study. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 98, n. 6, p. 2318-25, 2013.

STEPHEN, W. C.; JANSSEN, I. Sarcopenic-obesity and cardiovascular disease risk in the elderly. **The journal of nutrition, health & aging**, v. 13, n. 5, p. 460-466, 2009.

STUCKEY, M. I. et al. Heart rate variability and the metabolic syndrome: a systematic review of the literature. **Diabetes Metab Res Rev**, v. 30, n. 8, p. 784-93, Nov 2014. ISSN 1520-7552.

TAYLOR, V. H. et al. The impact of obesity on quality of life. **Best Pract Res Clin Endocrinol Metab**, v. 27, n. 2, p. 139-46, Apr 2013. ISSN 1521-690x.

TENTOLOURIS, N.; ARGYRAKOPOULOU, G.; KATSILAMBROS, N. Perturbed autonomic nervous system function in metabolic syndrome. **Neuromolecular Med**, v. 10, n. 3, p. 169-78, 2008. ISSN 1535-1084.

TOMLINSON, D. J. et al. The impact of obesity on skeletal muscle strength and structure through adolescence to old age. **Biogerontology**, Dordrecht, v. 17, p. 467-483, 2016. ISSN 1389-5729

1573-6768. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4889641>.

VANDERLEI L.C.M. et al. Basic notions of heart rate variability and its clinical applicability. **Rev Bras Cir Cardiovasc**, v. 24, n. 2, p. 205-217, 2009.

VIGITEL BRASIL 2015 Saúde Suplementar: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Agência Nacional de Saúde Suplementar. – Brasília : Ministério da Saúde, 2017. 170 p.: il.

WISSE, B. E. The inflammatory syndrome: the role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity. **Journal of the American Society of Nephrology : JASN**, v. 15, n. 16, p. 2792-2800, 2004. ISSN 1046-6673 (Print)\n1046-6673 (Linking).

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Obesity and overweight. 2016. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>.

YADAV, R. L. et al. Association between obesity and heart rate variability indices: an intuition toward cardiac autonomic alteration - a risk of CVD. **Diabetes Metab Syndr Obes**, v. 10, p. 57-64, 2017. ISSN 1178-7007.

ESTUDO I

Resumo do estudo I submetido ao periódico *PlosOne*

Prediction of cardiorespiratory fitness by the six-minute step test and its association with muscle strength and power in sedentary obese and lean young women: a cross-sectional study.

Abstract

Background and aim: Impaired cardiorespiratory fitness (CRF) is a hallmark characteristic in obese and lean sedentary young women. Peak oxygen consumption (VO_{2peak}) prediction from the six-minute step test (6MST) has not been established for sedentary females. It is recognized that lower-limb muscle strength and power play a key role during functional activities. The aim of this study was to investigate cardiorespiratory responses during the 6MST and CPX and to develop a predictive equation to estimate VO_{2peak} in both lean and obese subjects. Additionally, we aim to investigate how muscle function impacts functional performance. **Method:** Observational and cross-sectional study. Lean (LN = 13) and obese (OB = 18) women, aged 20–45, underwent a CPX, two 6MSTs, and isokinetic and isometric knee extensor strength and power evaluations. Regression analysis assessed the ability to predict VO_{2peak} from the 6MST, age and body mass index (BMI). CPX and 6MST main outcomes were compared between LN and OB and correlated with strength and power variables. **Results:** CRF, functional capacity, and muscle strength and power were lower in the OB compared to LN (<0.05). During the 6MST, LN and OB reached ~90% of predicted maximal heart rate and ~80% of the VO_{2peak} obtained during CPX. BMI, age and number of step cycles (NSC) explained 83% of the total variance in VO_{2peak} . Moderate to strong correlations between VO_{2peak} at CPX and VO_{2peak} at 6MST ($r = 0.86$), VO_{2peak} at CPX and NSC ($r = 0.80$), as well as between VO_{2peak} , NSC and muscle strength and power variables were found ($p < 0.05$). **Conclusions:** These findings indicate the 6MST, BMI and age accurately predict VO_{2peak} in both lean and obese young sedentary women. Muscle strength and power were related to measures of aerobic and functional performance. **Keywords:** obesity; step test; cardiopulmonary exercise testing; functional capacity.

ESTUDO I

**PREDIÇÃO DA APTIDÃO CARDIORRESPIRATÓRIA PELO TESTE DE DEGRAU
DE SEIS MINUTOS E SUA ASSOCIAÇÃO COM FORÇA E POTÊNCIA
MUSCULARES EM MULHERES SEDENTÁRIAS OBESAS E EUTRÓFICAS**

Artigo publicado no periódico *PlosOne*

(Citação: Carvalho LP, Di Thommazo-Luporini L, Aubertin-Leheudre M, Bonjorno Junior JC, de Oliveira CR, Luporini RL, et al. (2015) Prediction of Cardiorespiratory Fitness by the Six-Minute Step Test and Its Association with Muscle Strength and Power in Sedentary Obese and Lean Young Women: A Cross-Sectional Study. PLoS ONE 10(12): e0145960. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145960>)

Versão em português com acréscimo de ilustração

Resumo

Introdução: A aptidão cardiorrespiratória (ACR) reduzida é uma característica marcante em mulheres jovens sedentárias, tanto obesas quanto eutróficas. A predição do consumo de oxigênio no pico (VO_{2pico}) do teste de degrau seis minutos (TD6) não foi estabelecida para mulheres sedentárias até o presente momento. É conhecido que a força e a potência musculares dos membros inferiores desempenham um papel fundamental durante as atividades funcionais. **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi investigar as respostas cardiorrespiratórias durante o TD6 e o teste de exercício cardiopulmonar máximo sintoma-limitado (TECP) e desenvolver uma equação preditiva para estimar o VO_{2pico} em eutróficas e obesas. Além disso, nosso objetivo foi investigar a magnitude da associação entre a função muscular e a capacidade funcional. **Métodos:** Mulheres eutróficas (GE=13) e obesas (GO=18), com idade entre 20 e 45 anos, foram submetidas ao TECP, TD6 e à avaliação do pico de torque isocinético e isométrico bem como a potência extensora do joelho por dinamometria isocinética. A análise de regressão avaliou a capacidade de prever o VO_{2pico} a partir do TD6, da idade e do índice de massa corporal (IMC). Os principais resultados do TECP e do TD6 foram comparados entre GE e GO e correlacionados com as variáveis de força e potência musculares. **Resultados:** A ACR, a capacidade funcional, a força e a potência musculares relativas foram menores no GO do que no GE ($p < 0,05$). Durante o TD6, ambos os grupos atingiram ~90% da frequência cardíaca máxima prevista e ~80% do VO_{2pico} obtido durante o TECP. O IMC, a idade e o número de ciclos de subida e descida no degrau (CSD) explicaram 83% da variância total do VO_{2pico} . Foram encontradas correlações significativas entre o VO_{2pico} no TECP e o VO_{2pico} no TD6 ($r = 0,86$), o VO_{2pico} no TECP e o CSD ($r = 0,80$), assim como entre VO_{2pico} , CSD e força e potência musculares ($p < 0,05$). **Conclusão:** Esses achados indicam que o TD6, o IMC e a idade predizem com excelente acurácia o VO_{2pico} em mulheres sedentárias de peso normal e obesas. A força e a potência musculares relacionam-se com as medidas de capacidade aeróbio e funcional. **Palavras-chave:** *obesidade; teste de degrau; teste de exercício cardiopulmonar; capacidade funcional.*

Introdução

A obesidade é considerada uma grave problemática em saúde pública nos dias atuais em virtude da sua crescente prevalência em todo o mundo, sendo considerada atualmente uma epidemia. A aptidão cardiorrespiratória (ACR) e um estilo de vida sedentário são características típicas de adultos jovens, não somente obesos, mas também de indivíduos considerados de peso normal, sobretudo em mulheres (Organização Mundial de Saúde, 2014; González-Gross e Meléndez, 2013). Assim, a avaliação da ACR e a adequada prescrição de um programa de exercícios individualizado (*American Thoracic Society*, 2003) por meio da identificação de anormalidades cardiovasculares e músculo-esqueléticas que possam afetar a capacidade de exercício e de atividades funcionais de vida diária, são essenciais para a prevenção e tratamento da obesidade.

Nesse sentido, o teste cardiopulmonar (TECP) é útil para avaliar objetivamente a resposta dos sistemas fisiológicos integrados ao exercício dinâmico e é considerado o método padrão-ouro para avaliar a capacidade aeróbia (*American Thoracic Society*, 2003; Guazzi *et al.*, 2012). No entanto, devido às suas elevadas exigências técnicas e de custo, protocolos indiretos e submáximos que estimem valores máximos, sobretudo de consumo de oxigênio (VO_2), foram desenvolvidos para minimizar essas barreiras em contextos clínicos (Di Thommazo-Luporini *et al.*, 2012; Quinart *et al.*, 2014; Neves *et al.*, 2015; Ekblom-Bak *et al.*, 2014; Dourado *et al.*, 2013; Bandyopadhyay, 2013; Cataneo *et al.*, 2010). Dentre os protocolos de teste funcional mais comuns, o teste de degrau se destaca por seu baixo custo, simplicidade, portabilidade e acessibilidade bem como à exigência de espaço físico reduzido (Da Costa *et al.*, 2014; Arcuri *et al.*, 2015; Petrella *et al.*, 2001; Siconolfi *et al.*, 1985).

Neste contexto, muitas perguntas sobre ACR, capacidade funcional e função muscular e suas relações restam a ser exploradas em indivíduos obesos e não obesos. Por exemplo, a força e a potência muscular dos membros inferiores são variáveis que podem desempenhar um papel fundamental nas atividades diárias funcionais e têm sido associadas à velocidade da marcha, à capacidade de subir e descer escadas e à transição da postura sentada para a ortostática (Barbat-artigas *et al.*, 2014; Lerner *et al.*, 2014; Rolland *et al.*, 2009). Assim, nos últimos anos, tem sido dada maior atenção ao estudo da capacidade de geração de força muscular na presença ou ausência de obesidade (Maffiuletti *et al.*, 2007; Hulens *et al.*, 2001;

Paolillo *et al.*, 2012; Maffiuletti *et al.*, 2008; Hulens *et al.*, 2002; Lafortuna *et al.*, 2002; Lafortuna *et al.*, 2013), embora evidências na literatura sobre seu comportamento, bem como seu envolvimento na capacidade funcional e ACR, ainda sejam escassas.

Assim, o presente estudo tem como objetivo avaliar e correlacionar as respostas cardiorrespiratórias durante o teste de degrau de seis minutos (TD6) e o TECP, para investigar a intensidade deste teste funcional em contraste com a avaliação padrão-ouro da ACR e, adicionalmente, desenvolver uma equação preditiva para estimar o $VO_{2\text{pico}}$ tanto em mulheres eutróficas quanto obesas sedentárias jovens. Além disso, objetivamos investigar até que ponto a força e a potência muscular estão associadas à capacidade funcional nesta população.

Hipotetizamos que o desempenho no TD6 seja capaz de prever respostas cardiorrespiratórias máximas e sua estimativa seria aplicável tanto em mulheres jovens eutróficas como obesas. Outras características individuais intrínsecas poderiam aumentar a precisão da equação preditiva. Além disso, o desempenho neste teste funcional estaria fortemente associado à força e potência muscular dos membros inferiores.

Materiais e métodos

Desenho experimental e população do estudo

Mulheres sedentárias eutróficas e obesas com idades entre 20 e 45 anos foram recrutadas da comunidade por meio de comunicação social via Departamento e Universidade, em revistas comunitárias, bem como anúncios de rádio e televisão. Após os potenciais sujeitos responderem à primeira triagem por correspondência ou por telefone, considerando-se os principais critérios de inclusão e exclusão, os mesmos foram submetidos ao primeiro dia de avaliação. As voluntárias qualificadas foram alocadas no grupo eutróficas (GE, n=13) ou no grupo obesas (GO, n=18) de acordo com o índice de massa corporal (IMC) e porcentagem de gordura corporal total (MG): 1) GE: $\leq 25 \text{ kg.m}^{-2}$ e $< 35\%$ de MG; e 2) OB: $\geq 35 \text{ kg.m}^{-2}$ e $\geq 40\%$ de MG. O GO continha exclusivamente mulheres com obesidade severa e mórbida. Adicionalmente, foram incluídas no estudo apenas aquelas que apresentavam massa corporal estável nos últimos seis meses prévios ao início do estudo sem terem feito qualquer intervenção nutricional ou programa de exercício aeróbio ou resistido supervisionado.

O critério para um estilo de vida sedentário foi considerado como sendo a realização de atividade física estruturada de baixa intensidade de duração inferior a 150 minutos por semana. Os critérios de exclusão considerados foram: gestação, menopausa precoce, cirurgias ginecológicas e/ou ortopédicas, tabagismo e/ou período de abstinência inferior a um ano antes do início do estudo, etilismo, uso de medicamentos de uso contínuo (exceto anticoncepcional), diagnóstico de doenças pulmonares, cardiovasculares e/ou metabólicas, distúrbios neurológicos, dificuldade em compreender procedimentos experimentais ou comprometimento cognitivo identificado subjetivamente pelo avaliador.

Os procedimentos do estudo foram realizados em dias não consecutivos com intervalos de, no mínimo, 48 horas: 1) 1º dia: avaliação clínica composta de anamnese, medidas antropométricas, análise da composição corporal, questionário de atividade física de Baecke, espirometria para avaliação da função pulmonar basal e familiarização com ergômetros e procedimentos dos testes de exercícios; 2) 2º Dia: coleta sanguínea; 3) 3º Dia: TECP em esteira ergométrica; 4) 4º Dia: primeiro TD6; 5) Dia 5: segundo TD6 para um sub-grupo da amostra composto por 12 indivíduos; e 6) Dia 6: medidas de força e potência muscular por dinamometria isocinética. Os autores conduziram o estudo após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de São Carlos (CEP-UFSCar: parecer no. 326.607) (ANEXO I) e todos voluntários concordaram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO II)

Avaliação inicial

Uma primeira anamnese foi realizada em formato de entrevista. Além das avaliações clínicas e antropométricas, os participantes responderam ao questionário validado de atividade física de Baecke (Baecke *et al.*, 1982), que inclui perguntas sobre a percepção de esforço físico durante o período de trabalho, lazer e atividades esportivas. Este procedimento permitiu aos avaliadores avaliar o estilo de vida dos voluntários do estudo. Estatura e massa corporal (MC) foram medidas (Modelo 104-A, Welmy®, São Paulo, Brasil) em posição ortostática, com o corpo ereto, com o dorso e calcanhares encostados na parede e olhando para frente, sem sapatos e vestimenta. A massa corpórea e outras variáveis de composição corporal foram obtidos a partir da análise da bioimpedância elétrica tetrapolar, avaliada pelo

analisador de composição corporal Tanita (Modelo BC-558 Ironmann, Tanita Corporation, Tóquio, Japão). Os procedimentos de avaliação seguiram as diretrizes do fabricante. Todas as voluntárias participaram da avaliação na fase folicular do ciclo menstrual (dias 1 a 14 a contar do primeiro dia de menstruação) para evitar o viés causado pelos efeitos hormonais. Por meio de contato telefônico realizado rotineiramente, as mesmas foram orientadas a comunicar os avaliadores quando do início deste período do ciclo menstrual para agendamento da avaliação de composição corporal. Além disso, as voluntárias foram instruídas a estar em jejum absoluto de pelo menos quatro horas, usar roupas leves, não ter metal em contato com seus corpos e urinar previamente ao exame. Foram obtidos MG, massa magra total (MM), massa magra apendicular do membro inferior dominante (MM_{AppD}) e índice de massa magra apendicular total (MM_{AppT}) (Barbat-Artigas *et al*, 2013)

As circunferências da coxa, cintura e quadril foram medidas com a aproximação de 1 cm de acordo com os padrões da Organização Mundial de Saúde (WHO, 2008). Foram feitas três medições consecutivas de cada localização marcada e a média de 2 valores com diferença menor do que 10% foi utilizada para análise estatística.

A função pulmonar foi investigada por meio das manobras forçada e lenta (Oxycon Mobile®, Mijnhardt / Jäger, Wurtzburgo, Alemanha) de acordo com as diretrizes padrão e os valores preditos para brasileiros (Pereira *et al.*, 2007) em relação à espirometria, garantindo a inclusão no estudo de voluntários com função pulmonar normal.

Análise Sanguínea

Para a análise sanguínea, as voluntárias foram instruídas a jejuar de 12 a 14 horas, e a coleta foi realizada entre 7h00 e 8h30 da manhã. As voluntárias foram instruídas a manter sua dieta habitual e não realizar exercício nas 48 horas precedentes ao exame. Amostras de sangue foram coletadas da veia antecubital do membro superior por um profissional qualificado em laboratório especializado com certificação e controle de qualidade pela Sociedade Nacional de Patologia Clínica / Medicina Laboratorial, reconhecida pelo Ministério da Saúde do Brasil, por meio da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Foram quantificados os níveis de glicemia de jejum, insulina e o subsequente índice de resistência à insulina (RI) pelo método

de avaliação do Modelo de Homeostase (HOMA-IR) e o perfil lipídico: colesterol total (CT), lipoproteína de alta densidade de colesterol (HDL-C), lipoproteína de baixa densidade de colesterol (LDL-C), lipoproteína de muito baixa densidade de colesterol (VLDL-C) e triglicérides (TGL).

Testes de Exercícios e Protocolos de Força

Todos os seguintes testes de esforço e procedimentos experimentais foram realizados no mesmo período do dia devido à influência do ritmo circadiano, em uma sala aclimatizada com temperatura entre 22 a 24°C e moderada umidade relativa do ar (40-60%). Para o exercício, as voluntárias receberam as instruções de absterem-se da ingestão de bebidas ou alimentos alcoólicos e/ou estimulantes e da realização de atividades físicas nas 48 horas precedentes aos testes; não comparecerem às avaliações em jejum de mais de 2 horas ou na presença de qualquer dor aguda ou processos inflamatórios e/ou infecciosos vigentes.

Teste de Exercício Cardiopulmonar (TECP)

Um TECP sintoma-limitado foi conduzido em uma esteira ergométrica (Master Super ATL, Inbramed/Inbrasport, Rio Grande do Sul, Brasil) por um médico e dois fisioterapeutas de acordo com o protocolo incremental em degrau de Bruce, de velocidade e inclinação progressivas a cada 3 minutos, iniciado a 2,7 km.h⁻¹ e 10% de inclinação e limitado a 10,5 km.h⁻¹ e 24% de inclinação, totalizando 8 estágios. Os procedimentos e os critérios de interrupção seguiram recomendações previamente estabelecidas (*American Thoracic Society, 2003*). O TECP consistiu de um repouso inicial de quatro minutos na posição sentada e ortostática antes do início do teste de exercício além de um período de recuperação ativa pós-exercício de três minutos e passiva de três minutos, os quais foram igualmente monitorados.

Todos os testes preencheram os seguintes critérios mínimos para ser considerado um teste máximo: 1) relação de troca respiratória máxima (RER) > 1,10; 2) Frequência cardíaca (FC) máxima > 90% da FC máxima prevista para a idade (i.e., 220-idade); e 3) Tempo de exercício de 8 a 12 minutos, sendo que o aparecimento de quaisquer arritmias ou auto-relato de intolerância ao teste foram considerados para interrupção imediata do teste independentemente dos critérios mencionados acima.

Entretanto, nenhum evento adverso desta natureza ocorreu com nenhuma das voluntárias deste projeto. Todas as medidas foram coletadas respiração-a-respiração por um sistema metabólico portátil (Oxycon Mobile®, Mijnhardt/Jäger, Wurtzburgo, Alemanha) por meio de uma máscara facial como interface. O $VO_{2\text{pico}}$, medida padrão-ouro de ACR, foi definido como o maior valor de VO_2 dos últimos 15 segundos do exercício. Além do $VO_{2\text{pico}}$, outros dados ventilatórios e metabólicos coletados durante o TECP e o TD6, foram transferidos para uma planilha do programa *Microsoft Excel* para posterior análise, sendo que o alisamento dos dados em médias a cada 15 segundos foi realizado no *software* Oxycon Mobile previamente à exportação das planilhas.

Também foram mensurados e registrados os sinais de eletrocardiograma de 12 derivações (Wincardio Micromed®, Distrito federal, Brasil), a FC, a pressão arterial não-invasiva (PA) e o nível de percepção do esforço pela escala CR-10 de Borg (Borg, 1982). As Figuras 1A e 1B ilustram os dispositivos e posicionamento para o teste cardiopulmonar de uma voluntária eutrófica.

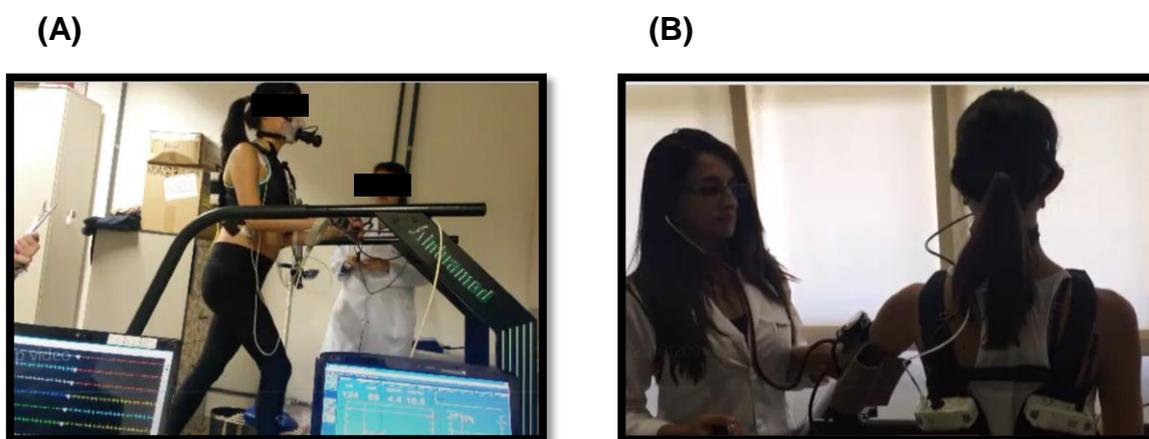


Figura 1. Ilustração do teste de exercício cardiopulmonar com uma voluntária eutrófica demonstrando (A) a monitorização pelo ergoespirômetro e eletrocardiograma e o posicionamento para o teste em esteira ergométrica e (B) o posicionamento do pesquisador e do voluntário para mensuração da pressão arterial.

Teste-reteste do Teste de degrau de seis minutos (TD6)

O TD6 foi realizado uma única vez e, uma parte da amostra ($n=12$), realizou dois testes, com um intervalo mínimo de 48 horas entre eles, para estudo da

reprodutibilidade do teste. O TD6 caracteriza-se por ser de cadência livre e tempo-limitado e é realizado em um degrau de 15 cm de altura, conforme protocolo anteriormente descrito (Di Thommazo-Luporini *et al.*, 2015a). Em cada minuto do teste, os voluntários receberam o mesmo incentivo padronizado de acordo com as recomendações da associação *ATS/American College of Chest Physicians* recomendadas para o teste de caminhada de seis minutos (TC6) (Crapo *et al.*, 2002). Eles foram incentivados a subirem e descerem o degrau o maior número de vezes durante os seis minutos de teste e a instrução era para que iniciassem o exercício com o membro inferior dominante (Figura 2). As voluntárias eram autorizadas a interromper e retomar o exercício, bem como reduzir ou aumentar a velocidade de acordo com a percepção de esforço.

O número de ciclos de subida e descida (CSD) foi registrado em sua totalidade (tempo total do teste) e minuto-a-minuto por dois observadores treinados, a fim de assegurar a contagem precisa do desempenho neste teste. O mesmo sistema metabólico para a análise de gases ventilatórios expirados, bem como o método de determinação do valor de pico durante o TECP foram utilizados para o TD6. A carga de trabalho realizada durante o teste foi calculada de acordo com um estudo prévio (Olsen *et al.*, 1991). A FC foi monitorizada continuamente durante todo o repouso, exercício e recuperação; a PA foi aferida em repouso, no pico de exercício e durante o terceiro e sexto minutos de recuperação; e a percepção subjetiva de esforço por meio da escala CR-10 de Borg foi anotada no terceiro e sexto minutos do TD6 bem como no período de recuperação do referido teste.

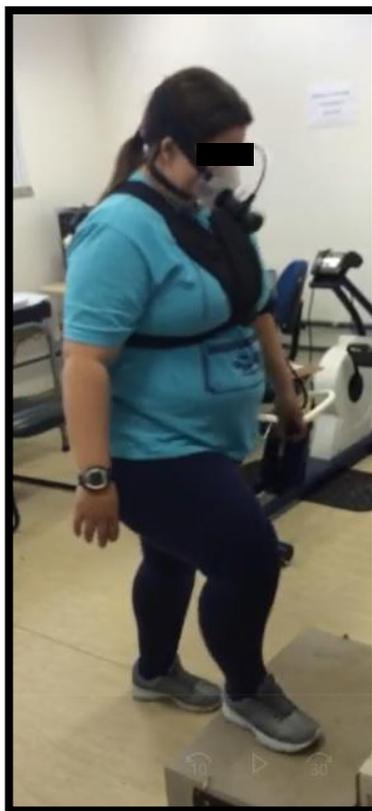


Figura 2. Ilustração do teste de degrau de seis minutos de uma voluntária obesa, iniciando o teste com o membro dominante e em uso do cardiofrequencímetro e ergoespirômetro portátil.

Como critérios de interrupção do TD6, foram considerados: 1) auto-relato de intolerância ao teste, seja por dispneia ou outro motivo; 2) percepção do avaliador em detectar, por exemplo, palidez e/ou sudorese. Além disso, ao final do teste, se a pressão arterial estivesse acima dos valores considerados normais em resposta ao exercício, as mesmas eram orientadas a aguardar, monitorizadas, o retorno às condições basais. Vale salientar que nenhuma intercorrência ou evento desta natureza ocorreu durante o período de estudo com as voluntárias deste projeto.

Medidas de Força Muscular Isométrica e Isocinética

A avaliação do torque concêntrico extensor de joelho (Figura 3) foi realizada utilizando um dinamômetro isocinético (Biodex System 3 Pro™, Biodex Medical System Incorporation®, Nova Iorque, Estados Unidos da América) pelo menos 48 horas após o último teste funcional. A contração concêntrica foi escolhida

essencialmente em virtude da contração dos extensores do joelho durante a atividade de subir degraus ou escadas ser concêntrica, ou seja, de encurtamento da musculatura mais ativa nesta situação, em oposição à de descer escadas que é essencialmente excêntrica de extensores de joelho. Assim, uma avaliação da força concêntrica destes músculos pode estar mais estreitamente relacionada à capacidade funcional do membro inferior nesta atividade diária. O dinamômetro foi calibrado todos os dias de testes de acordo com as especificações do fabricante. As avaliações isométricas e isocinéticas foram realizadas utilizando-se protocolos semelhantes a outros descritos em estudos prévios (Paolillo *et al.*, 2012; Borghi-Silva *et al.*, 2009; Marcus *et al.*, 2012). O tronco, o quadril e o membro inferior dominante dos indivíduos foram estabilizados com bandas inelásticas durante o teste afim de minimizar as possíveis compensações corporais durante a contração da musculatura avaliada.

Tanto o pico de torque (PT) isocinético concêntrico extensor de joelho e o trabalho total (TT) como a média de torque isométrico extensor de joelho foram testados com os sujeitos na posição sentada e neutra, com os joelhos e quadris flexionados a 90 ° e em adução-abdução e rotação medial-lateral neutras do quadril. O eixo de rotação do dinamômetro foi alinhado ao epicôndilo lateral do fêmur e a fixação com velcro para braço de alavanca posicionado três dedos acima do maléolo lateral.

A amplitude de movimento estipulada para o teste isocinético foi de 90° a 20° de flexão do joelho e a velocidade angular estabelecida foi de 60° por segundo. Para o teste isométrico, a posição fixa foi de 60° de flexão do joelho, partindo de 90° de flexão do mesmo. Para o procedimento isométrico, foram solicitadas três contrações de cinco segundos de duração com um intervalo de 3 minutos entre elas, após uma série submáxima de familiarização. Após um intervalo de 10 minutos, os participantes realizaram uma série isocinética de 1 minuto de repetições máximas (Borghi-Silva *et al.*, 2009), após uma familiarização submáxima, separadas por um período de três minutos de recuperação. Vale salientar que não houve aleatorização da ordem de execução dos testes realizados.

Um estímulo verbal padronizado realizado por avaliador único foi fornecido para estimular as participantes a produzirem seu esforço máximo durante todos os testes. Para análise estatística utilizou-se o maior pico de torque isométrico absoluto normalizado pela MC, IMC e peso do membro dominante (MC_{MD}). A potência isocinética e o trabalho total, representando a resistência muscular e a capacidade de

gerar força por determinado tempo (Paolillo *et al.*, 2012), foram representados pela normalização dos mesmos pela MC e MC_{MD}. Uma aceitável confiabilidade teste-reteste da medida de torque de joelho foi previamente estabelecida (Baldon *et al.*, 2013).



Figura 3. Ilustração da avaliação por dinamometria isocinética para avaliação da força e potência musculares de uma voluntária obesa.

Análise estatística

O pacote estatístico *SPSS* (*SPSS Statistics para Windows*, versão 17.0, Chicago: *SPSS Incorporation*, Illinois, EUA) foi usado para analisar todos os dados. A natureza da distribuição das variáveis foi verificada pelo teste de *Shapiro-Wilk*. O teste *t* de *Student* e o teste de *Mann-Whitney* foram utilizados de acordo com os pressupostos de normalidade. Os dados foram apresentados como média \pm DP para variáveis contínuas e paramétricas e como mediana (mínimo, máximo) para as variáveis categóricas e/ou não paramétricas. A hipótese de nulidade a ser testada é de que não haveria diferença entre as respostas fisiológicas, subjetivas e de capacidade funcional e muscular entre os grupos. O nível de significância adotado foi de 5% ($\alpha=0,05$) para um teste bicaudal.

A análise estatística para correlação avaliou o grau de associação entre variáveis-desfecho do teste de avaliação funcional e daquelas obtidas pela avaliação

muscular (dinamometria). O teste de correlação adequado foi escolhido de acordo com os pressupostos de normalidade da distribuição das variáveis. A medida de intensidade de associação entre variáveis quantitativas calculada por este método é chamada Coeficiente de correlação produto-momento ou coeficiente de correlação de *Pearson* e, na ocasião de não normalidade de distribuição, foi aplicado o teste de correlação de *Spearman*, ambos designados por r . Os valores de r foram interpretados usando as seguintes diretrizes: 0,00 a 0,19 = nenhum a muito baixo, 0,20 a 0,39 = baixo, 0,40 a 0,69 = moderado, 0,70 a 0,89 = alto e 0,90 a 1,00 = muito alto (Weber e Lamb, 1970). A segunda hipótese nula é a de que não haveria associação entre as variáveis dependentes.

A análise de regressão linear múltipla do tipo *stepwise* foi aplicada para prever o VO_{2pico} obtido durante o TECP: a partir de resultados de TD6 (CSD), IMC, MM, MG e idade. As variáveis relacionadas à função muscular (pico de torque, potência e trabalho total relativos) foram inseridas uma por vez, juntamente com as primeiras, para verificar se estas aumentariam a acurácia da predição.

Um tamanho amostral de 29 indivíduos foi calculado utilizando-se o programa estatístico *GPower* (Versão 3.1.3, Franz Faul, Universidade de Kiel, Kiel, Alemanha), de acordo com o número de observações requeridas para análise de regressão múltipla linear considerando um erro de tipo I de 5%, 85% de poder de amostra e tamanho do efeito de 0,5.

O coeficiente de correlação intraclassa (ICC) foi utilizado para verificar a reprodutibilidade do TD6 para uma parte da amostra ($n=12$), sendo que os dados do segundo TD6 desta amostra foi utilizado para o restante das análises. O segundo TD6 desta sub-amostra foi escolhido em detrimento do primeiro em virtude da proximidade com as demais avaliações de estudo, visto que o primeiro TD6 foi realizado em um período de até três meses antes das demais avaliações.

Um segundo tamanho amostral de 14 indivíduos, oriundos de um estudo piloto prévio e não pertencentes a esta amostra, foi utilizado para validar a equação preditiva. Foi aplicado um teste t para verificar as diferenças entre a média alcançada de VO_{2pico} no TECP e o valor de equação estimado para ambos os grupos (isto é, GE e GO).

Houve dois valores faltantes para medidas de força, dois para composição corporal, um para distribuição corporal, um para HOMA-IR, um para medidas hemodinâmicas no pico do TECP e nenhum para dados ergoespirométricos e

hemodinâmicos durante ambos os testes de exercício. Todos os itens acima foram tratados como dados faltantes, não sendo substituídos por um valor médio.

Resultados

A amostra foi recrutada e avaliada de fevereiro de 2013 a setembro de 2014 e consistiu de mulheres eutróficas e obesas. O fluxograma (Figura 4) demonstra o processo de recrutamento, verificação de elegibilidade dos sujeitos da pesquisa, perda amostral e suas causas e a amostra final utilizada para análise dos dados. Das 98 potenciais voluntárias, apenas 32% destas foram incluídas na amostra final. A perda amostral mais importante ocorreu na primeira fase de avaliação em virtude de termos como objetivo aumentar a validade interna dos nossos achados a partir de uma amostra tão homogênea quanto possível.



Figura 4. Fluxograma representando o recrutamento, avaliação e perda amostral.

As voluntárias incluídas na amostra final apresentavam função pulmonar normal, demonstrada pelas médias de porcentagem do volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF₁), capacidade vital forçada (CVF) e capacidade inspiratória (CI), respectivamente, 94,1±9,0%, 93,5±8,1% e 126,0±24,0% do predito para a população brasileira. Também foram avaliadas com relação ao nível de atividade física pelo questionário de Baecke e obtiveram médias de escores absolutos de 5,5±1,8 e 6,2±1,4 de um máximo de 15 pontos, sendo o escore relacionado ao trabalho de 2,1±0,7 e 2,3±0,7; ao esporte de 1,8±0,5 e 1,9±0,5; e atividades gerais durante o lazer de 2,2±0,7 e 2,1±0,7 para os grupos GE e GO, respectivamente. Para ambas função pulmonar e nível de atividade física, não houve diferença estatística entre os grupos. Como resultado deste questionário, conjuntamente com o critério inicial de inclusão de no máximo 150 minutos por semana de atividade física, pudemos constatar que o nível de atividade física exerceu nenhuma ou pouca influência em nossos achados.

Massa, força e potência musculares

A tabela 1 lista as características principais de ambos os grupos estudados. Como esperado, GO apresentou maiores médias de MG, circunferência abdominal, MM e PT em termos absolutos, ao passo que menores valores de porcentagem de MM em relação à MC bem como força e potência musculares normalizados pela MC, foram encontrados neste grupo.

Tabela 1. Dados antropométricos e demográficos, medidas de composição e distribuição corporal; e de massa e função muscular dos grupos estudados.

	GE (n=13)	GO (n= 18)
<i>Antropométricas e demográfica</i>		
Idade (anos)	32 ± 5	35 ± 5
Estatura (m)	1,64 ± 0,62	1,63 ± 0,63
Massa corporal (kg)	57,2±5,0	112,6±22,8*
IMC (kg·m ⁻²)	21,6±2,0	42,2±6,6*
<i>Composição/distribuição de gordura</i>		
MG (%)	29,1±3,3	47,9±3,3*
MM (%)	67,4±3,1	43,4±16,1*
Circunferência de coxa (cm)	52,5±3,2	72,5±9,3*
Relação cintura-quadril	0,75±0,05	0,84±0,07*
<i>Massa e função muscular</i>		
MM _{AppT} (kg·m ⁻²)	6,2±0,4	9,0±0,7*
MM _{AppD} (kg)	6,5±0,3	9,1±0,9*
PT (N.m)	133,8±21,7	177,2±37,1*
PT/MC (N.m.kg ⁻¹)	2,3±0,7	1,6±0,4*
PT/MC _{MD} (N.m.kg ⁻¹)	233,2±38,8	159,9±37,9*
PT/IMC (N.m.kg ⁻¹ .m ²)	6,2±0,9	4,3±0,9*
Potência _m /MC (W.kg ⁻¹)	1,0±0,2	0,7±0,2*
Potência _m /MC _{MD} (W.kg ⁻¹)	5,7±1,0	4,0±1,0*
TT/MC (J.kg ⁻¹)	28,0±4,6	19,1±3,4*
TT/MC _{MD} (J.kg ⁻¹)	164,9±27,4	116,1±25,6*

Dados apresentados em média ± desvio padrão. GE, grupo eutróficas; GO, grupo obesas; IMC, índice de massa corporal; MG, massa gorda; MM, massa magra total; MM_{AppD}, massa magra apendicular do membro inferior dominante; MM_{AppT}, índice de massa magra apendicular total; PT, pico de torque isométrico extensor de joelho; MC, massa corporal total; MC_{MD}, massa corporal de membro inferior dominante; Potência_m, potência média extensora de joelho; TT, trabalho total. * p<0,05.

A Tabela 2 visou elucidar o perfil metabólico da amostra estudada que poderia ter possivelmente uma influência nos nossos achados. O perfil glicêmico-insulínico, incluindo o índice de RI (HOMA-IR), assim como o perfil lipídico, estão demonstrados nesta tabela. Exceto para LDL-c, todas as variáveis diferiram entre os grupos. Dado

que a RI, além da glicemia e o metabolismo lipídico, estão associados à função muscular (Messier *et al.*, 2010; Messier *et al.*, 2008), uma sub-análise do grupos composto de mulheres obesas foi realizada (comparação intergrupo pelo teste de *Mann Whitney*), dividindo-as em dois grupos de acordo com o índice de RI (HOMA-IR) inferior ou superior a 1,95 (Labruna *et al.*, 2011) e, em um segundo momento, de acordo com o critério de SM (NCEP-ATP III, 2001) a fim de verificar se os sub-grupos diferiam entre si para todas as variáveis-desfecho. De acordo com esta sub-análise, nem a massa e função musculares nem a capacidade aeróbia durante os testes máximo (TECP) e submáximo (TD6) diferiram entre os sub-grupos.

Tabela 2. Perfil metabólico dos grupos de eutróficas e obesas.

	GE (n=13)	GO (n= 18)
Glicemia (mmol/l)	4,8±0,4	5,1±0,4*
Insulinemia (µu/ml)	6,4±2,3	14,4±7,1*
HOMA-IR	1,46±0,51	3,28±1,60*
nRI (n/n _{group})	0/13	7/13
Colesterol total (mmol/l)	10,5±2,8	11,2±2,1*
HDL-c (mmol/l)	3,2±0,7	2,6±0,4*
LDL-c (mmol/l)	6,3±2,2	7,2±1,7
VLDL-c (mmol/l)	0,9±0,3	1,5±0,9*
TGL(mmol/l)	4,6±1,4	7,5±4,5*

Dados apresentados em média±desvio padrão. HOMA-IR, modelo de avaliação da homeostase para RI; nRI, resistentes à insulina; HDL-c, lipoproteína de alta densidade; LDL-c, lipoproteína de baixa densidade; VLDL-c, lipoproteína de muito baixa densidade; TGL, triglicérides.

Aptidão cardiorrespiratória e capacidade funcional

As variáveis metabólicas, cardiovasculares e perceptuais do TECP e do TD6, além do desempenho e carga de trabalho no TD6, estão demonstradas na Tabela 3.

Table 3. Variáveis cardiovasculares, metabólicas, ventilatória, perceptuais e de desempenho mensuradas no teste máximo (TECP) e no teste funcional (TD6).

	TECP		TD6	
	GE (n=13)	GO (n=9)	GE (n=13)	GO (n=9)
Desempenho				
CSD (n)	–	–	196±24	152±22*
Carga (W)	–	–	275,4±42,2	412,5±69,4*
Variáveis metabólicas				
VO _{2pico} (mL.kg ⁻¹ .min ⁻¹)	32,4±4,2	21,2±3,1*	24,9±3,7 [#]	17,6±3,1**
VO _{2pico} relativo (%)	–	–	77±9	81±13
VO _{2pico} /CSD (mL.kg ⁻¹ .min ⁻¹ .n)			0,13±0,01	0,12±0,04
RER	1,25±0,09	1,23±0,10	1,04±0,09 [#]	1,07±0,10 [#]
Variáveis cardiovasculares				
FC (bpm)	181±12	176±11	163±15 [#]	159±15 [#]
FC (%pred)	102±6	101±5	92±8 [#]	90±9 [#]
PAS (mmHg)	154±23	199±30*	140±13	179±25*
PAD (mmHg)	79±9	96±21*	67±12 [#]	80±14**
Sintomas				
Dispneia	7 (5;10)	7,5 (3;10)	3 (0,5;8) [#]	3,5 (0;10) [#]
Fadiga de MMII	4 (0;10)	3 (0;10)	3 (0;7)	2 (0;10)

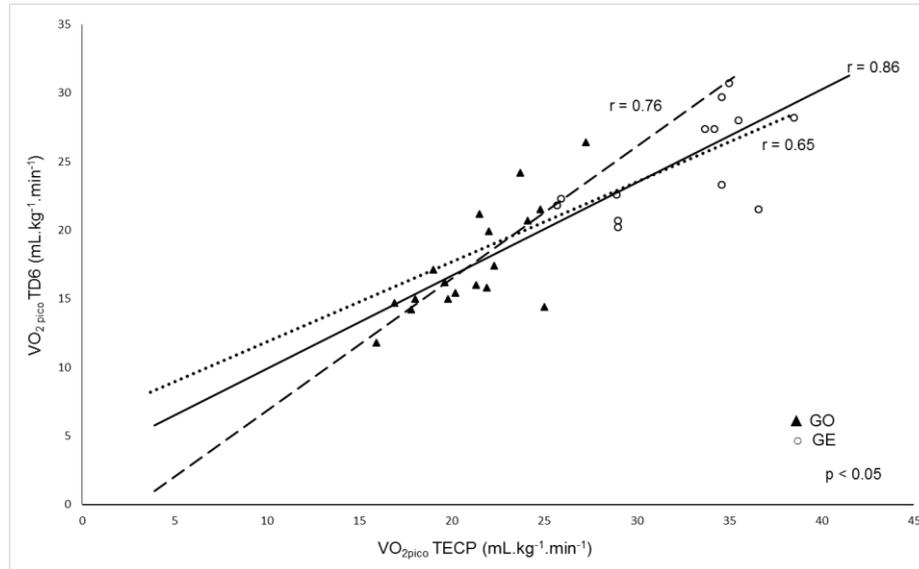
Dados apresentados em média ± desvio padrão e mediana (mínimo;máximo). TECP, teste de exercício cardiopulmonar; TD6, teste de degrau de seis minutos; GE, grupo eutróficas; GO, grupo obesas; CSD, ciclos subida-descida; VO_{2pico}, consumo de oxigênio no pico do exercício; VO_{2pico} relativo, consumo de oxigênio no TD6 relativo ao VO_{2pico} no TECP; RER, razão de troca respiratória; FC, frequência cardíaca; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, Pressão arterial diastólica; MMII, membros inferiores. Diferenças inter-grupo e intra-teste entre: *GE e GO; e diferenças intra-grupo e inter-teste entre: [#] TECP e TD6.

A partir dos nossos resultados, verificamos que o CSD, aqui representando o desempenho funcional, foi maior em GE do que em GO e, inversamente, a carga de trabalho maior em GO do que em GE, como esperado visto que a fórmula para cálculo da carga de trabalho considera o peso corporal do indivíduo, o desempenho, permanecendo fixos o valor da constante e a altura do degrau. A média de CSD por minuto no TD6 para o GE e GO foram 33±1 e 25±1, respectivamente.

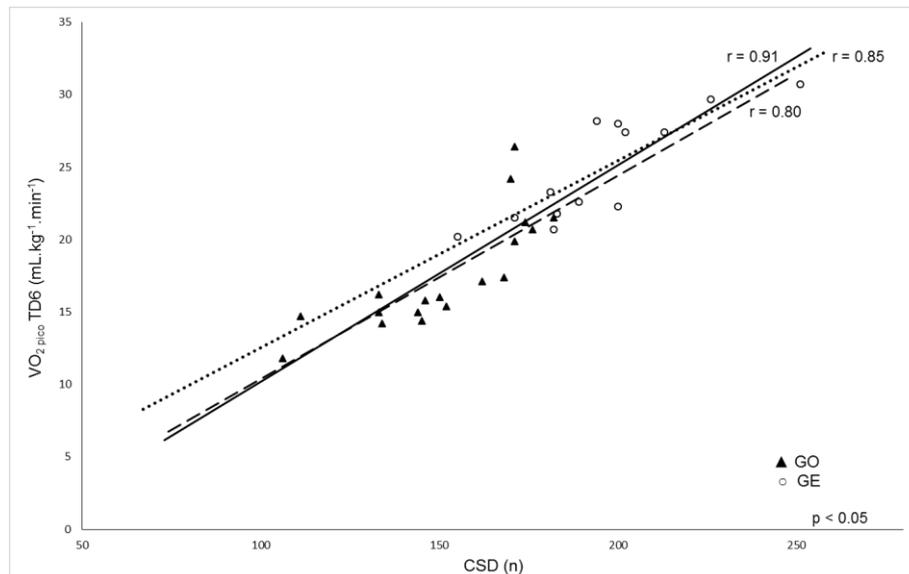
Correlações significativas entre as principais variáveis do TECP e do TD6 foram encontradas, como podemos observar nas Figuras 5A e 5B. Adicionalmente, na

Figura 5C pode-se observar que o CSD apresentou uma significativa correlação (coeficientes r alto a muito alto) com o $VO_{2\text{pico}}$ neste mesmo teste. Dadas as associações entre as variáveis-desfecho do TD6 e do TECP, foi investigada a habilidade do desempenho no TD6 em prever o $VO_{2\text{pico}}$ no TECP.

(A)



(B)



(C)

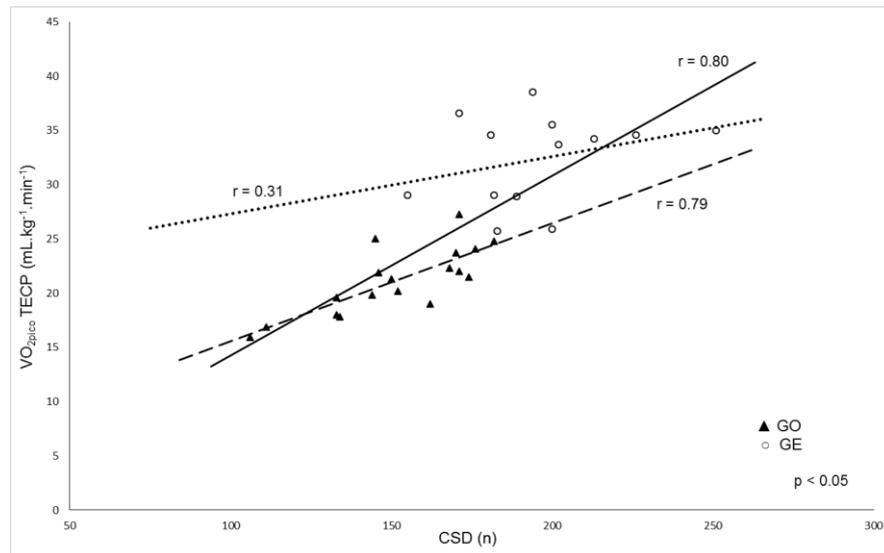


Figura 5. Correlações para GE e GO entre aptidão cardiorrespiratória (VO_{2pico} no TECP) e variáveis-desfecho do TD6 (VO_{2pico} e CSD). VO_{2pico} , consumo de oxigênio no pico do exercício; TECP, teste de exercício cardiopulmonar; TD6, teste de degrau de seis minutos; CSD, ciclos subida-descida; GO, grupo de obesas; GE, grupo de eutróficas. Reta tracejada: GO; reta pontilhada: GE; reta contínua: GO e GE (amostra total).

A análise do coeficiente de correlação intraclassa para o desempenho, a saber o CSD (CCI: 0,97; 95%CI: 0,898–0,993; $p < 0,001$), mostrou excelente reprodutibilidade deste teste funcional, como demonstrado em estudos com outras populações (Da Costa *et al.*, 2014; Arcuri *et al.*, 2015).

Formulação e validação da equação preditiva

A análise bivariada de correlação demonstrou que o VO_{2pico} no TECP correlacionou-se significativamente com o IMC ($r = -0,84$; $p < 0,001$), CSD (Figura 5B), e idade ($r = -0,40$; $p < 0,05$) e foram, portanto, subsequentemente inseridas no modelo de regressão linear do tipo *stepwise* para investigar a habilidade dessas variáveis de fácil acesso em prever o VO_{2pico} . O modelo final explicou 83% da variância do VO_{2pico} no TECP e a equação obtida foi: $VO_{2pico} = 35,335 - (0,328 \times IMC) + (0,069 \times CSD) -$

($0,298 \times \text{Idade}$), com o erro padrão da estimativa de $2,9 \text{ mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ (teste de *Durbin-Watson* = 2,2; $p < 0,01$).

A avaliação da utilidade da equação preditiva foi verificada pelo método de validação a partir de uma sub-amostra não pertencente a este estudo composta de 14 mulheres (7 eutróficas e 7 obesas), avaliadas em um prévio estudo piloto de nosso laboratório. As características dessa amostra foram: idade 36 ± 9 anos; estatura $1,65 \pm 0,1$; MC, $60,4 \pm 7,3$ kg; e IMC, $22,1 \pm 1,8 \text{ kg.m}^{-2}$ para o grupo de eutróficas; e idade 32 ± 5 anos; estatura, $1,62 \pm 0,1$; MC, $118,0 \pm 23,8$ kg; e IMC $45,6 \pm 12,1 \text{ kg.m}^{-2}$ para o grupo de obesas. Na comparação pelo teste para amostras independentes, não houve diferença significativa entre a média de $\text{VO}_{2\text{pico}}$ registrado por ergoespirometria e aquele estimado pela equação sugerida neste estudo: $28,0 \pm 5,0$ vs. $30,4 \pm 3,5 \text{ mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ para eutróficas e $23,3 \pm 4,9$ vs. $21,0 \pm 6,2 \text{ mL.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ para obesas ($p > 0,05$).

Associação entre função muscular, aptidão cardiorrespiratória e capacidade funcional

Para fins de investigação da magnitude da associação entre a força e a potência muscular com as variáveis de ACR e capacidade funcional, coeficientes de correlação foram demonstrados na Tabela 4. A associação entre a composição corporal e as variáveis de desempenho e capacidade aeróbia também apresentam-se listadas nesta tabela.

Tabela 4. Coeficientes de correlação entre $VO_{2\text{pico}}$ no TECP, $VO_{2\text{pico}}$ no TD6, desempenho no TD6 (CSD) e composição corporal com as variáveis de função muscular.

	$VO_{2\text{pico}}$ TECP (mL.kg ⁻¹ .min ⁻¹)	$VO_{2\text{pico}}$ TD6 (mL.kg ⁻¹ .min ⁻¹)	CSD (n)	p-valor
MG (%)	-0,74 ^a	-0,57 ^a	-0,58 ^a	<0,001
MM (%)	0,70	0,54	0,62	<0,05
PT/IMC (N.m.kg ⁻¹ .m ²)	0,74	0,64	0,67	<0,001
PT/MC (N.m.kg ⁻¹)	0,77	0,69	0,71	<0,001
PT/MC _{MD} (N.m.kg ⁻¹)	0,76	0,68	0,72	<0,001
Potência _m /MC (W.kg ⁻¹)	0,54	0,54	0,50	<0,001
Potência _m /MC _{MD} (W.kg ⁻¹)	0,58	0,52	0,60	<0,001
TT/MC (J.kg ⁻¹)	0,75	0,70	0,73	<0,001
TT/MC _{MD} (J.kg ⁻¹)	0,67	0,67	0,69	<0,001

$VO_{2\text{pico}}$, consume de oxigênio no pico de exercício; TECP, teste de exercício cardiopulmonar; TD6, teste de degrau de seis minutos; CSD, ciclos subida-descida; IMC, índice de massa corporal; MG, massa gorda; MM, massa magra; PT, pico de torque isométrico extensor de joelho; MC, massa corporal; MC_{MD}, massa corporal do membro dominante; Potência_m, potência média; TT, trabalho total. ^a Coeficientes de correlação de Spearman.

De acordo com os nossos resultados, o desempenho no TD6 (CSD) representa fortemente o $VO_{2\text{pico}}$ neste mesmo teste quando consideradas as associações com as variáveis de força e potência musculares. Além disso, o desempenho no TD6 parece também ter correlações equiparáveis àquelas obtidas no TECP com as variáveis de função muscular.

Discussão

Para o nosso conhecimento, este é o primeiro estudo a comparar e correlacionar as respostas cardiorrespiratórias do TD6 e o teste de exercício padrão-ouro (TECP) em mulheres jovens eutróficas e obesas. Os achados principais de nosso estudo são: (1) uma equação preditiva pôde ser desenvolvida a partir do TD6 para ambos os grupos estudados; e (2) medidas de força e potência muscular de membros

inferiores estão significativamente associadas com a capacidade aeróbia e a capacidade funcional.

Esses resultados sugerem alta validade interna de nossos achados, pois o estudo utilizou medidas previamente validadas (*American Thoracic Society*, 2003; Guazzi *et al.*, 2012; Arcuri *et al.*, 2015; Drouin *et al.*, 2004; Eriksson *et al.*, 2012; Rosdhal *et al.*, 2010; Di Thommazo-Luporini *et al.*, 2015a) para a força e a potência musculares e para a avaliação da ACR. Desta forma, nossos resultados permitem ressaltar a usabilidade e a aplicabilidade desses achados em mulheres jovens, eutróficas e obesas, para as quais se observa uma ampla gama de respostas cardiorrespiratórias e de capacidade funcional.

Massa, força e potência musculares

Embora o GO tenha apresentado maior percentual de MM, todas as variáveis normalizadas expressando força e potência musculares apresentaram-se marcadamente reduzidas neste grupo, como demonstrado anteriormente em outros estudos (Maffiuletti *et al.*, 2007; Hulens *et al.*, 2001). Maffiuletti e colaboradores (Maffiuletti *et al.*, 2007) demonstraram que a fadiga do músculo quadríceps femoral durante contrações voluntárias máximas foi significativamente maior em homens obesos (graus II e III) e os valores de torque e potência relativos foram 32% menores em indivíduos obesos do que naquelas considerados não obesos. Paolillo e colaboradores (Paolillo *et al.*, 2012), avaliando mulheres obesas pós-menopáusicas, encontraram PT menores em obesas em comparação com eutróficas e com sobrepeso, concordando com o estudo anterior. No entanto, estes autores encontraram uma potência e um TT equivalentes, bem como menor fatigabilidade do quadríceps em obesas em comparação com as não obesas, expressa pelo declínio no PT em um protocolo de resistência de um minuto realizado a uma velocidade angular maior do que a adotada em nosso estudo. A reduzida fatigabilidade observada no estudo supracitado pode ser explicada pelo efeito de adaptabilidade à sobrecarga de peso como um mecanismo para suportar a alta carga imposta pela própria MC ao longo das atividades habituais diárias no decorrer dos anos. Ao mimetizar um exercício “resistido” constante, a sobrecarga da obesidade poderia promover efeitos resistentes à fadiga, aumentando a quantidade das unidades motoras de fibras de contração lenta em oposição às de fibras de contração rápida, preservando a

resistência muscular periférica em detrimento da força muscular isolada em um curto intervalo de tempo (i.e. o pico de torque) (Paolillo *et al.*, 2012; Macaluso *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 1998).

Surpreendentemente, apenas um número limitado de pesquisadores investigaram essas características musculares em adultos obesos, especialmente em mulheres obesas. De acordo com esses, entretanto, é bem aceito que adultos obesos gerem maior força absoluta e potência com a musculatura de extremidades inferiores do que as eutróficas, provavelmente devido à maior quantidade de MM. Assim, é preferível expressar a função muscular em termos relativos à MC, a fim de respeitar a especificidade das contrações realizadas durante as atividades diárias (Rolland *et al.*, 2004), considerando que a maioria delas necessita de levantamento ou suporte do peso corporal. Portanto, menores torque e potência musculares relativos ao peso observado em indivíduos obesos, poderiam ser considerados importantes contribuintes da reduzida capacidade funcional de indivíduos obesos.

Nesse sentido, a normalização pela MC, em vez da normalização mais comum por MC_{MD} , foi escolhida para representar de alguma forma a sobrecarga total do corpo, que parece ser essencialmente a principal restrição biomecânica e funcional em indivíduos jovens obesos (Capodaglio *et al.*, 2009). Além disso, todas as comparações entre grupos considerando-se as medidas de força, potência e trabalho, normalizadas pela MM total, não foram estatisticamente significativas em nosso estudo. Outras investigações relataram achados semelhantes em adolescentes obesos, o que nos permite especular que a capacidade de geração de força depende de muitos outros fatores, tais como os de natureza neuromuscular e biomolecular, como a ativação e recrutamento da unidade motora, morfologia e arquitetura muscular, tipagem de fibras, conteúdo mitocondrial intramuscular, entre outros, em vez da massa muscular por si só (Maffiuletti *et al.*, 2008).

Além disso, não deve ser negligenciado que, embora seja válido (Karelis *et al.*, 2013), nosso método de avaliação da composição corporal não foi capaz de mensurar a quantidade de tecido adiposo intramuscular, o qual exerce uma influência negativa importante na força e resistência musculares, promovendo um estado pró-inflamatório crônico devido à liberação de citocinas deletérias ao adequado funcionamento celular das miofibras. Além de afetar sua função por meio de estímulo muscular ou sistêmico, essa infiltração anormal parece estar relacionada ao comprometimento do metabolismo e à desvantagem mecânica da contração da fibra

muscular (Addison *et al.*, 2014). Nesse sentido, Hilton e colaboradores (Hilton *et al.*, 2008) observaram uma correlação inversa entre a potência muscular, a força e a performance física e a infiltração adiposa intramuscular, a qual não pôde ser confirmada neste estudo.

Particularmente para a nossa amostra estudada, é possível que, em uma fase precoce da vida, estas alterações metabólicas possam ainda não refletir o agravamento da função muscular, mas sim após exposição a longo prazo da condição metabólica não saudável numa idade mais avançada. Isto foi confirmado por Karelis e colaboradores (Karelis *et al.*, 2007), que encontraram níveis mais elevados de sensibilidade à insulina associados a maiores valores de força muscular de membros inferiores por meio de um teste de uma repetição máxima em mulheres obesas e pós-menopáusicas sedentárias, quando comparadas àquelas com maior RI. Além disso, as propriedades cardiovasculares do estrogênio em mulheres adultas poderiam ser consideradas importante responsáveis pelo efeito hormonal cardioprotetor, como efeitos vasomotores e antioxidantes, mesmo na presença de conteúdo lipídico anormal (Guetta *et al.*, 1996).

Neste contexto, a capacidade de geração de força muscular deve ser afetada por uma série de condições prejudiciais em graus variados, comprometendo um melhor desempenho nas atividades de vida diária, como a transição de postura sentada para ortostática, subida de escadas, levantamento de pesos, agachamento, caminhada, dentre outras. Muitos autores demonstraram que os indivíduos com maior força muscular apresentam melhor desempenho físico em uma série de atividades do que aqueles que apresentam força muscular reduzida (Barbat-Artigas *et al.*, 2014; Rolland *et al.*, 2009; Capodaglio *et al.*, 2010).

Aptidão cardiorrespiratória e capacidade funcional

É particularmente notável que o TECP provocou respostas metabólicas e cardiovasculares de maiores magnitudes em comparação com o TD6, tanto no GE como no GO. Esse fato reforça o perfil submáximo ou quase-máximo do teste funcional de degrau no qual ambos os grupos alcançaram aproximadamente 91% da FC prevista, diferindo da alcançada no TECP, e aproximadamente 79% do $VO_{2\text{pico}}$ obtido durante o TECP.

Também é importante notar que a razão entre o $VO_{2\text{pico}}$ obtido durante o TD6 e o CSD não foi diferente entre os grupos estudados, o que explica a intensidade equivalente deste teste funcional para ambos os grupos, corroborando a porcentagem de FC predita alcançada no TD6. Apesar da discrepância de intensidade entre os testes máximo e submáximo, os dois grupos apresentaram menor resposta de percepção de esforço durante o TD6 do que no TECP somente em relação à dispneia. Isso pode refletir o fato de o TD6 envolver um tipo de atividade física que recruta mais especificamente a musculatura de MMII, similar ao exigido no TECP provocando, portanto, similares percepções de fadiga de membros inferiores.

Apesar de o TD6 ser de natureza auto-cadenciada, ele pode, ao menos na maioria das vezes, ser considerado um teste de carga constante, dada a característica constante do número de CSD observado em cada minuto do teste para todos os sujeitos do estudo. Apesar de diferir da característica incremental do TECP, pudemos observar importantes correlações entre eles em relação às principais variáveis-desfecho, o que fortalece a recomendação do uso do TD6 em clínicas de prevenção e reabilitação como alternativa quando da não possibilidade de realização do teste máximo.

Em relação às Figuras 5A e 5B que expressam o $VO_{2\text{pico}}$ no teste máximo e o $VO_{2\text{pico}}$ no submáximo, bem como as correlações de desempenho do TD6, vale ressaltar que os valores alcançados pelo GE (círculos brancos) foram todos proporcionalmente maiores do que os alcançados pelo GO (triângulos pretos). Além disso, é importante notar que a proximidade dos triângulos pretos sugere uma resposta de exercício mais homogênea em mulheres obesas do que em eutróficas, as quais estão mais dispersas nas figuras acima mencionadas. Parece que a principal característica comum entre as mulheres obesas, ou seja, com maior IMC, propiciou uma maior homogeneidade em relação ao padrão de ACR em comparação com o GE.

Muitos autores têm se concentrado no desenvolvimento de equações preditivas a partir de testes submáximos ou sua acurácia em identificar a ACR em populações saudáveis e doentes (Di Thommazo-Luporini *et al.*, 2012; Quinart *et al.*, 2014; Neves *et al.*, 2015; Ekblom-Bak *et al.*, 2014; Dourado *et al.*, 2013; Bandyopadhyay, 2013; Cataneo *et al.*, 2010; Petrella *et al.*, 2001; Siconolfi *et al.*, 1985). Neves e colaboradores (Neve *et al.*, 2015) verificaram que as respostas cardiorrespiratórias obtidas no pico do teste funcional *Shuttle walk test* concordam com as obtidas no TECP e a equação desenvolvida por esses autores mostrou

viabilidade para a predição do $VO_{2\text{pico}}$ em homens sedentários saudáveis. Além disso, como no nosso estudo, o IMC e o desempenho no teste funcional, neste caso a velocidade da marcha, explicaram 40,6% ($p=0,001$) da variância no $VO_{2\text{pico}}$. Baillot e colaboradores (Baillot *et al.*, 2015), por sua vez, verificaram que uma pontuação de capacidade funcional física, idade, força extensora do joelho e IMC explicaram 57% da variância da distância percorrida no TC6 em indivíduos obesos.

Associação entre força e potência musculares, aptidão cardiorrespiratória e capacidade funcional

Até onde sabemos, não há estudos baseados em evidências que tenham aplicado um único teste funcional em mulheres sedentárias de peso normal e obesas com o mesmo propósito preditivo. Também nada sabemos sobre a relação entre o desempenho no TD6 e a função muscular nesta população. Por causa da poderosa habilidade do TD6 em prever a ACR, seria de fundamental relevância compreender quais outros mecanismos poderiam influenciar seu desempenho em mulheres eutróficas e obesas. Nesse sentido, encontramos correlações com coeficientes moderados a altos entre $VO_{2\text{pico}}$ e CSD no TD6 com as variáveis de força e potência musculares. Torna-se claro a partir dos nossos resultados que as mulheres jovens obesas tiveram menor força e potência extensoras de joelho, bem como reduzido desempenho no TD6, o que parece explicar, além da ACR, a sua capacidade limitada para executar esta tarefa. Corroborando tais achados, Hulens e colaboradores (Hulens *et al.*, 2002) também detectaram correlações entre as medidas de força isocinética e o $VO_{2\text{pico}}$ em mulheres jovens obesas. Barbat-Artigas e colaboradores (Barbat-Artigas *et al.*, 2014), avaliando idosos, mostraram que a obesidade e a idade influenciam a relação entre a força de extensão do joelho e a função física, sendo que as últimas foram correlacionadas entre si. Quanto à função física, os autores levaram em conta uma pontuação composta de tarefas de atividade diária, incluindo um teste de degrau tempo-limitado.

Outros autores encontraram que a potência média relativa à MC está associada ao desempenho do indivíduo durante tarefas predominantemente anaeróbias de esforço máximo ou quase-máximo, como a subida de escadas e outras atividades que exigem deslocamento vertical (Lafortuna *et al.*, 2013). Alguns estudos descobriram ainda que uma maior quantidade de MG e IMC resultam em um declínio

da potência muscular em indivíduos obesos, especialmente em mulheres. Portanto, a sobrecarga causada pela obesidade parece realmente influenciar o desempenho dos músculos de extremidades inferiores durante tarefas de alta ou muito alta intensidade (Maffiuletti *et al.*, 2007; Lafortuna *et al.*, 2002).

Aplicabilidade clínica

Os resultados do nosso estudo têm uma importância primordial acrescentando ao escopo de conhecimento sobre os métodos disponíveis, neste caso o TD6, para estimar a medida padrão-ouro de ACR sem a necessidade de uma equipe altamente especializada e equipamentos dispendiosos. Neste contexto, investigações futuras devem avaliar a utilidade e a capacidade de previsão em outras populações, expandindo ainda mais a sua aplicação clínica.

Limitações do estudo

Nossas descobertas não podem ser extrapoladas para indivíduos do sexo masculino e mulheres idosas. Outra limitação é que a análise de composição corporal utilizada em nosso estudo pode ter superestimado a porcentagem de MM, visto que este não capta a quantidade de tecido adiposo intramuscular. Assim, as variáveis de força, potência e trabalho total normalizadas pela massa muscular aqui descritas, não levam em consideração a quantidade de infiltração adiposa muscular, o que pode ser, até certo ponto, uma limitação desta normalização, mas que acreditamos não ter influenciado de forma importante nossos achados

Conclusão

Em conclusão, a ACR, a capacidade funcional avaliada pelo TD6, bem como a força e a potência musculares extensoras do joelho foram menores em mulheres obesas quando comparadas às apresentadas pelas mulheres jovens eutróficas. Além disso, esses resultados estão diretamente associados entre si e inversamente relacionados à MG, IMC e idade. Nossos achados indicam que o desempenho no TD6, aqui representado pelo número de CSD, em associação com IMC e idade, podem prever o $VO_{2\text{pico}}$ avaliado pelo teste padrão-ouro de avaliação da ACR

(TECP), aumentando assim a utilidade dessas variáveis facilmente acessíveis em estabelecimentos de cuidados primários e clínicas de reabilitação como parte do exame físico da rotina de triagem e prescrição de exercícios bem como no acompanhamento da evolução clínica do indivíduo.

Referências

Organização Mundial de Saúde. World Health Statistics 2014. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112738/1/9789240692671_eng.pdf?ua=1. 2014.

ADDISON, O. et al. Intermuscular fat: A review of the consequences and causes. **Int J Endocrinol**, 2014:309570, 2014. doi: 10.1155/2014/309570

ARCURI, J.F. et al. Validity and reliability of the 6-minute step test in healthy individuals: a cross-sectional study. **Clin J Sport Med**, v. 26, n. 1, p. 69-75, 2015. doi: 10.1097/JSM.0000000000000190

ATS/ACCP Statement on cardiopulmonary exercise testing. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 167, n. 3, p. 211–77, 2003 . PMID: 12524257

Baecke, J.A.; Burema, J.; Frijters, J.E. A short questionnaire for the measurement of habitual physical activity in epidemiological studies. **Am J Clin Nutr**, v. 36, p. 936-42, 1982.

BAILLOT, A. et al. The 6-min walk test reflects functional capacity in primary care and obese patients. **Int J Sports Med**, v. 36, n. 6, p. 503-9, 2015. doi: 10.1055/s-0034-1398533.

BALDON, R.D.M. et al. Effect of functional stabilization training on lower limb biomechanics in women. **Med Sci Sports Exerc**, v. 44, n. 1, p. 135–45, 2013. doi: 10.1249/MSS.0b013e31822a51bb PMID: 21705921

BANDYOPADHYAY, A. Validity of 20 meter multi-stage shuttle run test for estimation of maximum oxygen uptake in female university students. **Indian J Physiol Pharmacol**, v. 57, n. 1, p. 77–83, 2013. PMID: 24020102

BARBAT-ARTIGAS, S. et al. Exploring the role of muscle mass, obesity, and age in the relationship between muscle quality and physical function. **J Am Med Dir Assoc**, v. 15, n. 4, p. 303e13–20, 2014. doi: 10.1016/j.jamda.2013.12.008

BARBAT-ARTIGAS, S. et al Muscle quantity is not synonymous with muscle quality. **J Am Med Dir Assoc**, v. 14, n. 11, p. 857. e1–7, 2013. doi: 10.1016/j.jamda.2013.06.003

BORG, G.A. Psychophysical bases of perceived exertion. **Med Sci Sports Exerc**, v. 14, n. 5, p. 377–81, 1982. PMID: 7154893

BORGHI-SILVA, A. et al. Non-invasive ventilation improves peripheral oxygen saturation and reduces fatigability of quadriceps in patients with COPD. **Respirology**, v. 14, p. 537–44, 2009. doi: 10.1111/j.1440-1843.2009.01515.x PMID: 19386071

CAPODAGLIO, P. et al. Strength characterization of knee flexor and extensor muscles in Prader-Willi and obese patients. **BMC Musculoskelet Disord**, v. 10, n. 47, 2009. doi: 10.1186/1471-2474-10-47 PMID: 19419559

CAPODAGLIO, P. et al. Functional limitations and occupational issues in obesity: A review. **Int J Occup Saf Ergon**, v. 16, n. 4, p. 507–23, 2010. PMID:21144269

CATANEO, D.C. et al. Accuracy of six minute walk test, stair test and spirometry using maximal oxygen uptake as gold standard. **Acta Cir Bras**, v. 25, n. 2, p. 194–200, 2010. PMID: 20305888

CRAPO, R.O. et al. ATS statement: Guidelines for the six-minute walk test. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 166, n. 1, p. 111–7, 2002. PMID: 12091180

DA COSTA, J.N.F. et al. Reproducibility of cadence free six-minute step test in subjects with COPD. **Respir Care**, v. 59, n. 4, p. 538–42, 2014. doi: 10.4187/respcare.02743 PMID: 24046461

DI THOMMAZO-LUPORINI, L. et al. Metabolic and clinical comparative analysis of treadmill six-minute walking test and cardiopulmonary exercise testing in obese and eutrophic women. **Rev Bras Fisioter**, v. 16, n. 6, p. 469–78, 2012. PMID: 22832701

DI THOMMAZO-LUPORINI, L. et al. The six-minute step test as a predictor of cardiorespiratory fitness in obese women. **Eur J Phys Rehabil Med**, v. 51, n. 6, p. 793-802, 2015(a)

DOURADO, V.Z. et al. Reference values for the incremental shuttle walk test in healthy subjects: from the walk distance to physiological responses. **J Bras Pneumol**, v. 39, n. 2, p. 190–7, 2013. PMID: 23670504

DROUIN, J.M. et al. Reliability and validity of the Biodex System 3 pro isokinetic dynamometer velocity, torque and position measurements. **Eur J Appl Physiol**, v. 91, n. 1, p.22–9, 2004. PMID: 14508689

EKBLOM-BAK E. et al. A new submaximal cycle ergometer test for prediction of VO_{2max} . **Scand J Med Sci Sports**, v. 24, n. 2, p. 319–26, 2014. doi: 10.1111/sms.12014 PMID:23126417

ERIKSSOM, J.S.; ROSDAHL, H.; SCHANTZ, P. Validity of the Oxycon Mobile metabolic system under field measuring conditions. **Eur J Appl Physiol**, v. 112, p. 345–355, 2012. doi: 10.1007/s00421-011-1985-1 PMID: 21559947

Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). **JAMA**, v. 285, n. 19, p. 2486–97, 2001. PMID: 11368702

GONZÁLEZ-GROSS, M.; MELÉNDEZ, A. Sedentarism, active lifestyle and sport: Impact on health and obesity prevention. **Nutr Hosp**, v. 28, Suppl 5, p. 89–98, 2013. doi: 10.3305/nh.2013.28.sup5.6923 PMID: 24010748

GUAZZI, M. et al. Clinical recommendations for cardiopulmonary exercise testing data assessment in specific patient populations. **Circulation**, v. 126, p. 2261–74, 2012. doi: 10.1161/CIR.0b013e31826fb946 PMID: 22952317

GUETTA, V.; CANNON, R.O. Cardiovascular effects of estrogen and lipid-lowering therapies in postmenopausal women. **Circulation**, v. 93, n. 10, p. 1928–37, 1996. PMID: 8635273

HILTON, T.N. et al. Excessive adipose tissue infiltration in skeletal muscle in individuals with obesity, diabetes mellitus, and peripheral neuropathy: association with performance and function. **Phys Ther**, v. 88, n. 11, p. 1336–44, 2008. doi: 10.2522/ptj.20080079 PMID:18801853

HULENS, M. et al. Study of differences in peripheral muscle strength of lean versus obese women: an allometric approach. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v. 25, n. 5, p. 676–81, 2001. PMID: 11360150

HULENS, M. et al. Assessment of isokinetic muscle strength in women who are obese. **J Orthop Sports Phys Ther**, 32, n. 7, p. 347–56, 2002. PMID: 12113469

KARELIS, A.D. et al. Association of insulin sensitivity and muscle strength in overweight and obese sedentary postmenopausal women. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 32, p. 297–301, 2007. PMID: 17486172

KARELIS, A.D. et al. Validation of a portable bioelectrical impedance analyzer for the assessment of body composition. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 38, n. 1, p. 27–32, 2013. doi: 10.1139/apnm-2012-0129 PMID: 23368825

LABRUNA, G. et al. High leptin/adiponectin ratio and serum triglycerides are associated with an “at-risk” phenotype in young severely obese patients. **Obesity (Silver Spring)**, v. 19, n. 7, p. 1492–6, 2011.

LAFORTUNA, C.L. Lower limb alactic anaerobic power output assessed with different techniques in morbid obesity. **J Endocrinol Invest**, v. 25, n. 2, p. 134–41, 2002. PMID: 11929084

LAFORTUNA, C.L. et al. Effect of mechanical and metabolic factors on motor function and fatigue in obese men and women: a cross-sectional study. **J Endocrinol Invest**. V. 36, n. 11, p. 1062-8, 2013. doi: 10.3275/9064

LEE, C.M. et al. Association of age-related mitochondrial abnormalities with skeletal muscle fiber atrophy. **Free Radic Biol Med**, v. 25, n. 8, p. 964–72, 1998. PMID: 9840742

LERNER, Z.F.; BOARD, W.J. BROWNING, R.C. Effects of obesity on lower extremity muscle function during walking at two speeds. **Gait Posture**, v. 39, n. 3, p. 978-84, 2014. doi: 10.1016/j.gaitpost.2013.12.020

MACALUSO, A.; DE VITO, G. Muscle strength, power and adaptations to resistance training in older people. **Eur J Appl Physiol**, v. 91, p. 450–72, 2004. PMID: 14639481

MAFFIULETTI, N. et al. Differences in quadriceps muscle strength and fatigue between lean and obese subjects. **Eur J Appl Physiol**, v. 101, p. 51–9, 2007. PMID: 17476522

MAFFIULETTI, N. et al. Quadriceps muscle function characteristics in severely obese and nonobese adolescents. **Eur J Appl Physiol**, v. 103, p. 481–4, 2008. doi: 10.1007/s00421-008-0737-3 PMID: 18389275

MARCUS, R.L. et al. Intramuscular adipose tissue, sarcopenia, and mobility function in older individuals. **J Aging Res**, 2012:629637. doi: 10.1155/2012/629637

MESSIER, V. et al. Association of cardiorespiratory fitness with insulin sensitivity in overweight and obese postmenopausal women: a Montreal Ottawa New Emerging Team study. **Metabolism**, v. 57, n. 9, p. 1293–8, 2008. doi: 10.1016/j.metabol.2008.04.026 PMID: 18702957

MESSIER, V. et al. Identifying metabolically healthy but obese individuals in sedentary postmenopausal women. **Obesity (Silver Spring)**, v. 18, p. 911–7, 2010.

NEVES, C.D.C. et al. Cardiorespiratory responses and prediction of peak oxygen uptake during the shuttle walking test in healthy sedentary adult men. **PLoS One**, 10(2):e0117563, 2015. doi: 10.1371/journal.pone.0117563

OLSEN, G.N. et al. Stair climbing as an exercise test to predict the postoperative complications of lung resection. Two years' experience. **Chest**, v. 99, p. 587–90, 1991. PMID:1995212

PAOLILLO, F.R. et al. Effects of excess body mass on strength and fatigability of quadriceps in postmenopausal women. **Menopause J North Am Menopause Soc**, v. 19, n. 5, p. 556–61, 2012

PEREIRA, C.A.C.; SATO, T.; RODRIGUES, S.C. Espirometria. **J Pneumol**, v. 28, n. 3, p. S1–S82, 2007.

PETRELLA, R.J. et al. A self-paced step test to predict aerobic fitness in older adults in the primary care clinic. **J Am Geriatr Soc**, v. 49, n. 5, p. 632–8, 2001. PMID: 11380757

QUINART, S. et al. Evaluation of cardiorespiratory fitness using three field tests in obese adolescents: validity, sensitivity and prediction of peak VO₂. **J Sci Med Sport**, v. 17, n. 5, p. 521–5, 2014. doi: 10.1016/j.jsams.2013.07.010 PMID: 23948247

ROLLAND, Y. et al. Muscle strength in obese elderly women: Effect of recreational physical activity in a cross-sectional study. **Am J Clin Nutr**, v. 79, p. 552–7, 2004. PMID: 15051596

ROLLAND, Y. et al. Difficulties with physical function associated with obesity, sarcopenia, and sarcopenic-obesity in community-dwelling elderly women: the

EPIDOS (EPIDemiologie de l' OSteoporose) Study. **Am J Clin Nutr**, v. 89, p. 1895–900, 2009. doi: 10.3945/ajcn.2008.26950 PMID: 19369381

ROSDAHL, H. et al. Evaluation of the Oxycon Mobile metabolic system against the Douglas bag method. **Eur J Appl Physiol**, v. 109, p. 159–171, 2010. doi: 10.1007/s00421-009-1326-9 PMID: 20043228

SICONOLFI, S.F. et al. A simple, valid step test for estimating maximal oxygen uptake in epidemiologic studies. **Am J Epidemiol**, v. 121, n. 3, p. 382–90, 1985. PMID: 4014128

World Health Organization (WHO). Waist Circumference and Waist-Hip Ratio. Report of a World Health Organization Expert Consultation. Geneva, 2008. Disponível em: http://www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO_report_waistcircumference_and_waisthip_ratio/en/.

WEBER, J.C.; LAMB, D.R. Statistics and Research in Physical Education. CV Mosby. St Louis, MO; 1970.

ESTUDO II

Resumo do estudo II submetido ao periódico *European Journal of Physical and Rehabilitation Medicine*

Metabolically healthy obesity and its influence on cardiorespiratory responses to exercise and cardiac autonomic modulation: a cross-sectional study

Abstract

Background: Obesity is often associated with physical disability and an increased risk of developing cardiometabolic diseases and mortality. However, it seems that some obese individuals are more likely to develop these health risk factors than those considered metabolically healthy obese (MHO), however, it is unknown whether the unhealthy phenotype (Metabolic Syndrome, MetS) impairs complex cardiovascular and respiratory responses to exercise of obese adults. Functional submaximal tests are useful and easily executable to evaluate exercise limitations. **Aim:** To verify the influence of MetS on cardiac autonomic modulation (CAM) and cardiorespiratory responses and their relationship with systemic inflammation and insulin resistance (IR). **Study design:** Cross-sectional study. **Settings:** The study was performed at the Physiotherapy Department and enrolled individuals from the community. **Population:** Sixty-six subjects (20-45y) were evaluated: normal-weight (NW, n=24), metabolically healthy (MHO, n=19) and unhealthy (MUHO, n=23) obese adults ($BMI \geq 30 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$). The MUHO group comprised those individuals who met the criteria for MetS (NCEP/ATPIII). **Methods:** A clinical evaluation, body composition and blood profile analysis. HRV was analyzed by linear and nonlinear indices at rest and during the six-minute walking test (6MWT) and the six-minute step test (6MST). Oxygen uptake (VO_2) and ventilatory variables were also obtained. **Results:** MUHO had a higher IR and a worse lipid profile. Both MHO and MUHO had higher peak blood pressure and lower VO_2 , respiratory reserve and performance than NW. However, MUHO demonstrated lower parasympathetic modulation (lowest meanRRi, RMSSD, pNN50 and SD1) at rest; lower overall HRV and complexity (SDNN and DFA α 1) in the 6MWT; and lower linearity and overall HRV Shannon entropy and STDHR) during the 6MST. Associations were found between inflammatory markers IL-10 and TNF- α -but not IL-

6- and HRV as well as between IR and VO_2 ($p < 0.05$). **Conclusion:** Obesity per se impairs cardiorespiratory responses to exercise. However, individuals with obesity and MetS present reduced parasympathetic modulation at rest and altered CAM complexity in response to exercise. Inflammatory markers and IR are related to HRV and aerobic capacity. **Clinical rehabilitation impact:** CAM is a potentially worthy target for interventional studies aiming at implementing physical interventions to improve metabolic health of adults with obesity in clinical settings. **Keywords:** Adipokines, Cytokines, Obesity, Metabolism, Functional test, autonomic, inflammation.

ESTUDO II

**A INFLUÊNCIA DA SÍNDROME METABÓLICA NA MODULAÇÃO AUTONÔMICA
E APTIDÃO CARDIORRESPIRATÓRIA EM RESPOSTA AO EXERCÍCIO EM
ADULTOS OBESOS**

Artigo submetido ao periódico *European Journal of Physical and Rehabilitation
Medicine*

Versão em português com acréscimo de conteúdo e ilustração

Resumo

Introdução: A obesidade está frequentemente associada ao desenvolvimento de incapacidades físicas e a um risco aumentado de desenvolvimento de doenças cardio-metabólicas e mortalidade. Entretanto, uma subpopulação considerada “obesa metabolicamente saudável” parece estar menos propensa ao desenvolvimento desses fatores de risco. **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi verificar a influência da síndrome metabólica (SM) na modulação autonômica cardíaca (MAC) e nas respostas cardiorrespiratórias ao exercício submáximo bem como a associação destes desfechos com a inflamação sistêmica de baixa intensidade associada à obesidade e a resistência insulínica (RI). **Métodos:** Sessenta e seis jovens adultos (20-45 anos) foram avaliados e divididos nos seguintes grupos: eutróficos saudáveis (GE, n=24), obesos metabolicamente saudáveis (GOS, n=19) e não saudáveis (GONS, n=23) ($IMC > 30 \text{ kg.m}^{-2}$), sendo que o último foi classificado de acordo com a presença da SM pelo critério NCEP/ATPIII, previamente estabelecido na literatura. Avaliações clínicas, de composição corporal e perfil sanguíneo foram realizados. A variabilidade da frequência cardíaca (VFC) foi analisada por métodos lineares e não lineares em repouso e durante os testes funcionais de caminhada de seis minutos (TC6) e de degrau de seis minutos (TD6). O consumo de oxigênio (VO_2) e variáveis ventilatórias foram obtidos durante os testes de exercício. **Resultados:** Na comparação inter-grupo, GONS demonstrou um pior perfil glicêmico-insulínico (glicemia e insulinemia de jejum, HOMA-IR e QUICKI) e lipídico (HDL-c, VLDL-c, TGL). Ambos GOS e GONS apresentaram maiores médias de pressão arterial pico e menores VO_2 , reserva respiratória (RR) e desempenho do que GE. No entanto, GONS obteve menores médias de iRR, RMSSD, pNN50 e SD1 no repouso; SDNN e DFA α 1 no TC6; STDHR e ShanEn no TD6. Associações significativas foram encontradas entre os marcadores inflamatórios IL-10 e TNF- α , porém não IL-6, e índices da VFC. A RI e VO_2 estiveram significativa e negativamente associados ($p < 0.05$). **Conclusão:** A obesidade influencia negativamente as respostas cardiorrespiratórias ao exercício (menor capacidades aeróbia e ventilatória assim como resposta pressórica exacerbada ao exercício). Adultos obesos com SM apresentam reduzida VFC total e modulação parassimpática em repouso e alterada complexidade da VFC durante o exercício. Finalmente, a inflamação sistêmica relacionada à obesidade e a RI estão associadas à MAC e à máxima capacidade aeróbica. **Palavras-chave:** Adipocinas, Citocinas, Obesidade, Metabolismo, Capacidade Funcional, Modulação autonômica, Inflamação.

Introdução

A obesidade e o estilo de vida sedentário contribuem para um aumentado risco metabólico e de doenças cardiovasculares aumentando, dessa forma, o risco de mortalidade precoce (Rana *et al.*, 2007). Entretanto, evidências recentes sugerem que nem todos os indivíduos obesos estão propensos ao desenvolvimento de comorbidades cardiometabólicas. Alguns indivíduos parecem apresentar, apesar da excessiva quantidade de gordura corporal, um perfil metabólico favorável e uma menor probabilidade de desenvolvimento de doenças crônicas de natureza metabólica ou cardiovascular do que a esperada para esta população. Neste contexto, nas últimas décadas, o termo “fenótipo do obeso metabolicamente saudável” foi cunhado para se referir a esta população, o que continua a suscitar iniciativas para a investigação dos prováveis mecanismos envolvidos neste fenótipo (Phillips, 2013; Muñoz-Garach *et al.*, 2016). Este pode ser comparado ao também previamente sugerido termo “paradoxo da obesidade”, que diz respeito a uma inversa e paradoxal associação entre a obesidade e a mortalidade, provavelmente influenciada pela aptidão cardiorrespiratória (ACR) do indivíduo obeso, dentre outros fatores como os de ordem genética (Hainer e Aldhoon-Hainerová, 2013).

Apesar de ainda controverso, a maioria dos estudos indica a síndrome metabólica (SM) como o principal determinante de um perfil metabólico não saudável, uma vez que é caracterizada pelo agrupamento de anormalidades metabólicas comuns ao desenvolvimento de doenças crônicas (Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program -NCEP Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults - Adult Treatment Panel III, 2001). Além disso, o fenótipo metabólico parece ser influenciado pela inflamação crônica de baixa intensidade e pela resistência insulínica (RI), ambas inicialmente associadas à obesidade (Phillips, 2013). Supõe-se, portanto, que esses fatores poderiam afetar negativamente e, em maior magnitude, os ajustes cardíacos, ventilatórios e metabólicos de indivíduos obesos não saudáveis quando comparados àqueles “saudáveis”.

Há evidências na literatura que a modulação autonômica cardíaca (MAC) e a ACR estão independentemente associadas a desfechos negativos, incluindo a associação com o aumento do risco de morbimortalidade (Franklin e Mccullough, 2009; Wulsin *et al.*, 2015). Além disso, um estudo prévio demonstrou (Lee *et al.*, 2010)

que homens adultos obesos com boa ACR apresentaram perfil metabólico mais favorável do que suas contrapartes com baixa ACR, as quais demonstraram uma razão de chances de apresentar a SM – do inglês, *odds ratio* – de 4,6 em comparação com uma razão de 2,57 em indivíduos com boa ACR. Assim, um aumentado risco de mortalidade associado à SM pode ser explicada por uma inadequada ACR e/ou MAC, resultando em uma resposta cardiorrespiratória ao exercício também inapropriada.

A presença de fatores de risco metabólicos parecem causar uma atividade simpática exacerbada e/ou reduzida atividade parassimpática em condições de repouso, como já foi previamente explorado na literatura (Kimura *et al.*, 2006; Tentolouris *et al.*, 2008), porém não se conhece o comportamento de parâmetros mais complexos da variabilidade da frequência cardíaca (VFC), medida não invasiva de avaliação da MAC, em indivíduos obesos com e sem SM em resposta ao estresse induzido pelo exercício.

Neste sentido, a VFC tem se mostrado uma ferramenta interessante e de baixo custo para avaliação da MAC em populações saudáveis ou doentes, assim como para o acompanhamento da evolução após intervenções físicas e/ou cirúrgicas.

Um estudo longitudinal populacional (Felber Dietrich *et al.*, 2008) demonstrou ainda que indivíduos obesos que praticam regularmente atividade física têm expressiva melhora da MAC, contrapondo os efeitos deletérios da obesidade no risco cardiovascular.

Por outro lado, pelo fato de o teste máximo de exercício cardiopulmonar (TECP) não estar acessível na maioria dos centros clínicos de reabilitação ou de atividade física, os testes submáximos de campo tem ganhado destaque para fins de avaliação da ACR e das limitações fisiológicas ao exercício, por mimetizarem atividades funcionais de vida diária (Carvalho *et al.*, 2015; Di Thommazo-Luporini *et al.*, 2015ab) e promoverem condições mais estáveis de avaliação da MAC pela VFC.

Dito isso, nosso objetivo foi de investigar a influência da SM em adultos obesos na MAC e nas respostas cardiorrespiratórias ao exercício, bem como a associação destes desfechos com a inflamação sistêmica e a RI. Nossa hipótese é de que a SM afeta tanto a MAC quanto a ACR e de que a inflamação sistêmica e a RI estão associadas em certo grau à MAC e à ACR.

Materiais e Métodos

Desenho experimental e população do estudo

Este estudo, de natureza transversal e observacional, foi realizado no Departamento de Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos e incluiu homens e mulheres de 20 a 45 anos recrutados da comunidade de abril de 2013 a julho de 2015, via divulgação social (televisão, rádio, panfletos e comunicação com médicos e nutricionistas da cidade de São Carlos) que foram alocados nos seguintes grupos: eutróficos saudáveis (GE, n=24), obesos metabolicamente saudáveis (GOS, n=19) e obesos metabolicamente não saudáveis (GONS, n=23) segundo o índice de massa corpórea (IMC) ($GE \leq 25 \text{ kg.m}^{-2}$ e $GOS/ GONS \geq 30 \text{ kg.m}^{-2}$) e, em segundo momento, de acordo com o perfil metabólico, sendo que os indivíduos com diagnóstico clínico de SM foram alocados no grupo GONS de acordo com um critério previamente estabelecido da *National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III (NCEP-ATP III)*. Todos os testes foram realizados em quatro dias não consecutivos, separados por um intervalo mínimo de 48 horas.

Os critérios de inclusão contemplavam os seguintes itens: massa corporal estável por pelo menos seis meses ($\pm 2 \text{ kg}$) por auto-relato do participante; realização de atividade física estruturada por menos de 150 minutos semanais; não estar gestante ou em menopausa prematura; não ter sido submetido a cirurgias ginecológicas e/ou ortopédicas; não tabagista ou etilista; não fazer uso contínuo de medicamentos que influenciassem a MAC; não ter nenhuma doença crônica; e não ter déficit cognitivo, subjetivamente avaliado pelo pesquisador, que influenciassem a habilidade de execução das avaliações propostas para este estudo. Os critérios de exclusão foram: dificuldade de compreensão dos protocolos experimentais ou intolerância à abstinência de estimulantes, tais como derivados de café e chocolate, durante as 24 horas que antecederiam as avaliações.

A pesquisa foi conduzida após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de São Carlos (CEP-UFSCar/protocolo N.326.607) (ANEXO I) e todos os voluntários consentiram e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO II).

Avaliações clínicas

O primeiro dia de avaliação incluiu a coleta do histórico da moléstia atual e pregressa bem como antecedentes familiares; aplicação do questionário de Baecke, validado para a população brasileira (Garcia *et al.*, 2013); medidas de distribuição e composição corporal bem como as medidas antropométricas usuais: estatura e massa corporal (MC) por meio do estadiômetro e balança Welmy 104-A (Brasil), circunferência abdominal por meio de uma fita métrica e massa gorda (MG, em %) por meio de bioimpedância tetrapolar (Modelo BC-558, Ironmann/Tanita Corporation, Japão). As mulheres, especificamente, foram avaliadas, de forma padronizada, no período folicular do ciclo menstrual (dias 1 a 14 a contar do primeiro dia de menstruação) para evitar o viés causado pelos efeitos hormonais. Por meio de contato telefônico realizado rotineiramente, as mesmas foram orientadas a comunicar os avaliadores quando do início deste período do ciclo menstrual para agendamento da avaliação de composição corporal. Além disso, os voluntários deveriam ser submetidos à avaliação em jejum de, no mínimo, quatro horas.

As medidas basais de pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD) foram mensuradas após o indivíduo estar em repouso sentado por ao menos cinco minutos.

A função pulmonar foi investigada por espirometria (Oxycon Mobile®, Mijnhardt/Jäger, Alemanha) segundo as recomendações da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia (Pereira, 1996) para assegurarmos que somente indivíduos com função pulmonar normal fossem incluídos, segundo os critérios estabelecidos para esta população. A manobra forçada para determinação do volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF₁) e capacidade vital forçada (CVF); manobra lenta para determinação da capacidade inspiratória, assim como a manobra de ventilação voluntária máxima (VVM) para obtenção da reserva respiratória (RR) durante os testes de exercício, foram realizadas.

Perfil metabólico e inflamatório

Para a análise do perfil glicêmico-insulínico e lipídico, o indivíduo foi orientado a realizar jejum de 12 a 14 horas, sendo que a coleta ocorreu no período das 7h00 às 8h30 horas da manhã, a fim de evitar possíveis variações decorrentes do ritmo circadiano e ingesta alimentar. Os voluntários foram intruídos a manter seus hábitos

alimentares usuais e não comparecerem ao exame com qualquer processo inflamatório ou infeccioso vigente.

O sangue foi coletado da veia antecubital do membro superior e reservado em tubos secos a vácuo com EDTA estéreis. Os níveis de glicemia e insulinemia de jejum, bem como os índices de RI (HOMA-IR) e sensibilidade insulínica (QUICKI) e o perfil lipídico (colesterol total, lipoproteína de alta densidade [HDL-c], lipoproteína de baixa densidade [LDL-c], lipoproteína de muito baixa densidade [VLDL-c]; e triglicerídes [TGL]) foram quantificados pelos métodos química úmida – ADVIA 1800 e quimioluminescência para perfil glicêmico-insulínico e método química úmida ABBOTT para perfil lipídico.

As amostras sanguíneas destinadas à análise de marcadores inflamatórios permaneceram por 30 minutos à temperatura ambiente para o processo de coagulação e foram, por conseguinte, centrifugadas a 1000x g por 15 minutos e, em seguida, armazenadas em freezer a -80°C (Serocito, Modelo 2400, FANEM, Brasil).

As concentrações séricas de adiponectina (ADP), leptina (LP), Fator de necrose tumoral- α (TNF- α), e miostatina (MSTN) foram mensuradas em duplicata por meio do método ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), usando kits de alta sensibilidade (Quantikine®HS, R&D Systems, Mineapolis, USA) segundo as recomendações do fabricante. Os níveis séricos das interleucinas 6 (IL-6) e 10 (IL-10) foram analisadas em duplicata [ELISA MAX™ Standard Set (BioLegend, USA)] somente para 39 sujeitos do estudo, distribuídos igualmente entre os grupos (13 indivíduos em cada grupo). As concentrações de LP, TNF- α , IL-6, IL-10 (pg/ml) e ADP (ng/ml) foram determinadas por interpolação da curva padrão obtida para cada uma das placas a partir da curva padrão fornecida pelo fabricante, sendo que foi considerado apropriado um $r^2 \geq 0,90$ para cada curva de regressão. A equação gerada para cada biomarcador foi utilizada para transformação dos valores de absorbância (eixo x) das amostras em valores de concentração sérica no plasma (eixo y).

Protocolos dos testes de exercício

Para os testes de exercício, os voluntários foram instruídos a abster-se de bebidas alcólicas e/ou alimentos, bebidas e medicamentos estimulantes e não realizar atividades físicas de moderada a vigorosa intensidade nas 48 horas que antecediam

os dias dos testes e, finalmente, a não comparecer nos testes de exercício em jejum de mais de três horas e/ou em vigência de processo inflamatório ou infeccioso.

As medidas de PAS, PAD e frequência cardíaca (FC) durante e no pico dos testes foram obtidas, sendo que a última foi captada batimento a batimento (Polar S810i, Finlândia) para posterior análise da VFC. A cinta do cardiofrequencímetro foi fixada no tórax do paciente e os sinais continuamente transmitidos para a unidade receptora (relógio de pulso) via campo eletromagnético para posterior transferência para base de dados interna do computador.

Foram registrados, respiração a respiração, os valores de ventilação-minuto (V_E), consumo de oxigênio (VO_2) e produção de dióxido de carbono pico (VCO_2), dentre outros, pelo ergoespirômetro portátil *Oxycon Mobile*® (Mijnhardt/Jäger, Alemanha) durante a aplicação dos testes de exercício. Os valores de pico foram determinados como sendo o valor mais alto nos últimos 30 segundos de teste, sendo que o sinal foi obtido por alisamento a partir da média a cada 15 segundos dos dados originais gerados respiração a respiração.

O teste de exercício cardiopulmonar máximo (TECP), por sua vez, foi conduzido em esteira ergométrica utilizando o protocolo incremental de Bruce, de velocidade e inclinação progressivas a cada 3 minutos, iniciado a $2,7 \text{ km.h}^{-1}$ e 10% de inclinação (Di Thommazo-Luporini *et al.*, 2015a).

Durante o teste de caminhada de seis minutos (TC6) e o teste de degrau de seis minutos (TD6), ambos auto cadenciados, os voluntários recebiam um comando verbal de incentivo padronizado em cada minuto dos testes de acordo com as recomendações da *American Thoracic Society/ American College of Chest Physicians* (Crapo *et al.*, 2002) para o TC6. Os sujeitos foram encorajados a caminhar a maior distância possível (TC6) e subir e descer um degrau único de 15 centímetro de altura o maior número de vezes (TD6) durante um intervalo de tempo de seis minutos, sendo permitido diminuir o ritmo e, até mesmo interromper o teste caso fosse necessário. A distância e o número de degraus por minutos foram monitorados a fim de verificar o padrão, constante ou inconstante, dos testes funcionais em análise posterior.

Modulação Autonômica Cardíaca

O trecho mais estável do tacograma contendo 300 intervalos RR (iRR) consecutivos, livre de ruídos e oscilações identificadas por inspeção visual, foi

considerado para análise de repouso e durante os testes submáximos TC6 e TD6. Para a análise em ambos os testes, a porção mais estável, que coincide com os minutos finais do exercício, foram selecionados para análise. Para determinação do intervalo de tempo contendo 300 iRR consecutivos, considerou-se a fórmula: $300 \times 60 / \text{média de frequência cardíaca de todo o exercício} = \text{trecho de análise (em segundos)}$.

A análise da VFC foi analisada (Kubios HRV®, versão 2.2, MATLAB, Finlândia) por modelos matemáticos e estatísticos lineares, isto é, no domínio do tempo e da frequência bem como os índices geométricos. No domínio do tempo, foram analisadas a média (meanHR) e desvio padrão (STDHR) da FC e dos iR-R (meanRR); SDNN (desvio-padrão de todos os iR-R normais, em ms), índice estimativo da VFC global; RMSSD (raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre os iR-R sucessivos, em ms) e pNN50 (percentual de iRR normais que diferem mais que 50 milissegundos de seu subjacente, em porcentagem), representativos da atividade parassimpática; RRtri (índice triangular) e TINN (interpolação triangular dos intervalos RR), também representativos da VFC global.

No domínio da frequência, os componentes do espectro de potência foram analisados, utilizando-se a transformada rápida de *Fourier*, em componentes de baixa frequência (LF), representativo da atividade predominantemente simpática; alta frequência (HF), representativo da atividade parassimpática; e razão LF/HF, representativo do balanço simpátovagal, todos em unidades normalizadas (Vanderlei *et al.*, 2009).

Quanto aos índices não lineares, foram obtidas as variáveis a partir da análise quantitativa do *plot de Poincaré*, no qual é ajustada uma elipse gráfico, centralizada de acordo com a média dos intervalos RR. Foram calculados os índices SD1 (desvio-padrão das distâncias dos pontos à diagonal $y = x$) e SD2 (desvio-padrão das distâncias dos pontos à reta $y = -x + \text{RRm}$, onde RRm é a média dos iRR). O SD1 é considerado um índice de registro instantâneo da variabilidade batimento-a-batimento e representa a atividade parassimpática, enquanto que o índice SD2 representa a variabilidade global propriamente dita, sobretudo em registros de longa duração (Vanderlei *et al.*, 2009). Além disso, foi utilizada a análise de flutuação depurada de tendência para obtenção dos expoentes fractais de curto (DFA- α 1) e longo (DFA- α 2)

prazos. Este método quantifica a ausência ou presença de propriedade de correlação fractal dos intervalos RR e é utilizado para quantificar sutis mudanças na dinâmica da VFC. Essa medida está associada a mudanças na característica espectral do comportamento da FC. Valores próximos a 1,0 indicam comportamento caótico, enquanto valores tendendo a 1,5, correspondem à linearidade e a 0,5, à aleatoriedade da VFC (Makikallio *et al.*, 2001; Godoy, 2016). Finalmente, a entropia de Shannon (ShanEn) representa uma medida não linear de complexidade da VFC, sendo que valores mais elevados de ShanEn indicam aumento da linearidade da resposta autonômica e, contrariamente, valores mais baixos representam uma resposta menos linear da VFC (Godoy, 2016).

A Figura 1 demonstra o padrão das variáveis ergoespirométricas durante os testes funcionais (TC6 e TD6) em contraste com o sinal obtido pela análise da VFC durante os mesmos.

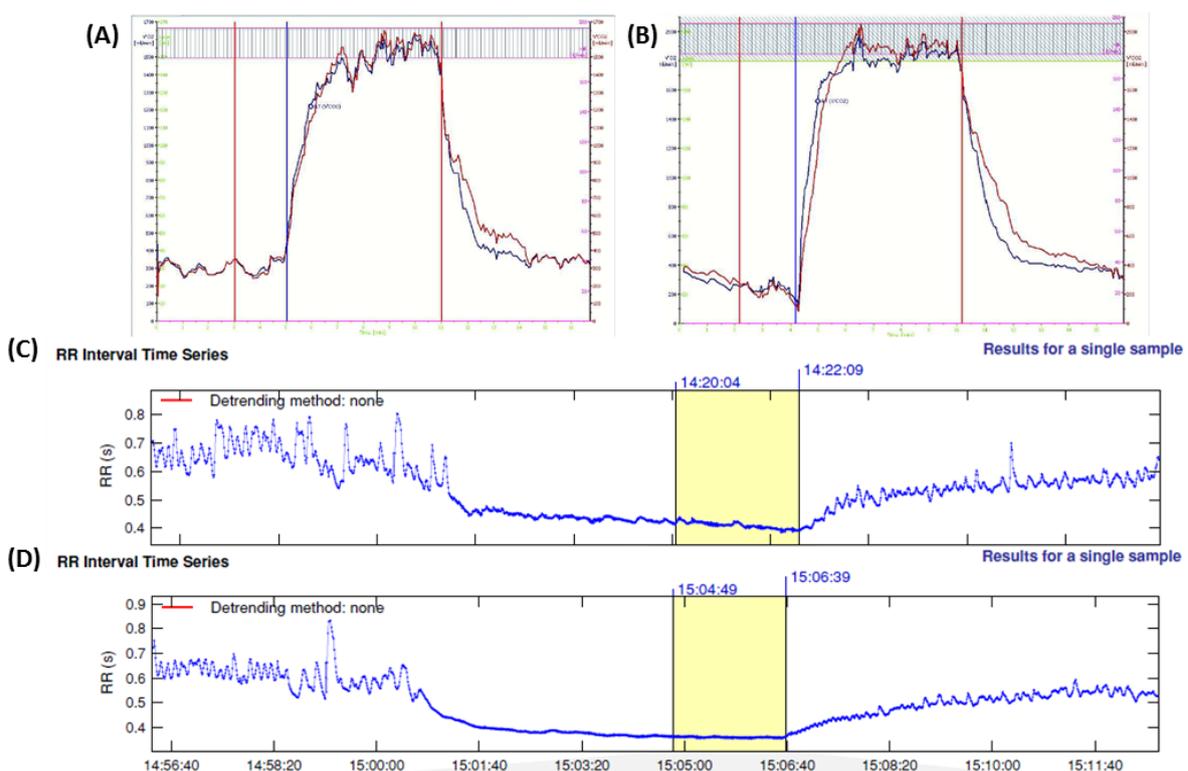


Figura 1. Ilustração da análise das variáveis ergoespirométricas de consumo de oxigênio (VO₂) (em vermelho) e produção de dióxido de carbono (VCO₂) (em azul) durante o teste de caminhada de seis minutos (TC6) (A) e durante o teste de degrau de seis minutos (TD6) (B) e seus respectivos sinais da análise de variabilidade da frequência cardíaca no TC6 (C) e no TD6 (D) de um voluntário eutrófico (homem).

Análise estatística

Uma análise de covariância (ANCOVA) foi utilizada para comparações intergrupo e intragrupo. Para os dados que não respeitaram os pressupostos de normalidade da distribuição (teste de *Kolmogorov-Smirnov*) e homogeneidade das variâncias (teste de *Levene*), o teste para dados não paramétricos *Kruskall-Wallis* com *posthoc* de *Mann-Whitney* foram utilizados (SPSS Statistics, Versão 17.0, EUA). Os dados foram apresentados em média±desvio padrão e o nível de significância para um teste bicaudal foi estabelecido em 0,05.

A análise estatística para correlação avaliou o grau de associação entre variáveis-desfecho por meio do teste de correlação parcial, considerando o sexo e/ou IMC como as variáveis a serem controladas. Os valores de *r* foram interpretados usando as seguintes diretrizes: 0,00 a 0,19 = nenhum a muito baixo, 0,20 a 0,39 = baixo, 0,40 a 0,69 = moderado, 0,70 a 0,89 = alto e 0,90 a 1,00 = muito alto (Weber e Lamb, 1970).

A análise do poder da amostra foi realizada por meio do pacote estatístico *GPower* (Versão 3.1.3; Alemanha) considerando uma análise de covariância com erro do tipo I de 5% tamanho do efeito de 0,5, número de grupos (três) e covariáveis (uma) para uma análise do tipo *post hoc*. O poder da amostra obtido foi de 93%.

Tivemos os seguintes valores faltantes ou discrepantes da amostra ao final das coletas: gordura corporal (1) e circunferência abdominal (6); VO_{2pico} (1), FC_{pico} (1) e desempenho no TD6 (1); PAS e PAD no pico do TECP (1); índice HOMA-IR (2); escore no questionário de atividade física (1); ADP sérica (1), LP (5) e TNF- α (5); VFC em repouso (3), no TC6 (3) e no TD6 (2). Todos eles foram tratados como valores faltantes, não tendo sido substituídos pela média do grupo, tanto para a análise de comparação quando para a análise de correlação.

Resultados

Características da amostra

A Figura 2 ilustra o processo de recrutamento, perda amostral e suas razões bem como a amostra final e alocação dos grupos. Todos os participantes apresentaram nível de atividade física, idade e função pulmonar semelhantes e dentro

do intervalo de normalidade ($p > 0,05$). Ambos GOS e GONS apresentaram semelhantes IMC, MG, PAS e PAD basais e circunferência abdominal. Em contraste, GONS apresentou menores médias de HDL-c e QUICKI e maiores de VLDL-c, TGL, glicemia, insulinemia e HOMA-IR quando comparado a GOS. Apesar de não ter sido estatisticamente significativa, as médias de LP e LP/ADP tenderam a ser maiores e de IL-10 menores em GONS do que em GOS. A razão LP/ADP em ambos o grupos com obesidade diferiram da observada em GE. Nenhuma diferença foi observada entre as médias de ADP, TNF- α e IL-6 entre os grupos (Tabela 1).

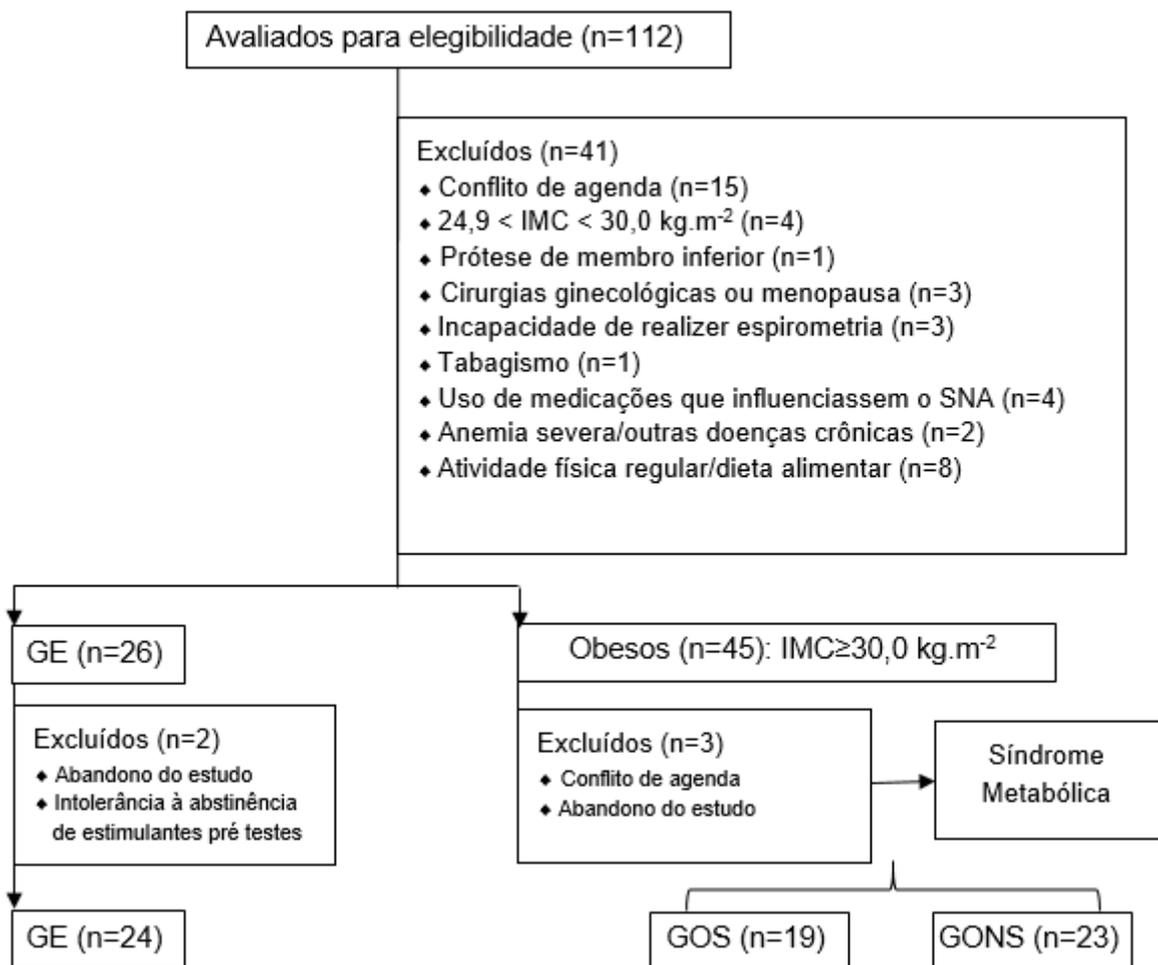


Figura 2. Fluxograma representando o recrutamento, avaliação e perda amostral e suas causas.

Tabela 1. Características amostrais

Características gerais	GE (n=24;12M/12H)	GOS (n=19; 11M/8H)	GONS (n=23;13M/10H)
Idade (anos)	32±5	33±6	36±5
IMC(kg.m ⁻²)	22,7±2,5	42,2±6,8 ^a	39,6±6,2 ^b
MG (%)	23,7±6,9	41,6±5,8 ^a	40,9±9,3 ^b
Circunferência abdominal (cm)	77±3	116±3 ^a	112±3 ^b
Nível de AF (escore absoluto)	6,0±1,7	6,2±1,6	6,1±1,3
VEF ₁ /CVF	0,82±0,06	0,84±0,05	0,82±0,06
Perfil metabólico e inflamatório			
PAS (mmHg)	113±10	125±10 ^a	125±12 ^b
PAD (mmHg)	75±6	84±6 ^a	83±10 ^b
Colesterol total (mg/dL)	187±34	191±28	205±43
HDL-c (mg/dL)	51±10	47±9	39±6 ^{bc}
LDL-c (mg/dL)	117±30	123±23	126±34
VLDL-c (mg/dL)	18±6	22±8	36±22 ^{bc}
TGL (mg/dL)	92±29	108±41	214±190 ^{bc}
Glicemia (mg/dL)	91,3±7,6	90,2±9,6	100,0±13,9 ^{bc}
Insulinemia (mU/L)	6,4±1,6	13,0±6,3 ^a	19,7±9,6 ^{bc}
QUICKI	0,36±0,02	0,33±0,03 ^a	0,31±0,02 ^{bc}
HOMA-IR	1,47±0,36	2,93±1,48 ^a	5,08±3,37 ^{bc}
LP (pg/mL)	487,5±319,3	971,3±451,2	1205,3±448,9
ADP (ng/mL)	570,8±217,4	473,8±173,7	523,2±173,2
LP/ADP (pg/ng)	0,88±0,40	2,02±0,35 ^a	2,30±0,50 ^b
TNF-α (pg/mL)	28,7±9,0	29,7±7,1	24,0±9,9
IL-6 (pg/mL)	58,7±68,1	40,0±37,5	46,5±55,1
IL-10 (pg/mL)	227,1±517,2	211,3±234,5	175,2±227,1

ANCOVA(covariável sexo) com *post hoc* de Bonferroni ou Kruskal-Wallis/Mann Whitney com ajuste de Bonferroni ($\alpha=0,05/3$, $p<0,02$). ^a GOS vs GE; ^b GONS vs GE; ^c GONS vs GOS. IMC, índice de massa corpórea; MG, massa gorda; AF, atividade física; VEF₁/CVF, razão volume expiratório forçado no primeiro segundo pela capacidade vital forçada; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diaistólica; HDL-c, lipoproteína de alta densidade; LDL-c, lipoproteína de baixa densidade; VLDL, lipoproteína de muito baixa densidade; TGL, triglicérides; QUICKI, índice de sensibilidade à insulina; HOMA-IR, índice de resistência à insulina; LP, leptina; ADP, adiponectina; TNF-α, fator de necrose tumoral α; IL, interleucina.

Respostas cardiorrespiratórias ao exercício

A Tabela 2 demonstra que não houve diferença entre GOS e GONS, mas entre estes e GE, para todas as variáveis ventilatórias e metabólicas. A resposta metabólica (VO_2 no pico do exercício) foi equivalente para ambos os testes funcionais e menores em GOS e GONS do que em GE. Entretanto, para o VO_2 em porcentagem do atingido no TECP bem como o $V_E/VCO_{2\text{pico}}$, nenhuma diferença intergrupo ou intragrupo foi encontrada. A resposta pressórica também foi mais exacerbada para ambos os grupos obesos do que em GE.

Finalmente, a RR no pico do exercício foi similar para ambos os testes funcionais, independentemente do grupo, e menor para GOS e GONS do que para GE.

Maiores médias de FC_{pico} e porcentagem da máxima (TECP) foram observadas para o TD6 em todos os grupos.

Tabela 2. Variáveis cardiovasculares, metabólicas e ventilatórias no pico dos testes máximo e submáximos.

	GE (n=24;12M/12H)			GOS (n=19;11M/8H)			GONS (n=23;13M/10H)		
	TECP	TC6	TD6	TECP	TC6	TD6	TECP	TC6	TD6
VO _{2pico} (mL.kg ⁻¹ .min ⁻¹)	31,8±5,5	21,4±4,9*	23,7±4,8 [#]	21,9±8,1 ^a	16,3±3,7 ^{a*}	17,3±3,9 ^{a#}	20,4±3,1 ^b	15,8±2,8 ^{b*}	16,9±3,3 ^{b#}
%VO _{2pico} TECP	-	69±16	75±11	-	76±11	81±11	-	77±11	84±20
FC _{pico} (bpm)	184±9	148±19*	158±20 [#]	183±9	145±18*	159±17 [#]	178±12	142±16*	157±17 [#]
%FC _{pico} TECP	-	81±10	86±11 [§]	-	79±9	87±8 [§]	-	80±8	88±8 [§]
RR, (1-[V _E /V _{VM}])*100 (%)	37,4±14,9	66,8±10,2*	63,7±10,9 [#]	31,1±9,6	57,3±10,7 ^{a*}	51,4±15,5 ^{a#}	34,2±15,5	55,5±8,9 ^{b*}	50,5±12,0 ^{b#}
V _E /VCO _{2pico}	32,8±5,9	30,9±4,4	31,3±3,9	30,3±4,2	30,1±3,4	30,9±4,8	30,7±4,9	31,5±4,1	31,9±6,1
PAS (mmHg)	162±25	142±18*	147±15 [#]	186±32 ^a	167±28 ^a	173±37 ^a	188±34 ^b	155±22*	171±31 ^b
PAD (mmHg)	77±11	73±9	69±12 [#]	88±11 ^a	84±9 ^a	82±14 ^a	93±20 ^b	83±13 ^b	78±11 ^{b#}
Desempenho	-	675,0±77,5	191±23	-	574,4±91,4 ^a	158±20 ^a	-	588,3±108,2 ^b	152±22 ^b

ANCOVA(covariável sexo) (*post hoc* de Bonferroni) ou teste de *Kruskal-Wallis* com *posthoc* de *Mann Whitney* com ajuste de Bonferroni ($\alpha=0,05/3$, $p<0,02$) para comparações intergrupo e intragrupo. Diferenças intergrupo: ^a GOS vs GE; ^b GONS vs GE; ^c GONS vs GOS, Diferenças intragrupo: * TC6 vs TECP; [#] TD6 vs TECP; [§] TD6 vs TC6. M, mulheres; H, homens; FC, frequência cardíaca; VO_{2pico}, pico de consumo de oxigênio relativo ao peso corpóreo; %VO_{2pico}, porcentagem do pico de consumo de oxigênio relativo ao peso corpóreo obtido no TECP, %FC_{pico}, porcentagem da FC pico obtida no TECP; RR, reserva respiratória; V_E/VCO₂, razão ventilação minuto pela produção de dióxido de carbono; V_{VM}, ventilação voluntária máxima; PAS_{pico}, pressão arterial sistólica no pico do exercício; PAD_{pico}, pressão arterial diastólica no pico do exercício. Desempenho em metros para o TC6 e em ciclos subida-descida de degraus para o TD6.

Modulação Autonômica Cardíaca

A Tabela 3 demonstra os índices de VFC na condição de repouso e durante ambos os testes submáximos para cada um dos grupos estudados. Em repouso, meanHR, meanRRi e SD1 diferiram entre GONS e GE, e RMSSD, NN50 and pNN50 entre GONS e GOS. Nenhuma diferença foi encontrada entre GOS e GE. A Figura 3 ilustra o padrão do *plot de Poincaré* (índices não lineares SD1 e SD2) no repouso para um voluntário, representativo de cada grupo, demonstrando uma progressiva redução de SD1 e da dispersão dos intervalos RR indicativos da variabilidade global no indivíduo do grupo GONS.

Durante o TC6, GONS obteve menor SDNN do que GOS e GE; TINN e DFA α 1 foram menores em GONS do que em GE, mas não diferente de GOS. Durante o TD6, STDHR foi menor em GONS do que em GOS e GE, e ShanEn menor em GONS do que em GOS. Também não foram encontradas diferenças entre GOS e GE em relação aos testes de exercício.

Comparações intragrupo confirmaram que o TD6 provocou maior estresse cardiovascular e autonômico do que o TC6, como pôde ser observado pelos maiores valores de meanHR e menores de SD1 para todos os grupos no TD6 em comparação com o TC6.

Especificamente para o grupo GONS, diferenças interteste demonstraram menores valores de SDNN, SD2, DFA α 1 e ShanEn durante o TD6 em comparação com o TC6 e a condição basal. Não houve diferenças intergrupo ou interteste nas variáveis obtidas pela análise da VFC no domínio da frequência.

É importante ressaltar que ambos os testes funcionais apresentaram um padrão de carga constante, dado que nenhum voluntário interrompeu os testes e todos apresentaram uma média de ciclos subida-descida de degrau (CSD) e distância percorrida por minuto constantes ao longo dos seis minutos de teste, reforçando a natureza constante e estacionária do sinal, requerida para uma apropriada análise da VFC.

Tabela 3. Índices de variabilidade da frequência cardíaca em repouso e durante os testes funcionais de degrau e de caminhada de seis minutos.

	GE (n=24;12M/12H)			GOS (n=19;12M/7H)			GONS (n=23; 14M/9H)		
Domínio do tempo	Repouso	TC6	TD6	Repouso	TC6	TD6	Repouso	TC6	TD6
Domínio do tempo									
MeanHR (1/min)	68,6±6,9	143±19*	155±17# ^{\$}	71,9±8,4	139±16*	154±16# ^{\$}	74,9±9,3 ^b	141±14*	154±15# ^{\$}
MeanRRi (ms)	886,4±98,8	427,3±58,2*	391,1±42,9# ^{\$}	847,0±95,1	436,5±52,0*	394,1±40,6# ^{\$}	813,8±93,2 ^b	433,3±37,3*	389,8±37,5# ^{\$}
SDNN (ms)	33,8±17,5	4,83±2,20*	3,06±1,36# ^{\$}	32,9±13,2	5,37±5,25*	3,00±0,83#	25,9±13,3	3,12±0,84 ^{bc*}	2,47±0,69# ^{\$}
STDHR (1/min)	3,15±1,43	1,66±0,47*	1,33±0,42# ^{\$}	3,10±0,86	1,46±0,40*	1,26±0,21#	2,79±0,97	1,17±0,26*	1,08±0,27 ^{bc#}
RMSSD (ms)	34,5±17,5	3,70±1,42*	3,22±1,07#	36,9±17,9	3,74±1,19*	3,35±0,95#	28,1±20,5 ^c	3,57±1,81*	2,86±0,68#
pNN50 (%)	11,1±12,3	-	-	17,8±16,5	-	-	6,1±7,2 ^c	-	-
Domínio da frequência									
LF (un)	51,4±1,00	76,2±16,4*	72,7±15,7#	52,6±12,9	77,4±13,6*	69,0±17,7#	53,5±18,6	75,8±13,2*	71,6±14,2#
HF (un)	48,3±20,3	23,7±16,3*	26,6±15,7#	47,1±13,0	25,1±17,1*	30,4±17,5#	46,3±18,5	24,0±13,2*	27,8±13,9#
LF/HF	1,47±1,10	4,02±3,41*	3,17±1,86#	1,28±0,63	4,14±3,26*	2,62±1,48#	1,57±1,21	4,47±2,80*	3,31±2,14#
Índices geométricos									
RRtri	8,84±4,00	1,84±0,47*	1,63±0,25#	8,66±2,99	1,81±0,49*	1,59±0,20# ^{\$}	7,34±3,40	1,69±0,22*	1,64±0,28#
TINN (ms)	176,7±81,0	24,6±11,1*	16,5±7,1# ^{\$}	176,8±73,1	22,5±11,1*	15,3±6,4# ^{\$}	139,3±65,9	16,3±6,9 ^{b*}	14,3±7,5#
Índices não lineares									
SD1 (ms)	24,4±12,4	2,88±1,59*	2,46±1,14#	26,1±12,7	2,65±0,85*	2,37±0,67#	17,2±7,8 ^b	2,53±1,28*	2,03±0,48#
SD2 (ms)	42,1±22,1	6,10±2,88*	3,98±2,55# ^{\$}	39,2±14,5	5,21±2,90*	3,42±1,29#	30,6±13,3	4,33±2,99*	2,82±0,96# ^{\$}
DFA α 1	1,00±0,23	1,08±0,34	0,77±0,29# ^{\$}	0,92±0,16	0,89±0,40	0,65±0,34#	1,04±0,28	0,83±0,23 ^{b*}	0,63±0,26# ^{\$}
DFA α 2	0,32±0,13	0,88±0,17*	0,87±0,20#	0,42±0,20	0,90±0,15*	0,84±0,22#	0,37±0,10	0,90±0,18*	0,89±0,17#
ShanEn	2,99±0,20	3,12±0,53	2,74±0,29# ^{\$}	2,90±0,23	2,98±0,55	2,87±0,36	3,01±0,18	2,88±0,46*	2,70±0,31# ^{\$}

ANCOVA (covariável sexo) (*post hoc* de Bonferroni) ou teste de *Kruskal-Wallis* com *posthoc* de *Mann Whitney* com ajuste de Bonferroni ($\alpha=0,05/3$, $p<0,02$) para comparações intergrupo e intragrupo. Diferenças intergrupo: ^a GOS vs GE; ^b GONS vs GE; ^c GONS vs GOS, Diferenças intragrupo: * TC6 vs repouso; # TD6 vs repouso; ^{\$} TD6 vs TC6. M, Mulheres; H, Homens; MeanHR, média de frequência cardíaca; MeanRRi, média de intervalos RR; SDNN, desvio padrão de todos os intervalos RR normais; STDHR, desvio padrão da frequência cardíaca; RMSSD, Raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre os iR-R sucessivos; pNN50, percentual de intervalos RR normais que diferem mais que 50 milissegundos de seu subjacente; componentes de baixa (LF) e alta frequência (HF) da análise espectral da VFC, em unidade normalizadas (un); RRtri, índice triangular; TINN, interpolação triangular dos intervalos RR; SD1, variabilidade instantânea batimento a batimento; SD2, Variabilidade contínua de longo prazo batimento a batimento; DFA, análise de flutuação depurada de tendência: componentes fractais de de curto (α 1) e longo (α 2) prazos; ShanEn, entropia de Shannon.

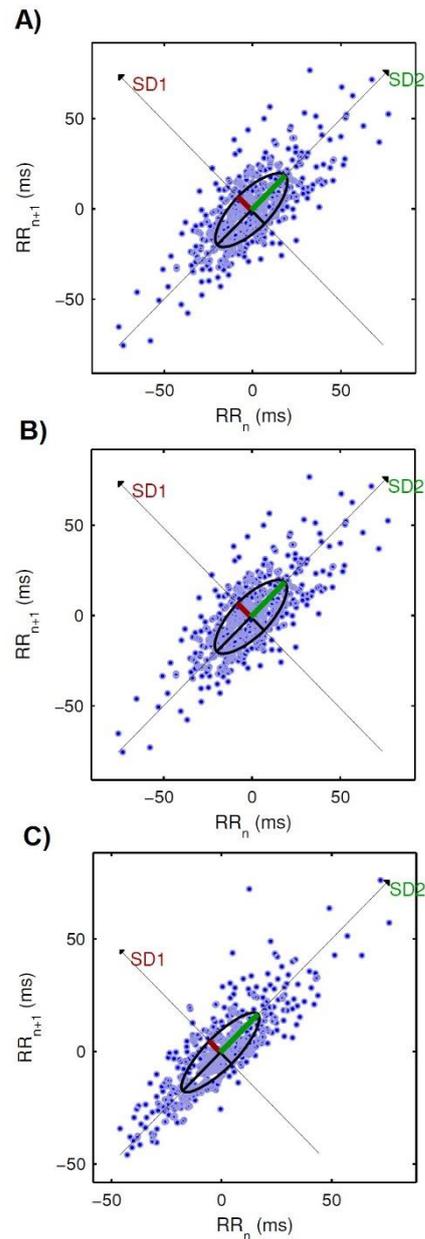


Figura 3. A ilustração demonstra uma progressiva redução dos índices não lineares SD1 e SD2, representados em vermelho e verde, respectivamente, e uma progressiva redução da dispersão dos pontos representando a variabilidade global da frequências cardíaca em uma (A) voluntária do grupo GE; (B) voluntária do grupo GOS; e (C) voluntária do grupo GONS (todas mulheres).

Associações entre síndrome metabólica, resistência insulínica e perfil inflamatório, aptidão cardiorrespiratória e modulação autonômica cardíaca

Correlações ajustadas pelo sexo e IMC não foram significativas para a associação entre número de critérios para a SM (n-SM) e $VO_{2\text{pico}}$, máximo ou

submáximos atingidos nos testes funcionais. Contrariamente, o perfil insulínico teve uma fraca associação apenas com ACR, i.e. o $VO_{2\text{pico}}$ atingido no TECP: QUICKI ($r=0,33$, $p=0,01$) e HOMA-IR ($r=-0,30$, $p=0,02$).

Correlações ajustadas pelo sexo demonstraram que n-SM correlacionou-se moderadamente com os índices da VFC durante o TD6: SD2 ($r=-0,45$, $p=0,05$), DFA α 1 ($r=-0,55$, $p=0,03$); ShanEn ($r=-0,54$, $p=0,04$) no repouso; e STDHR no TC6 ($r=-0,60$, $p=0,02$). A RI, ajustada pelo IMC, não correlacionou-se com os índices de VFC.

Correlações de moderada a alta entre n-SM e outros parâmetros metabólicos foram encontradas: ADP ($r=-0,43$, $p=0,04$), LP ($r=0,64$, $p=0,001$), LP/ADP ($r=0,74$, $p<0,001$), QUICKI ($r=-0,82$, $p<0,001$) e HOMA-IR ($r=0,64$, $p=0,01$). Após ajuste pelo IMC, apenas associações com coeficientes r muito altos permaneceram significativas, i.e. entre n-SM e QUICKI ($r=-0,94$, $p=0,01$) e HOMA-IR ($r=-0,94$, $p=0,01$).

Não houve associação entre o marcador inflamatório IL-6 com n-SM, resistência/sensibilidade insulínica, VFC ou ACR. Opostamente, correlações com coeficientes r significativamente altos ou muito altos foram encontradas dos marcadores IL-10 e TNF- α com índices da VFC: IL-10 e LF/HF em repouso ($r=-0,90$, $p=0,03$), RMSSD e SD1 (ambos $r=-0,95$, $p=0,01$) no TC6 e RRtri ($r=-0,93$, $p=0,02$) no TD6; assim como do TNF- α com DFA α 2 ($r=-0,90$, $p=0,03$) no TD6.

Discussão

Nossos achados nos permitem concluir que a resposta cardiorrespiratória, sobretudo metabólica e ventilatória, parece não ser afetada pela SM, mas pela obesidade em si. No entanto, ajustes cardiovasculares e autonômicos em repouso e em resposta ao exercício, estão alterados na presença da SM. Mais especificamente, uma reduzida modulação parassimpática e variabilidade total em condições de repouso bem como uma alterada complexidade e comportamento caótico em resposta ao exercício, representados por índices não lineares da VFC, pode ser observada em indivíduos obesos com SM.

A RI está associada negativamente com ACR, mas não está associada à VFC; níveis séricos de IL-10 estão associados à VFC, enquanto que os de IL-6 e TNF- α têm pouca ou nenhuma associação com a VFC. Finalmente, resultados inéditos da comparação do TC6 e TD6 com relação à MAC durante o exercício, demonstraram que o TD6 pode ser bastante útil e aplicável para a avaliação da resposta autonômica

mais complexa durante o exercício, uma vez que este demonstrou ser mais estressante do ponto de vista cardiovascular do que o TC6, além de já ter sido validado anteriormente em relação ao teste máximo e estar associado à função muscular (Carvalho *et al.*, 2015). Pelo nosso conhecimento, o TC6 é o teste mais frequentemente utilizado, porém não no contexto de respostas ao exercício, mas de recuperação ao mesmo e sobretudo estudos demonstrando análises no domínio do tempo e da frequência.

Respostas cardiorrespiratórias ao exercício

Apesar de já ter sido demonstrada uma associação entre a SM e a ACR em jovens adultos (Lopez-Martinez *et al.*, 2013; Misigoj-Durakovic *et al.*, 2016), nossos resultados apenas corroboram a influência negativa da obesidade por si só (Arena e Cahalin, 2014; Carvalho *et al.*, 2015) nas respostas cardiovasculares, metabólicas e ventilatórias, uma vez que não foram encontradas diferenças entre o grupos de obesos com e sem SM, mas sim entre ambos quando comparado ao grupo de indivíduos de peso normal, durante o testes de exercício máximo e submáximos. Além disso, uma associação negativa foi encontrada apenas entre RI e ACR.

Nossos achados nos permitem afirmar que o VO_2 , FC, PAS, PAD, RR e V_E/VCO_2 assim como o desempenho em ambos os testes funcionais estão comprometidos em adultos obesos em comparação com aqueles de peso normal, sugerindo uma maior demanda ventilatória e estresse cardiovascular para um menor desempenho realizado em obesos, independentemente da SM. Para todos os grupos, o TD6 impôs maior exigência cronotrópica (FC), mas não ventilatória (RR e V_E/VCO_2) ou metabólica (VO_2) uma vez que, para estas últimas variáveis, ambos os testes funcionais diferiram do teste máximo mas não diferiram entre si.

Anteriormente, foi demonstrado que o TD6 provoca maiores respostas cronotrópicas e perceptuais do que o TC6 (Bohannon *et al.*, 2015; Da Costa *et al.*, 2017) e que o TD6 está fortemente associado à força relativa e potência musculares e à capacidade aeróbia máxima, i.e. a ACR, além de ter uma alta validade concorrente e capacidade de prever respostas máximas no TECP (Carvalho *et al.*, 2015; Di Thommazo-Luporini *et al.*, 2015a). Assim, seria interessante confirmar em outros estudos sua aplicabilidade para avaliação da MAC em resposta a intervenções, reprodutibilidade das medidas utilizadas e a determinação de critérios indicativos de

saúde ou risco cardiovascular de indivíduos obesos sem e com prejuízo de ordem metabólica, como a SM.

Modulação autonômica cardíaca

Como demonstrado em nossos resultados, as análises no domínio do tempo foram capazes de identificar diferenças na condição de repouso e a análise espectral não foi capaz de detectar diferenças entre indivíduos obesos com e sem SM. Entretanto, os índices geométricos e não lineares, incluindo a variabilidade total (TINN), modulação parassimpática (SD1), comportamento caótico (DFA α 1) e complexidade (ShanEn), foram capazes de identificar um diferente e, muito possivelmente, anormal ajuste autonômico ao exercício em indivíduos com obesidade e SM.

Um estudo prévio (Gehi *et al.*, 2009) demonstrou que a SM associa-se à VFC, após controlados por fatores genéticos e ambientais, sendo que 1 unidade de incremento nos componentes da SM esteve associado ao decréscimo de 15% do balanço simpatovagal. Outros (Min *et al.*, 2008; Stein *et al.*, 2008; Koskinen *et al.*, 2009) confirmaram que indivíduos com SM ou RI apresentam menor VFC quando comparados àqueles com perfil metabólico normal.

Um estudo retrospectivo populacional (Yoo *et al.*, 2016) encontrou uma associação entre a VFC de longo prazo e a SM, a saber, uma reduzida modulação parassimpática, sendo que esta mesma associação não foi encontrada com o IMC. Além disso, SDNN apresentou uma redução paralela ao incremento de componentes da SM. Este estudo avaliou ainda grupos de indivíduos de peso normal com SM e demonstrou uma reduzida VFC neste grupo em comparação com aqueles de peso normal, porém saudáveis metabolicamente.

Muitos estudos, portanto, sugerem associações entre a SM e a VFC, no entanto, essas são usualmente limitadas a análises em repouso utilizando índices lineares no domínio do tempo e/ou da frequência (Gehi *et al.*, 2009; Koskinen *et al.*, 2009; Stuckey *et al.*, 2014) ou ainda, a análises de recuperação pós-exercício (Figuerola *et al.*, 2007). Apesar do crescente interesse na utilização de índices não lineares em virtude dos mecanismos envolvidos na regulação cardiovascular interagirem de uma maneira também não linear, poucos estudos, transversais ou

longitudinais (Soares-Miranda *et al.*, 2012), avaliaram componentes não lineares da VFC em adultos com SM.

Os índices SD1 e SD2, derivados do *Plot de Poincaré*, nos revela informações similares à análise espectral no domínio da frequência, mas com a vantagem de ser menos dependente da estacionariedade do sinal, sendo portanto de maior aplicabilidade e sensibilidade na detecção de alterações em situações de exercício e também associados a alterações decorrentes da SM (Kubickova *et al.*, 2016). De fato, nossos resultados demonstram que SD1, representativo da modulação parassimpática foi, em repouso, menor em indivíduos com SM do que aqueles com perfil metabólico favorável e de peso normal. Podemos observar pela Figura 3 uma progressiva redução da modulação parassimpática (SD1, em vermelho) bem como da dispersão dos iRR (em azul) indicando uma reduzida VFC total, partindo de um indivíduo de peso normal (1A) até um indivíduo obeso com SM (1C).

Uma tendência também foi observada para uma redução de SD1 em GONS durante o exercício, quando comparado aos demais grupos, assim como uma redução de SD1 no TD6 em comparação com o TC6 em cada grupo. Esta tendência, associada a outras diferenças encontradas entre os testes para os índices SD2, DFA α 1 e ShanEn no GONS, reforça que o TD6 é mais vigoroso e demanda maiores ajustes cardiovasculares do que o teste de caminhada de igual duração. A média de SD1 no TD6, mas não no TC6, é bastante inferior ao limiar de VFC previamente estabelecido na literatura em adolescentes obesos e em coronariopatas (Brunetto *et al.*, 2006; Simoes *et al.*, 2016). Estes estudos sugerem que intensidades de exercício em que SD1 seja inferior a 3 milissegundos, sejam aquelas em que a via metabólica predominante é a anaeróbia caracterizando, portanto, um exercício de alta intensidade.

O expoente fractal de curto (DFA- α 1) prazo da análise de flutuação depurada de tendência foi menor em GONS durante o TC6 quando comparado ao GE. Este parâmetro é capaz de detectar mudanças sutis da dinâmica da VFC caracterizando, portanto, variações caóticas da mesma, o que não é possível por meio das análises espectrais no domínio da frequência, apesar de estarem intimamente relacionadas entre si (Antônio *et al.*, 2014). Além disso, foi demonstrado que reduzidos valores de DFA- α 1 podem prever risco de mortalidade de causa cardiovascular (Makikallio *et al.*, 2001). Apesar de o intervalo de valores de repouso já ser bem conhecido na

literatura, para o nosso conhecimento, valores de referência para DFA- α 1 durante o exercício ainda não foram estabelecidos.

Interessantemente, não pudemos observar valores de ShanEn, índice que quantifica a complexidade da VFC, alterados em repouso, mas notamos que este foi menor no grupo de obesos com SM durante o TD6, sugerindo menor linearidade da resposta autonômica durante este exercício, de acordo com a análise do plot de Recorrência da entropia de Shannon (Godoy, 2016). Em condições de repouso, este padrão não linear estaria associado à maior complexidade da VFC e, portanto, a uma melhor condição de saúde cardiovascular. No entanto, é possível que durante o exercício, esta perda da linearidade seja deletéria ou um ajuste inadequado em resposta a um estímulo físico constante, em virtude de os grupos GOS e GE terem apresentado maior linearidade da resposta durante o mesmo exercício. Com relação a este índice, encontramos na literatura um estudo (Moura-Tonello *et al.*, 2014) que avaliou pacientes com Diabetes do tipo 2 em repouso, sendo que este encontrou uma modulação simpática exacerbada mas não encontrou uma alterada complexidade da VFC nesta população.

Como mencionado, muitos estudos na literatura avaliaram a VFC em condições de repouso ou durante a fase de recuperação pós-exercício. No entanto, não foram encontrados estudos que, como o presente, tenha avaliado as respostas durante o exercício nesta população. Isto é extremamente relevante dado que indivíduos obesos com SM podem apresentar uma deficiente resposta autonômica quando da submissão a um estímulo externo, como o exercício, mesmo apresentando respostas aparentemente ou relativamente preservadas na condição de repouso. Figueroa e colaboradores (Figueroa *et al.*, 2007), por exemplo, encontraram em mulheres obesas, diabéticas ou não, uma melhora da MAC durante a fase de recuperação após terem sido submetidas a um treinamento aeróbio de 16 semanas sem, entanto, terem apresentado uma melhora na VFC de repouso.

Alguns estudos (Borghini-Silva *et al.*, 2009; Castello *et al.*, 2011), adicionalmente, demonstraram adaptações da VFC durante o TC6 após pacientes com doença pulmonar crônica terem sido submetidos a uma intervenção física e indivíduos obesos terem sido submetidos à cirurgia bariátrica, enfatizando assim a aplicabilidade dos testes funcionais para avaliação da MAC na prática clínica em detrimento da única e exclusiva avaliação em repouso.

A MAC tem um importante papel na resposta vasoconstritora e vasodilatadora em resposta à hipóxia induzida pelo exercício. Interessantemente, um estudo prévio demonstrou uma ampla heterogeneidade desta resposta em indivíduos obesos (Limberg *et al.*, 2012), o que pode ser, pelo menos em parte, explicado pela saúde cardiovascular e metabólica de uma certa subpopulação obesa.

Finalmente, um estudo avaliando parâmetros lineares e não lineares da VFC na doença pulmonar obstrutiva crônica (Borghi-Silva *et al.*, 2015) no repouso e durante o TC6, demonstrou que a resposta benéfica da MAC ocorreu muito antes da melhora na ACR em resposta a um treinamento aeróbio de 12 semanas. Foi demonstrado que maiores ganhos na MAC ocorreram ao final da sexta semana de treinamento, mas melhoras menos significantes ocorreram ao final do treinamento em comparação com este momento de avaliação. Em contrapartida, a capacidade aeróbia foi significativamente maior em relação à condição basal, somente ao final do treinamento (décima segunda semana), não tendo sido observada nenhuma diferença na sexta semana de avaliação. Tais achados podem sugerir que as respostas autonômicas precedem as respostas cardiorrespiratórias globais e, inversamente, a MAC seria a primeira a ser prejudicada seguida de uma piora da função cardiorrespiratória global em uma situação ou condição anormal ou fisiopatológica, como a SM para indivíduos obesos.

Associações entre síndrome metabólica, resistência insulínica, perfil inflamatório e modulação autonômica cardíaca

Outros fatores, como a inflamação sistêmica e crônica de baixa intensidade relacionada à obesidade e a RI, podem representar importantes elos entre o fenótipo metabólico, a MAC e as respostas cardiovasculares (Lindmark *et al.*, 2005; Stein *et al.*, 2008; Smith e Minson, 2012; Cooper *et al.*, 2015). Nossos achados revelam uma forte associação entre a SM e o perfil insulínico, níveis séricos de LP e ADP mas não diretamente com os níveis séricos de IL-6, IL-10 e TNF- α . No entanto, IL-10 e TNF- α estiveram associados ao balanço simpátovagal, modulação parasimpática e VFC total. Poder-se ia acreditar que a RI exerceu influência na VFC, no entanto, vale notar que em nosso estudo a SM, mas não o perfil insulínico, esteve diretamente associada à VFC no repouso e durante o exercício.

É conhecido que um padrão antiinflamatório vagal existe (Cooper *et al.*, 2015), o qual indica que a atividade parassimpática, via fibras eferentes do nervo vago, leva a um aumento da liberação de acetilcolina que, por sua vez, inibe a liberação de citocinas próinflamatórias (Tracey, 2002). Assim, uma exacerbada atividade simpática parece exercer uma negativa influência neste mecanismo normal de proteção contra uma inflamação periférica associada ao sistema nervoso autônomo.

No entanto, porque a MAC pode não somente preceder mas também ser consequência de distúrbios metabólicos e de inflamação sistêmica (Soares-Miranda *et al.*, 2012), não é possível concluir qual seria o mecanismo desencadeador principal deste ciclo vicioso. Além disso, parece que os efeitos inflamatórios e cardíacos são estimulados por fibras vagais distintas, possível razão pela qual nós encontramos apenas uma modesta correlação entre a VFC e os marcadores inflamatórios IL-6 e TNF- α . Boudet e colaboradores (Boudet *et al.*, 2017) encontraram uma associação positiva entre a SM e a proteína C reativa, também de natureza próinflamatória, mas não com IL-6 and TNF- α ; Labruna e colaboradores (Labruna *et al.*, 2011) também não encontraram maiores concentrações de IL-6 e TNF- α em jovens adultos obesos resistentes à insulina. Pode-se crer que estas associações também tenham sido subestimadas em virtude de estas não serem citocinas exclusivamente relacionadas à inflamação induzida pela obesidade, mas à inflamação de variadas causas e processos por serem de característica inespecífica. Em contraste, associações foram encontradas com IL-10, uma citocina antiinflamatória da obesidade que atenua a inflamação induzida por TNF- α , IL-6 e IL-1 (Juge-Aubry *et al.*, 2005).

Algumas limitações do estudo devem ser consideradas. Nossos achados não podem ser extrapolados e devem ser futuramente explorados em indivíduos de outras etnias, idosos ou pessoas fisicamente ativas. Ademais, apesar das análises terem sido controladas pelo fator sexo, é possível que características de distribuição (ginecóide vs andróide) tenha tido uma influência nos nossos resultados, pela qual os nossos resultados não foram controlados. Além disso, apesar de nosso estudo sugerir que índices da VFC estão alterados na presença da SM, é possível que este grupo de indivíduos com pior VFC esteja mais propenso a acumular fatores de risco e mais componentes para a SM. Assim, o caráter transversal não nos permite inferir causalidade e futuros estudos longitudinais devem explorar a relação em longo prazo a fim de elucidar certos mecanismos ainda não esclarecidos das consequências do fenótipo metabólico na obesidade.

Conclusão e aplicabilidade clínica

Nossos achados nos permitem concluir que: 1) as respostas cardiorrespiratórias são influenciadas pela obesidade por si só, mas não parecem ser influenciadas, pelo menos na fase adulta, pela presença da SM; 2) o fenótipo metabólico não saudável influencia a modulação parassimpática e a VFC global em repouso assim como a complexidade durante exercícios submáximos; 3) a RI está associada a uma alterada ACR, níveis séricos de IL-10 e a uma alterada MAC, enquanto IL-6 e TNF- α têm mínima ou pouca influência na MAC e na ACR; 4) o TD6 é mais estressante do ponto de vista cardiovascular do que o teste de caminhada de igual duração e pode ser útil, portanto, na avaliação da MAC durante o exercício. Desse modo, a MAC deve ser enfatizada em estudos de intervenção ou que visem a avaliação da saúde cardiometabólica de indivíduos obesos na prática clínica.

Referências

ANTÔNIO, A. M. S. et al. Fractal dynamics of heart rate variability: a study in healthy subjects. **J Cardiovasc Dis**, v. 2, n. 3, 2014. ISSN 2330-4596.

ARENA, R.; CAHALIN, L. P. Evaluation of cardiorespiratory fitness and respiratory muscle function in the obese population. **Progr Cardiovasc Dis**, v. 56, n. 4, p. 457-464, 2014. ISSN 0033-0620. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pcad.2013.08.001>.

BOHANNON, R. W. et al. Six-Minute Walk Test Vs. Three-minute step test for measuring functional endurance. **J Strength Cond Res**, v. 29, n. 11, p. 3240-4, Nov 2015. ISSN 1064-8011.

BORGHI-SILVA, A. et al. Aerobic exercise training improves autonomic nervous control in patients with COPD. **Respir Med**, v. 103, n. 10, p. 1503-10, Oct 2009. ISSN 0954-6111.

BORGHI-SILVA, A. et al. Potential effect of 6 versus 12-weeks of physical training on cardiac autonomic function and exercise capacity in chronic obstructive pulmonary disease. **Eur J Phys Rehabil Med**, v. 51, n. 2, p. 211-21, Apr 2015. ISSN 1973-9087.

BOUDET, G. et al. Paradoxical dissociation between heart rate and heart rate variability following different modalities of exercise in individuals with metabolic syndrome: The RESOLVE study. **Eur J Prev Cardiol**, v. 24, n. 3, p. 281-296, Feb 2017. ISSN 2047-4873.

BRUNETTO, A. F. R. et al. Heart Rate Variability Threshold in Obese and Non-Obese Adolescents. **Rev Bras Med Esporte**, v. 14, n. 2, 2006.

CARVALHO, L. P. et al. Prediction of cardiorespiratory fitness by the six-minute step test and its association with muscle strength and power in sedentary obese and lean young women: a cross-sectional study. **Plos One**, v. 10, n. 12, p. e0145960-e0145960, 2015. Disponível em: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0145960>.

CASTELLO, V. et al. Impact of aerobic exercise training on heart rate variability and functional capacity in obese women after gastric bypass surgery. **Obes Surg**, v. 21, n. 11, p. 1739-49, Nov 2011. ISSN 0960-8923.

COOPER, T. M. et al. Heart rate variability predicts levels of inflammatory markers: Evidence for the vagal anti-inflammatory pathway. **Brain Behav Immun**, v. 49, p. 94-100, Out 2015. ISSN 0889-1591.

CRAPO, R. O. et al. ATS statement: Guidelines for the six-minute walk test. **Am J Respiratory Crit Care Med**, v. 166, n. 1, p. 111-117, 2002. ISSN 1073-449X (Print)\r1073-449X (Linking).

DA COSTA, C. H. et al. Can we use the 6-minute step test instead of the 6-minute walking test? An observational study. **Physiotherapy**, v. 103, n. 1, p. 48-52, Mar 2017. ISSN 0031-9406.

DI THOMMAZO-LUPORINI, L. et al. The six-minute step test as a predictor of cardiorespiratory fitness in obese women. **Eur J Phys Rehabil Med**, v. 51, n. 6, p. 793-802, Mai 2015(a).

DI THOMMAZO-LUPORINI, L. et al. Are cardiovascular and metabolic responses to field walking tests interchangeable and obesity-dependent? **Disabil Rehabil**, v.38, n. 18, p. 1820-9, Dez 2015. Disponível em: [http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/09638288.2015.1107645\(b\)](http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/09638288.2015.1107645(b)).

Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). **JAMA**, v. 285, n. 19, p. 2486-97, Mai 16 2001. ISSN 0098-7484 (Print).

FELBER DIETRICH, D. et al. Effect of physical activity on heart rate variability in normal weight, overweight and obese subjects: results from the SAPALDIA study. **Eur J Appl Physiol**, v. 104, n. 3, p. 557-65, Out 2008. ISSN 1439-6319 (Print).

FIGUEROA, A. et al. Endurance training improves post-exercise cardiac autonomic modulation in obese women with and without type 2 diabetes. **Eur J Appl Physiol**, v. 100, n. 4, p. 437-44, Jul 2007. ISSN 1439-6319 (Print).

FRANKLIN, B. A.; MCCULLOUGH, P. A. Cardiorespiratory fitness: an independent and additive marker of risk stratification and health outcomes. **Mayo Clin Proc**, v. 84, n. 9, p. 776-779, 2009. ISSN 0025-6196 1942-5546. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2735426/> >.

GARCIA, L. M. et al. Validation of two questionnaires to assess physical activity in adults. **Rev Bras Ativ Fis Saúde**, v. 18, n. 3, p. 317-331, 2013.

GEHI, A. K. et al. A twin study of metabolic syndrome and autonomic tone. **J Cardiovasc Electrophysiol**, v. 20, n. 4, p. 422-8, Apr 2009. ISSN 1045-3873.

GODOY, M. Nonlinear analysis of heart rate variability: a comprehensive review. **J Cardiol Ther**, v. 3, n. 3, p. 528-533, 2016.

HAINER, V.; ALDHOON-HAINEROVÁ, I. Obesity paradox does exist. **Diabetes Care**, v. 36, 2013.

JUGE-AUBRY, C. E. et al. Adipose tissue is a regulated source of interleukin-10. **Cytokine**, v. 29, n. 6, p. 270-4, Mar 21 2005. ISSN 1043-4666 (Print).

KIMURA, T. et al. Body fat and blood lipids in postmenopausal women are related to resting autonomic nervous system activity. **Eur J Appl Physiol**, v. 97, n. 5, p. 542-7, Jul 2006. ISSN 1439-6319 (Print).

KOSKINEN, T. et al. Metabolic syndrome and short-term heart rate variability in young adults. The cardiovascular risk in young Finns study. **Diabet Med**, v. 26, n. 4, p. 354-61, Apr 2009. ISSN 0742-3071.

KUBICKOVA, A. et al. Heart rate variability analysed by Poincare plot in patients with metabolic syndrome. **J Electrocardiol**, v. 49, n. 1, p. 23-8, Jan-Feb 2016. ISSN 0022-0736.

LABRUNA, G. et al. High leptin/adiponectin ratio and serum triglycerides are associated with an "at-risk" phenotype in young severely obese patients. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 19, n. 7, p. 1492-1496, 2011. ISSN 1930-7381 (Print)\r1930-7381 (Linking).

LEE, J.; KIM, S. U.; KANG, H. S. Low cardiorespiratory fitness as an independent predictor of metabolic syndrome in Korean young men. **Eur J Appl Physiol**, v. 108, n. 4, p. 633-9, Mar 2010. ISSN 1439-6319.

LIMBERG, J. K. et al. Effect of obesity and metabolic syndrome on hypoxic vasodilation. **Eur J Appl Physiol**, v. 112, n. 2, p. 699-709, Feb 2012. ISSN 1439-6319.

LINDMARK, S. et al. Dysregulation of the autonomic nervous system can be a link between visceral adiposity and insulin resistance. **Obes Res**, v. 13, n. 4, p. 717-28, Apr 2005. ISSN 1071-7323 (Print).

LOPEZ-MARTINEZ, S. et al. Physical activity, fitness, and metabolic syndrome in young adults. **Int J Sport Nutr Exerc Metab**, v. 23, n. 4, p. 312-21, Aug 2013. ISSN 1526-484x.

MAKIKALLIO, T. H. et al. Prediction of sudden cardiac death by fractal analysis of heart rate variability in elderly subjects. **J Am Coll Cardiol**, v. 37, n. 5, p. 1395-402, Apr 2001. ISSN 0735-1097 (Print).

MIN, K. B. et al. The impact of the components of metabolic syndrome on heart rate variability: using the NCEP-ATP III and IDF definitions. **Pacing Clin Electrophysiol**, v. 31, n. 5, p. 584-91, May 2008. ISSN 0147-8389.

MISIGOJ-DURAKOVIC, M. et al. Which is more important for reducing the odds of metabolic syndrome in men: Cardiorespiratory or muscular fitness? **Obesity (Silver Spring)**, v. 24, n. 1, p. 238-44, Jan 2016. ISSN 1930-7381.

MOURA-TONELLO, S. C. G. et al. Influence of type 2 diabetes on symbolic analysis and complexity of heart rate variability in men. **Diabetol Metab Syndr**, v. 6, p. 13-13, Fev 2014. ISSN 1758-5996. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3930297>.

MUÑOZ-GARACH, A.; CORNEJO-PAREJA, I.; TINAHONES, F. J. Does metabolically healthy obesity exist? **Nutrients**, v. 8, n. 6, p. 320, Jun 2016. ISSN 2072-6643. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4924161>.

PEREIRA C.A.C. et al. I Consenso Brasileiro sobre Espirometria. **J Pneumol**, v. 22, n. 3, p. 105-164, 1996.

PHILLIPS, C. M. Metabolically healthy obesity: definitions, determinants and clinical implications. **Rev Endocr Metab Disord**, v. 14, n. 3, p. 219-27, Sep 2013. ISSN 1389-9155.

RANA, J. S. et al. Cardiovascular metabolic syndrome - an interplay of, obesity, inflammation, diabetes and coronary heart disease. **Diabetes Obes Metab**, v. 9, n. 3, p. 218-32, May 2007. ISSN 1462-8902 (Print).

SIMOES, R. P. et al. Use of heart rate variability to estimate lactate threshold in coronary artery disease patients during resistance exercise. **J Sports Sci Med**, v. 15, n. 4, p. 649-657, Dec 2016. ISSN 1303-2968.

SMITH, M. M.; MINSON, C. T. Obesity and adipokines: effects on sympathetic overactivity. **J Physiol**, v. 590, n. 8, p. 1787-1801, Abr 2012. ISSN 0022-3751 1469-7793. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3573303>.

SOARES-MIRANDA, L. et al. Metabolic syndrome, physical activity and cardiac autonomic function. **Diabetes Metab Res Rev**, v. 28, n. 4, p. 363-9, May 2012. ISSN 1520-7552.

STEIN, P. K. et al. Higher levels of inflammation factors and greater insulin resistance are independently associated with higher heart rate and lower heart rate variability in normoglycemic older individuals: the Cardiovascular Health Study. **J Am Geriatr Soc**, v. 56, n. 2, p. 315-21, Feb 2008. ISSN 0002-8614.

STUCKEY, M. I. et al. Heart rate variability and the metabolic syndrome: a systematic review of the literature. **Diabetes Metab Res Rev**, v. 30, n. 8, p. 784-93, Nov 2014. ISSN 1520-7552.

TENTOLOURIS, N.; ARGYRAKOPOULOU, G.; KATSILAMBROS, N. Perturbed autonomic nervous system function in metabolic syndrome. **Neuromolecular Med**, v. 10, n. 3, p. 169-78, 2008. ISSN 1535-1084.

TRACEY, K. J. The inflammatory reflex. **Nature**, v. 420, n. 6917, p. 853-9, Dec 19-26 2002. ISSN 0028-0836 (Print).

VANDERLEI L.C.M. et al. Basic notions of heart rate variability and its clinical applicability. **Rev Bras Cir Cardiovasc**, v. 24, n. 2, p. 205-217, 2009.

WEBER, J. C.; LAMB, D. R. **Statistics and research in physical education**. 1970.

WULSIN, L. R. et al. Autonomic imbalance as a predictor of metabolic risks, cardiovascular disease, diabetes, and mortality. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 100, n. 6, p. 2443-8, Jun 2015. ISSN 0021-972x.

YOO, H. J. et al. Clinical implication of body size phenotype on heart rate variability. **Metabolism**, v. 65, n. 11, p. 1589-1596, Nov 2016. ISSN 0026-0495.

ESTUDO III

Resumo do estudo III submetido ao periódico *Cytokine*

Myostatin and adipokines: the role of the metabolically unhealthy obese phenotype in muscle function and aerobic capacity in young adults

Abstract

Background and aim: Obesity is often associated with metabolic disorders. However, some obese people can present a metabolically healthy phenotype, despite having excessive body fat. Obesity-related cytokines, such as myostatin, leptin and adiponectin appear to be key factors on the regulation of muscle and energy metabolism. Our aim was to compare lipid, glucose-insulin and inflammatory profiles, muscle function, energy expenditure and aerobic capacity between healthy normal-weight (NW), metabolically healthy (MHO) and unhealthy (MUHO) obese adults. In addition, we aimed to study the associations between these outcomes and the cytokines MSTN, ADP, LP. Finally we aimed at establishing cutoffs of MSTN and LP/ADP to identify individuals with the MUHO phenotype. **Methods:** Sixty-one young adults (NW, n=24; MHO, n=16; MUHO, n=21) underwent body composition evaluation (body fat, BF and muscle mass, MM), energy expenditure at rest (RER), aerobic capacity (VO_{2peak}), muscle strength and endurance tests and blood profile (glucose-insulin homeostasis and serum MSTN, ADP, LP and TNF- α). MUHO was defined as presenting at least 2 criteria for metabolic syndrome (NCEP/ATPIII) in association with insulin resistance (IR) ($HOMA-IR \geq 3.46$). **Results:** MSTN and LP/ADP were associated with MM, MetS and glucose-insulin profile; MSTN with TNF- α and only LP/ADP with parameters of obesity. In addition, only LP/ADP was related to VO_{2peak} and neither LP/ADP nor MSTN was related to muscle functions ($p < 0.05$ for all adjusted correlations). Both were accurate to discriminate the MUHO phenotype: MSTN [AUC (95%CI)=0.71(0.55-.86), MSTN > 517.3 pg/mL] and LP/ADP [AUC(95%CI)=0.89(0.81-0.97), LP/ADP > 2.14 pg/ng]. **Conclusion:** High MSTN and LP/ADP are associated with MetS and glucose-insulin homeostasis impairment, low-grade chronic inflammation and low muscle mass. Leptin-to-adiponectin ratio is related to aerobic capacity, while myostatin is not. Neither MSTN nor LP/ADP is associated with energy expenditure,

*muscle strength and endurance. Myostatin is, therefore, related to the metabolically unhealthy phenotype (MetS, insulin resistance and subclinical inflammation) in young adults with obesity. **Keywords:** Adipokines, Myokines, Obesity, Metabolic Syndrome, Metabolism.*

ESTUDO III

**MIOSTATINA E ADIPOCINAS: A INFLUÊNCIA DA SÍNDROME METABÓLICA E
RESISTÊNCIA INSULÍNICA NA FUNÇÃO MUSCULAR E CAPACIDADE AERÓBIA
EM ADULTOS JOVENS**

Artigo submetido ao periódico *Cytokine*

Versão em português

Resumo

Introdução: A obesidade está frequentemente associada ao desenvolvimento de distúrbios cardiometabólicos. No entanto, uma subpopulação de indivíduos obesos parece apresentar um metabolismo mais favorável apesar da elevada quantidade de gordura corporal, os denominados obesos metabolicamente saudáveis. Adipocinas específicas da obesidade, como a adiponectina (ADP) e a leptina (LP), e miocinas, sobretudo a miostatina (MSTN) influenciam na regulação do metabolismo muscular e energético. **Objetivo:** Comparar o perfil metabólico e inflamatório, a função muscular, o gasto energético e a capacidade aeróbia entre indivíduos saudáveis eutróficos (GE), obesos metabolicamente saudáveis (GOS) e não saudáveis (GONS) assim como verificar a associação entre estes desfechos e os biomarcadores MSTN, LP e ADP. Além disso, tivemos como objetivo verificar a acurácia dos mesmos em identificar indivíduos com perfil metabólico não saudável e seus respectivos pontos de corte. **Métodos:** Sessenta e um adultos homens e mulheres jovens (GE, n=24; GOS, n=16; GONS, n=21) foram submetidos à avaliação de composição corporal (massa gorda, MG e massa magra, MM), do gasto energético basal (RER) e da capacidade aeróbia máxima ($VO_{2\text{pico}}$), a testes de força e resistência musculares e à análise do perfil sanguíneo (homeostase glicêmico-insulínica e concentração sérica de MSTN, ADP, LP and TNF- α). Indivíduos foram alocados no grupo GONS se apresentassem pelo menos 3 critérios para Síndrome Metabólica (SM) (NCEP/ATPIII) e resistência insulínica (RI) ($\text{HOMA-IR} \geq 3.46$). **Resultados:** Foram encontradas associações entre MSTN e LP/ADP com a MM, SM e perfil glicêmico-insulínico; MSTN com TNF- α e apenas LP/ADP com parâmetros representativos de obesidade. Não houve associação entre LP/ADP e MSTN com RER e função muscular e apenas LP/ADP associou-se com $VO_{2\text{pico}}$ ($p < 0,05$ para correlações ajustadas por sexo e idade). Ambos os biomarcadores demonstraram-se acurados para discriminar o perfil não saudável (SM+RI): MSTN [AAC(95%IC)=0.71(0.55-.86), $\text{MSTN} > 517.3 \text{ pg/mL}$] e LP/ADP [AAC(95%IC)=0.89(0.81-0.97), $\text{LP/ADP} > 2.14 \text{ pg/ng}$]. **Conclusão:** Elevados níveis de MSTN e LP/ADP estão associados à SM e à RI, à inflamação crônica de baixa intensidade e a uma reduzida massa muscular. LP/ADP está associada à obesidade por si só e à capacidade aeróbia e, nem LP/ADP nem MSTN, estão associados ao gasto energético basal e à função muscular. Foi comprovado que, em humanos, a MSTN associada, portanto, à SM, RI e inflamação subclínica em adultos jovens com obesidade.

Introdução

A obesidade é, sabidamente, uma das doenças crônicas mais preocupantes da atualidade por cursar, direta ou indiretamente, com o desenvolvimento de comorbidades e mortalidade de origem metabólica e cardiovascular sendo, portanto, uma grave problemática em saúde pública no Brasil e mundialmente (Bellanger e Bray, 2005). Entretanto, nos últimos anos, evidências vem demonstrando que uma certa subpopulação de indivíduos obesos apresentam, apesar do excesso de gordura corporal total, um perfil metabólico favorável, tendo sido denominados obesos metabolicamente saudáveis. Estes parecem ter uma menor probabilidade de desenvolver tais riscos à saúde do que aqueles que, além de serem obesos, apresentam distúrbios como a Síndrome Metabólica (SM) e a resistência insulínica (RI) (Phillips, 2013).

Os mecanismos pelos quais a obesidade causa tais desordens baseia-se, essencialmente, no fato de que esta induz um estado inflamatório subclínico crônico e de baixa intensidade, caracterizado pela aumentada concentração de células proinflamatórias, notoriamente macrófagos bem como pelo desbalanço da concentração de proteínas específicas do tecido adiposo, as chamadas adipocinas, (Lee e Pratley, 2005; Van Guilder *et al.*, 2006; Gregor e Hotamisligil, 2011; Lumeng e Saltiel, 2011), as quais certamente exercem uma (dis)função no fenótipo metabólico de indivíduos obesos.

Longe de ser considerado apenas um reservatório energético, como antes imaginado, o tecido adiposo é conhecido na atualidade por ser um órgão endócrino com funções autócrinas e parácrinas dada a sua capacidade de secretar adipocinas, como as mais conhecidas leptina e adiponectina, as quais vem tendo suas repercussões fisiológicas exploradas exaustivamente nos últimos anos em pesquisas no campo da obesidade (Wisse, 2004; Greenberg e Obin, 2006; Leal e Mafra, 2013). A leptina tem sido associada ao volume dos adipócitos e pode igualmente ser liberada pelo tecido muscular, contribuindo para a regulação da liberação de leptina em todo o organismo, regulação da ingesta de alimentos assim como regulação do metabolismo protéico nos miócitos. A adiponectina, por sua vez, exerce um papel fundamental na homeostase energética e na sinalização insulínica, biogênese mitocondrial, regulação do metabolismo lipídico no sistema musculoesquelético e redução do estresse oxidativo, sendo considerada uma adipocina antiinflamatória, contrariamente à

elevada concentração de leptina, caracterizada por ser uma proinflamatória (Li *et al.*, 2017).

Por outro lado, as miocinas, secretadas quase exclusivamente pelos músculos, exercem uma variedade de efeitos sistêmicos tanto em nível muscular quanto nos demais órgãos e sistemas. Algumas dessas miocinas tem sua ação modulada pelas adipocinas, confirmando a dinamicidade da interação entre ambos os tecidos musculoesquelético e adiposo (Pedersen e Febbraio, 2012; Li *et al.*, 2017; Rodriguez *et al.*, 2017). A primeira miocina identificada denominada miostatina (MSTN) (Mcpherron *et al.*, 1997) é um membro da superfamília de fatores de transformação do crescimento β (TGF- β) e é considerado um importante componente regulador inibitório do crescimento e manutenção da quantidade de massa muscular e de regeneração da mesma por meio de diversos mecanismos de ação (Patel *et al.*, 2005; Elliott *et al.*, 2012; Pedersen e Febbraio, 2012). Entretanto, nos últimos anos um crescente número de estudos na literatura vem demonstrando que esta miocina pode ser um fator chave também da regulação do metabolismo energético, tendo sido até o presente momento estudada especialmente em modelos experimentais em animais. Em humanos, o seu papel não está completamente elucidado, mas parece haver uma associação positiva entre a concentração sérica de MSTN e a obesidade, a SM, a RI e a Diabetes Mellitus (Hittel *et al.*, 2011; Dong *et al.*, 2016).

O gene da MSTN é também expresso em menor grau nas células adiposas, onde parece ter um efeito na adipogênese e no incremento do gasto energético induzido pelo tecido adiposo multilocular (Feldman *et al.*, 2006; Rodriguez *et al.*, 2017), o qual é resultante do aumento da expressão de células adiposas marrons no tecido adiposo unilocular (ou células adiposas brancas) (Singh *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2017). Além disso, estudos prévios demonstraram que a MSTN está relacionada à perda de peso (Park *et al.*, 2006), ganho de peso (Tsioga *et al.*, 2015) e à mudanças no metabolismo e características musculares após intervenções, sobretudo as de natureza física, como os treinamentos resistidos e aeróbios (Elliott *et al.*, 2012; Ryan *et al.*, 2013; Rodriguez *et al.*, 2017), após os quais a redução da concentração desta miocina está frequentemente relacionada com efeitos fisiológicos benéficos.

Como consequência da grande maioria das evidências que demonstram efeitos deletérios relacionados ao alto nível de concentração da MSTN, tem havido grande interesse na terapia de inibidores da MSTN a fim de combater tais efeitos advindos da obesidade, da osteoporose e de condições patológicas e ambientais que cursam com

graus variados de atrofia muscular. Exemplos dessas condições são as doenças cardiovasculares e pulmonares crônicas, a caquexia, o envelhecimento ou ainda o desuso muscular, como é observado durante vôos espaciais ou internações hospitalares de longa permanência (Mcpherron, 2010). Os benefícios de tal terapia consistiriam em reduzir o acúmulo de tecido adiposo, promover a hipertrofia muscular e a homeostase dos cardiomiócitos (Elliott *et al.*, 2012; Dschietzig, 2014) assim como induzir o aumento da densidade mineral óssea (Buehring e Binkley, 2013).

Estudos demonstram que as vias pelas quais a MSTN inibe o crescimento muscular são pela inibição da proliferação e diferenciação de mioblastos e/ou da atividade das células satélites; da regulação negativa da via de sinalização intracelular para síntese protéica da proteína AKT - ou proteína quinase B - pelo fator de crescimento semelhante à insulina tipo I (IGF-1); e finalmente, via aumento da atividade proteolítica do sistema ubiquitina-proteassoma (Elliott *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2017). Apesar de ainda controverso e inexplorado, outros estudos recentes também sugerem haver uma influência da MSTN e outras adipocinas para além da massa muscular. Tal influência se traduziria na redução da força e resistência à fadigabilidade musculares assim como na redução da capacidade de captação máxima de oxigênio muscular, a também denominada capacidade aeróbia (Wagner *et al.*, 2008; Elliott *et al.*, 2012; Bucci *et al.*, 2013; Mouisel *et al.*, 2014), os quais são considerados importantes determinantes da capacidade funcional e preditores de incapacidade físicas na idade avançada e mortalidade (Lee *et al.*, 2010; Volaklis *et al.*, 2015). Neste sentido, muitas questões relacionadas às associações entre os marcadores biológicos e medidas clínicas permanecem a ser esclarecidas, sobretudo em população de alto risco como os indivíduos obesos, na presença ou não de distúrbios metabólicos.

Assim sendo, o presente estudo visou comparar o perfil metabólico (lipídico e glicêmico-insulínico) e inflamatório, a função muscular, a capacidade aeróbia e o gasto energético entre indivíduos saudáveis eutróficos, obesos metabolicamente saudáveis (GOS) e não saudáveis (GONS). Visou ainda estudar as associações entre estes desfechos e as citocinas MSTN, LP e ADP e, finalmente, o estudo teve como objetivo estabelecer a acurácia e pontos de corte para a MSTN e LP/ADP em identificar indivíduos com perfil metabólico não saudável. Nós hipotetizamos, que GONS apresentaria um pior perfil lipídico e glicêmico insulínico assim como maiores concentrações de citocinas pró-inflamatórias e, finalmente que estes apresentariam menores valores para as variáveis de função muscular, capacidade aeróbia e

dispêndio energético do que GOS e GE. Por fim, hipotetizamos que seria possível estabelecer pontos de corte para identificação de um fenótipo não saudável a partir da razão entre as adipocinas ADP e LP e da miocina MSTN.

Materiais e Métodos

Desenho, amostra e protocolo do estudo

Sessenta e um adultos jovens (20 a 45 anos) saudáveis, eutróficos e obesos (30 mulheres; 31 homens), foram recrutados da comunidade para este estudo observacional e transversal. Após os voluntários terem sido avaliados, foram submetidos a três dias de avaliação não consecutivos (intervalo mínimo de 48 horas): 1) Anamnese e aplicação do questionário de Baecke para investigação do nível de atividade física bem como avaliação da função pulmonar pela espirometria; 2) Coleta e análise sanguínea bem como avaliação da composição corporal; 3) Teste de exercício cardiopulmonar máximo e sintoma-limitado (TECP; 4) Testes de força e resistência musculares. Os participantes foram subseqüentemente alocados nos grupos: eutróficos saudáveis (GE, n= 24), obesos metabolicamente saudáveis (GOS, n=16) e obesos metabolicamente não saudáveis (GONS, n=21) primeiramente de acordo com o índice de massa corpórea (IMC): 1) $GE \leq 25 \text{ kg.m}^{-2}$; e 2) $GOS/GONS \geq 35 \text{ kg.m}^{-2}$ e, posteriormente de acordo com o perfil metabólico, sendo que os indivíduos alocados no grupos GONS deveriam apresentar pelo menos três dos cinco critérios para SM segundo o NCEP/ATPIII (Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program – NCEP/Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults - Adult Treatment Panel III, 2001) e RI. A partir de um estudo populacional com indivíduos adultos não diabéticos, consideramos resistentes à insulina aqueles com valores acima do valor referente ao percentil 90 ($HOMA-IR > 3.46$) (Gayoso-Diz *et al.*, 2013).

Os critérios de exclusão foram: peso corporal não estável nos últimos seis meses; atividade física regular (moderada a intensa) de duração superior a 150 minutos por semana; gestação; menopausa precoce; história de cirurgia ginecológica e/ou ortopédica; tabagistas; etilistas; uso de medicamentos de uso contínuo que influenciassem o metabolismo; doenças neurológicas, neuromusculares, pulmonares e cardiovasculares; Diabetes Mellitus; e/ou déficit cognitivo. Os voluntários que

iniciaram o estudo mas que, por ventura, não tenham completado todas as avaliações propostas para este estudo, não foram incluídos nas análises.

Os autores conduziram o estudo após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de São Carlos (CEP-UFSCar: protocolo N. 326.607) (ANEXO I). Todos os voluntários concordaram e assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido previamente ao início das avaliações (ANEXO II).

Avaliação clínica

Durante esta avaliação, que consistia em relatar o histórico da moléstia atual e pregressa, os sujeitos responderam ao questionário de atividade física de Baecke, validado para a população brasileira (Garcia, 2013), incluindo questões relativas à percepção de esforço durante o trabalho, lazer e atividades esportivas cotidianas.

A estatura e a massa corporal foram mensuradas (Welmy 104-A, Santa Bárbara do Oeste, SP, Brasil) com os indivíduos na postura em pé e descalços. A massa muscular (MM) total e apendicular assim como a massa gorda (MG) foram obtidas por bioimpedância elétrica tetrapolar (Model BC-558, Ironmann, Tanita Corporation, Tokyo, Japan) após terem realizado jejum absoluto de pelo menos 4 horas. A circunferência abdominal (indicador de obesidade abdominal) foi mensurada com uma fita métrica, sendo que foi considerada para análise a média de 2 medidas consecutivas, ou de uma terceira medida na ocasião dos primeiros valores diferirem mais do que 10% entre eles.

A pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD) foram mensuradas no em repouso sentado, após 5 minutos de repouso com um esfigmomanômetro manual.

A função pulmonar foi avaliada (Oxycon Mobile®, Mijnhardt/Jäger, Wurtzburgo, Alemanha) para assegurar que apenas indivíduos com função pulmonar normal fossem incluídos no estudo, de acordo com os valores de referência para a população adulta brasileira (Pereira *et al.*, 2007).

Análise do perfil sanguíneo e de composição corporal

Para análise do perfil lipídico, glicêmico-insulínico e inflamatório, foram coletadas amostras sanguíneas com os voluntários em jejum de 12 a 14 horas, no

período da manhã. Os voluntários foram instruídos a não realizar atividades físicas vigorosas nas 48 horas anteriores ao dia do exame, manter a dieta habitual e, sobretudo, comparecer ao exame somente se não houvesse processo infeccioso e/ou inflamatório vigentes.

Foram quantificadas a glicemia e a insulinemia de jejum para subsequente análise dos índices de resistência e sensibilidade insulínica, a saber, o índice obtido a partir do modelo de avaliação da homeostase (HOMA-IR) e o índice QUICKI, respectivamente. Além disso, foram quantificados os níveis de lipoproteína de alta densidade (HDL-c) e triglicérides (TGL) para definição do critério de SM.

Um segundo tubo foi mantido em ar ambiente por 30 minutos e, em seguida, centrifugado (Serocito, Model 2400, FANEM, Brasil) para armazenamento das alíquotas de plasma em freezer a -80°C . As amostras foram posteriormente analisadas em duplicata pelo método ELISA – do inglês, *Enzyme-linked immunosorbent assay* – de acordo com as recomendações do fabricante. As concentrações séricas de adiponectina ou Acrp30 (ADP), leptina (LP), fator de necrose tumoral α (TNF- α) e miostatina (MSTN) foram determinadas por meio dos kits de alta sensibilidade Quantikine® Human Immunoassays (R&D Systems, Inc. Minneapolis, EUA). As absorbâncias e, por conseguinte, as concentrações foram obtidas por meio de interpolação da curva padrão fornecida no manual do fabricante, sendo que as concentrações de LP, TNF- α e MSTN foram expressas em pg/ml, as de ADP em ng/ml e a razão leptina/adiponectina (LP/ADP) em pg/ng.

Teste de exercício cardiopulmonar máximo ou sintoma-limitado (TECP)

Como previamente descrito por Carvalho *et al.* (2015), o teste cardiopulmonar máximo foi conduzido de acordo com o protocolo de Bruce em esteria ergométrica (Master Super ATL, Inbramed/Inbrasport, Porto Alegre, RS, Brasil), sendo que durante estes foram coletadas as variáveis ergoespirométricas respiração-a- respiração com o sistema metabólico portátil *Oxycon Mobile*® (Mijnhardt/Jäger, Wurtzburgo, Alemanha). Dentre as variáveis obtidas, as principais delas foram o consumo de oxigênio (VO_2), a produção de dióxido de carbono (VCO_2), o quociente de troca respiratória (RER, VCO_2/VO_2), além da frequência cardíaca (FC) batimento-a-batimento e a percepção de esforço durante e no pico do exercício.

Os dados brutos foram alisados em médias a cada quinze segundos e transferidos posteriormente para uma planilha *Excel*. A partir desta, o pico do exercício e suas respectivas variáveis foi estabelecido dentro do intervalo de 30 segundos anteriores ao término do exercício e início do período de recuperação.

Teste de força e resistência muscular

As medidas de função, quais sejam, a de força e resistência musculares, foram obtidas por testes de dinamometria isométrica e isocinética extensora de joelho no equipamento *Biodex Multi-Joint System 3* (Biodex Medical System, Inc., Nova Iorque, EUA). A força máxima foi representada pela média de torque isométrico durante uma contração concêntrica de cinco segundos de duração. A resistência muscular, por sua vez, foi representada pelo trabalho total isocinético extensor de joelho durante um protocolo de um minuto, durante o qual foi solicitado ao voluntário que realizasse a máxima força e o maior número de vezes possível durante este intervalo de tempo. Um único avaliador foi responsável pelo comando verbal e os testes não foram realizados em ordem aleatória, de modo que o teste isocinético de *endurance* foi sempre realizado após o teste de força isométrico. Isto porque acreditamos que a realização do teste isocinético de *endurance* teria uma influência negativa no desempenho dos testes isométricos subsequentes, ao passo que a realização deste último pouco influenciaria o desempenho do teste de *endurance* por ter uma característica de curta duração e grandes pausas. Além disso, os voluntários em um estudo piloto relatavam extrema fadiga após a realização do teste de *endurance*.

Para o teste isocinético foi padronizada uma amplitude de movimento de 70° a uma velocidade angular de 60° por segundo, iniciando o movimento a 90° de flexão do joelho e limitando-se a 20° de flexão do joelho. Para o teste isométrico, foi padronizada uma angulação de 60° de flexão de joelho, considerando 90° de flexão de joelho como sendo o ângulo de referência (Carvalho *et al.*, 2015). Para a análise estatística, foram considerados os valores normalizados (relativos ao peso do membro inferior dominante avaliado) de média de pico torque (PT) e trabalho total (TT).

Análise estatística

Foram utilizados para análise os pacotes estatísticos *SPSS Statistics* para *Windows*, Versão 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA) e *MedCalc* para *Windows*, versão 15.0 (MedCalc Software, Ostend, Bélgica).

A distribuição dos dados e a homogeneidade das variâncias foram verificadas pelos testes *Kolmogorov-Smirnov* e *Levene*, respectivamente, após o qual os testes *t de Student* ou *Kruskall-Wallis* com *posthoc* de *Mann Whitney* foram utilizados, conforme apropriado, para comparação entre os grupos, dada a característica não homogênea das variâncias e, portanto, à impossibilidade de realização de uma análise de variância. Os dados foram apresentados em média±desvio padrão e o nível de significância adotado para um teste bicaudal foi estabelecido em 0,02 pelo ajuste de Bonferroni para comparações múltiplas por pares.

A análise estatística para correlação avaliou o grau de associação entre variáveis-desfecho por meio do teste de correlação parcial, considerando o sexo e/ou IMC como as variáveis a serem controladas. A força da correlação pelos coeficientes *r* foram interpretados usando as seguintes diretrizes: 0,00 a 0,19 = nenhuma a muito baixa, 0,20 a 0,39 = baixa, 0,40 a 0,69 = moderada, 0,70 a 0,89 = alta e 0,90 a 1,00 = muito alta (Weber e Lamb, 1970).

A análise da curva *Receiver operating characteristic* (ROC) foi utilizada para verificar a acurácia das citocinas em discriminar o fenótipo obeso metabolicamente não saudável (≥ 3 critérios para SM associado à RI) e os seus respectivos pontos de corte, baseada em uma classificação dicotomizada (0=ausência ou ;1=presença). A especificidade e a sensibilidade, o intervalo de confiança (IC) e o erro padrão (EP) foram determinados e um valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

Um tamanho de amostra de 13 indivíduos por grupo foi calculada através do pacote estatístico *GPower* Versão 3.1.3 (Franz Faul Universität Kiel, Alemanha) considerando-se a família dos testes *t* (testes de *Wilcoxon* ou *Mann-Whitney*), considerando um teste bicaudal, um tamanho de efeito de 0,95, nível de significância de 0,05 e um poder da amostra de 80%.

Ao final das coletas, foram identificados valores faltantes para pressão arterial (1), circunferência abdominal (6), $VO_{2\text{pico}}$ no TECP (1) e força e resistência musculares (1). Todos eles foram tratados como dados faltantes, não tendo sido substituídos pela

média do respectivo grupo, tanto para as análises comparativas quanto para as de correlação.

Resultados

Características da amostra e diferenças entre grupos

Todos os voluntários incluídos na amostra final apresentavam função pulmonar normal e, mais precisamente, não apresentavam sinais de obstrução ao fluxo aéreo dada pela razão entre o volume expiratório forçado no primeiro segundo e a capacidade vital forçada de $0,83 \pm 0,05$. Além disso, os grupos GE, GOS e GONS, respectivamente, demonstraram ter similares médias de idade (Tabela 1) e nível de atividade física dada pelo escore no questionário de Baecke (média absoluta de $6,30 \pm 1,62$, $5,98 \pm 1,35$, $6,25 \pm 1,38$ de um escore máximo de 15, sendo que quanto maior o escore, maior o nível de atividade física nas atividades de trabalho, lazer e esportivas). A aplicação do questionário de Baecke, para o qual ainda não é estabelecido um ponto de corte para caracterização de sedentarismo, além de o um critério de inclusão estabelecido em uma duração inferior a 150 minutos por semana de atividade física regular e estruturada, nos permite afirmar que os grupos analisados no estudo foram, ao menos, homogêneos com relação ao nível de atividade física e que este componente não parece ter influenciado os nossos achados.

A Tabela 1 lista as principais características dos grupos estudados. Como esperado, ambos GOS e GONS apresentaram maiores médias de porcentagem de MG, circunferência abdominal e menor porcentagem de MM quando comparados ao GE.

Com relação ao perfil metabólico, GOS diferiu de GE com respeito ao perfil insulínico, como demonstrado pelas maiores médias de insulinemia de jejum e do índice de RI (HOMA-IR), concentrações de LP e razão LP/ADP quando comparado a GE. Em contraste, GONS apresentou, além de um pior perfil glicêmico-insulínico, também maiores níveis de TGL e menores de HDL-c, como esperado, e maiores níveis de MSTN e LP/ADP quando comparado aos grupos GOS e GE. Como pode ser observado na Tabela 1, os níveis de TNF- α e ADP não diferiram entre os grupos, sendo que os níveis de LP parecem ter ditado as diferenças entre as médias de LP/ADP entre os grupos. A Figura 1 representa a comparação entre os grupos com

relação aos níveis de MSTN e LP/ADP mas, desta vez, considerando os sexos feminino e masculino, separadamente, para que pudéssemos observar se haveria uma diferença sexo-dependente entre os biomarcadores estudados.

Surpreendentemente, ambos os grupos obesos (GOS e GONS), independentemente do perfil metabólico, apresentaram menor capacidade aeróbia expressa pelo $VO_{2\text{pico}}$ no TECP e menor força e resistência musculares, expressas pelas variáveis PT e TT, respectivamente, e todos os grupos apresentaram médias de gasto energético basal (RER) equivalentes.

Tabela 1. Características antropométricas e de composição corporal, metabólicas e de capacidade aeróbia e função muscular entre os grupos GE, GOS e GONS.

	GE (n=24) M=12/H=12	GOS (n=16) M=10/H=6	GONS (n=21) M=8/H=13
Características antropométricas e de composição corporal			
Idade (anos)	32±5	35±5	33±6
IMC (kg·m ⁻²)	22,6±2,3	40,3±8,2*	40,9±5,7 [#]
Circunferência Abdominal (cm)	76,9±8,9	110,2±11,8*	115,1±15,4 [#]
MG (%)	23,8±7,1	41,8±7,9*	39,1±8,0 [#]
MM (%)	72,3±6,8	54,6±6,9*	57,9±7,5 [#]
Perfil metabólico e inflamatório			
Glicemia (mg/dL)	91,8±6,9	89,5±2,1	101,2±14,5 ^{#&}
Insuliemia (uU/mL)	6,2±1,8	10,5±3,1*	23,1±8,1 ^{#&}
HOMA-IR	1,44±0,39	2,33±0,76*	5,91±3,08 ^{#&}
QUICKI	0,37±0,02	0,34±0,02*	0,30±0,01 ^{#&}
TGL (mg/dL)	92,0±28,5	105,2±43,0	231,2±194,2 ^{#&}
HDL-c (mg/dL)	52,2±11,7	44,9±8,9	38,9±6,9 ^{#&}
MSTN (pg/mL)	393,2±32,0	405,5±32,5	686,9±88,5 ^{#&}
LP (pg/mL)	541,4±72,7	1017,7±111,2*	1203,1±103,2 [#]
ADP (ng/mL)	568,3±43,7	504,1±41,8	520,5±43,9
LP/ADP (pg/ng)	0,95±0,09	1,97±0,09*	2,33±0,11 ^{#&}
TNF-α (pg/mL)	27,7±1,8	27,4±2,5	35,2±1,9
Capacidade aeróbia, gasto energético e função muscular			
VO _{2pico} (mL.kg ⁻¹ .min ⁻¹)	31,8±5,5	21,4±4,2*	19,8±3,2 [#]
RER	0,85±0,11	0,85±0,08	0,89±0,09
PT _{rel} (N.m.kg ⁻¹)	249,1±40,1	174,5±46,1*	178,8±49,6 [#]
TT _{rel} (J.kg ⁻¹)	181,5±37,3	122,3±25,6*	128,9±37,5 [#]

Dados apresentados em média ± desvio padrão. M, Mulheres; H, Homens; IMC, índice de massa corpórea; MG, massa gorda; MM, massa magra; HOMA-IR, modelo de avaliação da homeostase (índice de resistência insulínica); QUICKI, índice de sensibilidade insulínica; TGL, triglicerídeos; HDL-c, lipoproteína de alta densidade; MSTN, miostatina; LP, leptina; ADP, adiponectina; TNF-α, fator de necrose tumoral α; PT_{rel}, média de pico de torque isométrico relativo ao peso do membro dominante; TT_{rel}, trabalho total isocinético relativo ao peso do membro dominante; RER, quociente respiratório de VCO₂/VO₂ representando o gasto energético basal; VO_{2pico}, pico de consumo de oxigênio no TECP. Testes de *Kruskal-Wallis* com posthoc de *Mann-Whitney* ou teste *t de Student* (ajuste de Bonferroni: valor de p considerado significativo se <0.02). *Diferença significativa entre GOS vs GE, [#]Diferença significativa entre GONS vs GE e [&]Diferença significativa entre GONS vs GOS.

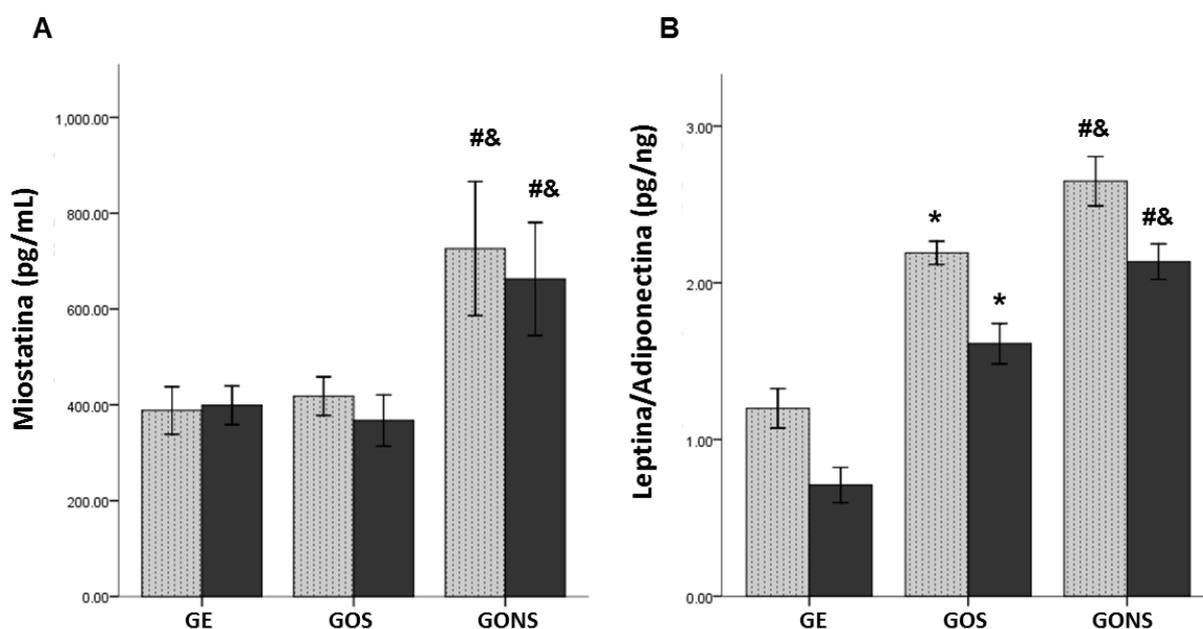


Figura 1. Comparação entre os grupos, de acordo com o sexo, para os biomarcadores miostatina e razão leptina/adiponectina. Dados apresentados em média \pm Erro padrão. Grupos: Eutróficos (GE), obesos metabolicamente saudáveis (GOS) e obesos metabolicamente não saudáveis (GONS). A) Diferença entre grupos com relação às concentrações séricas de miostatina para mulheres (em cinza) e homens (em preto); B) Diferença entre grupos com relação à razão entre as concentrações séricas de leptina/adiponectina para mulheres (em cinza) e homens (em preto). Testes de *Kruskall-Wallis* com posthoc de *Mann-Whitney* ou teste *t de Student* (ajuste de Bonferroni: valor de p considerado significativo se <0.02). *Diferença significativa entre GOS vs GE, #Diferença significativa entre GONS vs GE e &Diferença significativa entre GONS vs GOS.

Associações entre citocinas, metabolismo, capacidade aeróbia e função muscular

Todas as correlações foram ajustadas por sexo, idade e/ou IMC. Não foi demonstrada nenhuma associação estatisticamente significativa entre os níveis séricos de MSTN e medidas de adiposidade (i.e. IMC, MG e circunferência abdominal). Em contrapartida, foram encontradas baixas e positivas associações entre MSTN e o número de critérios para SM ($r=0,26$, $p=0,03$), insulinemia ($r=0,25$, $p=0,04$) e TNF- α ($r=0,39$, $p=0,003$) e baixas a moderadas correlações negativas entre

MSTN e ADP ($r=-0.40$, $p=0,02$) e o índice QUICKI de sensibilidade insulínica ($r=-0,27$, $p=0,03$).

A razão LP/ADP, um marcador específico do metabolismo adiposo, associou-se positivamente com o percentual de MG ($r=0,85$, $p<0,001$) e IMC ($r=0,79$, $p<0,001$) assim como com HDL-c ($r=-0,35$, $p=0,004$), glicemia ($r=0,27$, $p=0,02$) e número de critérios para SM ($r=0,44$, $p<0,001$), HOMA-IR ($r=0,28$, $p=0,02$) e QUICKI ($r=-0,49$, $p<0,001$).

Uma moderada e negativa correlação foi encontrada entre a concentração de MSTN e a MM apendicular, resultante da soma da massa muscular de membros inferiores e superiores ($r=-0,40$, $p=0,01$), e uma associação negativa não significativa ($p=0,06$) entre MSTN e MM total, que compreende a massa apendicular adicionada à massa muscular de tronco. Apesar da associação com a MM apendicular, os níveis de MSTN não se correlacionaram de maneira estatisticamente significativa com as variáveis de força e resistência muscular bem como com a capacidade aeróbia ($p>0,05$).

Finalmente, uma moderada correlação foi encontrada entre LP/ADP e a porcentagem de MM total ($r=-0,44$, $p<0,001$) e apendicular ($r=-0,52$, $p<0,001$) em relação ao peso corporal. Apesar da significativa associação com a MM, LP/ADP também não esteve associada à função muscular, porém correlacionou-se significativamente com a capacidade aeróbia (i.e. $VO_{2\text{pico}}$, $r=-0,35$, $p=0,01$). Não foi encontrada nenhuma correlação estatisticamente significativa entre os biomarcadores e o gasto energético basal.

Acurácia e pontos de corte para identificação do fenótipo metabólico não saudável

Como podemos observar na Figura 2, a razão entre as adipocinas LP e ADP assim como a miocina MSTN demonstraram ser acuradas para discriminar o fenótipo metabólico não saudável, ou seja, a presença de ≥ 3 critérios para SM e RI: para a MSTN [área abaixo da curva, AAC (95% IC) = 0,71 (0,57 – 0,82), EP=0,08, $p=0,01$; sensibilidade= 66,7% e especificidade= 84,4%], o ponto de corte ótimo foi $>505,1$ pg/mL; e para a LP/ADP [área abaixo da curva, AAC (95% IC) = 0,90 (0,79 – 0,96), EP=0,04, $p<0,001$; sensibilidade= 66,7% e especificidade= 97,5%], o ponto de corte ótimo calculado foi >2.34 pg/ng.

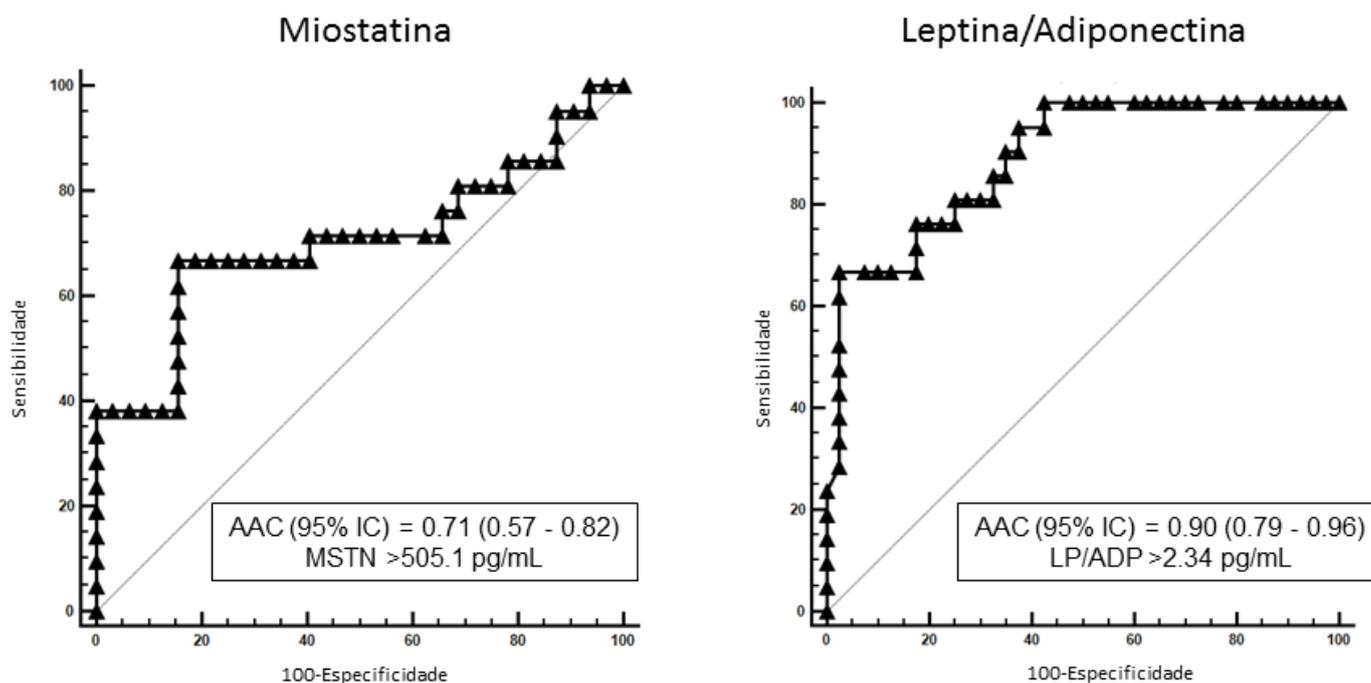


Figura 2. Análise da curva *Receiver operating characteristic* (ROC) demonstrando a acurácia e os pontos de corte para discriminação do fenótipo metabólico não saudável a partir das concentrações séricas das citocinas miostatina e razão leptina/adiponectina. AAC, área abaixo da curva; IC, intervalo de confiança; MSTN, miostatina; LP, leptina; ADP, adiponectina.

Discussão

Para o nosso conhecimento, este é o primeiro estudo a abranger biomarcadores em associação com aspectos clínicos de função muscular, gasto energético e capacidade aeróbia em humanos obesos com ou sem distúrbios metabólicos.

Além disso, não consta na literatura um critério de anormalidade para as citocinas estudadas. Os principais achados deste estudo foram: 1) Elevados níveis de MSTN estão associados à presença de componentes da SM e RI, inflamação sistêmica e reduzida massa muscular; 2) Elevados níveis de LP/ADP estão associados positivamente com parâmetros de adiposidade, ou seja, parâmetros simples de obesidade como o IMC e a MG, além de estarem associados à SM e à RI; 3) Nenhum destes marcadores biológicos está associado ao gasto energético basal nem à função muscular, sendo que apenas a razão LP/ADP está negativamente

associada à capacidade aeróbia, independentemente do sexo, idade e IMC; 4) MSTN e LP/ADP são acurados para discriminar o perfil metabólico não saudável e foi possível identificar pontos de corte a partir dos quais futuros estudos devem se basear para definição de um nível sérico anormal desses marcadores biológicos nesta população.

Nosso estudo confirmou que uma elevada concentração de MSTN está associada a um pior perfil metabólico em adultos jovens, demonstrado pela também elevada concentração de LP/ADP bem como pior perfil glicêmico-insulínico e lipídico no GONS, corroborando prévias associações encontradas entre esta miocina, SM e RI em estudos experimentais animais.

Um estudo prévio de Guo e colaboradores (Guo *et al.*, 2009) demonstrou que a depleção do gene da MSTN esteve associada a um reduzido acúmulo de tecido adiposo e do tamanho dos adipócitos, melhor captação de glicose e metabolismo insulínico, maior resistência ao desenvolvimento da obesidade induzida geneticamente ou por dieta hipercalórica e, finalmente, a menores concentrações de leptina e triglicerídeos. Além disso, também foi demonstrado que a inibição da MSTN resultou em uma redução da adiposidade subcutânea (Zhao *et al.*, 2005; Feldman *et al.*, 2006) e infiltração adiposa intramuscular (Burgess *et al.*, 2011). Sugere-se que tais efeitos metabólicos benéficos ocorram, sobretudo, via modificações metabólicas em nível de sinalização insulínica tanto no tecido muscular quanto no tecido adiposo e hepático (Allen *et al.*, 2011). No entanto, a partir de achados observados em nível de composição corporal (i.e. redução da massa gorda) em ratos com depleção do gene que expressa a MSTN, a redução de tecido adiposo parece estar mais relacionada a um mecanismo indireto do aumento de tecido muscular metabolicamente ativo ou reduzida sinalização da MSTN muscular do que a um efeito direto no tecido adiposo propriamente dito (Bernardo *et al.*, 2010; Allen *et al.*, 2011; Elliott *et al.*, 2012).

Além disso, esta afirmação parece ser confirmada pelos níveis de MSTN e seu RNA mensageiro do receptor de membrana activina RIIB (ActRIIb) bastante menores nas células adiposas quando comparado com os seus níveis nas miofibrilas. A partir dessas afirmações, sugere-se que a contribuição biológica dos efeitos sistêmicos advindos do tecido adiposo seja muito inferior àqueles de origem muscular (Allen *et al.*, 2008).

Em humanos, um estudo prévio sugeriu uma associação positiva da MSTN com a obesidade em mulheres adultas (Hittel *et al.*, 2009). No entanto, esta associação pode ter sido, neste e em outros estudos visando a investigação das ações e efeitos desta miocina, confundida pela frequente presença de distúrbios de ordem metabólica com a obesidade. Tal estudo, por exemplo, comparou um grupo de mulheres com obesidade mórbida com um grupo de mulheres com obesidade de grau leve e, no primeiro grupo, o índice de RI também se encontrava significativamente aumentado. Assim, porque o mencionado estudo não avaliou grupos pareados pelo grau de obesidade (e.g. IMC) ou pareados pelo nível de sensibilidade à insulina, não é possível concluir através deste que o aumento dos níveis de MSTN sejam resultantes da obesidade por si só. Nesse sentido, nosso estudo tem uma grande relevância em ter avaliado grupos homogêneos com relação aos parâmetros de obesidade, mas com perfil metabólicos distintos.

Neste mesmo sentido, Hittel e colaboradores (Hittel *et al.*, 2010) demonstraram que os níveis de MSTN reduziram, e os de sensibilidade insulínica e capacidade aeróbia aumentaram, em homens adultos com sobrepeso após um treinamento aeróbio de seis meses. Estas alterações foram independentes de outros importantes fatores, como o IMC, a MM e a MG, que permaneceram iguais após o período de intervenção. Os mesmos autores demonstraram que os níveis séricos de outras citocinas, tais como resistina, ADP, LP e TNF- α e a RI não se alteraram em modelos animais em tratamento com MSTN sintética. A partir disso, pode-se pressupor que a expressão da miostatina e as demais citocinas tenham sensibilidades e comportamentos distintos a mudanças (pato) fisiológicas e que estas tenham uma também distinta capacidade ou acurácia em identificar um perfil metabólico não saudável.

Adicionalmente, a MSTN parece também afetar a captação de glicose através de seu efeito no aumento da expressão do fator de necrose tumoral α (Moller, 2000). Demonstrou-se previamente que a inibição de TNF- α em ratos elicitou uma melhor tolerância à glicose e reduziu os níveis desta citocina pró-inflamatória não somente em nível muscular, como também adiposo (Wilkes *et al.*, 2009). Inversamente, maiores níveis de TNF- α parecem induzir uma maior resistência à ação insulínica e declínio de massa muscular (Visser *et al.*, 2002; Xu *et al.*, 2003) pela redução do metabolismo proteico, direta ou indiretamente via RI (Guillet *et al.*, 2012), perpetuando, dessa forma, o ciclo vicioso de alterações fisiológicas inflamação-metabolismo-músculo.

Um estudo prévio (Kowalska *et al.*, 2008) demonstrou que, independentemente da sensibilidade insulínica, os níveis de ADP e outros marcadores inflamatórios foram capazes de prever o escore diagnóstico de SM em adultos jovens com sobrepeso. Além disso, os níveis dos marcadores inflamatórios interleucina 6 e 18, proteína-C-reativa (PCR) e receptores solúveis de TNF- α (sTNFR1 e sTNFR2) estiveram aumentados, e níveis de ADP reduzidos, em indivíduos com SM do que naqueles saudáveis sem SM. Este mesmo índices demonstraram associações significativas com o número de critérios para SM baseado no mesmo critério adotado neste estudo.

Dessa forma, a lipotoxicidade relacionada ao fenótipo metabolicamente não saudável consiste do acúmulo de lípidos que, não tendo sido “armazenados”, migram para os tecidos periféricos e órgãos. No tecido muscular, este excesso de gordura se deposita, muito frequentemente, no espaço intramuscular, onde causa importantes prejuízos ao adequado funcionamento celular e biomecânicos das miofibrilas (Marcus *et al.*, 2012), processo este que contribui substancialmente à fisiopatologia da inflamação relacionada à obesidade, ou metainflamação como é usualmente denominada, da RI e, por conseguinte, da Diabetes Mellitus tipo 2 (Guillet *et al.*, 2012).

Contrariamente à maioria dos estudos, Han e cols (Han *et al.*, 2014) demonstraram que os níveis de MSTN foram menores em indivíduos idosos com Diabetes Mellitus e estiveram negativamente associados ao número de critérios para SM. Além disso, o grupo de indivíduos com alta concentração de MSTN apresentou menor probabilidade de apresentar SM, obesidade abdominal, baixos níveis de HDL, altos níveis de TGL e Diabetes, após ajuste pela idade e sexo, sugerindo que altos níveis de MSTN estão associados a um perfil metabólico mais favorável. Pode-se suspeitar de que estas diferentes associações se devam, sobretudo, à população estudada, qual seja, uma população idosa e de origem étnica diferente das estudadas na maioria das evidências da literatura (i.e. asiáticos vs caucasianos).

Em virtude a MSTN agir, comprovadamente em modelos experimentais, na inibição do crescimento muscular (Artaza *et al.*, 2005; Allen *et al.*, 2011) e, baseado em inúmeros outros fatores explanados abaixo, foi hipotetizado neste estudo que indivíduos com SM e RI e, portanto, com maiores níveis de MSTN, teriam menor percentual de MM do que os aqueles sem distúrbios metabólicos alterando, por conseguinte, a função muscular, o dispêndio energético basal e a capacidade aeróbia (i.e. a máxima capacidade de captação de oxigênio pelo músculo). Intuitivamente, esses prejuízos acarretariam em menor capacidade funcional ou, ao menos, em maior

exigência fisiológica para realização de atividades equivalentes às realizadas por indivíduos obesos, porém saudáveis. Em resposta à excessiva demanda e relativa isquemia muscular, o conseqüente aumento de metabólitos circulantes é conhecido por causar uma exacerbada resposta cardiovascular (Mitchell *et al.*, 1983), assim como os níveis de leptina circulante demonstraram ser associados a um maior estresse cardiovascular e autonômico induzido pelo exercício em mulheres jovens obesas (Brydon, 2011). Estes seriam refletidos por uma inapropriada ou insuficiente resposta a estímulos externos, como a hipertensão induzida pelo exercício, exacerbada resposta cronotrópica e/ou reduzida capacidade aeróbia em indivíduos obesos e não saudáveis metabolicamente.

Além disso, foi previamente demonstrado que (Stuart *et al.*, 2013), em adultos obesos e sedentários, existe uma menor proporção de fibras do tipo I, as denominadas fibras oxidativas, do que fibras do tipo II, as denominadas glicolíticas. Interessantemente, as fibras do tipo I são mais sensíveis à ação insulínica (Lillioja *et al.*, 1987) e a expressão da MSTN acontece majoritariamente nas fibras do tipo II, aquelas menos sensíveis à insulina e de onde é oriunda a maior parte da (hipo)trofia muscular (Carlson *et al.*, 1999). Na mesma linha de raciocínio, Stuart e colaboradores (Stuart *et al.*, 2013) encontraram uma associação positiva entre a proporção de fibras do tipo I com a maior responsividade à insulina e a captação máxima de oxigênio. Além disso, receptores de insulina e transportadores de glicose estiveram marcadamente reduzidos em fibras do tipo I de indivíduos com SM. Além disso, de modo geral, indivíduos obesos parecem ter menor capacidade oxidativa e conteúdo mitocondrial (He *et al.*, 2001) o que deveria, supostamente, prejudicar ainda mais a capacidade muscular e aeróbia de indivíduos obesos com distúrbios metabólicos. Com relação ao gasto energético basal, é conhecido que o sistema musculoesquelético é o tecido de maior demanda metabólica, requerendo aproximadamente 30% do gasto energético total em repouso, podendo chegar a até 90% durante exercício intensos (Zurlo *et al.*, 1990). Assim, hipotetizamos que uma menor quantidade muscular ocorreria de modo concomitante a uma reduzida taxa metabólica basal, uma menor força e resistência musculares, além de uma reduzida capacidade aeróbia.

Em suma, adultos obesos no grupo GONS apresentariam, em virtude dos maiores níveis de LP/ADP e MSTN, menos fibras do tipo I e capacidade oxidativa do que os indivíduos em GOS e, portanto, menor capacidade aeróbia, menor taxa

metabólica basal e menor quantidade (massa) e qualidade (força e resistência) muscular, o que não pôde ser confirmado pelos nossos achados. Neste sentido, porque indivíduos adultos obesos estão mais frequentemente expostos a atividades cotidianas que exijam o suporte do próprio peso corporal, do inglês o chamado “*weight-bearing effect*”, é possível que isto promova uma resposta adaptativa, sobretudo da musculatura respiratória e apendicular de membros inferiores, que retarda a perda de fibras oxidativas na fase adulta que, invariavelmente, ocorrerá em uma fase de vida avançada.

O estudo de Guo e cols (Guo *et al.*, 2009) explica, de certo modo, os nossos achados de ausência de diferença entre os grupos GOS e GONS. Esses autores demonstraram que baixos níveis de MSTN estiveram associados com menores taxas metabólicas. Contrariamente, altos níveis de MSTN estariam associados a maiores taxas basais, a fim de contrabalancear o efeito da perda da MM induzida pela MSTN. Também foi sugerido que os efeitos benéficos advindos da inibição de MSTN estariam associados ao metabolismo muscular e glicêmico-insulínico e não ao aumento da atividade metabólica basal. Outros também encontraram (Mouisel *et al.*, 2014) que na presença de elevados níveis de MSTN, independentemente da composição de fibras, foi observada uma reduzida capacidade de fosforilação oxidativa muscular. Em contrapartida, foi também encontrada uma reduzida razão de troca respiratória, sugerindo uma preferência pelo metabolismo lipídico para geração de energia em detrimento da glicólise; uma maior capacidade aeróbia; mais eficiente economia energética da atividade; e, finalmente, menor lactacidemia pós-exercício. Tais alterações seriam, em última instância, responsáveis pela maior resistência e menor fadigabilidade muscular, favorecendo um melhor desempenho na atividade para contrapor a menor quantidade de tecido muscular metabolicamente ativo.

Assim, no sentido de minimizar os danos quando da hipotrofia induzida pelas citocinas secretadas em obesos com SM e RI, mudanças benéficas no metabolismo glicêmico-insulínico - as quais parecem ser superiores àquelas em nível de metabolismo oxidativo - convergem para a redução do acúmulo de tecido adiposo e adaptabilidade do metabolismo muscular para melhorar a eficiência energética global. Em concordância com esses e outros (Van Guilder *et al.*, 2006), nosso estudo demonstrou que não houve diferença no gasto energético basal e capacidade aeróbia, apesar do perfil metabólico e inflamatório desfavorável. Estes achados podem, perfeitamente, ser explicados pelo mencionado mecanismo de tentativa de adaptação

muscular à inibição de hipertrofia muscular, sobretudo na fase adulta quando o efeito protetor da idade e do tempo de obesidade ainda exerceria um papel atenuador no desenvolvimento de comprometimentos funcionais mais relevantes nesta população.

Outro importante fator a ser mencionado que potencialmente explica a ausência de diferenças encontradas na função muscular é de que esta é intrinsecamente dependente de outros componentes que, além da massa muscular, contribuem para a geração de força, tais como os componentes centrais e neuromusculares, bem como a morfologia e arquitetura musculares, dentre outros (Clark e Manini, 2012).

Dito isso, um relevante número de evidências aponta para uma promissora terapia adjuvante que consiste na inibição da MSTN para impedir ou reverter o desenvolvimento de distúrbios metabólicos, como a SM e a Diabetes, em indivíduos obesos já na fase adulta. Uma importante condição denominada obesidade-sarcopênica, poderia ser igualmente evitada quando do envelhecimento dessa população. A obesidade sarcopênica também fora previamente relacionada a maiores concentrações de marcadores inflamatórios, tais como TNF- α , interleucina 6, LP e MSTN e a menores concentrações de ADP e IL-15 (Sakuma e Yamaguchi, 2013). Assim, a inibição da MSTN promoveria hipertrofia muscular e induziria uma melhora do metabolismo como um todo, sobretudo da homeostase glicêmico-insulínica. Entretanto, não se conhece em que nível a hipertrofia muscular poderia causar redução do acúmulo de tecido adiposo e, portanto, da obesidade em si, e na melhora da capacidade funcional global.

Algumas limitações devem ser mencionadas. Estes achados não podem ser extrapolados para a população idosa e indivíduos fisicamente ativos. Além disso, porque não mensuramos componentes antagonistas da MSTN, como a folistatina, não é possível saber o papel que estes exerceriam nas associações encontradas entre a MSTN e os principais desfechos estudados. A última limitação do estudo é que não podemos inferir causalidade entre mudanças nas concentrações das citocinas e mudanças na composição corporal, massa e função musculares e capacidade aeróbia, dada a natureza transversal de nosso estudo.

Conclusão

Em conclusão, em adultos jovens, elevados níveis de miostatina e razão leptina/adiponectina estão associados à presença da SM e RI, inflamação sistêmica

de baixa intensidade e inversamente associados à massa muscular. A razão leptina/adiponectina está relacionada à parâmetros de obesidade por si só e à capacidade aeróbia, enquanto a miostatina não está associada a esses parâmetros. Além disso, nenhum dos biomarcadores estudados está associado ao dispêndio energético basal nem à função muscular, a saber a força e a resistência musculares de membro inferior em adultos jovens obesos. Finalmente, foi possível identificar pontos de corte para adipocinas e miocinas em identificar o fenótipo metabolicamente não saudável em adultos jovens obesos.

Referências

ALLEN, D. L. et al. Myostatin, activin receptor IIb, and follistatin-like-3 gene expression are altered in adipose tissue and skeletal muscle of obese mice. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 294, n. 5, p. E918-27, May 2008. ISSN 0193-1849 (Print).

ALLEN, D. L.; HITTEL, D. S.; MCPHERRON, A. C. Expression and function of myostatin in obesity, diabetes, and exercise adaptation. **Med Sci Sports Exerc**, v. 43, n. 10, p. 1828-35, Oct 2011. ISSN 0195-9131.

ARTAZA, J. N. et al. Myostatin inhibits myogenesis and promotes adipogenesis in C3H 10T(1/2) mesenchymal multipotent cells. **Endocrinology**, v. 146, n. 8, p. 3547-57, Aug 2005. ISSN 0013-7227 (Print).

BELLANGER, T. M.; BRAY, G. A. Obesity related morbidity and mortality. **J La State Med Soc**, v. 157 Spec No 1, p. S42-9; quiz 49, Jan 2005. ISSN 0024-6921 (Print).

BERNARDO, B. L. et al. Postnatal PPARdelta activation and myostatin inhibition exert distinct yet complimentary effects on the metabolic profile of obese insulin-resistant mice. **PLoS One**, v. 5, n. 6, p. e11307, Jun 25 2010. ISSN 1932-6203.

BRYDON, L. Adiposity, leptin and stress reactivity in humans. **Biological Psychology**, v. 86, n. 2, p. 114-120, 2011. ISSN 1873-6246. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsycho.2010.02.010>.

BUCCI, L. et al. Circulating levels of adipokines and IGF-1 are associated with skeletal muscle strength of young and old healthy subjects. **Biogerontology**, v. 14, p. 261-272, 2013.

BUEHRING, B.; BINKLEY, N. Myostatin--the holy grail for muscle, bone, and fat? **Curr Osteoporosis Rep**, v. 11, n. 4, p. 407-14, Dec 2013. ISSN 1544-1873.

BURGESS, K. et al. Effect of myostatin depletion on weight gain, hyperglycemia, and hepatic steatosis during five months of high-fat feeding in mice. **PLoS One**, v. 6, n. 2, p. e17090, Feb 24 2011. ISSN 1932-6203.

CARLSON, C. J.; BOOTH, F. W.; GORDON, S. E. Skeletal muscle myostatin mRNA expression is fiber-type specific and increases during hindlimb unloading. **Am J Physiol**, v. 277, n. 2 Pt 2, p. R601-6, Aug 1999. ISSN 0002-9513 (Print)

CARVALHO, L. P. et al. Prediction of Cardiorespiratory Fitness by the Six-Minute Step Test and Its Association with Muscle Strength and Power in Sedentary Obese and Lean Young Women: A Cross-Sectional Study. **Plos One**, v. 10, n. 12, p. e0145960-e0145960, 2015. Disponível em: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0145960>.

CLARK, B. C.; MANINI, T. M. Dynapenia and Aging: An Update. **Nutrition**, v. 28, n. 5, p. 495-503, May 2012. ISSN 0899-9007.

DONG, J. et al. Inhibition of myostatin in mice improves insulin sensitivity via irisin-mediated cross talk between muscle and adipose tissues. **Int J Obes (Lond)**, v. 40, n. 3, p. 434-42, Mar 2016. ISSN 0307-0565.

DSCHIETZIG, T. B. Myostatin - From the Mighty Mouse to cardiovascular disease and cachexia. **Clin Chim Acta**, v. 433, p. 216-24, Jun 10 2014. ISSN 0009-8981.

ELLIOTT, B. et al. The central role of myostatin in skeletal muscle and whole body homeostasis. **Acta Physiol (Oxf)**, v. 205, n. 3, p. 324-40, Jul 2012. ISSN 1748-1708.

Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). **Jama**, v. 285, n. 19, p. 2486-97, May 16 2001. ISSN 0098-7484 (Print).

FELDMAN, B. J. et al. Myostatin modulates adipogenesis to generate adipocytes with favorable metabolic effects. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 103, n. 42, p. 15675-80, Oct 17 2006. ISSN 0027-8424 (Print).

GARCIA, L. M. T. F., ALEX ANTONIO; RIBEIRO, EVELYN HELENA CORGOSINHO; OSTI, RENATA FONSECA INÁCIO. Validation of two questionnaires to assess physical activity in adults. **Rev. Bras. Ativ. Fís. Saúde**, v. 18, n. 3, 2013.

GAYOSO-DIZ, P. et al. Insulin resistance (HOMA-IR) cut-off values and the metabolic syndrome in a general adult population: effect of gender and age: EPIRCE cross-sectional study. **BMC Endocr Disord**, v. 13, p. 47, Oct 16 2013. ISSN 1472-6823.

GREENBERG, A. S.; OBIN, M. S. Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. **A J Clin Nutr.**, v. 83, p. 461-465, 2006. ISSN 0002-9165 (Print).

GREGOR, M. F.; HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammatory mechanisms in obesity. **Annual review of immunology**, v. 29, p. 415-445, 2011. ISSN 1545-3278 (Electronic)\n0732-0582 (Linking).

GUILLET, C. et al. Impaired protein metabolism: Interlinks between obesity, insulin resistance and inflammation. **Obesity Reviews**, v. 13, n. December, p. 51-57, 2012. ISSN 1467-789X (Electronic)\r1467-7881 (Linking).

GUO, T. et al. Myostatin inhibition in muscle, but not adipose tissue, decreases fat mass and improves insulin sensitivity. **PLoS One**, v. 4, n. 3, p. e4937, 2009. ISSN 1932-6203.

HAN, D. S. et al. Serum myostatin is reduced in individuals with metabolic syndrome. **PLoS One**, v. 9, n. 9, p. e108230, 2014. ISSN 1932-6203.

HE, J.; WATKINS, S.; KELLEY, D. E. Skeletal muscle lipid content and oxidative enzyme activity in relation to muscle fiber type in type 2 diabetes and obesity. **Diabetes**, v. 50, n. 4, p. 817-23, Apr 2001. ISSN 0012-1797 (Print).

HITTEL, D. S. et al. Myostatin decreases with aerobic exercise and associates with insulin resistance. **Med Sci Sports Exerc**, v. 42, n. 11, p. 2023-9, Nov 2010. ISSN 0195-9131.

HITTEL, D. S. et al. Increased secretion and expression of myostatin in skeletal muscle from extremely obese women. **Diabetes**, v. 58, n. 1, p. 30-8, Jan 2009. ISSN 0012-1797.

KOWALSKA, I. et al. Insulin resistance, serum adiponectin, and proinflammatory markers in young subjects with the metabolic syndrome. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 57, p. 1539-1544, 2008.

LEAL, V. D. O.; MAFRA, D. Adipokines in obesity. **Clinica Chimica Acta**, v. 419, p. 87-94, 2013. ISSN 9783805584296. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2013.02.003>.

LEE, D. C. et al. Mortality trends in the general population: the importance of cardiorespiratory fitness. **J Psychopharmacol**, v. 24, n. 4 Suppl, p. 27-35, Nov 2010. ISSN 0269-8811.

LEE, Y.-H.; PRATLEY, R. E. The evolving role of inflammation in obesity and the metabolic syndrome. **Current diabetes reports**, v. 5, p. 70-75, 2005. ISSN 1534-4827 (Print) 1534-4827 (Linking).

LI, F. et al. Myokines and adipokines: Involvement in the crosstalk between skeletal muscle and adipose tissue. **Cytokine Growth Factor Rev**, v. 33, p. 73-82, Feb 2017. ISSN 1359-6101.

LILLIOJA, S. et al. Skeletal muscle capillary density and fiber type are possible determinants of in vivo insulin resistance in man. **J Clin Invest**, v. 80, n. 2, p. 415-24, Aug 1987. ISSN 0021-9738 (Print).

LUMENG, C. N.; SALTIEL, A. R. Review series Inflammatory links between obesity and metabolic disease. **Life Sciences**, v. 121, n. 6, p. 2111-2117, 2011. ISSN 0021-9738.

MARCUS, R. L. et al. Intramuscular adipose tissue, sarcopenia, and mobility function in older individuals. **Journal of Aging Research**, v. ID 629637, p. doi: 10.1155/2012/629637-doi: 10.1155/2012/629637, 2012.

MCPHERRON, A. C. METABOLIC FUNCTIONS OF MYOSTATIN AND GDF11. **Immunol Endocr Metab Agents Med Chem**, v. 10, n. 4, p. 217-231, Dec 2010. ISSN 1871-5222 (Print).

MCPHERRON, A. C.; LAWLER, A. M.; LEE, S. J. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member. **Nature**, v. 387, n. 6628, p. 83-90, May 01 1997. ISSN 0028-0836 (Print).

MITCHELL, J. H.; KAUFMAN, M. P.; IWAMOTO, G. A. The exercise pressor reflex: its cardiovascular effects, afferent mechanisms, and central pathways. **Annu Rev Physiol**, v. 45, p. 229-42, 1983. ISSN 0066-4278 (Print).

MOLLER, D. E. Potential role of TNF-alpha in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. **Trends Endocrinol Metab**, v. 11, n. 6, p. 212-7, Aug 2000. ISSN 1043-2760 (Print).

MOUISEL, E. et al. Myostatin is a key mediator between energy metabolism and endurance capacity of skeletal muscle. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 307, n. 4, p. R444-54, Aug 15 2014. ISSN 0363-6119.

PARK, J. J. et al. GRB14, GPD1, and GDF8 as potential network collaborators in weight loss-induced improvements in insulin action in human skeletal muscle. **Physiol Genomics**, v. 27, n. 2, p. 114-21, Oct 11 2006. ISSN 1094-8341.

PATEL, K.; MACHARIA, R.; AMTHOR, H. Molecular mechanisms involving IGF-1 and myostatin to induce muscle hypertrophy as a therapeutic strategy for Duchenne muscular dystrophy. **Acta Myol**, v. 24, n. 3, p. 230-41, Dec 2005. ISSN 1128-2460 (Print).

PEDERSEN, B. K.; FEBBRAIO, M. A. Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 8, n. 8, p. 457-465, 2012. ISSN 1759-5029. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nrendo.2012.49>.

PEREIRA, C. A.; SATO, T.; RODRIGUES, S. C. New reference values for forced spirometry in white adults in Brazil. **J Bras Pneumol**, v. 33, n. 4, p. 397-406, Jul-Aug 2007. ISSN 1806-3713.

PHILLIPS, C. M. Metabolically healthy obesity: definitions, determinants and clinical implications. **Rev Endocr Metab Disord**, v. 14, n. 3, p. 219-27, Sep 2013. ISSN 1389-9155.

RODRIGUEZ, A. et al. Crosstalk between adipokines and myokines in fat browning. **Acta Physiol (Oxf)**, v. 219, n. 2, p. 362-381, Feb 2017. ISSN 1748-1708.

RYAN, A. S. et al. Aerobic exercise + weight loss decreases skeletal muscle myostatin expression and improves insulin sensitivity in older adults. **Obesity (Silver Spring)**, v. 21, n. 7, p. 1350-6, Jul 2013. ISSN 1930-7381.

SAKUMA, K.; YAMAGUCHI, A. Sarcopenic obesity and endocrinal adaptation with age. **International Journal of Endocrinology**, v. 2013, 2013. ISSN 1687-8337\n1687-8345.

SINGH, R.; BRAGA, M.; PERVIN, S. Regulation of brown adipocyte metabolism by myostatin/follistatin signaling. **Front Cell Dev Biol**, v. 2, p. 60, 2014. ISSN 2296-634x.

STUART, C. A. et al. Slow-twitch fiber proportion in skeletal muscle correlates with insulin responsiveness. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 98, n. 5, p. 2027-36, May 2013. ISSN 0021-972x.

TSIOGA, M. N. et al. Plasma myostatin is only a weak predictor for weight maintenance in obese adults. **Exp Clin Endocrinol Diabetes**, v. 123, n. 8, p. 466-72, Sep 2015. ISSN 0947-7349.

VAN GUILDER, G. P. et al. Influence of Metabolic Syndrome on Biomarkers of Oxidative Stress and Inflammation in Obese Adults. **Obesity**, v. 14, n. 12, p. 2127-2131, 2006.

VISSER, M. et al. Relationship of interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha with muscle mass and muscle strength in elderly men and women: the Health ABC Study. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, v. 57, n. 5, p. M326-32, May 2002. ISSN 1079-5006 (Print).

VOLAKLIS, K. A.; HALLE, M.; MEISINGER, C. Muscular strength as a strong predictor of mortality: A narrative review. **Eur J Intern Med**, v. 26, n. 5, p. 303-10, Jun 2015. ISSN 0953-6205.

WAGNER, K. R. et al. A phase I/II trial of MYO-029 in adult subjects with muscular dystrophy. **Ann Neurol**, v. 63, n. 5, p. 561-71, May 2008. ISSN 0364-5134.

WEBER, J. C.; LAMB, D. R. **Statistics and Research in Physical Education**. 1970. Disponível em: <http://www.amazon.com/Statistics-Research-Physical-Education-Weber/dp/B0043KCW1S>.

WILKES, J. J.; LLOYD, D. J.; GEKAKIS, N. Loss-of-function mutation in myostatin reduces tumor necrosis factor alpha production and protects liver against obesity-induced insulin resistance. **Diabetes**, v. 58, n. 5, p. 1133-43, May 2009. ISSN 0012-1797.

WISSE, B. E. The inflammatory syndrome: the role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity. **Journal of the American Society of Nephrology : JASN**, v. 15, n. 16, p. 2792-2800, 2004. ISSN 1046-6673 (Print)\n1046-6673 (Linking).

XU, H. et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. **J Clin Invest**, v. 112, n. 12, p. 1821-30, Dec 2003. ISSN 0021-9738 (Print).

ZHAO, B.; WALL, R. J.; YANG, J. Transgenic expression of myostatin propeptide prevents diet-induced obesity and insulin resistance. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 337, n. 1, p. 248-55, Nov 11 2005. ISSN 0006-291X (Print).

ZURLO, F. et al. Skeletal muscle metabolism is a major determinant of resting energy expenditure. **Journal of Clinical Investigation**, v. 86, n. 5, p. 1423-1427, 1990. ISSN 0021-9738. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC296885/> >.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E DESDOBRAMENTOS FUTUROS

O presente estudo pretende contribuir para a área de pesquisa no âmbito da obesidade e suas comorbidades associadas que predispõe indivíduos obesos a um maior risco de desenvolvimento de doenças crônicas e de mortalidade. Acreditamos que a melhor caracterização da população obesa, principalmente, nos permitirá intervir de forma mais efetiva em tais componentes para prevenção de complicações metabólicas e cardiovasculares futuras de maior magnitude.

Nossos achados nos permitem concluir que adultos jovens obesos com perfil metabólico desfavorável, quando comparados a indivíduos obesos saudáveis, apresentam preservadas aptidão cardiorrespiratória e função muscular. Mas sugere que estes, com o acúmulo das alterações ao longo dos anos (RI, desregulação dos ajustes autonômicos e aumento da miostatina com consequente influência na hipotrofia muscular, já observados neste estudo), tenderão a desenvolver prejuízos mais expressivos na ACR e na função muscular, com consequente declínio da funcionalidade. Estas alterações podem ser, na fase adulta jovem e meia idade, ainda “invisíveis” pelo efeito protetor da idade, que consiste no fato de os indivíduos serem mais ativos nas suas atividades cotidianas, terem uma maior quantidade de massa muscular e ACR mais preservada, os quais parecem prevenir ou atenuar potenciais prejuízos fisiológicos advindos de disfunções metabólicas já instaladas.

Achados até o presente são ainda escassos e contraditórios, sobretudo os oriundos de estudos longitudinais acompanhando desfechos-chave em populações apresentando ou não o fenótipo saudável. Assim, dada a relevância da temática de prevenção e tratamento da obesidade em âmbito mundial, estudos de longo prazo se fazem necessários para investigar se indivíduos obesos com perfil metabólico menos favorável, apresentariam mais incapacidades físicas, doenças crônicas e taxas de mortalidade, sendo extremamente relevante para identificarmos apropriadamente aqueles com maior risco à saúde bem como realizar o adequado acompanhamento quando da implementação de intervenções físicas, nutricionais e/ou farmacológicas. Acreditamos, entretanto, que as análises de caracterização transversal do presente estudo tenham contribuído para um melhor entendimento, a partir de uma ampla visão fisiológica (cardiometabólica, ventilatória, muscular e funcional), das alterações já presentes na fase adulta e das prováveis e potenciais consequências de tais

alterações em longo prazo. Além disso, contribuiu com a compreensão da relação entre biomarcadores e aspectos clínicos relacionados à obesidade.

Adicionalmente, o estudo visou ressaltar a importante aplicabilidade clínica dos testes funcionais, a saber o TD6 e o TC6, para fins de avaliação, prescrição e/ou acompanhamento da evolução durante protocolos de intervenção que visem o controle ou tratamento da obesidade, melhora da ACR e da MAC, assim como da função muscular na população obesa, mais especificamente adultos jovens obesos.

Em nosso primeiro estudo, demonstramos que as respostas cardiovasculares e metabólicas no TD6 apresentaram elevada concordância com as respostas obtidas no TECP, apesar de terem padrões (i.e., carga constante vs incremental e tempo-limitado vs não limitado) e intensidades distintas. Isto nos possibilita sugerir a aplicação do TD6 com maior frequência na prática clínica, sem a necessidade de equipe e instrumentação altamente qualificados, pois o mesmo é capaz de prever a capacidade aeróbia máxima com elevada acurácia a partir de variáveis de fácil obtenção (i.e., desempenho no TD6, IMC e idade). Além disso, o desempenho neste teste demonstrou estar fortemente relacionado à força e potência musculares, tanto em mulheres eutróficas quanto obesas. Tal constatação nos permite inferir que não somente treinamentos aeróbios, mas também aqueles que visem o aumento da força, resistência e potência musculares poderiam, certamente, influenciar na melhora da capacidade funcional e aeróbia máxima de indivíduos obesos. No entanto, é preciso que estudos futuros avaliem se haveria uma equivalência entre a melhora na função muscular e na capacidade aeróbico-funcional e de que magnitude ela seria, a fim de termos uma medida mais objetiva da avaliação e acompanhamento durante intervenções físicas e estabelecermos uma melhora clinicamente relevante, como já foi previamente determinado para o TC6, por exemplo.

No segundo estudo, demonstramos que o TD6, em comparação com o teste de caminhada de equivalente duração, pode ser igualmente aplicável, senão superior, para avaliação da modulação autonômica durante testes de exercício de “carga constante”, visto que o estresse cardiovascular no TD6 é maior do que no TC6. Além disso, nos permite afirmar que indivíduos obesos com distúrbios metabólicos possuem uma alterada MAC em repouso e durante o esforço, apesar de esta alteração não ser refletida pelas respostas metabólicas-ventilatórias. Na mesma linha de raciocínio, o terceiro estudo também nos permite afirmar que o fenótipo metabolicamente não-saudável parece não ter influência na função muscular e capacidade aeróbia, mas

associações encontradas indicam que a manutenção ou piora do quadro inflamatório sistêmico e da desregulação da homeostase metabólica, incluindo o desbalanço na secreção de biomarcadores da obesidade, cursam com redução da massa e função musculares, além da capacidade aeróbia.

Nossos achados sugerem ainda que a inibição da Miostatina pode ser considerada uma terapia promissora para impedir ou reverter o desenvolvimento do fenótipo não saudável em indivíduos obesos, porém futuras investigações merecem contemplar os potenciais efeitos adversos não tradicionais desta terapia em outros órgãos e sistemas assim como verificar o custo-benefício da implementação de tal terapia para a prevenção de distúrbios metabólicos na obesidade

Finalmente, seria interessante a investigação de outros potenciais fatores que sabidamente influenciam as variáveis-desfecho de nosso estudo, tais como a função endotelial; estresse oxidativo; composição, tipagem e distribuição de fibras musculares; arquitetura muscular; infiltração de tecido adiposo muscular por tomografia computadorizada e/ou ressonância magnética; entre outros. Ademais, é de fundamental importância que outros estudos investiguem os benefícios da terapia de inibição de miostatina, em longo prazo, nos desfechos clínicos abordados neste estudo.

Novas pesquisas também se fazem necessárias para verificar se os achados de nossos estudos são válidos para a população idosa e/ou fisicamente ativa. Além disso, seria altamente relevante e desejável que ensaios futuros investiguem tais associações em resposta a treinamentos aeróbios e resistidos especialmente delineados para a população obesa e, sobretudo, naqueles com distúrbios metabólicos associados.

ANEXO I

Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da UFSCar

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SÃO CARLOS/UFSCAR



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Relacionamento entre estrutura e função muscular periférica na capacidade de exercício físico em obesos

Pesquisador: Livia Pinheiro Carvalho

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 16737613.9.0000.5504

Instituição Proponente: Departamento de Fisioterapia

Patrocinador Principal: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico ((CNPq))

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 326.607

Data da Relatoria: 13/08/2013

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto de mestrado que envolve a participação de 28 mulheres e 28 homens obesos e não obesos que serão submetidos a procedimentos e avaliações com o intuito de observar a influencia da obesidade na força muscular e capacidade funcional de músculos do membro inferior, visando a promoção de programas de atividades físicas e de reabilitação mais adequados para esta população.

DETALHAR NOTIFICAÇÃO

- DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Relacionamento entre estrutura e função muscular periférica na capacidade de exercício físico em obesos
Pesquisador Responsável: Livia Pinheiro Carvalho
Área Temática:
Versão: 3
CAAE: 16737613.9.0000.5504
Submetido em: 12/08/2013
Instituição Proponente: Departamento de Fisioterapia
Situação da Versão do Projeto: Aprovado
Localização atual da Versão do Projeto: Pesquisador Responsável
Patrocinador Principal: CONS NAC DE DESENVOLVIMENTO CIENTIFICO E TECNOLÓGICO



Comprovante de Recepção:  PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_167376

- DADOS DA NOTIFICAÇÃO

Tipo de Notificação: Outros
Detalhe: Projeto de Doutorado Direto - FAPESP
Justificativa: Solicito reavaliação do projeto previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos, pois o mesmo foi enviado à FAPESP para solicitação de bolsa e aprovado em Dezembro de 2013. Neste, houve a inclusão de algumas avaliações e análises, em especial a análise de perfil lipídico e marcadores inflamatórios (vide projeto para especificações de procedimentos).
Data do Envio: 11/03/2014
Situação da Notificação: Notificação aceita

ANEXO III

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Consentimento de participação no trabalho: **Relacionamento entre estrutura e função muscular periférica, inflamação sistêmica e regulação autonômica em adultos obesos.**

Responsáveis:

Profa. Dra. Audrey Borghi e Silva – Departamento de Fisioterapia - UFSCar

Ft. Livia Pinheiro Carvalho – Programa de Pós-graduação em Fisioterapia – UFSCar

Eu, _____, RG N.º _____ e CPF _____, declaro estar ciente das condições sob as quais me submeterei ao trabalho acima citado, proposto pela Prof^a. Dra. Audrey Borghi e Silva. O trabalho tem como objetivo principal verificar a existência de associação entre variáveis obtidas por testes de avaliação funcional e muscular de forma não invasiva e coleta sanguínea venosa de forma invasiva por profissional qualificado e delegado para tal função em um Laboratório de Análises Clínicas na cidade de São Carlos.

Inicialmente serei submetido a uma avaliação física, um teste cardiopulmonar máximo em esteira ergométrica, sob supervisão médica e fisioterapêutica e entrevista e, caso selecionado, realizarei uma avaliação de constituição física por bioimpedância elétrica, uma avaliação de força muscular em equipamento apropriado para este fim e testes funcionais em campo (testes de caminhada e subida e descida de degraus), sob supervisão dos profissionais responsáveis pelo estudo.

Estou ciente de que minha participação no presente estudo envolve mínimo risco, uma vez que os testes são de fácil execução e possuem alta aplicabilidade clínica, sendo amplamente utilizados, além de serem acompanhados pelos profissionais responsáveis integralmente. Adicionalmente, as devidas medidas de segurança serão tomadas. Os testes propostos consistem em modalidades de caminhada em terreno plano, subida de degrau único de até 20 cm de altura e caminhada em esteira ergométrica com todos os aparatos de segurança necessários para a execução dos mesmos e avaliação de força muscular em equipamento bastante seguro (dinamômetro isocinético), sendo que o mesmo também possui dispositivo de segurança para interrupção do teste quando necessário e solicitado a qualquer instante. No início, durante e após os testes serão monitorizadas variáveis fisiológicas, de modo que será medida minha pressão arterial, frequência cardíaca e questionada minha percepção subjetiva ao esforço e qualquer alteração serei avisado pelo fisioterapeuta e o teste será interrompido imediatamente. Além disso, durante

o teste será analisado o comportamento do meu coração, pelo uso de um equipamento semelhante a um relógio, sem a utilização de drogas medicamentosas ou de procedimentos invasivos. Serei orientado(a) a comunicar os avaliadores sobre eventuais sintomas, tais como tontura, turvação visual, náuseas, dor, cansaço e fadiga, que eu possa vir a apresentar para que providências adequadas sejam tomadas.

No teste cardiopulmonar máximo, realizado previamente aos demais testes e acompanhado pelo profissional médico, será monitorizado o comportamento eletrocardiográfico com relação a possíveis alterações isquêmicas e à existência bem como quantidade, se houver, dos seguintes tipos de arritmias: extra-sístole isolada, ventricular unifocal ou multifocal, bloqueio divisional, fibrilação atrial, bloqueio completo de ramo direito, pausa sinusal e taquicardia ventricular não sustentada antes, durante e após o teste.

Na ocasião de ocorrerem riscos de qualquer natureza, quais sejam, quedas e/ou demais acidentes, lesões osteomioarticulares, mal-estar e/ou instabilidade hemodinâmica, os próprios pesquisadores se responsabilizam pelas condutas de primeiros socorros, bem como encaminhamento médico quando necessário e/ou qualquer tipo de avaliação fisioterapêutica como resultado de dano físico.

Ressalta-se que somente farei parte do trabalho se estiver de acordo com critérios estabelecidos para um grupo de indivíduos cujas características serão determinadas por meio de uma avaliação detalhada, sendo selecionado(a) apenas se estiver em condição clinicamente estável.

Além disso, sei que minha participação nesse estudo é estritamente voluntária e, portanto, não receberei qualquer forma de remuneração pela minha participação no experimento, podendo desistir de participar da pesquisa a qualquer momento sem dano ou prejuízo. Por fim, sei que os dados obtidos desse trabalho serão mantidos em sigilo e não poderão ser consultados por outras pessoas sem minha autorização por escrito, ao menos para fins científicos, resguardando, portanto, minha privacidade.

Eu li e entendi todas as informações contidas neste documento, assim como as da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

São Carlos, _____ de _____ de 2014.

Assinatura do Voluntário

Responsáveis:

Profa. Dra. Audrey Borghi e Silva

Ft. Livia Pinheiro Carvalho