

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO

*CAMPUS* BAIXADA SANTISTA

EDGAR TAVARES DA SILVA

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM  
CARBOIDRATO SOBRE PARÂMETROS  
IMUNOLÓGICOS APÓS UM EXERCÍCIO  
REALIZADO A ALTITUDE DE 4200M  
SIMULADA**

Santos

2011

**EDGAR TAVARES DA SILVA**

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM  
CARBOIDRATO SOBRE PARÂMETROS  
IMUNOLÓGICOS APÓS UM EXERCÍCIO  
REALIZADO A ALTITUDE DE 4200M  
SIMULADA**

Projeto de Pesquisa apresentado à Universidade Federal de São Paulo - Campus Baixada Santista como parte dos requisitos curriculares para obtenção do título de bacharel em Educação Física – Modalidade Saúde.

**Orientador:** Ronaldo Vagner Thomatieli dos Santos  
**Co-Orientador:** Hanna Karen Moreira Antunes

Santos  
2011

**Edgar Tavares da Silva**

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM  
CARBOIDRATO SOBRE PARÂMETROS  
IMUNOLÓGICOS APÓS UM EXERCÍCIO  
REALIZADO A ALTITUDE DE 4200M  
SIMULADA**

Este exemplar corresponde à redação final do Trabalho de Conclusão de Curso defendido por Edgar Tavares da Silva e aprovado pela Banca Examinadora em 05/12/2011.

Ronaldo Vagner Thomatieli dos Santos  
Orientador

Santos

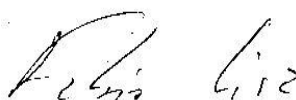
2011

**Banca Examinadora**



---

Prof. Dr. Ronaldo Vagner Thomatieli dos Santos  
**Orientador**



---

Prof. Dr. Fabio Santos Lira



---

Prof. Dr. João Paulo Botero

## **Dedicatória**

Dedico esse Trabalho de Conclusão de Curso, a todos os meus familiares, em especial; meu pai, Sergio da Silva, a minha mãe, Valéria Tavares Francisco da Silva e ao meu irmão, Matheus Tavares da Silva, sem esquecer-se da minha amada cachorra de estimação Lowa, que em muitas vezes me ajudou com a sua alegria de viver, onde a considero membro da família, que veio falecer em Novembro de 2010.

## Agradecimentos

Agradeço a Deus a oportunidade concedida de realizar os 04 anos de faculdade, me guiando e orientando em todos os momentos vividos nesse período acadêmico, lembrando também dos meus amigos espirituais que sempre estiveram ao meu lado, me auxiliando e protegendo a todo instante.

Aos meus familiares, especialmente meus pais Sergio da Silva e Valéria Tavares Francisco da Silva e meu irmão, Matheus Tavares da Silva, que com certeza são os pilares da minha estrutura terrena, pessoas pelas quais, independentemente da situação, estarão sempre ao meu lado, vivenciando bons e maus momentos. Pessoas que me ajudaram a não desistir e que sempre me deram muita força, simplesmente pelo fato delas existirem.

Aos meus avós e José Augusto da Silva e Elza Casalta da Silva, que sempre torceram por mim e pela minha felicidade e por serem tão cuidadosos com a família e me amarem tanto.

Aos meus tios, Alexandre Georges Melissopoulos e Rosa Maria de Carolis, pessoas que me trouxeram para realização da matrícula da Universidade e que sempre estiveram dispostos a ajudar, com muita disposição, amor, carinho e que sempre desejaram o meu sucesso na vida acadêmica e à minha prima Lilian de Carolis.

Aos meus tios, Antonio Marcos da Silva e Alessandra de Jesus e primos Luís Fernando Briguelli da Silva e Matheus Briguelli da Silva, que sempre estiveram presentes em minha vida apesar da distância física, mas com um amor e um carinho enorme.

Aos docentes responsáveis pela minha formação, especialmente o professor Ronaldo Vagner Thomatieli, que me ajudou em diversos momentos, sendo mais do que um orientador, um amigo e a professora Hanna Karen Antunes, que sempre esteve disposta a quaisquer dúvidas e perguntas, sempre cuidado muito de seus orientandos.

A equipe do Centro de Estudos em Psicobiologia e Exercício.

A todos os meus amigos de São Paulo e Santos que foram minha família nesse período universitário. Pessoas nas quais dividi diversos momentos de alegrias e tristezas. Em especial, ao Lucas Sunao Kita, Jorge Fernando Tavares, Samile Amorim dos Santos, Sara Giampá, Luigi Saria Costa, Felipe Yoshida dos Santos, Alexandre Troitiño Serampompa, Álvaro Carlos dos Santos e Fabio Tadashi Rodrigues.

A uma pessoa extremamente especial nessa vida universitária, Renata Palhares Beira, uma menina de valor inestimável, que sempre esteve ao meu lado, dividindo bons e maus momentos. Pessoa pela qual eu ganhei força para realizar esse projeto, ser um aluno mais aplicado e um ser humano melhor. Muitas das coisas que possuo hoje são devido a essa menina e a minha família. Agradeço por todo amor e carinho e por ter sido tão especial em minha vida. Não cabe em uma página o meu profundo agradecimento a ela.

E por fim, gostaria de agradecer ao órgão de fomento, Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela minha bolsa de Iniciação Científica.

## Resumo

Elevadas altitudes sempre foram desafios para a humanidade. A hipóxia é a explicação para essas dificuldades já que representa um estresse adicional ao organismo além daquele causado pelo exercício físico agudo. Assim a realização de exercícios físicos agudos induz diversas respostas fisiológicas e bioquímicas com elevado poder imunossupressor. Ao nível do mar uma das possíveis formas de atenuar os efeitos do exercício sobre o sistema imune é através da suplementação com carboidratos, pois tal estratégia atenua os efeitos estressores do exercício. Desta forma esse estudo teve por objetivo verificar os efeitos da suplementação com carboidratos sobre parâmetros do sistema imunológico após um exercício realizado em hipóxia. Para isso os voluntários foram submetidos a três sessões de exercício agudo, sendo que dois testes simulando a altitude de 4200m com e sem a suplementação. Antes e imediatamente após as sessões de exercício foram coletados 10 ml de sangue para as dosagens plasmáticas. Com relação a IL-6 foi observado que a suplementação com carboidrato foi capaz de significativamente diminuir os níveis de interleucina-6 uma hora após o exercício físico quando comparado com a normóxia ( $p < 0,05$ ) mesmo em situação de hipóxia. A IL-1ra, no teste em hipóxia com suplementação de carboidrato não elevou seu níveis ( $p < 0,05$ ) indicando um papel importante do carboidrato em prol do sistema imunológico. Já a IL-2 observou-se aumento em sua concentração após uma hora após a realização do exercício físico em hipóxia com suplementação de carboidrato, outro fato que evidencia a importância do carboidrato para o organismo. Os resultados encontrados demonstram que a suplementação com carboidrato foi suficiente para uma proteção do sistema imunológico contra os efeitos estressores da hipóxia e do exercício físico

**Palavras-chaves:** Altitude, Exercício Físico, Hipóxia, Suplementação, Sistema imunológico.



## Abstract

High altitudes have always been challenges to humanity. The hypoxia is the explanation for these difficulties since it represents an additional stress to the body beyond that caused by acute physical exercise. So acute physical exercises induces various biochemical and physiological responses with high power immunosuppressive. At sea level one of the possible ways to mitigate the effects of exercise on the immune system is through supplementation with carbohydrates, because such strategy mitigates the stressors effect of exercise. So this study objective was to verify the effects of supplementation with carbohydrates on parameters of immune system after an exercise held in hypoxia. So volunteers underwent three acute exercise sessions, and two tests simulating the altitude of 4200m with and without supplementation. Before, immediately after exercise sessions and 1 hour of rest were collected 10 ml of blood plasma levels. With respect to IL-6 has been observed that supplementation with carbohydrate was able to significantly decrease the levels of interleukin 06 one hour after exercise when compared with the normoxia ( $p < 0.05$ ) even in hypoxia situation. The IL-1ra, testing in hypoxia with carbohydrate supplementation did not raised their levels ( $p < 0.05$ ) indicating an important role of the carbohydrate in favor of the immune system. Already the IL-2 observed increase in its concentration after one hour after the completion of physical exercise on hypoxia with carbohydrate supplementation, another fact that highlights the importance of carbohydrate for the body. The results found show that supplementation with carbohydrate was enough to an immune system protection against the effects of hypoxia stressors and physical exercise

**Keywords:** Altitude, physical exercise, Hypoxia, supplementation, the immune system.

## INDÍCE

1 - INTRODUÇÃO .....	10
2 - OBJETIVOS .....	15
3- MÉTODO.....	16
3.1 - Aspectos éticos .....	16
3.2 - Critérios de inclusão.....	16
3.3 - Testes cardiovasculares .....	16
3.4 - Desenho experimental .....	16
3.5 - Determinação do $VO_{2\text{pico}}$ e Limiar anaeróbio .....	17
3.6 - Simulação da altitude .....	18
3.7 - Oxímetro de Pulso.....	18
3.8 –Frequência Cardíaca .....	18
3.9 –Coleta de Sangue .....	19
3.10 - Determinação dos parâmetros plasmáticos .....	19
3.10.1- Citocinas.....	19
3.11–Análise Estatística.....	19
4- RESULTADOS.....	20
5- DISCUSSÃO.....	25
6 -CONCLUSÃO .....	29
7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	30
8 - ANEXOS.....	34

ANEXO I - Carta de aprovação e parecer consubstanciado do comitê de ética institucional

ANEXO II - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

## 1- Introdução

A altitude sempre foi um grande desafio para a humanidade devido a grandes dificuldades oferecidas pelo próprio ambiente. Povos que vivem em elevadas altitudes, por volta de 3.048 a 5486 metros estão aclimatados à região e sobrevivem, porém pessoas não habituadas às elevadas altitudes podem sofrer sérios riscos à saúde ou até mesmo à própria vida dependendo do nível de aclimatação. Milhares de pessoas se aventuram em diferentes modalidades de esportes como alpinismo, *trekking*, *ski*, *snowboarding* entre outros.

Esses esportes oferecem riscos para a saúde de acordo com os efeitos fisiológicos causados pela elevada altitude e são oferecidos aos turistas ou aos grupos de aventureiros sem os cuidados necessários (MCARDLE, 1998). Os efeitos da altitude podem variar em relação às respostas das pessoas e da altitude e em casos mais graves podem resultar em uma doença cujos sinais e sintomas são bastante severos. A principal doença causada pela exposição à altitude elevada é o mal agudo da montanha, que tem como sintomas iniciais náuseas, dores de cabeça, fadiga, dificuldades para dormir e respirações irregulares, porém se não forem identificadas ou ignoradas podem como consequência levar ao coma e a morte por edema pulmonar ou cerebral (VARGAS, 2001).

Atualmente sabe-se que a altitude pode afetar o desempenho de alguns atletas e causar modificações em pessoas saudáveis só pelo fato de estarem em uma altitude elevada, por exemplo, acima de 2500m. Em pessoas saudáveis, porém não atletas, essas modificações podem ser de maiores intensidades quando comparado com atletas, pois sabemos que as respostas corporais entre atletas e não atletas são diferentes em diversos fatores (POWERS, 2000; MCARDLE, 1998).

A maior parte dos problemas que podem acometer uma pessoa em região de altitude elevada ocorrem em função da hipóxia. A hipóxia acontece devido à pressão parcial de oxigênio ( $PO_2$ ) estar diminuída, pois em grandes altitudes o ar é menos denso e cada litro de ar conter menos moléculas de gases. Quanto maior for à altitude, menor será a pressão atmosférica, que consequentemente diminuirá a  $PO_2$ . Esse aumento de altitude, associado com a diminuição da  $PO_2$ , tem efeito direto na hemoglobina que ficará menos saturada de oxigênio, acarretando na hipóxia. (POWERS, 2000).

Na exposição do corpo humano em situações de hipóxia faz com que o organismo com relação à fisiologia humana, tente se adaptar a situação de estresse,

produzindo respostas em diversos sistemas fisiológicos. Diferentes ajustes são realizados desde o sistema cardiovascular, endócrino, imunológico, músculo esquelético até chegar ao cérebro (ORTEGA, 2006). Alterações fisiológicas decorrentes da hipóxia afetam funções cerebrais como também físicas, que são dependentes de 21% de O<sub>2</sub> para um funcionamento adequado (SUDARSKY, 1990).

Indivíduos expostos a altitudes entre 610 – 2440 metros já podem apresentar dificuldades cognitivas tais como na aprendizagem (KELMAN & CROW, 1969) e em altitudes superiores a 3500 m, apresentam ansiedade e sintomas da doença do mal agudo da montanha. Além disso, exposição a uma altitude de pelo menos 5000 m tem como consequência uma menor resistência muscular, dores de cabeça, tontura, dificuldade para respirar, alterações visuomotoras e mudanças de comportamento. A menor PO<sub>2</sub> pode levar a um desenvolvimento de problemas físicos, que podem levar às alterações neuropsicológicas, ocorrendo principalmente em grandes altitudes, 6000 metros (KOLLER, 1991; FIRTH, 2008).

Estudos realizados por Squires e Buskirk (1982) nos mostram que ao ultrapassar a altitude de 1524 metros, o VO<sub>2</sub> máximo diminui, devido a uma relação linear entre pressão parcial de oxigênio (PaO<sub>2</sub>) e a pressão barométrica (Pb), no qual existe uma diminuição na saturação arterial de oxigênio durante exercícios de máxima intensidade. Segundo (MARK BLEGEN, 2008) o efeito sobre o cortisol é mais acentuado quando existir uma associação de exercícios intensos com a hipóxia. (WYNDHAM, 1971) com seus estudos demonstra que quando atletas são transportados rapidamente da superfície da terra de uma altitude de 1763 metros (Johannesburg, Africa do Sul) para uma região ao nível do mar há um aumento de 10 % na capacidade aeróbia do atleta e nos mostrou que atletas que treinam e vivem na altitude possuem tempos melhores em regiões ao nível do mar (CERRETELLI, 1967).

A partir do ano de 1980 novos estudos surgiram com o olhar voltado para os efeitos do exercício sobre sistema imune. Com o aumento da tecnologia, cientistas buscavam resposta para as frequentes infecções na via aérea superior de atletas expostos a exercícios extenuantes e quais seriam as respostas do organismo ao treinamento crônico de intensidade moderada (NIEMAN, 1997; NIEMAN, 2008).

Segundo (SHEPHAS 2010) a duração, intensidade e a frequência exercem papéis importantes com relação às respostas imunes, antes, durante e após a realização do exercício. Estudos epidemiológicos sugerem que exercícios com cargas de treino extenuantes, podem estar associados à imunossupressão, enquanto que treinos de

intensidade moderada estão associados e menores índices de infecções em atletas (WALSH, et. al., 2011).

Para explicar o efeito imunomodulador do exercício físico são descritas, principalmente, duas hipóteses (COSTA ROSA, 2004; BISHOP, 2009). Uma primeira hipótese está relacionada à liberação de hormônios do estresse durante e após o exercício, como as catecolaminas e o cortisol, que durante a atividade física são mais excretados (PEDERSEN & HOFFMAN-GOETZ, 2000; ORTEGA, 2007; NIEMAN, 1994; NIEMAN, 1997). A outra hipótese está relacionada à nutrição, sistema imunológico e o exercício (NIEMAN, 2008; ABBEY & RANKIN, 2009), com foco voltado ao papel da glutamina, um aminoácido importantíssimo para a regulação normal das células do sistema imunológico (ARDAWI & NEWSHOLME, 1982, 1983; NEWSHOLME, 1995; COSTA ROSA, 2004).

Segundo (TURNBULL & RIVIER, 1999), a resposta neuroendócrina ocorre devido ao fato dos receptores das células do sistema imune expressarem receptores para diversos hormônios, dentre eles; as catecolaminas, o cortisol, a  $\beta$ -endorfina, o hormônio do crescimento e os hormônios sexuais.

O cortisol é conhecido como um hormônio altamente imunossupressor, onde tratamentos médicos com corticosteroides promovem diversas mudanças nas respostas do sistema imune, sendo elas; inibição e na proliferação de linfócitos, indução da morte de linfócitos T e B imaturos e apoptose em timócitos e esplenócitos e a diminuição das células NK (PEDERSEN, 1996; PEDERSEN & HOFFMAN-GOETZ, 2000). No exercício, ao contrário das catecolaminas, o cortisol tem efeito tardio, atuando na fase de recuperação (NIEMAN, 1997; ORTEGA, 2007). As catecolaminas agem rapidamente no início e permanecem elevadas durante a realização do exercício físico, entretanto ao término da atividade, seus níveis basais voltam rapidamente. Suas ações no sistema imunológico estão ligadas a leucocitose durante o exercício (NIEMAN, 1994; NIEMAN, 2001).

Estudos clássicos demonstram que a glutamina é importante principalmente para linfócitos e macrófagos, sendo evidenciada essa importância, pela elevada atividade das enzimas glutaminases e de outras enzimas da via glutaminolíticas (ARDAWI & NEWSHOLME, 1982, 1983), onde na ausência ou diminuição dos níveis plasmáticos da glutamina, o organismo sofre de imunossupressão, devido a um impedimento parcial do sistema imunológico, como demonstrado em quadros de patologia (NEWSHOLME, 1995) e após exercícios de longa duração e intensidade

moderada (COSTA ROSA, 2004). Segundo (SMITH, 2003) a glutaminemia é o melhor parâmetro para explicar a relação entre exercícios físicos e suas respostas sobre o sistema imunológico. Todas essas informações evidenciam que existe uma forte relação entre metabolismo e essas células e que a quebra da homeostase, com a diminuição da glutamina, implica em respostas negativas ao sistema imune (ROSA NETO, et. al, 2010).

Mazzeo (2005) e Blegen (2008) nos mostram que a exposição aguda a elevadas altitudes, causam variações do sistema imune. Em questão de poucas horas a hipóxia já causam neutrofilia e linfopenia, característica principal da diminuição de linfócitos CD4 e uma acentuada diminuição da proliferação e ativação celular (THAKE, 2004). Entretanto diversos estudos demonstram que a hipóxia aumenta o número e a ativação de células NK e um ligeiro impedimento entre o balaço Th1/Th2, devido ao fato de maior ativação simpático-adrenal (PEDERSEN & STEENSBERG, 2002; ERMOLAO, 2009). Em permanência a uma altitude de 4000 metros, associada com aumento de IL-6, IL-1ra e PCR pode resultar em edema pulmonar, induzido pela elevada altitude (HARTMAN, 2000).

Apesar de existirem controvérsias pelo sintoma ser confundido com a doença do mal agudo da montanha, surgem evidências de que uma breve exposição à altitude possa promover aumento na incidência de infecções (WALSH, et.al., 2011). Portanto surge a hipótese de que o exercício físico realizado em elevadas altitudes potencializa os efeitos estressores que ele por si só já causaria, tendo um impacto relevante sobre o sistema imunológico (MAZZEO, 2005; WALSH e WHITHA, 2006; WALSH, et.al., 2011). Sendo assim pouco se sabe sobre o efeito do exercício realizado na altitude sobre a resposta imune inata, enquanto que a resposta humoral parece ser pouco afetada (WALSH, et.al., 2011; MAZZEO, 2008).

Uma das estratégias para atenuar os efeitos do exercício físico de longa duração realizado ao nível do mar sobre o sistema imunológico é a suplementação com carboidratos (NIEMAN, 2008). Uma das possíveis explicações é de que a glicemia elevada diminui a concentração de hormônios imunossupressores, como por exemplo, o cortisol. Esse hormônio é um potente imunossupressor e hiperglicemiante durante a realização de exercícios, já que uma de suas funções é manter os níveis de glicemia corporal elevada e ter por característica gerar uma situação de inflamação na inibição da produção de IL1- $\beta$  e causar morte, apoptose e inibição na produção de algumas células do sistema imunológico (NIEMAN, 2008). Pesquisas realizadas ao nível do mar

demonstram que a suplementação com carboidratos pode ser eficaz no combate aos efeitos estressores do exercício sobre o sistema imune (BISHOP, et.al., 2009; COSTA, et. al., 2009). Portanto a importância dos carboidratos durante a realização de exercícios em elevadas altitudes vem sendo avaliada em diversos estudos recentes, sendo o sistema imunológico, associado com os carboidratos um dos focos dos estudos, devido aos benefícios que ele possa apresentar ao organismo exposto a uma situação de hipóxia (BOURRILHON, et.al., 2010; HILL, et.al., 2011; MCDONALDS, et.al., 2009).

Contraditoriamente apesar da importância dos carboidratos durante o exercício, especialmente em elevadas altitudes, e os diversos estudos mostrando a relação entre a suplementação com carboidratos e aspectos do sistema imune durante o exercício ao nível do mar, não há trabalhos que se propuserem avaliar os efeitos da suplementação com carboidratos sobre parâmetros imunológicos durante exercício realizado em altitudes elevadas.

Diante disso, o problema desse estudo é o seguinte: Como a suplementação de carboidrato pode auxiliar e combater os efeitos imunossupressores, causados pelo aumento na liberação de hormônios do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e concentrações de vários aminoácidos, incluindo a glutamina, que sofre diminuição relevante dependendo da intensidade e duração do exercício no sistema imunológico durante a realização de exercício agudo na altitude 4200m simulada?

Como no nível do mar, acredita-se que a suplementação de carboidrato possa atenuar ou reduzir só que em menores níveis, os efeitos deletérios causados pelo exercício ao organismo (NIEMAN, 2008). Nossa hipótese é de que a suplementação com carboidrato possa atenuar os efeitos da hipóxia sobre o sistema imunológico durante e após a realização de exercício físico agudo a uma altitude simulada de 4200m.

## **2 -Objetivos.**

Objetivo proposto foi de avaliar o efeito da suplementação com carboidrato sobre parâmetros do sistema imunológico após um exercício realizado em hipóxia simulando uma altitude de 4200m.



### **3. Métodos**

#### **3.1 - Aspectos éticos**

Este projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) - Hospital São Paulo (CEP – 0620/09). Para participar, os voluntários receberam todas as informações relativas ao estudo, inclusive a respeito das avaliações, assinando posteriormente um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Os riscos para os voluntários foram mínimos uma vez que todos os exercícios foram realizados seguindo as normas internacionais, e com relação aos desconfortos estes também foram mínimos no que diz respeito ao exercício físico e a coleta de sangue.

#### **3.2 - Critérios de inclusão**

Participaram deste estudo 07 voluntários do gênero masculino, sadios, fisicamente ativos e com idades entre 18 a 30 anos. As pessoas que apresentaram qualquer anormalidade física que, impossibilitaram a realização de exercício físico, doenças crônicas e/ou que faziam uso de qualquer medicamento que pudessem interferir nos resultado do estudo foram excluídas.

#### **3.3 – Testes cardiovasculares.**

Após assinarem o TCLS (termo de consentimento livre e esclarecido) todos os voluntários foram submetidos a um eletrocardiograma de repouso e esforço para avaliação clínica e autorização médica para a prática de exercício físico.

#### **3.4 - Desenho experimental.**

Os voluntários compareceram ao laboratório em 05 dias e intervalo de uma semana entre cada dia. Primeiro dia todas as informações relativas ao projeto foram dadas tais como objetivos e procedimentos a que os voluntários seriam submetidos nos dias subsequentes. Ao final das explicações os voluntários tomaram ciência do Termo

de Consentimento e estando de acordo com o estudo o assinaram. Após a assinatura, os voluntários foram submetidos ao eletrocardiograma de repouso e esforço. No segundo dia os voluntários foram submetidos a um teste com intensidades progressivas até a exaustão voluntária para determinação do consumo máximo de oxigênio ( $VO_{2\text{pico}}$ ) e do limiar anaeróbio ao nível do mar. No terceiro dia, os voluntários realizaram uma sessão de exercício, ao nível do mar, sem suplementação com intensidade de 70% da velocidade do limiar ventilatório 01. No quarto dia, os voluntários realizaram uma sessão de exercício sem suplementação de carboidrato. No quinto dia receberam 200 ml de uma solução contendo carboidrato a 6% no início do exercício e a cada 20 minutos até completar 04 doses somando 800 ml. Os exercícios realizados no, quarto e quinto dia foram realizados em uma altitude simulada de 4200m.

### **3.5 - Determinação do $VO_{2\text{pico}}$ e Limiar anaeróbio**

Os testes foram realizados em uma esteira ergométrica (*LifeFitness*<sup>®</sup>-9700HR). O protocolo adotado para o teste de carga progressiva até a exaustão voluntária máxima foi o de incrementos de velocidade de 01 km/h a cada minuto, sendo a carga inicial para aquecimento de três minutos a 07 km/h. O teste foi encerrado quando o voluntário atingiu a exaustão voluntária máxima. Essa exaustão foi definida como a incapacidade em acompanhar a velocidade da esteira por 15 segundos, ou até que os voluntários solicitem a parada do teste mesmo sendo encorajados (Sassi et. al., 2006). Durante todo o teste foi utilizada uma inclinação fixa de 01% para simular o desgaste físico em locais abertos (JONES e DOUST, 1996).

Durante todos os testes, a monitoração da frequência cardíaca foi realizada por meio de um frequencímetro (Polar, modelo Advantage NV) com intervalos de 5 segundos, a pressão arterial também foi monitorada por meio de um esfigmomanômetro e um estetoscópio. Também foi verificada pela escala de percepção subjetiva de esforço, tal escala proposta por Gunnar Borg varia de 6 a 20. Os testes foram realizados em laboratório com climatização padronizada.

Os parâmetros respiratórios foram coletados e analisados respiração a respiração por um analisador de gases COSMED modelo Quark PFT – Pulmonary Function Testing – FRC & DLCO e o limiar anaeróbio foi determinado de acordo com protocolo de Wasserman e Koike (1992). O sistema foi calibrado pelo menos uma vez

ao dia, antes da realização do primeiro teste do dia. Para isso uma concentração de gases conhecidas foram utilizada, sendo que as calibrações do volume e do fluxo foram realizadas com o auxílio de uma seringa de três litros. Uma máscara facial Hans Rudolph® flow-by face mask (Kansas City, MO, EUA), foi utilizada. Todos os procedimentos para calibração foram realizados de acordo com as recomendações do fabricante.

### **3.6 - Simulação da altitude.**

Os voluntários foram submetidos a três sessões de exercício agudo segundo um protocolo adaptado a partir do estudo de Hagobia *et. al.*, (2006). Os voluntários realizaram os exercícios com intensidade equivalente a 70% da velocidade do limiar ventilatório 01 durante 60 minutos, em altitude simulada de 4200m. Todos os exercícios foram realizados após jejum de três horas, para evitar possíveis influências alimentares.

### **3.7 - Oxímetro de Pulso**

Antes, imediatamente após e ao final de cada sessão de exercício foi avaliada de maneira não invasiva a saturação de oxigênio. Essa medida foi mensurada através de um oxímetro de pulso que consiste em um método simples que tem como principal objetivo fornecer uma estimativa de saturação arterial da hemoglobina do oxigênio, ou seja, a porcentagem de sítios de ligação de hemoglobina que estão ocupados a qualquer momento por um de oxigênio (Luks e Swenson, 2011).

### **3.8 – Frequência Cardíaca**

Em repouso, e a cada 20 minutos de exercício durante o teste, a monitoração da frequência cardíaca foi realizada por meio de um freqüencímetro (Polar®, modelo FS1).

### **3.9 - Coleta de Sangue.**

Em repouso, imediatamente após e depois de uma hora do final do exercício, e em cada uma das sessões de exercício foram coletados 10 ml de sangue venoso. O sangue foi armazenado em tubos contendo 100 µl de heparina de sódio (125 UI) até a centrifugação. Após a coleta o sangue foi centrifugado a 690 X g durante 15 minutos a 04 °C, sendo o plasma extraído, aliquoteado para dosagens.

### **3.10 - Determinação dos parâmetros plasmáticos**

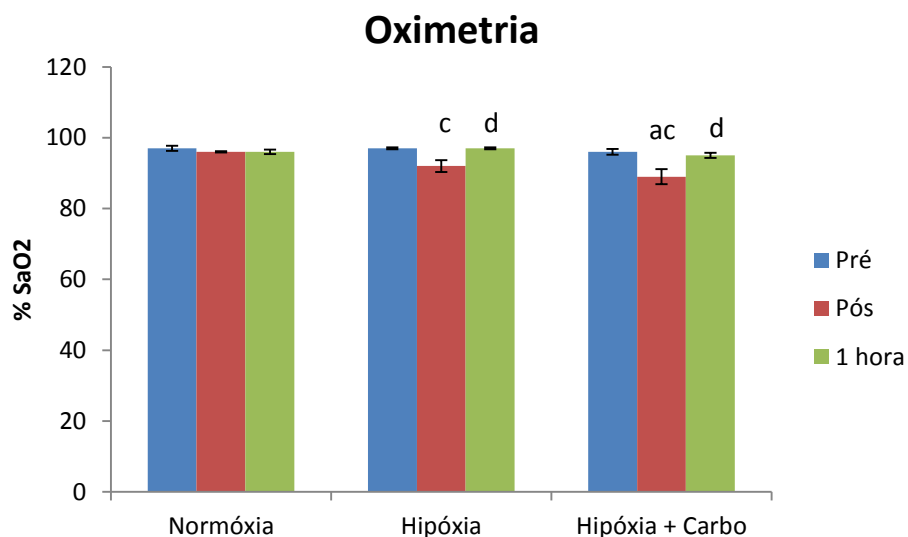
**3.10.1- Citocinas:** IL-6, IL-2, IL1-ra- estes foram determinados por Kits da R&D System seguindo as recomendações do fabricante.

### **3.11 - Análise estatística:**

Os resultados foram expressos em média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). A análise estatística foi realizada por análise de variância de duas vias (Anova two way) seguida de pós-teste de Tukey com nível de significância fixo em  $p < 0,05$ .

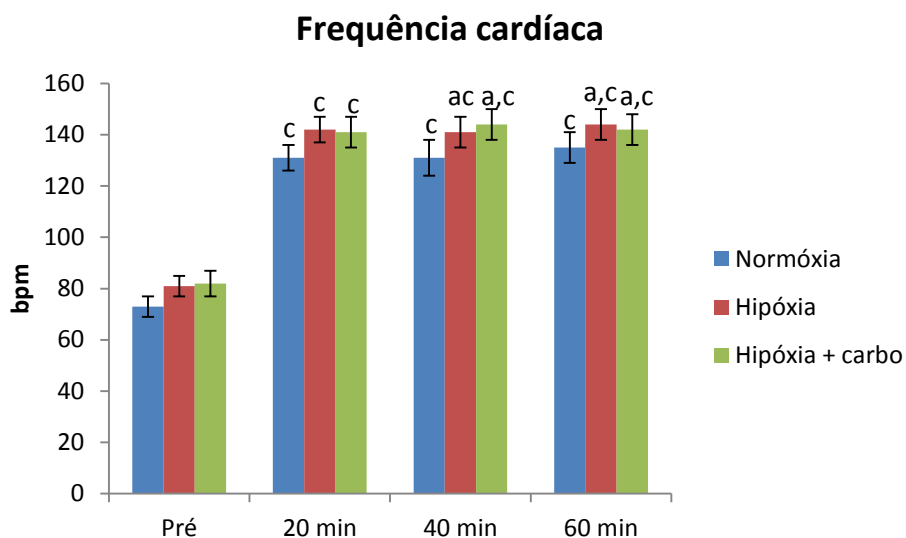
## 4– Resultados

Na figura 01. Sobre oximetria, observa-se no grupo normóxia a saturação se manteve, não havendo diferença significativa entre pós-exercício e uma hora após. Já nos testes hipóxia e hipóxia + carboidratos, observou-se significativa diminuição entre pré-exercício e pós-exercício em ambas as situações ( $p < 0,05$ ). Na situação de hipóxia, uma hora após o exercício observou-se que houve aumento significativo em relação ao pós-exercício, restaurando os níveis de oximetria ( $p < 0,05$ ). No teste hipóxia + carboidratos, observou-se restauração da oximetria uma hora após o exercício ( $p < 0,05$ ) e uma diminuição significativa com relação ao teste normóxia pós-exercício.



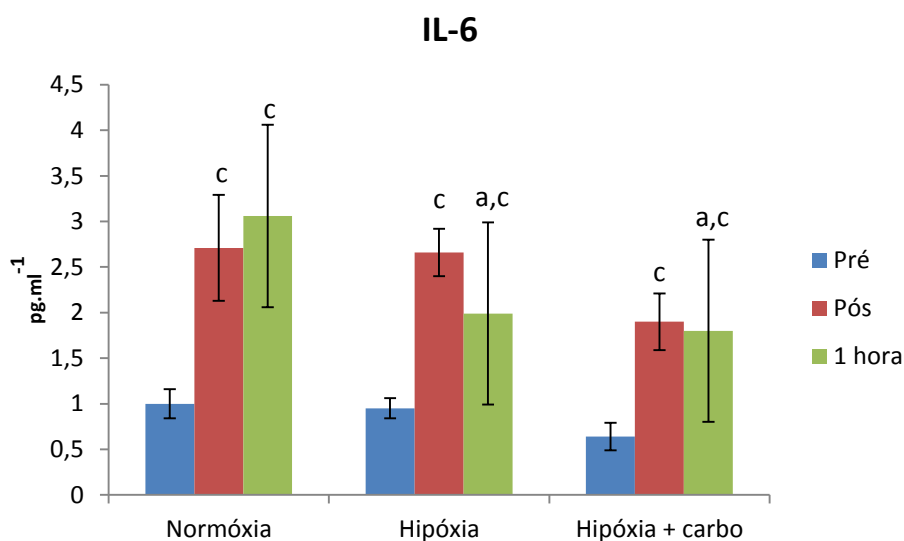
**Figura 01** – Percentual de saturação de hemoglobina em repouso (barras azuis), final do exercício (barras vermelhas) e 1 hora após o exercício (barras verdes) nas condições normóxia, hipóxia e hipóxia + carboidrato para um  $n = 7$  voluntários. Valores expressos em % e representam em Média  $\pm$  DP.  $p < 0,05$ ; “a” diferente e relação à normóxia; “c” diferente em relação ao valor de pré-exercício na mesma condição; “d” diferente em relação a valor pós-exercício.

Com relação à FC observa-se na figura 2 que na condição hipóxia houve significativo aumento no 20º minuto em relação ao valor pré-exercício ( $p < 0,05$ ). Esse aumento se manteve no 40º ( $p < 0,05$ ) e 60º minuto ( $p < 0,05$ ) em relação ao valor pré-exercício. Já na condição de hipóxia o aumento da FC foi significativo no 20º minuto em relação ao valor pré-exercício ( $p < 0,05$ ). Aumento esse que também se manteve no 40º ( $p < 0,05$ ) e 60º minuto ( $p < 0,05$ ) em relação ao valor pré-exercício. Entretanto tanto no 40º ( $p < 0,05$ ) e 60º minuto ( $p < 0,05$ ) houve diferença significativa com relação à normóxia. No teste realizado em hipóxia + carboidrato, também houve aumento significativo no 20º minuto em relação ao valor pré-exercício ( $p < 0,05$ ). Este aumento se manteve no 40º ( $p < 0,05$ ) e 60º minuto ( $p < 0,05$ ) em relação ao valor pré-exercício. Porém no 40º ( $p < 0,05$ ) 60º minuto ( $p < 0,05$ ), observou-se diferença significativa com relação à normóxia.



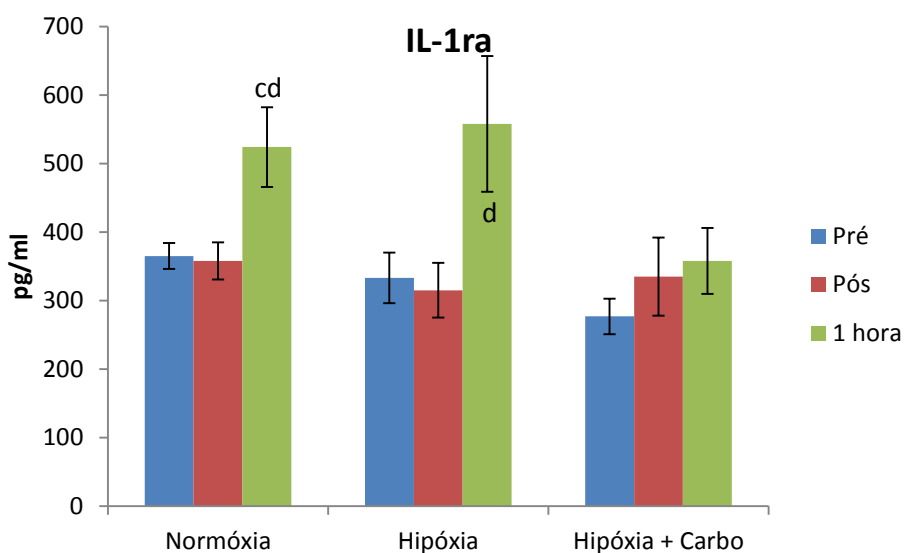
**Figura 02** – Frequência cardíaca em normóxia (barras azuis), hipóxia (barras vermelhas) e hipóxia suplementado com carboidrato (barras verdes) para um  $n = 7$  voluntários. Valores expressos em Batimentos Por Minuto (BPM) e representam Média  $\pm$  DP.  $p < 0,05$ ; “a” diferente em relação à normóxia; “c” diferente em relação ao valor de pré-exercício na mesma condição;

Com relação a IL-6 figura 03 demonstra no teste normóxia houve aumento significativo quando comparado o pós-exercício e uma hora após com o pré-exercício ( $p < 0,05$ ). Porém não houve diferenças significativas entre pós-exercício quando comparado com uma hora após. No teste realizado em situação de hipóxia observou-se diferença significativa no aumento da concentração de IL-6 no pós-teste quando comparado com o pré-teste ( $p < 0,05$ ). Já uma hora após o exercício observa-se que existe uma diminuição significativa entre a situação de normóxia quando comparado com a hipóxia ( $p < 0,05$ ) e aumento significativo com o pré-teste da própria situação de hipóxia ( $p < 0,05$ ). Com relação ao teste realizado em situação de hipóxia + carboidratos, verificamos aumento significativo no pós-teste quando comparamos ao pré-teste ( $p < 0,05$ ), situação que se manteve se uma hora após em relação ao pré-teste ( $p < 0,05$ ). Porém também foi observada uma diminuição significativa entre uma hora após do teste realizado em hipóxia + carboidrato com a situação em normóxia na mesma condição ( $p < 0,05$ ).



**Figura 03** – Concentração plasmática de IL-6 em repouso (barras azuis), ao final do exercício (barras vermelhas) e 1 hora após o exercício (barras verdes) nas condições normóxia, hipóxia e hipóxia + carboidratos para um  $n = 7$  voluntários. Valores expressos em pg/ml e representam Média  $\pm$  DP. “a” diferente e relação à normóxia; “c” diferente em relação ao valor de pré-exercício na mesma condição;

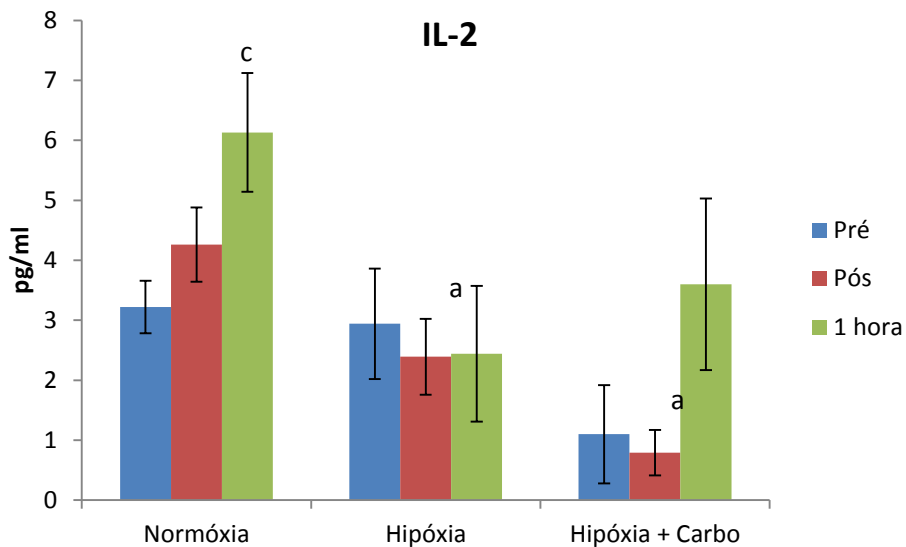
Na figura 4 sobre IL-1ra, na situação de normóxia não houve diferença significativa quando comparamos o pré-teste com o pós-teste ( $p < 0,05$ ). Em relação uma hora após o exercício observou-se um aumento significativo quando comparamos o pré-teste e pós-teste ( $p < 0,05$ ). Já em relação à situação de hipóxia, não foi observado qualquer diferença significativa entre o pós-teste com o pré-teste. Entretanto observamos que existe um aumento significativo quando comparamos uma hora após com o pós-teste ( $p < 0,05$ ). O teste realizado na hipóxia + carboidrato não houve qualquer modificação significativa entre o pré-teste, pós-teste e uma hora após o exercício.



**Figura 04** – Concentração plasmática de IL-1ra em repouso (barras azuis), ao final do exercício (barras vermelhas) e 1 hora após o exercício (barras verdes) nas condições normóxia, hipóxia e hipóxia + carboidratos para um  $n = 7$  voluntários. Valores expressos em pg/ml e representam Média  $\pm$  DP. “c” diferente em relação ao valor de pré-exercício; “d” diferente em relação a valor pós-exercício.



Na figura 5 observa-se que a IL-2 no teste realizado na situação de normóxia não foi observado diferenças significativas com relação ao pós-teste com o pré-teste. Entretanto, observou-se um aumento significativo em uma hora após a realização do exercício quando comparado com o pré-teste da mesma condição ( $p < 0,05$ ). Na situação de hipóxia, verificamos uma diminuição significativa no pós-teste quando comparamos com a situação de normóxia da mesma condição ( $p < 0,05$ ), porém não houve diferença significativa entre uma hora após e o pré-teste. No teste realizado na hipóxia, porém com suplementação de carboidratos, não houve diferenças significativas entre o pré-teste, pós-teste e uma hora após. Porém observamos aumento significativo nos níveis de IL-2 relacionando o pós-teste com a normóxia da mesma condição ( $p < 0,05$ ).



**Figura 4** – Concentração plasmática de IL-2 em repouso (barras azuis), ao final do exercício (barras vermelhas) e 1 hora após o exercício (barras verdes) nas condições normóxia, hipóxia e hipóxia + carboidratos para um  $n = 7$  voluntários. Valores expressos em pg/ml e representam Média  $\pm$  DP. “a” diferente em relação à normóxia; “c” diferente em relação ao valor de pré-exercício.

## 5 – Discussão

A normóxia pode ser definida como o estado em que a pressão barométrica (Pb) do ar está em torno de 760 mmHg, com uma composição de 20,93% de oxigênio e apresentando uma densidade de moléculas de oxigênio (PO<sub>2</sub>) em média de 150 mmHg. Qualquer variação para menos da pressão barométrica e da pressão parcial de oxigênio pode gerar uma situação de hipóxia para o indivíduo. (MCARDLE, W.D., 2003).

Sabe-se que um indivíduo submetido a uma queda da pressão barométrica (Pb) e da pressão parcial de oxigênio (PO<sub>2</sub>) com relação ao nível do mar (Pb = 760mmHg e PO<sub>2</sub> = 150 mmHg) fica em situação de hipóxia (MCARDLE, W.D., 2003; POWERS, 2000; MAGALHÃES, J. ET.AL., 2002). Indivíduos que realizam exercício físico agudo em elevadas altitudes sofrem adaptações fisiológicas além daquelas que o exercício já proporciona por si só, indivíduos saudáveis, expostos a uma situação de hipóxia, sem a realização de atividade, já sofre alguns ajustes nos diversos sistemas fisiológicos, como por exemplo, cardiovascular, endócrino, imunológico e musculo esquelético. (POWERS, 2000; ORTEGA, 2006).

O sistema imunológico é um dos sistemas afetados pela hipóxia e pelo exercício físico, devido à liberação de hormônios estressores como cortisol e catecolaminas (COSTA ROSA, 2004; BISHOP, 2009; PEDERSEN e HOFFMAN-GOETZ, 2000; ORTEGA, 2007; NIEMAN, 1994; NIEMAN, 1997) e pela própria característica da hipóxia, de diminuir linfócitos CD4 e queda na proliferação e ativação celular (MAZZEO, 2005; BLEGEN, 2008; THAKEN, 2004) que pode resultar em uma imunossupressão temporária dependendo do tempo de exposição à hipóxia, e características do exercício físico tais como intensidade e duração, assim como da severidade da hipóxia.

Uma estratégia adotada para a diminuição dos efeitos da realização do exercício físico sobre o sistema imunológico ao nível do mar é a suplementação com carboidratos, devido à manutenção da glicose sanguínea diminuindo a quantidade de hormônios imunossupressores como cortisol e catecolaminas. (NIEMAN, 2008).

Em nosso trabalho de acordo com os resultados encontrados pela oximetria, verificamos que os indivíduos foram expostos a uma situação de hipóxia, fato esse comprovado e esperado de acordo com a literatura já que, em situação de normóxia não

houve modificação na saturação de oxigênio na hemoglobina (McArdle, 2003). Entretanto houve queda de 5% na saturação da hemoglobina nos testes realizados em hipóxia e hipóxia com carboidratos, o que já era esperado de acordo com (Magalhães, J. et. al. 2002). Uma hora após os níveis na saturação de oxigênio aumentaram significativamente voltando ao nível pré-exercício, dados esses esperados segundo a literatura (McArdle, 2003) uma vez que a recuperação pós-exercício ocorreu na condição de normóxia.

Com relação à frequência cardíaca temos o padrão clássico onde no início do exercício físico há um aumento e durante a realização uma manutenção da FC devido à intensidade fixa e tempo de duração de uma hora (Powers, 2000; McArdle, 1998; 2003). Estudos demonstram que em situação de hipóxia, existe um aumento da frequência cardíaca, fato evidenciado em nosso trabalho tanto em situação de hipóxia quanto na hipóxia com suplementação de carboidratos, onde encontramos frequência cardíaca significativamente maior quando comparado com o teste realizado em normóxia no 40<sup>o</sup> e 60<sup>o</sup> minuto da mesma condição, todavia não houve diferença na FC quando foi comparado os exercícios em hipóxia e normóxia, demonstrando que a intensidade do exercício não foi suficientemente mais elevada na altitude ao ponto de promover diferença em relação à normóxia (Hultgren, H. 1997; Mirrakhimov, M.M., 1996; Rostrup, M., 1998, APUD Magalhães J., 2002).

Encontramos em nosso trabalho o que a literatura conhece sobre o aumento da interleucina-6 durante a realização do exercício. Observamos que na maior parte dos testes, existe um aumento significativo (Peterson, et. al., 2005; Pederson, et. al., 2005). Exercícios físicos intensos e de longa duração potencializam o aumento de IL-1 $\beta$  e TNF $\alpha$  e também de IL-6 (Friedberg, et. al., 2003), além do que, durante a atividade física ocorre aumento do RNAm de IL-6 especialmente nas células musculares, pois essa interleucina também tem a função de manter os níveis de glicose aumentados durante a atividade física, devido a sua atividade lipolítica e de aumentar o cortisol, acarretando gliconeogênese e glicogenólise pelo fígado (Peterson, et. al., 2005; Pederson, et. al., 2005, Steensberg A., et. al., 2003). Petersen, A.M.W. e Pedersen, B.K. (2005) comentam em seus estudos a função da IL-6 durante a realização do exercício físico, tendo a função de inibir a produção de TNF $\alpha$  além de estimular o aparecimento de citocinas anti-inflamatórias como IL-1ra e IL-10. No teste realizado em normóxia e hipóxia, os níveis de IL-6 pós-exercício tiveram um comportamento semelhante,

entretanto no teste realizado em hipóxia com suplementação de carboidrato verificamos um aumento 32 % menor de IL-6 quando comparamos com o teste realizado em hipóxia, o que vai de encontro com a literatura de que a suplementação com carboidrato pode diminuir o quadro inflamatório induzido pelo exercício (Walsh et al., 2011) de forma similar na hipóxia e em normóxia. Estudos demonstram uma relação linear entre TNF $\alpha$  e IL-6, ou seja, quanto maior o nível de TNF $\alpha$ , maior será a quantidade de IL-6 para contrabalancear e evitar um quadro pró-inflamatório, o que confirma nossos dados em relação ao restabelecimento da concentração plasmática de IL-6 na hipóxia e hipóxia com carboidrato uma hora após o teste. Devido à baixa intensidade do exercício os níveis de TNF $\alpha$  (dados não demonstrados) não se elevaram durante e depois do exercício nas três condições estudadas, fazendo com que posteriormente ao exercício não houvesse necessidade de uma grande produção de IL-6 para diminuir a produção de TNF $\alpha$  (Bruunsgaard H. et. al., 1999 APUD Peterson, et. al., 2005; Pederson, et. al., 2005). Outra possibilidade para a IL-6 não ter aumentado, é sua ação de manutenção da glicemia através da gliconeogênese, já que a suplementação com carboidrato, a glicemia ficou em níveis aumentados (dados não demonstrados). (Peterson, et. al., 2005; Pederson, et. al., 2005, Steensberg A., et. al., 2003).

Com poder anti-inflamatório resultante do exercício, o receptor antagonista da interleucina-1 (IL-1ra) está aumentada após a realização de atividade física, porém ela não induz nenhuma resposta intracelular, tendo como função o bloqueio do receptor da IL-1 possui elevado poder pró-inflamatório (Petersen, A.M.W. e Pedersen, B.K. 2005). Tendo a produção induzida também pela interleucina-6, observamos aumento nos níveis de IL-1ra pós-exercício resultado do aumento de IL-6 durante o exercício evidenciado em nossos dados, aumento esse que foi suficiente para uma maior ativação da IL-1ra, tanto em situação de normóxia como de hipóxia uma hora após o teste, sugerindo então, uma resposta do organismo ao quadro inflamatório (Steensberg A., et. al., 2003, Dinarello, C.A. et. al., 2000). Steensberg A., et. al., (2003) demonstrou em seus estudos que o nível de IL-1ra começou a aumentar com a presença da IL-6, porém, o aumento estava evidenciado entre o período de 01 a 03 horas, onde posteriormente acontece um decréscimo da concentração de IL-1ra, o que explica nossos dados de que durante o exercício, seus níveis ficaram bem próximos aos basais, mas uma hora após o exercício houve um aumento significativo. Entretanto esse aumento não foi observado no teste hipóxia com suplementação de carboidrato, muito possivelmente, devido à suplementação de carboidrato inibir a produção de IL-6 e TNF $\alpha$  (NIEMAN, 1997 e

2008), o que não resultou em uma necessidade de forte elevação de IL-1ra como demonstrado anteriormente durante exercício em normóxia. Nieman (2000) cita em seu estudo que a suplementação com carboidrato foi útil para uma menor elevação no plasma de citocinas como a IL-1ra pós-exercício de longa duração, dados esses confirmados por seu grupo de que a suplementação de carboidrato diminui a concentração plasmática de IL-1ra, IL-6, IL-10 e cortisol (Hendson, D.A., Nieman, D.C., 2005).

A melhor regulação do balanço pró/antiinflamatório promovido pela suplementação com carboidratos durante o exercício na hipóxia em comparação com o exercício sem suplementação desempenha importante papel na regulação da resposta imune. Parte dessa regulação ocorre mediada pela Interleucina-2 (IL-2). A IL-2 é secretada através de linfócitos CD4 e CD8. Sua ação biológica é de aumento e potencialização da resposta imunológica, tendo maior significância na produção e ativação de linfócitos T, B, células NK e monócitos, porém também consegue efeitos secundários devido a sua capacidade de indução na produção de outras citocinas através de outras células, como exemplo a interleucina-4 e  $INF_{\gamma}$  (THORPE, R. 1998). Sendo assim a literatura confirma nossos dados explicando o nível de IL-2 após uma hora de exercício realizado em hipóxia, onde não houve alteração, mas que em situação de hipóxia com a suplementação de carboidratos, existiu um aumento de 200% os níveis de IL-2, após uma hora de exercício e concentração plasmática cerca de 50% maior do que em hipóxia sem suplementação. Evidenciando então a capacidade do carboidrato de proteção do sistema imunológico após um exercício realizado em hipóxia, mesmo sendo em períodos reduzidos de exposição e de intensidade não muito elevada.

## **6 – Conclusão**

De acordo com os resultados encontrados, concluímos que a suplementação com carboidratos foi eficiente para uma proteção ao sistema imunológico, para indivíduos do sexo masculino, saudáveis que foram submetidos a um exercício de baixa intensidade, porém de longa duração em situação de hipóxia atenuando a resposta inflamatória quando nos referimos as citocinas IL-6, IL-1ra, que com a suplementação de carboidrato tiveram seus níveis diminuídos e IL-2 aumentados uma hora após o exercício físico. Dados esses que confirmam nossa hipótese de que o carboidrato atenuaria as respostas inflamatórias causadas pela exposição à hipóxia e pela realização de atividade física em situação de hipóxia. Acrescentando então sua importância para pessoas que se submetem a essas situações, casos cada vez mais frequentes com a prática de esportes em altitude, como por exemplo, corridas em altitude, futebol, ski, snowboard e montanhismo.

## 7-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBEY, E.L., RANKIN, J.W. Effect of ingesting a honey-sweetened beverage on soccer performance and exercise-induced cytokine response. **Journal Sport Nutrition Exercise Metabolism**. v.19, n.6, p.659-672, 2009.

ARDAWI, M.S. & NEWSHOLME, E.A. Glutamine metabolism in lymphocytes of the rats. **Journal Biochemical**. v.212, p, 835 – 842. 1983.

ARDAWI, M.S. & NEWSHOLME, E.A. Maximum activities of some enzymes of glycolysis, the tricarboxylic acid cycle and ketonebody and glutamine utilization pathways in lymphocytes of the rats. **Journal Biochemical**. v. 208, p.743 – 748, 1982.

BISHOP, N.C., WALKER, G.J., GLEESON, M., et.al. Human T lymphocyte migration towards the supernatants of human rhinovirus infected airway epithelial cells: influence of exercise and carbohydrate intake. **Revisit Exercise Immunological**. v. 15, p.127-144, 2009.

BLEGEN, M.; CHEATHAM, C.; CAINE-BISH, N.; et.al. The Immunological and metabolic responses to exercise of varying intensities in normoxic and hypoxic environments. **Journal of Strength and Conditioning Research**. v. 22, n.5, 2008.

BRUNSGAARD H, ANDERSEN-RANBERG K, JEUNE B, PEDERSEN AN, SKINHOJ P, AND PEDERSEN BK.A high plasma concentration of TNF-alpha is associated with dementia in centenarians. **Journal Gerontol A Biological Science Medicine Science** v.54, p.357–364, 1999.

CASTELL, L.M. & NEWSHOLME, E.A. Glutamine and the effects of exhaustive exercise upon the immune response. **Journal Can Physiologic Pharmacology**. v. 76, p. 524 – 532, 1998.

CASTELL, LM. Glutamine supplementation in vitro and in vivo, in exercise and immunosuppression. **Journal Sports Medicine**. p. 33: 325 – 345. 2003.

CERRETELLI, O., BORDONI, U., DEBIJADIJ, R. et.al. Respiratory and circulatory factors affecting the maximal aerobic power in hypoxia. **Archive Physiology**. v.65, p. 344-347, 1966.

COSTA ROSA, LF. Exercise as a Time-conditioning Effector in Chronic Disease: a Complementary Treatment Strategy. **Journal Evidence Based Complement Alternative Medicine**. v. 1, p. 63 – 70, 2004.

DINARELLO, C.A., The role of the interleukin-1-receptor antagonist in blocking inflammation mediated by interleukin-1. **Journal England Medicine** v.343, p 732–734, 2000.

ERMOLAO, A., TRAVAIN, G., FACCO, M. et.al. Relationship between stress hormones and immune response during high-altitude exposure in women. **Journal Endocrinology Investment**. v.32, n.11, p. 889-894, 2009.

FIRTH, P.G., ZHENG, H., WINDSOR, JS, SUTHERLAND, A.I., et.al. Mortality on Mount Everest, 1921-2006 **Journal B.M.J.** v. 337, n.111, p. 2654-2660, 2008.

FRIEDBERG, et. al., Modulation of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in mature human adipocytes by hypothalamic messengers. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**. 2003.

HARTMANN, G; TSCHOP, M; FISCHER, R; et.al. High altitude increases circulating interleukin-6, interleukin-1 receptor antagonist and C-reactive protein. **Journal Cytokine** v.12, p. 246 – 252, 2000.

HENSON, DRU A.; NIEMAN, DAVID C.; NEHLSSEN-CANNARELLA, SANDRA L.; FAGOAGA, OMAR R.; SHANNON, MICHAEL; BOLTON, MARC R.; DAVIS, J. MARK; GAFFNEY, CATHERINE T.; KELLN, WAYNE J.; AUSTIN, MELANIE D.; HJERTMAN, JANNICA M. E.; SCHILLING, BRIAN K. Influence of carbohydrate on cytokine and phagocytic responses to 2 h of rowing. **Journal Medicine Science Sports Exercise**. v.32, p.1384-1389, 2000.

HULTGREN, H. High altitude medicine. **Hultgren Publications**, San Francisco, 2003.  
KELMAN, G.R., CROW, T.J. Impairment of mental performance at a simulated altitude of 8000 feet. **Aerospace Medicine**. v. 40, n.5, p.981-982, 1969.

KOLLER, E.A. Circulatory and neuropsychological responses to acute hypoxia in acclimatized and non-acclimatized subjects. **European Journal Physiology Occupational Physiology**. v. 62, n.2, p.67-72. 1991.

KLOKKER, M., KHARAZMI, A., GALBO, H., et.al. Influence of in vivo hypobaric hypoxia on function of lymphocytes, neutrocytes, natural killer cells, and cytokines. **Journal Apply Physiology** v. 74, p.1100–1106, 1993.

KOLLER, E.A., BISCHOFF, M., BUHRER, A. Altitude, exercise and immune function. **Journal Exercise Immunology**. v.11, p. 6 -16, 2005.

MAZZEO, RS. Physiological responses to exercise at altitude: an update. **JournalSports Medicine**. v. 38, p. 1 – 8, 2008.

MCARDLE W.D.; KATCH F.I.; KATCH V.L. Exercício nas Médias e Grandes Altitudes. **FISIOLOGIA DO EXERCÍCIO Energia, Nutrição e Desempenho Humano**. Rio de Janeiro: Ed Guanabara Koogan, p. 459 – 473. 1998.

MIRRAKHIMOV, M.M., WINSLOW, R.M. The cardiovascular system at high altitude. **Journal Handbook of physiology: Environmental physiology (sessão 4)**, v. 02, p. 1241-1258, New York: Oxford University Press, 1996.



MISSOUM ,G., ROSNET, E., RICHALET, J.P. Control of anxiety and acute mountain sickness in Himalayan mountaineers. **Journal Sports Medicine.**v. 13, n.1, p. 37-39, 1992.

NEWSHOLME, E.A. Glutamine and immune cells. **Journal Front Clinic Nutrition.** v. 4, p.1 – 7, 1995.

NIEMAN DC, DAVIS JM, HENSON DA, GROSS SJ, DUMKE CL, UTTER AC, VINCI DM, CARSON JA, BROWN A, MCANULTY SR, MCANULTY LS, TRIPLETT NT. Muscle cytokine mRNA changes after 2.5 h of cycling: influence of carbohydrate. **Journal Medicine Science Sports Exercise.** v.37, p. 1283-1290, 2005.

NIEMAN, D.C. Exercise, upper respiratory tract infection, and the immune system. **Journal Medicine Science Sports Exercise.** v. 26, n.2, p. 28-39, 1994.

NIEMAN, D.C. Immune response to heavy exertion. **Journal Apply Physiology.** v.82, p. 1385 - 1394, 1997.

NIEMAN, D.C. Immunonutrition support for athletes. **Journal Nutrition.** v. 66, n.6, p.310-320, 2008.

Ortega E, Giraldo E, Hinchado MD, Martín L, García JJ, De la FuenteM.Neuroimmunomodulation during exercise: role of catecholamines as 'stress mediator' and/or 'danger signal' for the innate immune response. **Journal Neuroimmunomodulation.** p. 14: 206-12. 2007.

ORTEGA, V.J., GARRIDO, E., JAVIERRE, C., et.al. Human behavior and development under high-altitude conditions. **Journal Science.** v. 9, n. 4, p. 400-410, 2006.

PEDERSEN, B.K., HOLFMANN-GOETZ, L. Exercise and immune system: regulation, integration, and adaptation. **JournalPhysiology.** v. 80, p. 1055 – 1081, 2000.

PEDERSEN, B.K., ROHDE, T., ZACHO, M. Immunity in athletes. **Journal Sports Medicine Physiology Fitness.** v. 6, n.4, p. 236-245, 1996.

PEDERSEN, B.K., STEENSBERG, A. Exercise and hypoxia: effects on leukocytes and interleukin-6-shared mechanisms? **Journal Medicine Science Sports Exercise.** v. 34, p. 2004 – 2013, 2002.

PEDERSON KLARLUND, et. al. Muscle-derived IL-6--a possible link between skeletal muscle, adipose tissue, liver and brain. **Journal Brain, Behavior, and Immunity.** 2005.

PETERSEN ANNE MARIE W. E BENTE KLARLUND PEDERSEN. The anti-inflammatory effect of exercise. **Journal of Applied Physiology** v. 98 p. 1154-1162, 2005.

PETERSON, ANNE MARIE W. et. al., Acute IL-6 treatment increases fatty acid turnover in elderly humans in vivo and in tissue culture in vitro. **American Journal of Physiology, Endocrinology, and Metabolism**, 2005.

POWERS S.K; HOWLEY E.T.. Exercício e o Meio Ambiente. **FISIOLOGIA DO EXERCÍCIO Teoria e Aplicação ao Condicionamento e ao Desempenho**. São Paulo: Ed Manole, p. 441-461. 2000.

ROSTRUP, M. Catecholamines, hypoxia and high altitude. **Journal Physiol Scand** v.162, p. 389-399, 1998.

ROWBOTTOM, D.G., GREEN, K.J. Acute exercise effects on the immune system. **Journal Medicine Science Sports Exercise**. v. 32, n.7, p.396-405, 2000.

SMITH, L.L. Overtraining, Excessive Exercise, and Altered Immunity: Is This a T Helper-1 Versus T Helper-2 Lymphocyte Response? **Journal Sports Medicine**. v. 33, p. 347 – 364, 2003.

SQUIRES, R.W., BUSKIRK, E.R. Aerobic capacity during acute exposure to simulated altitude, 914 to 2286 meters. **Journal Medicine and Science in Sports and Exercise**. v. 14, n. 1, p. 36-40, 1982.

STEENSBERG A, FISCHER CP, KELLER C, MOLLER K, PEDERSEN B.K., IL-6 enhances plasma IL-1ra, IL-10, and cortisol in humans. **Journal Physiol Endocrinol Metabolism**. 2003.

SURDARSKY, L. Pathophysiology of the nervous system. **Journal Boston: Little, Brown, and Company**; 1990.

THAKE, C.D., MIAN, K., GARNHAM, A.W., et.al. Leukocyte counts and neutrophil activity during 4 h of hypocapnic hypoxia equivalent to 4000 m. **Journal Aviate Space Environ Medicine**. v. 75, p. 811 – 817, 2004.

TURNBULL, A.V., RIVIER, C.I. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action. **Journal Physiology** v. 79, p. 01 – 71, 1999.

VARGAS, D.M., OSORIO, F.J., JIMENEZ, E.D., et.al. Acute mountain sickness at 3500 and 4250 m: A study of symptom Incidence and severity. **Journal Medicine Chile**. v.129, n.2, p. 166-172, fev. 2001.

WALTON, T., ROTH, A.G., ALICIA, E.M., et.al. High altitudes, anxiety, and panic attacks: is there a relationship? **Journal Depress Anxiety**. v.16, n.2, p. 51-58, 2002.

WYNDHAM, C.H., KOK, R., STRYDOM, N.B., et.al. Physiological effects of acute changes in altitude in a deep min. **Journal Apply Physiology**. v.30, p. 232- 237, 1971.

## ANEXO I



**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO/HOSPITAL SÃO PAULO**

Data: 15-06-2009 15:24:01  
 Página 1/2  
 Id = 2142

São Paulo, 10 de Junho de 2009  
 CEP 0620/09

Ilmo(s). Sr(a).

Pesquisador(a) RONALDO VAGNER THOMATIELI DOS SANTOS

Co-Investigadores: Marco Túlio de Mello;

Disciplina/Departamento Medicina e Biologia do Sono da

Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo

Patrocinador Ausente

**CARTA DE APROVAÇÃO E PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA INSTITUCIONAL**

Ref. Projeto de pesquisa intitulado:

**'EFEITOS DE UMA SESSÃO AGUDA DE EXERCÍCIO MODERADO REALIZADO EM DIFERENTES ALTITUDES SOBRE PARÂMETROS METABÓLICOS E IMUNOLÓGICOS'**

ÁREA TEMÁTICA ESPECIAL: Não há necessidade de envio à CONEP para análise

CARACTERÍSTICA DO ESTUDO: Intervenção diagnóstica

RISCO PACIENTE: Risco mínimo, desconforto moderado, envolvendo coleta de sangue

OBJETIVOS: Avaliar o efeito do exercício agudo moderado sobre a resposta imune em diferentes altitudes.

RESUMO: Farão parte do estudo 15 pessoas do gênero masculino e fisicamente ativas, com idade entre 18 e 30 anos. Todos os voluntários serão submetidos a um eletrocardiograma de repouso e esforço para avaliação clínica e autorização para a prática de exercício físico. Os voluntários comparecerão ao laboratório em 6 dias e intervalo de 1 semana entre cada dia. Serão submetidos a ECG de repouso e esforço, teste com intensidades progressivas até a exaustão voluntária para determinação do consumo máximo de oxigênio e do limiar anaeróbio ao nível do mar. No terceiro, quarto, quinto e sexto dia, realizarão uma sessão de exercício simulando as diferentes altitudes estudadas. Os voluntários realizarão os exercícios com intensidade de 60% do VO2 max durante 60 minutos simulando 4 altitudes distintas: nível do mar, 1500m, 3000m e 4500m. Serão coletados sangue em repouso e imediatamente após o final do exercício, para determinação de: glutamina, glutamato, glicose, hormônios (cortisol, insulina e catecolaminas) e citocinas plasmáticas (IL-1, IL-6, IL-10 e TNF-alfa). Serão avaliados: células circulantes, proliferação de linfócitos, produção de citocinas e apoptose. Será coletada saliva para determinação de IgA.

FUNDAMENTAÇÃO RACIONAL: O exercício físico pode ser imunomodulador, estimulando ou inibindo a resposta imune. A hipóxia tem sido descrita como um potente agente imunossupressor, principalmente pela sua capacidade de aumentar a concentração de hormônios de estresse. Estudos sugerem que a hipóxia pode fazer com que os efeitos do exercício sobre a resposta imune sejam exacerbados de uma maneira dependente da altitude.

MATERIAL E METODO: Estão descritos os procedimentos e parâmetros a serem avaliados.

TCLE: Adequado, contemplando a resolução 196/96

DETALHAMENTO FINANCEIRA: A apresentação do orçamento detalhado permitiu a análise econômica viabilizando assim, a realização do projeto.

CRONOGRAMA: 24 meses

OBJETIVO ACADÊMICO: Não envolve obtenção de título acadêmico

PRIMEIRO RELATÓRIO PREVISTO PARA: 15/06/2010, os demais relatórios deverão ser entregues ao CEP anualmente até o término do estudo

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo ANALISOU e APROVOU o projeto de pesquisa referenciado.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê.

**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA****UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO/HOSPITAL SÃO PAULO**

Data: 15-06-2009 15:24:01

Página 2/2

id = 2142

2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Atenciosamente,

**Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana**

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da  
Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo

## ANEXO II

### **Termo de Consentimento livre e Esclarecido**

Título do projeto

**Efeito da suplementação com carboidrato sobre parâmetros imunológicos após um exercício realizado a altitude de 4500m simulada**

#### **Desenho do estudo e objetivo(s)**

Essas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária neste estudo, que visa avaliar se a suplementação com carboidratos durante um exercício em altitude elevada tem efeitos diferentes sobre o sistema imunológico e o metabolismo.

#### **Descrição dos procedimentos que serão realizados, com seus propósitos e identificação dos que forem experimentais e não rotineiros**

Todos os voluntários serão submetidos a: (I) um teste ergométrico na esteira para autorização de participação do estudo, (II) uma sessão de exercício até a exausta para determinação da capacidade máxima de esforço, (III) 2 sessões de exercício agudo na esteira, em ambiente que simule as altitudes de 4500m com ou sem a suplementação com carboidratos. Antes e imediatamente após cada sessão de exercício será retirado 10 ml de sangue para dosagens sanguíneas e 3 ml de saliva para avaliação substâncias que podem indicar os efeitos do exercício e da altitude sobre o sistema imunológico .

#### **Relação dos procedimentos rotineiros e como são realizados**

O voluntários comparecerão ao laboratório em 4 dias e intervalo de 1 semana entre cada dia. O primeiro dia todas as informações relativas ao projeto serão dadas tais como objetivos e procedimentos a que os voluntários serão submetidos nos dias subsequentes. Ao final das explicações os voluntários tomarão ciência do Termo de Consentimento e estando de acordo com o estudo o assinarão. Após a assinatura os voluntários serão submetidos ao eletrocardiograma de repouso e esforço que consistirá de um exercício com intensidade crescente simultaneamente às coletas dos registros do eletrocardiograma, o exercício começará com intensidade baixa até atingir a velocidade determinada. No segundo dia os voluntários serão submetidos a um teste com intensidades progressivas até a exaustão voluntária para

determinação dos parâmetros ventilatórios durante o exercício e poderemos determinar a velocidade de realização dos exercícios nos outros dias. No terceiro e quarto dia os voluntários realizarão uma sessão de exercício com duração de 45 minutos com velocidade constante e moderada na altitude de 4500m. Em um dos dias o voluntário receberá água para consumir durante o exercício e no outro receberá uma bebida contendo carboidrato. Os voluntários deverão chegar com pelo menos 30 minutos de antecedência ao laboratório, onde ficarão aguardando em repouso até a realização dos testes. Nos dias dos exercícios simulando a situação de altitude, os voluntários serão expostos a situação de altitude somente durante a realização dos 45 minutos de exercício.

### **Descrição dos desconfortos e riscos esperados nos procedimentos dos itens 3 e 4**

Os riscos para os voluntários são mínimos uma vez que todos os exercícios serão realizados seguindo as normas internacionais e com relação aos desconfortos estes também serão mínimos no que diz respeito ao exercício físico e a coleta de sangue. Com relação aos efeitos da altitude, como a exposição será por um período pequeno de tempo e o exercício será realizado em intensidades moderadas o voluntário não deverá sentir efeitos adversos. Após o final do exercício a recuperação será da mesma forma com uma ligeira sensação de cansaço devido a realização do exercício.

### **Benefícios para o participante**

A partir dos resultados encontrados será possível avaliarmos a partir de qual altitude os efeitos do exercício se tornam prejudiciais para o sistema imunológico.

### **Garantia de acesso**

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dr Ronaldo Vagner Thomatieli dos Santos que pode ser encontrado no CEPE, Rua Prof Francisco de Castro, 93 - Vila Clementino. Telefone(s) (11) 5572-0177. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Botucatu, 572 – 1º andar – cj 14, 5571-1062, FAX: 5539-7162 – E-mail: [cepunifesp@epm.br](mailto:cepunifesp@epm.br)

### **Desistência da participação no estudo**

É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição.

### **Direito de confidencialidade**

As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros voluntários, não sendo divulgado a identificação de nenhum voluntário.

### **Atualização sobre os resultados parciais**

Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores

### **Despesas e compensações**

Não haverá em qualquer hipótese qualquer tipo de despesas ou compensações para os voluntários como retribuição pela participação no estudo.

### **Dano pessoal**

Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo (nexo causal comprovado), o participante tem direito a tratamento médico na Instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas.

### **Compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa**

Todo o material coletado e todos os resultados coletados nesse estudo serão utilizados somente nessa pesquisa.

**Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo: Correlação entre o lactato sanguíneo e salivar durante e imediatamente após diferentes tipos de exercício.**

Eu discuti com o Dr. Ronaldo Vagner Thomatieli dos santos sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho



