

PAOLA PRÓSPERO MACHADO

**EFEITOS DO EXERCÍCIO AGUDO REALIZADO EM ALTITUDE  
SIMULADA SOBRE PARÂMETROS IMUNOLÓGICOS E  
BIOQUÍMICOS**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de São  
Paulo campus Baixada Santista,  
para a obtenção do título de  
Mestre Interdisciplinar em Saúde.

Santos

2012

PAOLA PRÓSPERO MACHADO

**EFEITOS DO EXERCÍCIO AGUDO REALIZADO EM ALTITUDE  
SIMULADA SOBRE PARÂMETROS IMUNOLÓGICOS E  
BIOQUÍMICOS**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de São Paulo  
campus Baixada Santista, para a  
obtenção do título de Mestre  
Interdisciplinar em Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Ronaldo  
Vagner Thomatieli dos Santos

Santos

2012

Machado, Paola

**Efeito do exercício agudo realizado em altitude simulada sobre parâmetros imunológicos e bioquímicos** / Paola Machado – Santos, 2012.

68 folhas.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Paulo. Programa de Pós-graduação Interdisciplinar em Ciências da Saúde.

Título em inglês: Effect of acute exercise in altitude simulate on immunological and biochemistry parameters

Palavras-chave: altitude, hipóxia, exercício aeróbio, imunossupressão, glutamina

PAOLA PRÓSPERO MACHADO

**EFEITOS DO EXERCÍCIO AGUDO REALIZADO EM ALTITUDE  
SIMULADA SOBRE PARÂMETROS IMUNOLÓGICOS E  
BIOQUÍMICOS**

Presidente da Banca: Prof. Dr. Ronaldo Vagner Thomatieli dos Santos

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. Eivor Martins Júnior

Prof. Dr. José César Rosa Neto

Prof. Dr. Marco Carlos Uchida

**Aprovada em: 14/03/2012**

Santos

2012

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO  
CAMPUS BAIXADA SANTISTA  
DEPARTAMENTO DE BIOCÊNCIAS**

**Chefe do Departamento:** Prof. Dr. Odair Aguiar Júnior

**Coordenador do Curso de Pós-Graduação:** Prof. Dr. Daniel Araki  
Ribeiro

**“Todo homem que tenha que talhar para si  
um caminho para o alto encontrará  
obstáculos incompreensíveis e constantes.”**

Fernando Pessoa

“Filha, você plantou sua semente, cuidou e dela pôde colher frutos e flores lindas”.

Dedico, com todo orgulho do mundo e satisfação, todo o meu trabalho ao meu pai, médico e professor, Tarcisio A. R. Machado. Um educador nato, um sábio inigualável, um pai exemplo e único. Meu pai é a minha força para continuar, minha felicidade quando o faço feliz e meu ajudante de toda e qualquer hora. Meu pai é minha alma, meu amor, minha determinação e meu aconchego. Meu pai apostou alguns números em mim e está acertando suas apostas. Espero fazê-lo ainda muito feliz... Seu sorriso é o meu acerto. Sinto um amor eterno e um orgulho imenso.

“Filha, se você não quiser mais nada, volte para casa!

Quando precisei de aconchego, com sua voz calma e com sua dor de mãe, me apartou de todas as formas. Com sua doçura, me deu amor, e com sua determinação, como dentista, presente em toda a minha infância, vi que podia ser igual. Meu amor, mamãe, Sonália M. P. Machado.

“Amor, continue e não desista nunca.”

Dedico este trabalho ao meu eterno marido, Marvio Lúcio dos Santos Lourenço, que me fez sempre seguir em frente, dando um empurrão na minha estima e broncas quando precisei levar. Com todo amor e carinho, acreditando sempre na minha capacidade, fez com que eu acreditasse no meu potencial. Trabalhador fiel, traçou um enorme percurso para atingir seus sonhos, conseguiu e mostrou que não é nada fácil. “Tem que batalhar e muito!” Respeito, tenho orgulho e amo.

Graças ao fruto do nosso amor e à Deus, dedico este trabalho aos nossos filhos, Nicolas Machado Lourenço e Lorena Machado Lourenço. Eles me deram mais determinação e mostraram, com seus olhinhos ingênuos, que a mamãe consegue sempre com a ajuda deles. Sempre tentarei ser um exemplo para eles. Uma luta árdua.

Com muito colo, amor, carinho e felicidade esta tese foi escrita.



## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu querido orientador e excepcional educador Ronaldo V. T. dos Santos, pelo companheirismo, pela força, pela inteligência e sabedoria. Pessoa unânime, simples e parceiro de todas as horas. Além de orientador e professor, é um amigo que pretendo levar para toda vida e tenho como exemplo de fidelidade, lealdade e humildade. Agradeço muito por acreditar na minha capacidade. Obrigada.

Ao meu amor, Marvio, por ter cedido um espaço para mim no seu coração.

Aos meus filhos, Lorena e Nicolas, pela paciência, quase que incompreensível, pois tiveram que entender que sua querida mamãe tinha que ficar horas em frente ao computador e que não poderiam colocar as mãozinhas nas teclas, muito menos assistir vídeos na internet, menos ainda brincar em sites de crianças. Agradeço por, mesmo assim, me darem muito amor.

Aos meus pais, pelo amor e carinho.

Aos meus irmãos, Fabrício Próspero Machado, Isabelle Machado Villar e Raissa Próspero Machado, por me ajudarem durante todo o processo e me darem ouvidos quando precisei conversar.

A minha sogra, Ildete das Graças Santos Lourenço, pela ajuda de todas as horas, pela paciência, compreensão e pelo amor comigo e com seus netos.

Aos meus excepcionais amigos, Maíra Sabóia, Lívia Tissot, Renata Luri, Leandro Fernandes, Rodolfo Marinho e André Minari, por serem amigos que, mesmo estando distantes, estão perto e no meu coração. Amigos irmãos, amigos para sempre. Um amor fraternal, sem nunca ter nenhuma mágoa. Amigos são aqueles para toda hora. Estes são amigos de verdade.

Agradeço aos alunos Samile Amorim e Edgar Tavares da Silva pela ajuda quando não pude estar presente.

Ao Professor Fábio Lira, pela compreensão, ajuda quando precisei e por me agüentar.

Ao Centro de Estudos em Psicobiologia e Exercício (CEPE) de São Paulo por ter cedido o excepcional espaço para as coletas.

A supervisora do CEPE, Luciana Ortega, pela paciência com os meus desabafos, com as minhas trapalhadas e pelos momentos de jogar conversa fora na hora do cafezinho.

Ao Laboratório de Fisiologia do Tecido Adiposo da Unifesp de São Paulo, por ter cedido o espaço para as dosagens.

Agradeço ao apoio financeiro das instituições CNP-q, CAPES e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

## SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO .....	4
1.1.Sistema Imunológico .....	4
1.2.Sistema Imunológico e Exercício Físico .....	6
1.3.Altitude, exercício e sistema imunológico .....	10
2.OBJETIVOS .....	17
3.MATERIAIS e MÉTODOS .....	18
3.1.Aprovação do Comitê de Ética .....	18
3.2.Amostra .....	18
3.3.Testes Cardiovasculares .....	19
3.4.Desenho Experimental .....	19
3.5.Determinação do Limiar anaeróbio e do VO <sub>2</sub> máximo em baixa altitude.....	20
3.6.Simulação de Altitude .....	21
3.6.1.Câmara de Simulação de Altitude.....	21
3.7.Coleta de Sangue .....	22
3.8.Determinação dos parâmetros plasmáticos .....	22
3.8.1.Glutamina .....	22
3.8.2.Citocinas .....	23
3.8.3.Lesão Celular .....	23
3.8.3.1.Creatina Quinase .....	23

3.8.3.2.Lactato Desidrogenase .....	24
3.9.Saturação do oxigênio na hemoglobina .....	24
3.10.Frequência Cardíaca .....	24
3.11.Análise Estatística .....	25
4.RESULTADOS .....	25
5.DISSCUSSÃO .....	35
6.CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	48
7.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	48
8. Anexos.....	59

## 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. A realização de exercício físico agudo induz diversas respostas fisiológicas e bioquímicas com elevado poder imunossupressor. **Objetivo:** verificar os efeitos do exercício em hipóxia sobre parâmetros inflamatórios e metabólicos. **Metodologia:** os voluntários foram submetidos a duas sessões de exercício agudo, sendo uma em normóxia e outra em hipóxia simulando altitude de 4200 metros. Antes, imediatamente após as sessões de exercício e depois de 60 minutos de recuperação foram coletados 10 ml de sangue para as dosagens plasmáticas. **Resultados:** ambas as sessões de exercícios, em normóxia e hipóxia, promoveram diminuição da saturação de oxigênio e o aumento de marcadores de lesão celular de forma mais acentuada ocorreu em hipóxia. Enquanto em normóxia o exercício promoveu alterações aumentando a resposta inflamatória pós-exercício, em hipóxia as alterações induziram maior efeito antiinflamatório. **Conclusão:** o exercício em hipóxia, simulando altitude de 4200 metros, representa estresse maior do que o mesmo exercício em normóxia; a maior exigência em virtude da hipóxia não foi suficiente para impor modificações adicionais nos marcadores de dano celular; o exercício moderado na hipóxia atenua os efeitos inflamatórios que a hipóxia apresenta.

**PALAVRAS-CHAVE:** Altitude, hipóxia, exercício aeróbio, imunossupressão, glutamina.

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 – Sistema Imunológico

A imunidade é a capacidade do organismo de reconhecer substâncias ou qualquer outro agente estranho ao organismo e promover uma resposta contra elas, tentando eliminá-las. Assim, esta ocorre por meio do reconhecimento, da metabolização, da neutralização e da eliminação de substâncias consideradas estranhas ao organismo, protegendo o organismo contra doenças, em particular, infecciosas (ABBAS & LICHTMAN 2005).

O sistema imunológico pode gerar dois tipos de respostas: a celular, composta por macrófagos e outros fagócitos como os neutrófilos, que realizam quimiotaxia, fagocitose, sintetizam citocinas e atuam ainda como células apresentadoras antígenos para os linfócitos; e a humoral, que se refere ao sistema linfocítico-macrofágico, que, por sua vez, promove a defesa específica mediada por mecanismos complexos como a produção de anticorpos (ABBAS & LICHTMAN 2005).

Os linfócitos são classificados em linfócitos T, responsáveis pela imunidade celular; e linfócitos B, que são produtores de anticorpos, constituintes da imunidade humoral. Estas células se desenvolvem por diversas vias sob ação de interleucinas, tais como IL-2, IL-3 e IL-7. O amadurecimento dos linfócitos B acontece na medula óssea, sendo que os imaturos vão para o timo e se diferenciam em linfócitos T. Há também os linfócitos caracterizados como matadores naturais ou *natural killer* (NK), que fazem parte da resposta imune inata e eliminam células tumorais e células infectadas com vírus (ABBAS & LICHTMAN 2005).

Os linfócitos T por sua vez podem ser divididos em dois grupos, os T *helper* ou auxiliares e os T citotóxicos. Os linfócitos T citotóxicos são reconhecidos por anticorpos monoclonais anti-CD8, as quais têm ação final a lise de células infectadas, a lise direta em microorganismos e lise de células tumorais. Já os linfócitos T auxiliares têm como função a estimulação dos linfócitos B, com o consequente aumento da resposta imunológica humoral e a ativação da resposta inata, pela produção de citocinas específicas (ABBAS & LICHTMAN 2005).

Na ocorrência de um quadro inflamatório há participação direta destas células imunológicas para combater os antígenos e proteger o organismo.

Assim, quando o organismo se depara a uma lesão tecidual, por exemplo, causada por bactéria, substâncias químicas, calor ou qualquer outro fenômeno, múltiplas substâncias, que induzem mudanças secundárias no tecido são liberadas pelo tecido lesado e células do sistema imune infiltradas. O conjunto total das mudanças teciduais é chamado de inflamação (GUYTON & HALL, 2006).

A inflamação caracteriza-se pela vasodilatação dos vasos sanguíneos com consequente aumento do fluxo sanguíneo local; aumento da permeabilidade dos capilares com extravasamento de líquido para os espaços intersticiais; muitas vezes, coagulação do líquido nos espaços intersticiais, devido às quantidades excessivas de fibrinogênio e de outras proteínas que extravasaram dos capilares; migração de numerosos granulócitos e monócitos para o tecido; e edema tecidual. Alguns, dentre os muitos produtos teciduais que causam estas reações, são a histamina, bradicinina, serotonina, prostaglandinas, diferentes produtos de reação do sistema complemento, produtos da reação do sistema de coagulação sanguínea e múltiplas substâncias hormonais denominadas de linfoquinas que são

liberadas por linfócitos T sensibilizados. Várias dessas substâncias ativam intensamente o sistema de macrófagos e, dentro de poucas horas, os macrófagos iniciam a fagocitose no tecido lesado, às vezes, os macrófagos também lesam células vivas (GUYTON & HALL, 2006).

Uma infamação pode ainda, ser ocasionada por lesão celular em função de trauma ou exercício físico. Na revisão de literatura de Armstrong, é descrita uma sequência de eventos para explicar a lesão. Em situações de estresse mecânico, como durante o exercício, substâncias vasodilatadoras são liberadas pelo tecido injuriado, extravasando enzimas, como creatina quinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH) e proteínas (mioglobina, troponina 1 e fragmentos de MHC) em seguida, ocorrem adesão e migração dos leucócitos do sangue para o local danificado. Nas primeiras horas, os neutrófilos iniciam a regeneração tecidual. Após 6 a 8 horas, monócitos migram para o local e no tecido são convertidos em macrófagos, liberando subprodutos (prostaglandinas, histaminas, cininas e potássio) os quais são sinalizadores de dor (ARMSTRONG, 1984).

## **1.2 – Sistema imunológico e exercício físico**

No que diz respeito ao exercício físico a relação com o sistema imunológico é alvo de investigações desde o início do século XX. Em 1902, Larrabee observou acentuada leucocitose “do tipo inflamatória” após a maratona de Boston, devido, principalmente, ao aumento do número de neutrófilos. Apesar dos trabalhos iniciais, realizados no começo dos anos de 1900, foi somente nos últimos 30 anos que ocorreu um crescimento do interesse pela imunologia do exercício, notadamente após a realização de estudos epidemiológicos sugerindo que o



treinamento extenuante pode ter efeito imunossupressor enquanto que o treinamento com sobrecarga moderada pode estar associado à menor incidência de infecções, especialmente as oportunistas (NIEMAN et al., 1990, 1997).

Nesse sentido, uma grande variedade de estudos tem demonstrado que o exercício físico induz consideráveis alterações no sistema imunológico sendo que, essa imunodulação, pode ser em decorrência da intensidade, duração, frequência e do tipo de exercício realizado (PEDERSEN & HOFMANN-GOETZ, 2000; HISCOCK & PEDERSEN, 2002; SCHARHAG et al., 2005; MALM, 2006).

Estudos apontam que o exercício, notadamente o de baixa intensidade parece ser benéfico para a resposta imune, pois melhora a função de diversas células tais como linfócitos, monócitos, neutrófilos e células NK e diminui a incidência de infecções oportunistas (SHEPHARD, 2000; MACKINNON, 2000; MALM, 2006; ROSA, 2004).

Existem diversas evidências demonstrando que o exercício extenuante está associado a efeitos adversos sobre a resposta imune levando à imunossupressão (BASSIT et al., 2002; NIEMAN, 1997; MACKINNON, 1997). Estas alterações são confirmadas por diversos estudos epidemiológicos em seres humanos após exercício extenuante, demonstrando aumento de infecções no trato respiratório superior (PEDERSEN & SALTIN, 2006) e em estudos com roedores, demonstrando que o exercício de longa duração, após a inoculação de um patógeno, pode promover aparecimento mais frequente e severo de infecções (CHAO et al., 1992).

Duas hipóteses, não excludentes, são descritas para explicar o efeito imunomodulador do exercício físico e do treinamento (ROSA, 2004). A primeira

hipótese diz respeito ao papel dos hormônios de estresse na modulação da resposta imune durante e após uma sessão de exercício físico já que, esses hormônios, tais como a catecolaminas e o cortisol, sofrem grande influência do exercício físico (PEDERSEN & HOFMANN-GOETZ, 2000; ORTEGA et al., 2007; NIEMAN et al., 1997); enquanto que a segunda hipótese diz respeito ao papel da glutamina que é um substrato indispensável para as células do sistema imunológico (ARDAWI & NEWSHOLME, 1982, 1983; NEWSHOLME, 1995; ROSA, 2004).

A hipótese neuroendócrina se baseia em estudos demonstrando que as células do sistema imunológico expressam receptores para diversos hormônios, tais como, as catecolaminas, o cortisol, a  $\beta$ -endorfina, o hormônio do crescimento e os hormônios sexuais (TURNBULL & RIVIER, 1999).

O cortisol, um hormônio imunossupressor, exerce forte influência sobre as células do sistema imunológico. O tratamento com doses supra-fisiológicas de corticosteróides promove diversas alterações na resposta imunológica tais como, diminuição da função de células NK, inibição da proliferação de linfócitos, indução da morte de linfócitos T e B imaturos e apoptose em timócitos e esplenócitos (PEDERSEN & HOFMANN-GOETZ, 2000). Entretanto, no exercício, ao contrário das catecolaminas que tem ação imediata, o cortisol parece agir tardiamente, tendo papel de destaque no período de recuperação (NIEMAN, 1997; ORTEGA et al., 2007). As catecolaminas, por sua vez, têm suas concentrações elevadas no início e permanecem elevadas ao longo de todo o exercício, estimulando assim, um processo de migração celular a partir dos tecidos linfóides para a periferia.

Estudos pontuam que concentrações supra fisiológicas *in vivo* são responsáveis pela imunossupressão e seus efeitos sobre o sistema imune são responsáveis pelas alterações imunológicas observadas durante o exercício sendo as grandes moduladoras da leucocitose durante o exercício (NIEMAN et al., 2001).

Com relação à hipótese da glutamina, estudos clássicos demonstram que a importância da glutamina para linfócitos e macrófagos é evidenciada pela elevada atividade da enzima *glutaminase* e de outras enzimas da via glutaminolíticas (ARDAWI & NEWSHOLME, 1982, 1983) e que, na ausência ou diminuição da concentração plasmática de glutamina, ocorre um impedimento parcial da função imunológica, levando à imunossupressão, como demonstrado em quadros patológicos (NEWSHOLME, 1995) e após exercícios de intensidade moderada, porém de longa duração (ROSA, 2004).

Smith (2003) aponta a relação entre a glutaminemia e exercício físico como a interação mais frequentemente utilizada para explicar os efeitos do exercício sobre a resposta imune. Tais observações deixam claro que existe forte relação entre metabolismo e função nessas células e que, na condição onde há quebra da homeostase, com diminuição da concentração plasmática de glutamina, a funcionalidade de células do sistema imunológico fica comprometida podendo resultar em imunossupressão (CASTELL et al., 1998; CASTELL, 2003).

Exercícios de longa duração, mesmo que realizados em intensidades moderadas, podem levar a um quadro de imunossupressão após o final do exercício. Tal situação se deve a vários motivos, incluindo o efeito imunossupressor do cortisol que sofre acentuado aumento durante o exercício, notadamente, de longa duração. Por outro lado, estudos anteriores mostram que,

a suplementação com carboidratos durante o exercício pode atenuar as alterações na homeostase da glicose, que ocorrem normalmente durante o exercício e dessa forma diminui o aumento da liberação de cortisol e outros hormônios imunossupressores, como as catecolaminas durante o exercício (GLESSON, 2007).

### **1.3 – Altitude, exercício e sistema imunológico**

Altitudes elevadas, acima de 3000 metros, são potentes agentes estressores conhecidos por alterar funções fisiológicas e metabólicas na busca de mecanismos para tentar restabelecer a homeostase quebrada pela hipóxia (MAZZEO et al., 1994).

Tais efeitos do exercício sobre o sistema imunológico e seus possíveis moduladores dizem respeito a observações realizadas em condições adequadas, com temperatura e umidade controladas em níveis considerados termoneutros e pressão barométrica similar ao nível do mar. Por outro lado, a realização de exercício físico em condições ambientais extremas, especialmente em hipóxia, pode gerar uma resposta aguda ao exercício diferente da gerada quando o exercício é realizado ao nível do mar (MAZZEO, 2008).

Com aumento da altitude, ocorre conseqüente redução da pressão barométrica, redução da pressão parcial de oxigênio e da pressão de oxigênio arterial, assim, reduz o fornecimento de oxigênio para os tecidos (Tabela 1). Além disso, nos estágios iniciais de adaptação à altitude, acontece aumento do débito cardíaco e da frequência cardíaca (CALBET et al., 2002). Enquanto que o volume de ejeção sistólica do coração se mantém inalterado (MCARDLE et al., 1998). O

aumento do débito cardíaco e da frequência cardíaca compensa a redução do O<sub>2</sub> arterial, gerando maior fluxo sanguíneo para os músculos (OGURI et al., 2004). Em longo prazo, o indivíduo passa por alterações hematológicas, que são ajustes fisiológicos importantes na altitude para transportar O<sub>2</sub> para os tecidos. O volume plasmático tende a cair na altitude por causa da mudança do equilíbrio hídrico e da perda de água na respiração (FOX et al., 1991), mas acontece um aumento na concentração de hemácias e de hemoglobina (GARDEAZÁBAL et al., 2008). O aumento das hemácias ocasiona uma maior viscosidade do sangue, gerando em um maior trabalho cardíaco (CALBET et al. 2002). Isto acarreta em severas alterações fisiológicas, com comprometimento do desempenho do indivíduo exposto a estas condições, havendo uma diminuição no consumo máximo de oxigênio, aumentando a intensidade relativa e diminuindo a capacidade de trabalho desenvolvido para uma determinada intensidade de exercício, com aparecimento de fadiga precoce (MAGALHÃES et al., 2002). Isso ocorre, em partes, devido às regiões acima do nível do mar causar modificações na composição corporal, nas enzimas e nas células do atleta (KNECHTLE & ROSEMAN 2009). É aceita a hipótese que a exposição do indivíduo na altitude aumenta a superfície de capilares para melhor abastecimento de sangue com O<sub>2</sub>. A altitude também desencadeia diminuição das mitocôndrias e a redução de algumas enzimas oxidativas (citrato sintase, succinato desidrogenase e citocromo oxidase) (MAGALHÃES & ASSCENSÃO, 2008). O atleta na altitude está sujeito a uma modificação na composição corporal porque diminui a sua massa muscular, reduz as fibras rápidas e lentas, acontece decréscimo da massa corporal total e o percentual de gordura pode diminuir (CALBET 2009). Várias

dessas alterações podem comprometer a performance do atleta em regiões acima do nível do mar.

Como resposta a essa condição, o organismo pode gerar uma resposta hormonal rápida com destaque para elevação da concentração de adrenalina e noradrenalina e também um aumento transitório na concentração plasmática de cortisol, inclusive na condição de repouso (NIESS et al., 2003).

### Tabela 1: parâmetros cardiovasculares e respiratórios

\* Os números entre parênteses são os valores após período de aclimatados

Altitude (metros)	Pressão Barométrica (mmHg)	PO <sub>2</sub> no ar (mmHg)	<u>Respirando ar</u>			<u>Respirando oxigênio puro</u>		
			PCO <sub>2</sub> nos alvéolos (mmHg)	PO <sub>2</sub> nos alvéolos (mmHg)	Saturação de oxigênio arterial (%)	PCO <sub>2</sub> nos alvéolos (mmHg)	PO <sub>2</sub> nos alvéolos (mmHg)	Saturação de oxigênio arterial
0	760	159	40 (40)	104 (104)	97 (97)	40	673	100
3.000	523	110	36 (23)	67 (77)	90 (92)	40	436	100
6.000	349	73	24 (10)	40 (53)	73 (85)	40	262	100
9.000	226	47	24 (7)	18 (30)	24 (38)	40	139	99
12.000	141	29				36	58	84
15.000	87	18				24	16	15

Fonte: Guyton, 1996.

Diversos estudos demonstram que, a exposição aguda ou crônica à altitudes entre 2500 e 5000 metros, resultam em uma resposta simpático-adrenal exacerbada, levando a inúmeras outras alterações metabólicas (MAZZEO et al., 1994) que, por sua vez, poderiam influenciar vários sistemas fisiológicos incluindo o sistema imunológico (MAZZEO et al., 1995; MAZZEO et al., 2000).

A despeito dos mecanismos, tem sido demonstrado que a exposição aguda à altitudes elevadas pode resultar em alteração de vários parâmetros do sistema imunológico (MAZZEO, 2005; BLEGEN et al., 2008). Poucas horas de exposição à hipóxia já são suficientes para indução de significativa neutrofilia e linfopenia caracterizada, principalmente, pela redução no número de linfócitos do tipo CD<sub>4</sub> e acentuada diminuição na ativação e proliferação celular (THAKE et al., 2004). Além disso, vários estudos demonstram que a hipóxia aguda resulta em um aumento no número e atividade das células NK (PEDERSEN & STEENSBERG, 2002).

Um estudo demonstrou que a permanência em altitude de 4000 metros levou a elevação da concentração plasmática de IL-6, IL-1ra e PCR sugerindo que esses resultados poderiam levar ao desenvolvimento do edema pulmonar induzido pela elevada altitude (HARTMANN et al., 2000)

Em relação ao exercício físico na hipóxia, poucos e contraditórios estudos avaliaram o efeito do exercício agudo na condição de hipóxia sobre o sistema imunológico (MAZZEO, 2008; WALSH et al., 2011). O exercício físico realizado em condições de hipóxia/elevada altitude representa uma condição de estresse adicional em relação ao exercício realizado ao nível do mar (MAZZEO, 2005). Esta condição se dá, até mesmo, quando a intensidade do exercício for relativa, ou



seja, levando em conta que o  $VO_2$  máximo e o desempenho diminuem à medida que a altitude aumenta (MAZZEO, 2005; WALSH et al., 2011).

Por isso, vários fatores deveriam ser levados em conta quando se discute a interação exercício-hipóxia-sistema imunológico. Um desses fatores é a elevação da altitude ou a extensão da hipóxia, pois se trata de um fator primário que influencia o nível de variação em parâmetros fisiológicos e bioquímicos, que podem modular a resposta imunológica mediada pelo exercício (MAZZEO, 2007). Analisando coletivamente os resultados dos trabalhos já publicados, pode-se especular a existência de um limiar de elevação que deveria ser respeitado para alcançar os benefícios associados com viver ou treinar na altitude com o menor prejuízo possível (MAZZEO, 2007).

De fato, Kokkier et al. (1993) foram os primeiros a mostrar que a combinação do exercício com a hipóxia poderia resultar em um efeito mais dramático sobre o sistema imunológico, especialmente no que diz respeito à função das células NK quando comparado com o exercício ao nível do mar. Recentemente, foi demonstrado em modelo animal que linfócitos e fagócitos podem apresentar alguns sinais de adaptação, alterando o padrão de produção e liberação de substâncias tais como citocinas e anticorpos (CALDEWELL et al., 2001); enquanto que outros trabalhos mostram que a imunidade mediada por linfócitos T pode ser impedida pela exposição a elevadas altitudes (PEDERSEN et al., 2002). Mais recentemente, Facco et al. (2005) confirmaram que a exposição à elevadas altitudes (5050 metros) é capaz de alterar o número e função celular e sugere que novos estudos sejam realizados para avaliar a expressão de citocinas por linfócitos T, assim com o balanço  $TH_1/TH_2$ .

A concentração de citocinas, notadamente a IL-6 e outros marcadores de resposta inflamatória como, por exemplo, as proteínas de fase aguda, apresentam-se aumentadas em resposta a uma sessão de exercício moderado com intensidade de 50% do  $VO_2$  máximo em uma altitude de 4300 metros em relação ao mesmo exercício ao nível do mar. No entanto, não houve alteração na concentração plasmática de fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ). Todavia, neste estudo, os autores impuseram aos voluntários, além da realização do exercício, uma dieta com restrição calórica de 1500 quilocalorias (Kcal) no dia do experimento em uma tentativa de simular a condição encontrada por atletas e trabalhadores em elevadas altitudes impedindo conclusões definitivas a respeito de qual é efeito exclusivo do exercício e qual é efeito da restrição calórica (HAGOBIAN et al., 2006).

Por outro lado, resultados opostos têm sido encontrados quando o exercício é realizado em altitude moderada. Alguns estudos demonstram que o exercício agudo realizado em altitude moderadamente elevada (abaixo de 3000 metros), não impõe ao sistema imunológico um estresse maior do que o exercício realizado ao nível do mar, desde que o exercício seja realizado com intensidade moderada, ou seja, 60 a 75% do  $VO_2$  máximo calculado ao nível do mar (BLEGEN et al., 2008; MAZZEO, 2005 e 2007; TIOLLIER et al., 2005, ZHANG et al., 2007).

De acordo com a revisão de Mishra e Ganju (2010), os estudos mostram que quando o indivíduo é exposto a altitudes elevadas (acima de 3000 metros) passa por um quadro inicial imunossupressivo. No entanto, após aproximadamente 25 dias, alguns parâmetros já retornam aos seus valores

basais, apesar das imunoglobulinas (especialmente IgA) não retomarem seus valores.

Assim, fica evidente que a magnitude da hipóxia induzida pela altitude tem um papel determinante no resultado do exercício sobre o sistema imunológico. Enquanto em altitudes menores o efeito da hipóxia parece ser menor, em altitudes superiores os efeitos do exercício sobre a função celular parecem ser mais intensos sugerindo a existência de um limiar de altitude a partir do qual, mesmo se a intensidade do exercício fosse a mesma, a hipóxia poderia ter efeitos adicionais aos do exercício sobre o sistema imunológico (MAZZEO, 2005; BLEGEN et al., 2008).

Segundo Mazzeo (2007), novos estudos deveriam focar: (I) na determinação de qual altitude a hipóxia passaria a ser um problema para quem faz exercício, no que diz respeito ao sistema imunológico; (II) na elucidação de quais os mecanismos que modulam a resposta imunológica durante o exercício na situação de hipóxia e (III) qual o significado clínico dessas alterações.

Baseado no acima exposto, a compreensão dos efeitos da hipóxia e do exercício sobre parâmetros inflamatórios se faz de grande importância, especialmente se levarmos em conta o número crescente de pessoas que ascendem às regiões de altitude elevada. Além disso, a carência de estudos a respeito dessa temática a despeito da importância faz com que sejam imperativos os estudos bem controlados da relação entre inflamação e exercício em condições de hipóxia.

## **2. OBJETIVOS**

Este estudo tem como objetivo avaliar os efeitos do exercício agudo com intensidade de 70% do limiar ventilatório 1 sobre a resposta inflamatória e parâmetros bioquímicos em 4200 metros de altitude.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

**3.1 – Aprovação do comitê de ética:** todos os procedimentos desse estudo foram submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética da UNIFESP (Protocolo # 0620/09) e respeitaram as normas estabelecidas pela legislação brasileira na Resolução n. 196 do Conselho Nacional de Saúde.

**3.2 – Amostra:** fizeram parte do estudo sete pessoas do gênero masculino e fisicamente ativos. Todos voluntários tinham entre 18 e 30 anos, sendo que os que apresentaram qualquer anormalidade física que impossibilitasse a realização de exercício físico, que portassem doenças crônicas e/ou que fizessem uso de qualquer medicamento que pudesse interferir nos resultado do estudo, foram excluídos. Os dados antropométricos dos voluntários estão demonstrados na tabela 2.

Tabela 2. Dados antropométricos

	<b>Média ± EPM</b>
<b>Idade (anos)</b>	24,07 ± 0,78
<b>Estatura (m)</b>	1,74 ± 0,3
<b>Massa (Kg)</b>	71,69 ± 0,1
<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	24,41 ± 0,28
<b>VO<sub>2max</sub> (ml/Kg/min)</b>	46,39 ± 0,70
<b>Veloc no VO<sub>2max</sub> (Km/h)</b>	16,31 ± 0,16

### 3.3 – Testes cardiovasculares

Todos os voluntários foram submetidos a um eletrocardiograma de repouso e esforço para avaliação clínica e autorização para a prática de exercício físico.

### 3.4 - Desenho experimental

Os voluntários compareceram ao laboratório (Centro de Estudos em Psicobiologia e Exercício de São Paulo – CEPE) em quatro dias, sendo que houve intervalo de uma semana entre os dias do teste. No 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, de acordo com o estudo, o assinaram. Após a assinatura, os voluntários foram submetidos ao eletrocardiograma de repouso e esforço. Na semana seguinte, os voluntários foram submetidos a um teste com intensidades progressivas até a exaustão voluntária para a determinação do consumo máximo de oxigênio (VO<sub>2</sub>

máximo) e do limiar anaeróbio em baixa altitude. Na terceira semana, os voluntários realizaram exercício ao nível do mar e na quarta semana, realizaram exercício simulando altitude de 4200 metros.

### **3.5 - Determinação do Limiar anaeróbio e do VO<sub>2</sub> máximo ao nível do mar**

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 1 km/h a cada minuto, sendo a carga inicial para aquecimento de três minutos a 7 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. Durante todo o teste foi utilizada uma inclinação fixa de 1%.

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. 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 mantida constante em 25°C e umidade relativa do ar em torno de 60%.

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. Para isso uma concentração de gases conhecidas foi 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 duas 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% do limiar ventilatório 1 durante 60 minutos simulando duas altitudes distintas: nível do mar e 4200 metros. Cada teste foi intercalado por 6 dias de descanso no qual os voluntários ficaram sentados em repouso em normóxia. Todos os exercícios foram realizados no período da tarde entre 14:00 e 16:00 no período da tarde após restrição alimentar de 3 horas para evitar possíveis influências circadianas e alimentares.

#### **3.6.1 - Câmara de simulação de altitude**

O simulador de altitudes (normobaric chamber, CAT - Colorado Altitude Training™/12 CAT-Air Unit), simula até 4500 metros. Este equipamento instalado dentro de um quarto vedado para não ter contato com o ar ambiente apresenta duas unidades de ar que foram instaladas do lado de fora da câmara o que permite a troca gasosa (aumento de nitrogênio e redução de O<sub>2</sub>). Dentro da câmara há um display que exhibe a altitude simulada em tempo real, que é

mensurada por um módulo que contém uma célula de O<sub>2</sub> sensível a variações deste O<sub>2</sub>. A altitude real irá aumentar ou diminuir em incrementos de 100 pés (25 metros). Neste estudo, foram observadas todas as recomendações do fabricante para o uso e segurança, conforme observado no anexo 1.

### **3.7 - Coleta de Sangue**

A coleta de sangue foi efetuada em repouso, imediatamente após o exercício e 1 hora após o final do exercício no nível do mar e 4200 metros de altitude foram coletados 10 mL de sangue venoso. A primeira coleta aconteceu após três horas de restrição alimentar. O sangue foi armazenado em tubos contendo 100 µL de heparina de sódio (125 UL) até a centrifugação. O sangue total foi centrifugado a 690 X g durante 15 minutos a 4 °C, sendo o plasma extraído, aliquotado e armazenado em *freezer*-80 °C para posteriores dosagens.

### **3.8 - Determinação dos parâmetros plasmáticos**

**3.8.1 - Glutamina** – As concentrações de glutamina no plasma foi determinadas enzimaticamente segundo método descrito por Windmueller; Spaeth (1974) adaptado a partir de COONEY e colaboradores (1971) e Kirsten e colaboradores (1963), cujo princípio é a conversão de nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzido (NADH) em nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD) pela ação da enzima *glutamato desidrogenase* (GDH), cuja função é formar glutamato a partir de alfa-cetoglutarato e amônia que foi formada no meio, a partir da reação da glutamina já existente com a *asparaginase*. O meio de ensaio (pH 8,0) foi constituído por fosfato de potássio dibásico (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) 50 mM, glicerol 50%, NADH



4 mM, albumina defatada (BSA) 10%, GDH 5,0 U/ml, alfa-cetoglutarato 4,0 M e *asparaginase* 5,0 U/ml. Após incubação em temperatura ambiente, realizamos a leitura em espectrofotômetro com comprimento de onda de 340 nm para determinação da quantidade de NADH consumido no meio, que é proporcional a quantidade de glutamina da amostra. A concentração plasmática de glutamina foi determinada enzimaticamente com *Kits da Sigma*<sup>®</sup>.

**3.8.2 - Citocinas:** a concentração plasmática de IL-6, IL-10 e TNF- $\alpha$  foi determinada por ELISA com *Kits de ultra-sensibilidade da Bioscience*<sup>®</sup>.

### **3.8.3 – Lesão celular:**

**3.8.3.1 Creatina quinase (CK) –** Determinamos enzimaticamente a atividade máxima da enzima CK segundo métodos descritos por Rosalki (1967) e Szasz e colaboradores (1976) usando um Kit comercial (Bioclin), cujo principio é a redução do NADP<sup>+</sup> a NADPH, que é proporcional à atividade do CK na amostra em um sistema onde a fosfocreatina (CP) é transformada em creatina e ATP pela enzima CK. A seguir, a glicose do meio de ensaio associada ao ATP formado é convertida em glicose-6-fosfato pela *hexoquinase* que finalmente é convertida a gliconolactona-6-fosfato e NADPH, que é proporcional à atividade da CK. O meio de ensaio foi formado por *glicose-6-Fosfato desidrogenase* 2000 U/L; creatina fosfato 30 mM; ADP 2 mM; AMP 5 mM; diadenosina pentafosfato 10 mM; acetato de imidazol (pH 6,7) 100 mM; glicose 20 mM; EDTA 2 mM; NADP<sup>+</sup> 2 mM; *Hexoquinase* 3500 U/L; acetato de magnésio 10 mM e N-acetilcisteína 20 mM. Após incubação de 5 minutos a 37°C as amostras foram analisadas em espectrofotômetro com absorvância de 340 nm. Os valores estão expressos em U/L.

### **3.8.3.2 Lactato desidrogenase (LDH)**

Determinamos a atividade máxima da enzima *Lactato desidrogenase* segundo método descrito por Zammit; Newsholme (1976), cujo princípio é a diminuição de NADH na reação que forma lactato a partir de piruvato na reação catalizada pela LDH. O meio de ensaio consistiu de tris-aminometano 120 mM, NADH 3,4 mM, antimicina A 1 mM e 100 mL de triton 100 %. O início da reação se deu pela adição de piruvato 2 mM e a variação na absorbância foi monitorada durante 10 minutos a 25°C em espectrofotômetro (340 nm). Os valores estão expressos em U/l. a concentração de CK-total, CK-mb e LDH foram determinadas enzimaticamente por *Kits da Bioclin*<sup>®</sup>

### **3.9 – Saturação de oxigênio na hemoglobina**

Antes, imediatamente após e ao final de cada sessão de exercício foi avaliada a 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 oxigênio (Luks e Swenson, 2011).

### **3.10 – 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<sup>®</sup>, modelo FS1).

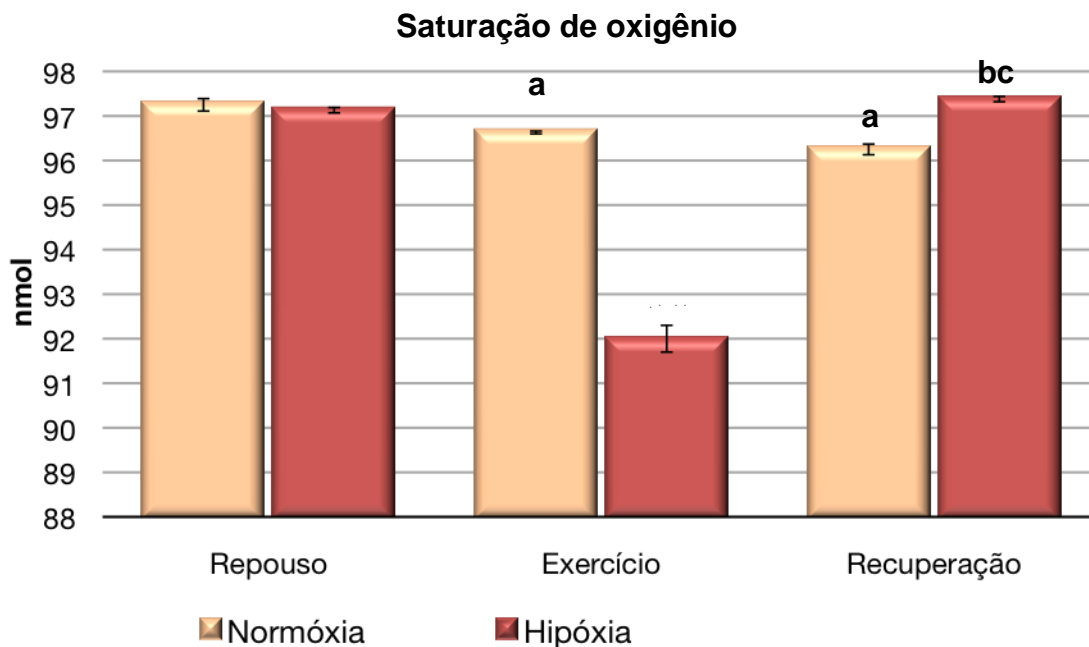
### 3.11 - Análise estatística

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*) com medidas repetidas, seguida de pós-teste de *Tukey* com nível de significância fixo em  $p < 0,05$ .

## 4. RESULTADOS

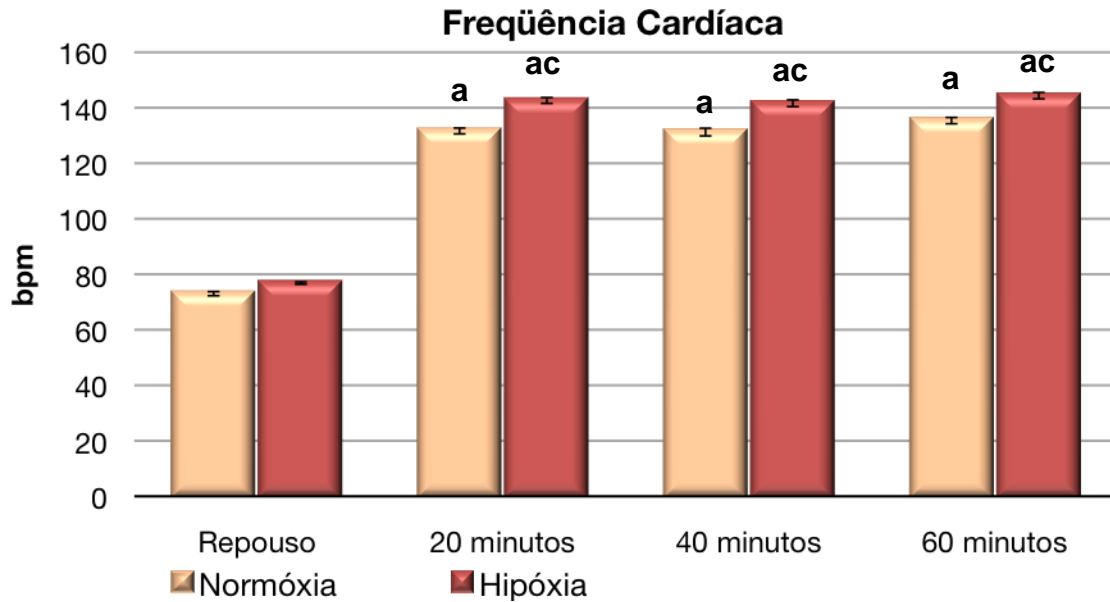
Após todas as coletas dosadas, avaliamos os parâmetros biológicos e bioquímicos e obtivemos os seguintes resultados.

Como demonstrado na figura 1, a análise da saturação de oxigênio na condição de normóxia, tanto durante o exercício ( $96,63 \pm 0,03$  %) quanto uma hora após o término deste ( $96,25 \pm 0,12$  %), mostrou valores significativamente menores, quando comparados aos valores dos voluntários em repouso ( $97,25 \pm 0,14$  %). Na condição de hipóxia, os valores durante o exercício ( $92,00 \pm 0,30$  %) foram menores quando comparados aos valores de repouso ( $97,13 \pm 0,06$  %) e quando comparados a condição normóxia, sendo que, na recuperação ( $97,38 \pm 0,06$  %), observamos um aumento destes valores em relação ao exercício.



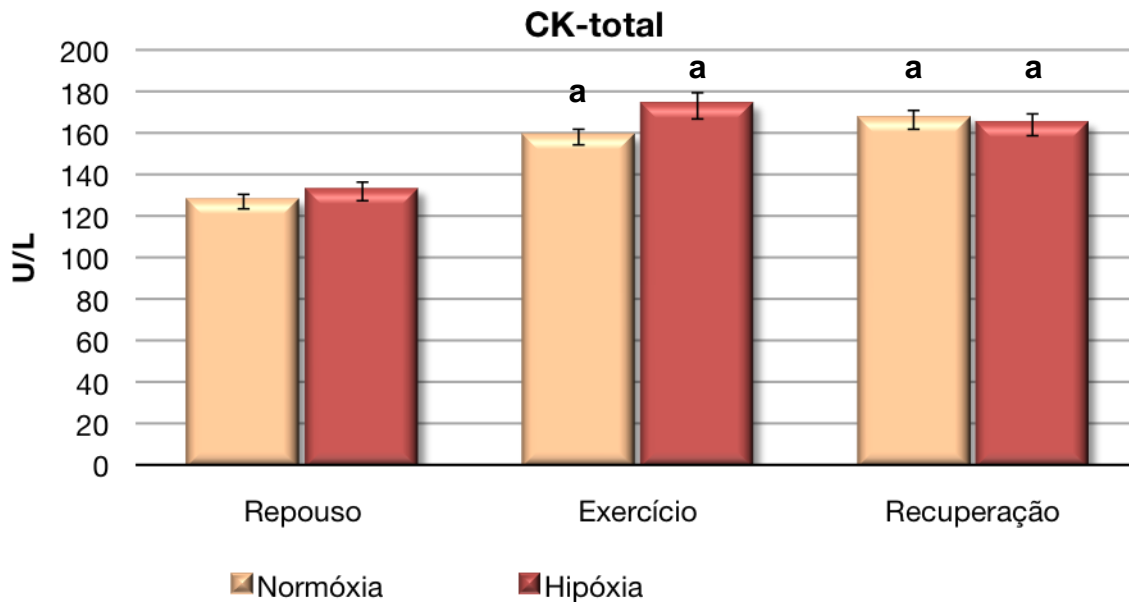
**Figura 1.** A saturação de oxigênio dos voluntários durante os testes na condição de normóxia (nível do mar) e hipóxia (4200m) nas condições repouso, final do exercício e após 1 hora de recuperação. Os valores estão expressos em % de saturação da hemoglobina e representam média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) para um  $n = 7$ .  $p < 0,05$ . “a” diferente em relação ao valor de repouso, “b” diferente do valor imediatamente após o final do exercício e “c” diferente em relação à normóxia.

Com relação à frequência cardíaca (FC), a figura 2 demonstra que houve significativo aumento nos primeiros 20 minutos de exercício em relação aos valores de repouso, tanto na condição de normóxia ( $131,63 \pm 1,05$  bpm) como na condição de hipóxia ( $142,63 \pm 1,04$  bpm), em relação aos valores basais em normóxia e hipóxia ( $73,00 \pm 0,74$  e  $76,83 \pm 0,42$  bpm respectivamente). Comportamento semelhante foi observado no quadragésimo e sexagésimo minutos.



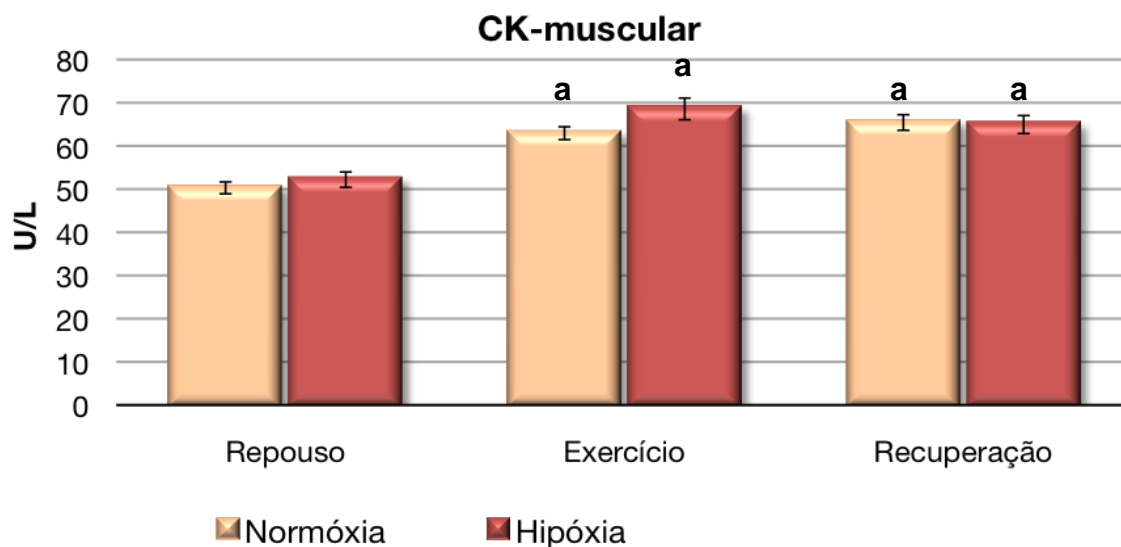
**Figura 2.** Frequência cardíaca dos voluntários durante os testes na condição de normóxia (nível do mar) e hipóxia (4200m) nas condições repouso, final do exercício e após 1 hora de recuperação. Os valores estão expressos em batimento por minuto (bpm) e representam média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) para um  $n = 7$ .  $p < 0,05$ . "a" diferente em relação ao valor de repouso e "c" diferente em relação à normóxia.

A creatina quinase total (CK-total) teve um significativo aumento na sua concentração após o final do exercício em relação aos valores de repouso para a condição normóxia ( $126,89 \pm 3,48$  vs  $158,00 \pm 3,76$  U/L). Além disso, durante o exercício, o valor para CK-total na condição de hipóxia foi significativamente maior em relação ao basal ( $131,70 \pm 4,49$  vs  $173,04 \pm 6,32$  U/L). Uma hora após o final do exercício, a quantidade de CK-total continuou significativamente maior em ambos os grupos ( $166,29 \pm 4,54$  e  $163,90 \pm 5,26$  U/L, respectivamente na condição normóxia e hipóxia) comparados com os respectivos valores de repouso, como demonstrado na figura 3.



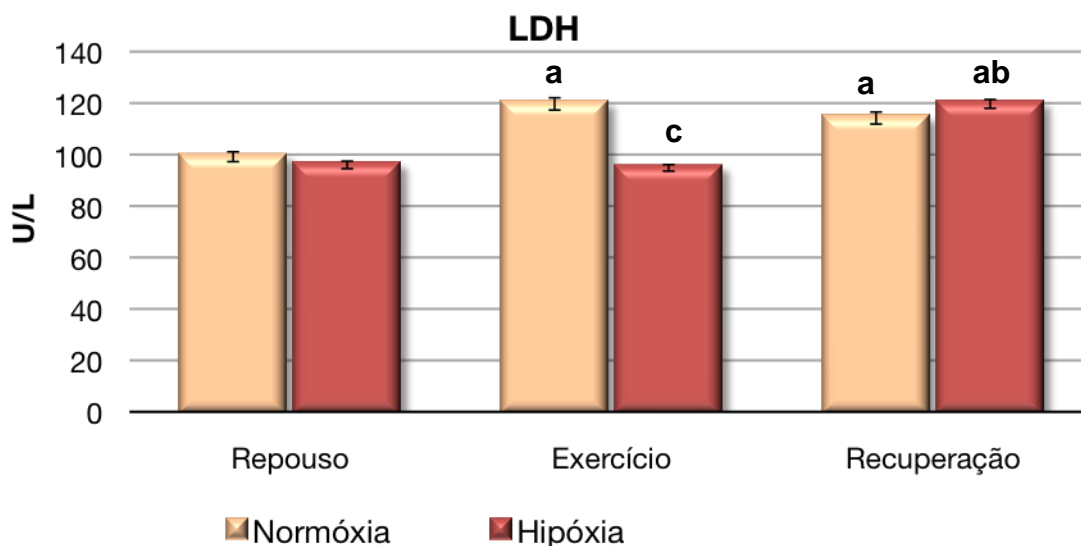
**Figura 3.** A atividade da creatina quinase total (CK – total) no plasma dos voluntários durante os testes na condição de normóxia (nível do mar) e hipóxia (4200m) nas condições repouso, final do exercício e após 1 hora de recuperação. Os valores estão expressos em U/L e representam média ± erro padrão da média (EPM) para um n = 7. p < 0,05. a” diferente em relação ao valor de repouso.

A creatina quinase muscular (CK-mb) teve um significativo aumento na sua atividade após o final do exercício em relação aos valores de repouso para a condição normóxia e hipóxia (62,95 ± 1,49 vs 158,00 ± 3,76 U/L e 52,18 ± 1,78 vs 68,57 ± 2,51 U/L). Uma hora após o final do exercício, a quantidade de CK-total continuou significativamente maior em ambos os grupos (65,43 ± 1,80 e 64,95 ± 2,08 U/L, respectivamente nas condições normóxia e hipóxia), comparados com os respectivos valores de repouso, como demonstrado na figura 4.



**Figura 4.** Atividade da creatina quinase muscular (CK – mb) no plasma dos voluntários durante os testes na condição de normóxia (nível do mar) e hipóxia (4200m) nas condições repouso, final do exercício e após 1 hora de recuperação. Os valores estão expressos em U/L e representam média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) para um  $n = 7$ .  $p < 0,05$ . “a” diferente em relação ao valor de repouso.

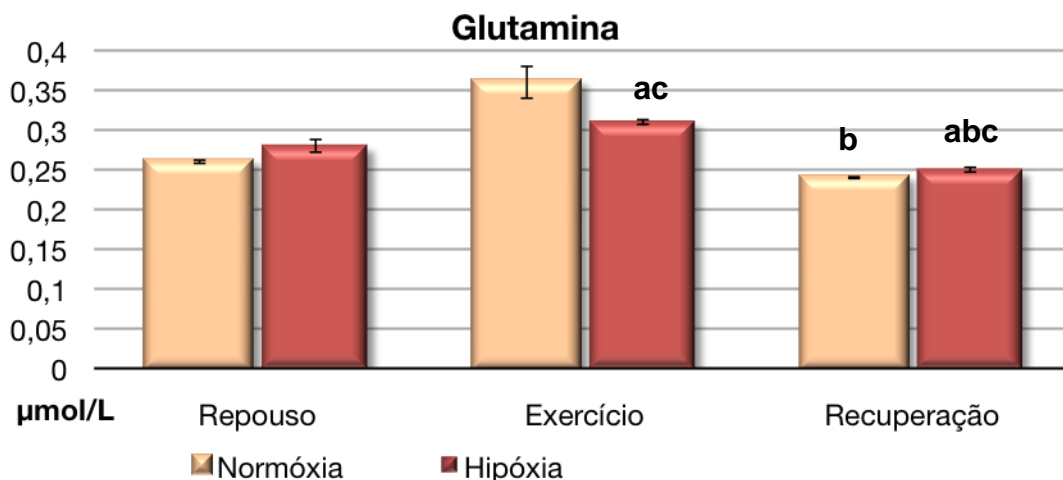
Na figura 5 demonstramos os resultados para lactato desidrogenase (LDH). Observamos um valor maior uma hora após o final do exercício ( $119,69 \pm 1,71$  U/L) em relação ao valor de repouso ( $95,98 \pm 1,45$  U/L) e no final do exercício ( $94,83 \pm 1,27$  U/L) na condição de hipóxia. Ainda na condição hipóxia, os valores do LDH durante o exercício foram menores quando comparados a mesma condição, contudo, em normóxia ( $94,83 \pm 1,27$  vs  $119,69 \pm 2,38$  U/L). Na condição de normóxia, os valores durante o exercício e uma hora após o final do exercício foram maiores do que os valores de repouso.



**Figura 5.** Concentração de lactato desidrogenase (LDH) no plasma dos voluntários durante os testes na condição de normóxia (nível do mar) e hipóxia (4200m) nas condições repouso, final do exercício e após 1 hora de recuperação. Os valores estão expressos em U/L e representam média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) para um  $n = 7$ .  $p < 0,05$ . “a” diferente em relação ao valor de repouso, “b” diferente do valor imediatamente após o final do exercício e “c” diferente em relação à normóxia.

As dosagens de glutamina, presentes na figura 6, tiveram reduções significativas na recuperação em normóxia quando comparados os valores ao exercício ( $0,24 \pm 0,001$  vs  $0,26 \pm 0,002$   $\mu\text{mol/L}$ ). Já na condição de hipóxia, as diferenças foram significativas durante o exercício quando comparadas aos valores de repouso ( $0,31 \pm 0,003$  vs  $0,28 \pm 0,008$   $\mu\text{mol/L}$ ) e uma hora após o exercício ( $0,25 \pm 0,003$   $\mu\text{mol/L}$ ) quando comparadas ao exercício e ao repouso. Por fim, uma hora após o final do exercício a concentração de glutamina foi menor na condição de hipóxia em relação ao valor em normóxia.



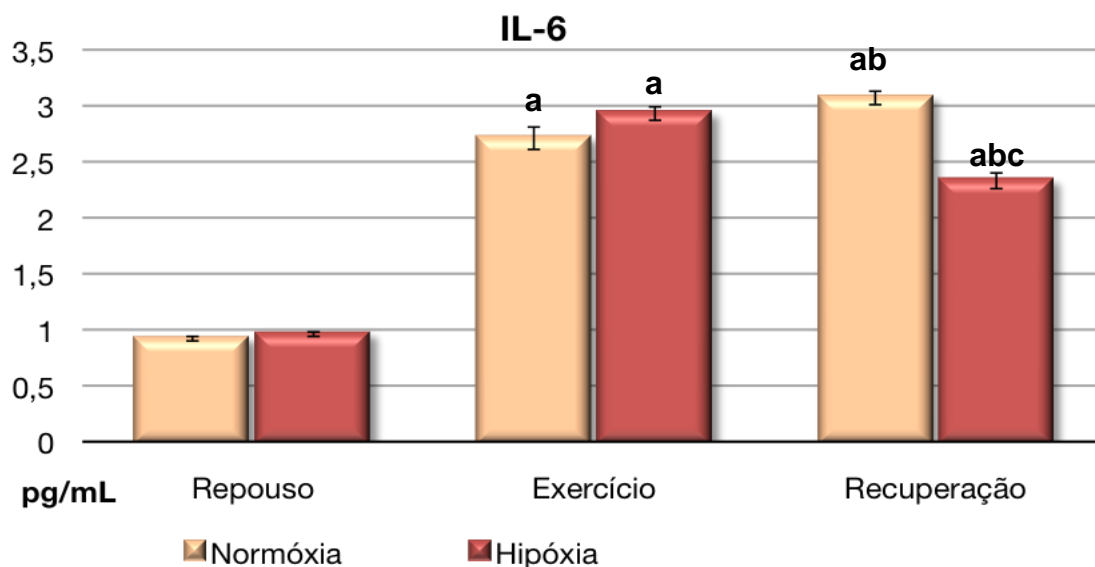


**Figura 6.** Concentração de glutamina plasmática dos voluntários durante os testes na condição de normóxia (nível do mar) e hipóxia (4200m) nas condições repouso, final do exercício e após 1 hora de recuperação. Os valores estão expressos em  $\mu\text{mol/L}$  e representam média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) para um  $n = 7$ .  $p < 0,05$ . "a" diferente em relação ao valor de repouso, "b" diferente do valor imediatamente após o final do exercício e "c" diferente em relação à normóxia.

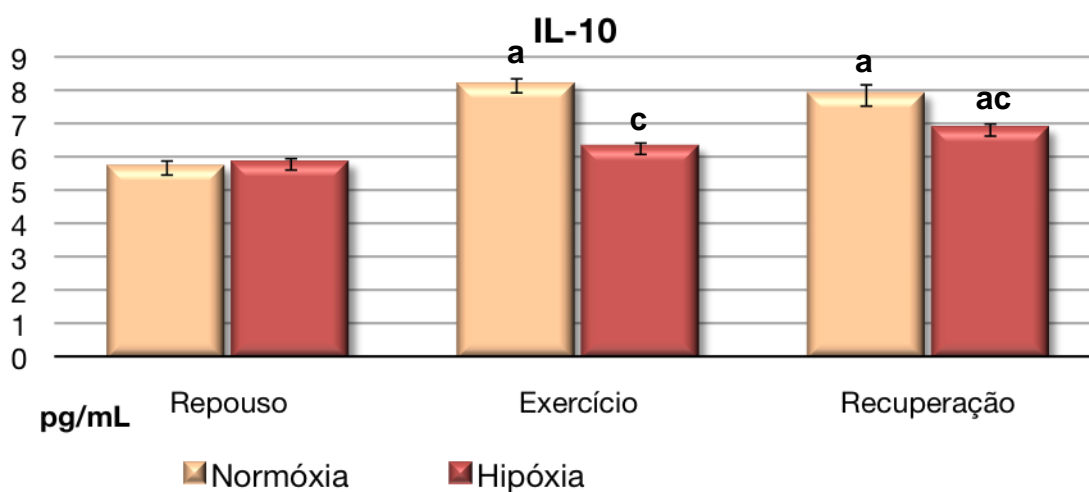
As interleucinas 6 (IL-6) e 10 (IL-10) foram dosadas e apresentadas nas figuras 7 e 8, respectivamente. A IL-6, tanto em normóxia quanto em hipóxia, mostrou valores aumentados quando comparados ao repouso e exercício ( $0,92 \pm 0,02$  vs  $2,71 \pm 0,10$  pg/mL e  $0,96 \pm 0,02$  vs  $2,93 \pm 0,06$  pg/mL, respectivamente em normóxia e hipóxia). Além disso, a figura 6 mostra que na recuperação ( $3,07 \pm 0,06$  pg/mL) em normóxia valores aumentados quando comparados ao repouso e exercício. Na recuperação na condição hipóxia observa-se que houve diminuição em relação ao final do exercício.

Já a IL-10, apresentou um aumento significativo, em normóxia, durante o exercício ( $8,13 \pm 0,21$  pg/mL), sendo que continuou elevado uma hora após o exercício ( $7,84 \pm 0,32$  pg/mL) em relação aos valores basais ( $5,66 \pm 0,21$  pg/mL). Em hipóxia, houve uma redução dos valores durante o exercício ( $6,24 \pm 0,17$

pg/mL) e na recuperação ( $6,80 \pm 0,8$  pg/mL) quando comparados a normóxia (figura 7).

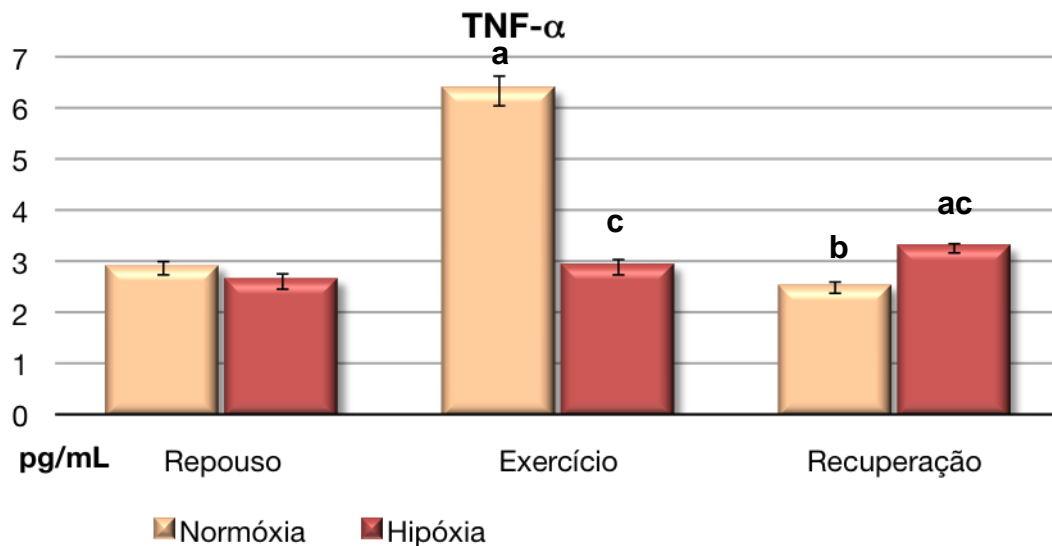


**Figura 7.** Concentração de interleucina 6 no plasma dos voluntários durante os testes na condição de normóxia (nível do mar) e hipóxia (4200m) nas condições repouso, final do exercício e após 1 hora de recuperação. Os valores estão expressos em pg/mL e representam média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) para um  $n = 7$ .  $p < 0,05$ . "a" diferente em relação ao valor de repouso, "b" diferente do valor imediatamente após o final do exercício e "c" diferente em relação à normóxia.



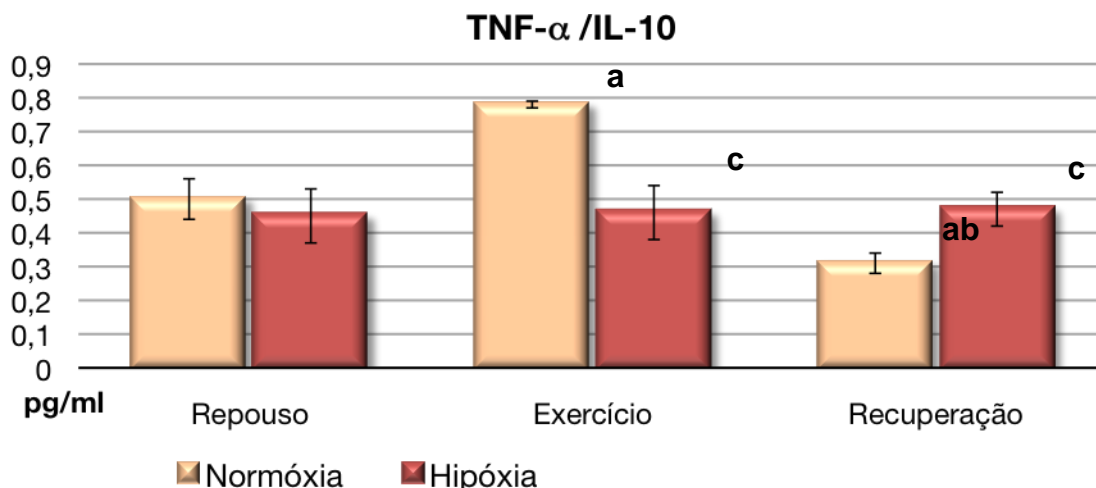
**Figura 8.** Concentração de interleucina 10 no plasma dos voluntários durante os testes na condição de normóxia (nível do mar) e hipóxia (4200m) nas condições repouso, final do exercício e após 1 hora de recuperação. Os valores estão expressos em pg/mL e representam média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) para um  $n = 7$ .  $p < 0,05$ . "a" diferente em relação ao valor de repouso e "c" diferente em relação à normóxia.

Na figura 9, o comportamento do fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) durante o exercício em normóxia foi significativamente maior ( $6,33 \pm 0,29$  pg/mL) em relação ao repouso ( $2,86 \pm 0,13$  pg/mL) nesta mesma situação, sendo que na recuperação ( $2,48 \pm 0,11$  pg/mL) os valores retornaram ao valor basal. Na recuperação em hipóxia ( $3,25 \pm 0,09$  pg/mL), os valores foram mais elevados que os de repouso ( $2,60 \pm 0,15$  pg/mL) e os da recuperação em normóxia, sendo que durante o exercício em hipóxia ( $2,88 \pm 0,15$  pg/mL) o valor foi significativamente menor que durante o exercício em normóxia.



**Figura 9.** Concentração do fator de necrose tumoral alfa no plasma dos voluntários durante os testes na condição de normóxia (nível do mar) e hipóxia (4200m) nas condições repouso, final do exercício e após 1 hora de recuperação. Os valores estão expressos em pg/mL e representam média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) para um  $n = 7$ .  $p < 0,05$ . "a" diferente em relação ao valor de repouso, "b" diferente do valor imediatamente após o final do exercício e "c" diferente em relação à normóxia.

Com relação à relação TNF- $\alpha$ /IL-10, na figura 10 está demonstrado que houve significativo aumento no final do exercício em relação ao valor de repouso na condição normóxia ( $0,78 \pm 0,01$  vs  $0,50 \pm 0,06$ ). Ao contrário, os valores encontrados após 1 hora de recuperação ( $0,31 \pm 0,03$ ) foram menores do que valor basal e imediatamente após o final do exercício. Ao final do exercício na condição hipóxia observa-se valor menor ( $0,46 \pm 0,08$ ) do que no final do exercício na condição normóxia. Por outro lado, após 1 hora de recuperação a relação TNF- $\alpha$ /IL-10 foi maior na condição hipóxia ( $0,47 \pm 0,05$ ) do que 1 hora após o final do exercício na condição normóxia (figura 9).



**Figura 10.** Relação entre a concentração do fator de necrose tumoral alfa e da interleucina 10 no plasma dos voluntários durante os testes na condição de normóxia (nível do mar) e hipóxia (4200m) nas condições repouso, final do exercício e após 1 hora de recuperação. Os valores estão expressos em pg/mL e representam média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) para um  $n = 7$ .  $p < 0,05$ . "a" diferente em relação ao valor de repouso, "b" diferente do valor imediatamente após o final do exercício e "c" diferente em relação à normóxia

## 5. DISCUSSÃO

O exercício físico pode ser considerado um agente estressor, pois, para conseguir realizá-lo, o organismo lança mão de modificações fisiológicas a fim de responder à quebra da homeostase e promover, assim, o restabelecimento das diversas funções fisiológicas modificadas pelo exercício.

Dentre os sistemas que sofrem modificações, está o sistema imunológico, sendo que os exercícios moderados (até aproximadamente 65%  $VO_2$  máximo) e extenuantes (acima de 90 minutos) os influenciam de diferentes formas. O moderado parece ser benéfico para o sistema imunológico, pois melhora a função de diversas células imunológicas e diminui a incidência de infecções. Já o extenuante está associado à imunossupressão, aumentando a incidência de

infecções no trato respiratório superior (ITRS) e outras doenças oportunistas (GLESSON, 2007).

Tal fato é evidenciado pela teoria da curva em “J”, postulada por Nieman e Canarella (1994), e a teoria da tão conhecida “janela aberta” de Pedersen e Ullum (1994), mostrando que existe um período de imunossupressão após o exercício intenso, ficando o indivíduo susceptível a desenvolver infecções oportunistas (KRINSKI et al., 2010).

Em 2006, o estudioso Malm, postulou o quadro imunomodulador do exercício com a “curva em S”, diferindo da “curva em J” pelo acréscimo do grupo atletas de elite. Mostrou que o exercício moderado leva a uma menor incidência de infecções, enquanto exercícios extenuantes podem levar a redução da atividade do sistema imunológico. Em atletas de elite esta redução da atividade imunológica é menor quando comparadas a pessoas que não são atletas, mas submetidos ao treinamento intenso. Os motivos desse comportamento não é conhecido, porém talvez seja pelo fato de serem profissionais e o organismo estar altamente adaptado a treinos vigorosos.

Quando deparamos com um ambiente de elevada altitude, caracterizada pela baixa pressão parcial de oxigênio (hipóxia), trabalhos elucidam que altitudes acima de 2500 metros, influenciam não só o sistema imunológico, como diversos outros sistemas, como o cardiovascular, hematológico, pulmonar e outros.

Esta condição de hipóxia atribui-se a alteração na pressão atmosférica, pressão parcial de oxigênio e ou concentração de oxigênio que estão reduzidas em altitude elevada, sendo que a exposição prolongada de uma pessoa não

aclimatada a esta situação adversa e não controlada pode levar a sérios danos (MCARDLE, 2008).

Nossos resultados demonstram que ao realizar um exercício agudo, mesmo que com intensidade moderada, ocorre diminuição na saturação de O<sub>2</sub> na hemoglobina como demonstrado na figura 1, estando, portanto, de acordo com estudos clássicos compilados por Wheatley et al. (2011) e confirmando a eficiência do modelo de exposição à hipóxia utilizado em nosso estudo.

Deparado a esta situação, pela redução da pressão parcial de O<sub>2</sub> em um ambiente de altitude simulada, ocorrem mudanças ventilatórias, levando ao processo de hiperventilação. Como resposta à redução de oxigênio no ambiente diminui a pressão parcial de oxigênio estimulando os quimioceptores carotídeos e aórticos, que são sensíveis a qualquer modificação na sua concentração, alterando assim a atividade do centro respiratório de forma a aumentar a ventilação alveolar (frequência respiratória), resultando na elevação da pressão parcial de oxigênio, a fim de “igualar” à pressão parcial de oxigênio do ar ambiente (MCKENZIE, 2012). Assim, a hiperventilação facilita a fixação de oxigênio na hemoglobina e proporciona a linha rápida de defesa contra a concentração de oxigênio ambiente reduzida (MCARDLE, 2008). Quando ocorre redução da pressão parcial de oxigênio existe uma resposta imediata do centro respiratório por aumento da frequência respiratória, visando restabelecer a pressão parcial a níveis normais. Por esse motivo, uma hora após o final do exercício na hipóxia, no qual os voluntários permaneceram em condição de normóxia, houve restabelecimento da taxa de saturação de O<sub>2</sub> na hemoglobina demonstrando que, na presença de um ambiente com pressão parcial de O<sub>2</sub> semelhante ao

encontrada ao nível do mar, é suficiente para restabelecer disponibilidade de O<sub>2</sub> para os tecidos do organismo.

Simultaneamente, o centro respiratório envia um “sinal de natureza simpática” para que aumente a frequência cardíaca, ocorrendo um aumento no débito cardíaco e, conseqüentemente, na pressão arterial sistêmica e no fluxo sangüíneo. Dessa forma, durante a prática de exercícios em normóxia, ou seja, nível do mar há um aumento da frequência cardíaca, por conta da estimulação do sistema nervoso simpático e pela inibição vagal (ALMEIDA et al., 2003).

Este aumento ocorre em decorrência de uma resposta compensatória, pois durante a prática de exercício ocorre maior gasto energético (ATP), de modo a haver maior necessidade de grande aporte de oxigênio aos tecidos a fim de ressintetizar ATP. Nesta situação, a não oxigenação adequada leva a vasodilatação arterial e venosa visando aumento de fluxo sangüíneo. Esta situação reduz o retorno venoso que, conseqüentemente, reduz o débito cardíaco e a pressão arterial. A redução da pressão arterial estimula os baroreceptores carotídeos e aórticos a enviarem sinais ao centro vasomotor promovendo esta resposta simpática.

Com relação à frequência cardíaca (FC) temos o padrão clássico, onde, no início do exercício físico, há um aumento e, durante a realização, uma manutenção da FC devido à intensidade retangular e tempo de duração de uma hora (POWERS, 2000; MCARDLE, 2008). Estudos demonstram que no exercício, existe um aumento da frequência cardíaca, fato evidenciado em nosso trabalho, tanto na situação de normóxia quanto na situação de hipóxia, 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. Diversos estudos anteriores demonstram que a intensidade relativa do exercício em hipóxia é menor; no entanto, não foi suficiente para promover elevação da FC do que em normóxia (HULTGREN, 1997; MIRRAKHIMOV, 1996; ROSTRUP, 1998, *apud* MAGALHÃES, 2002).

A maior intensidade do exercício imposto pela condição de hipóxia pode promover modificações mais intensas em relação ao exercício em normóxia. Por isso, avaliamos marcadores de lesão celular, a fim de termos informações a respeito do dano celular, especialmente no músculo esquelético induzido pelo exercício. Classicamente, exercícios realizados na condição de normóxia promovem aumento de marcadores de lesão celular, tais como CK e LDH.

No entanto, esse aumento pode ser mediado por diversos fatores como intensidade e duração do exercício. Em hipóxia a intensidade relativa d exercício é maior do que em normóxia, o qual por sua vez estimula o aumento no consumo de oxigênio mitocondrial para atender a maior demanda por energia. O exercício intenso aumenta a geração de radicais livres e espécies reativas de oxigênio (EROs), através de várias vias, incluindo a fosforilação oxidativa, aumento de catecolaminas, o metabolismo prostanóides, xantina oxidase e NADPH. Neutrófilos e macrófagos migram para o local da contração induzida por lesão muscular infiltrada no tecido muscular e ativa a liberação de citocinas, com conseqüente produção de ERO (BRATON, 2002).

A maioria das EROs são neutralizadas por um sofisticado sistema de defesa antioxidante composta de uma variedade de enzimas e antioxidantes não enzimáticos, incluindo vitamina A, vitamina E, vitamina C, glutatona, biquinona e flavonóides (URSO, 2003). No entanto, na condição de hipóxia, as defesas antioxidantes tornam-se prejudicadas podendo aumentar o nível de lesão celular nas células musculares até mesmo na condição de repouso (BRANCACCIO et al., 2008).

No presente estudo, encontramos aumento de 25% na CK-total durante o exercício na condição de normóxia, e esse aumento perdurou por pelo menos 1 hora após o final do exercício. Na condição de hipóxia, também foi observado um maior valor para CK-total após o exercício. Quando comparamos o exercício em hipóxia com o exercício em normóxia, observamos um aumento de 35% de CK-total nos indivíduos em hipóxia.

A CK-mb é específica para indicar dano celular no músculo esquelético, sendo o comportamento parecido com a CK-total. Na condição de normóxia, o exercício induziu um aumento de 25% em relação ao valor de repouso e aumento ligeiramente maior depois de 1 hora de recuperação (30%). Na condição de hipóxia, o aumento de CK-total no final do exercício foi de 30%. Levando em conta o significado da CK-total e da CK-mb como marcadoras de lesão, nossos resultados indicam que o exercício por si só promove lesão celular, confirmando diversos estudos anteriores. Além disso, a realização de uma sessão de exercício, mesmo que com intensidade moderada e exposição com tempo curto à hipóxia simulando uma condição de 4200 metros, faz com que o dano celular seja maior do que na condição de normóxia, confirmando o estudo de Ortega et al. (2006),

que demonstraram maior lesão induzida pelo exercício realizado em altitude de 2340 metros. É possível que este aumento da CK não tenha sido tão exacerbado em virtude do tempo que ela leva, após lesão celular, para chegar na corrente sanguínea. Nesse sentido, se o tempo de recuperação fosse superior a 1 hora, poderíamos ter observado maiores concentrações de CK.

Analizamos ainda a concentração de LDH na corrente sanguínea e a despeito da LDH terem cinética de aparecimento diferente da CK. Assim, observamos que os resultados encontrados em ambos os marcadores se confirmam, indicando maior lesão na hipóxia em relação à normóxia. Moller et al. (2001), demonstraram que 3 dias de exposição a uma altitude de 4459 metros com e sem exercício foi suficiente para induzir dano celular. Nesse sentido, nosso trabalho demonstrou que mesmo uma exposição menor à hipóxia já é suficiente para aumentar o dano celular e que o dano celular nessa condição pode estar associado ao quadro inflamatório característico da exposição hipóxia.

A maioria das citocinas tem sido associada à regulação da resposta imunológica e inflamatória, sendo sua ação exercida de forma endócrina, parácrina e autócrina. De fato, nos últimos anos tem sido mostrado que o sistema imunológico e neuroendócrino se comunicam (WEIGHT & BLALOCK, 1997), de modo que a expressão dessas proteínas e de seus receptores não é restrita às células do sistema imunológico, mas também a um grande número de tecidos, incluindo o cérebro e glândulas endócrinas (TURNBULL & RIVIER, 1999).

As citocinas, que são proteínas de diversos diferentes pesos moleculares e atuação semelhante à de hormônios, podem ser divididas em dois grandes grupos, as pró-inflamatórias que são IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, INF- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ , cuja função é

promover a resposta inflamatória e as citocinas antiinflamatórias, que compreendem a IL-4, IL-10, IL-13 e receptores antagonistas, como aquele para a IL-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ Ra), por exemplo, cuja função é se contrapor à ação das citocinas pró-inflamatórias (SMITH, 2000). O exercício físico modula a produção e liberação das citocinas pró e anti-inflamatórias sendo que a magnitude dessa modulação ocorre em função da intensidade, duração e do tipo de exercício (MOLDOVEANU et al., 2001). Dentro desse universo, algumas citocinas, notadamente as pró-inflamatórias IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$ , têm recebido grande atenção nos últimos tempos, pois são citocinas que são fortemente influenciadas pelo exercício.

No presente estudo, foram avaliadas as interleucinas 6 e 10 (IL-6 e IL-10, respectivamente) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa) por serem citocinas importantes na regulação do balanço pró/antiinflamatório (LIRA et al., 2010).

A IL-6 é uma citocina pró-inflamatória sintetizada por vários tipos células dentre eles linfócitos, mastócitos, basófilos e células musculares. Dentre tantas funções, é uma citocina pleiotrópica que influencia a resposta imunológica inata e específica, além de reações inflamatórias, sendo um dos principais mediadores da fase aguda da inflamação; estimula também a produção de proteínas da fase aguda da inflamação nos hepatócitos e age na atração de eosinófilos quando deparado a um quadro inflamatório (PEDERSEN & HOFFMAN-GOETZ, 2000).

A IL-6 é a citocina que sofre as maiores influências do exercício. Uma sessão aguda de exercício causa um aumento acentuado de IL-6, sendo que a magnitude das alterações varia em função da intensidade e principalmente da duração do esforço (PEDERSEN et al., 2007).

Moldoveanu et al. (2000), encontraram aumento de 18 vezes na concentração plasmática de IL-6 após três horas de exercício. Suzuki et al. (2000), confirmaram esse estudo encontrando aumento de 100 vezes na concentração dessa citocina imediatamente após uma corrida de maratona demorando entre duas e seis horas para retornar ao nível anterior ao exercício (Moldoveanu et al., 2001).

Em nosso estudo observamos aumento de 200% na concentração plasmática de IL-6 após o exercício na condição de normóxia, confirmando estudos anteriores (FISCHER 2006; PENKOWA et al., 2003) uma hora após o final do exercício mostrou-se ainda mais acentuado com incremento de 13% em relação ao final do exercício.

Diversas explicações, não excludentes, têm sido levantadas para justificar o aumento da concentração plasmática de IL-6 durante o exercício, dentre elas a lesão celular provocada pelo exercício (BRUUNSGAARD et al., 1997); o aumento das catecolaminas, aumento na expressão de RNAm para IL-6 no tecido muscular (FEBBRAIO & PEDERSEN, 2000) e a diminuição dos estoques de glicogênio (NIEMMAN et al., 2003).

Na condição de hipóxia, observamos comportamento semelhante à normóxia, porém com magnitude maior; dessa forma, ao final do exercício encontramos aumento de 300% na concentração plasmática de IL-6 em relação ao valor de repouso e esse aumento foi ainda maior de 190% durante a recuperação quando comparação ao final do exercício. Os motivos para um aumento maior da IL-6 em hipóxia comparado com a normóxia não são totalmente descritos, mas possivelmente seja em decorrência da maior liberação de

catecolaminas, reduzida disponibilidade de O<sub>2</sub> e maior depleção dos estoques de glicogênio em virtude da maior utilização de glicogênio durante exercício na hipóxia independentemente da intensidade e duração do exercício.

O fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) é produzido principalmente por células do sistema imune tais como macrófagos e linfócitos T, células endoteliais, neurais e de *Kupffer* (MOLDOVEANU et al., 2001). Desempenha papel importante na regulação do metabolismo da glicose e das gorduras em diversos tecidos (PEDERSEN et al., 2007) e está associado à indução da resistência periférica à insulina, sendo encontrado em grande quantidade em obesos e portadores de diabetes do tipo 2 (RONTI et al., 2006). Além disso, exerce ação no centro de controle da temperatura, no hipotálamo, e atua como potente agente necrosante de tumor (MOLDOVEANU et al., 2001).

O TNF- $\alpha$  também tem sido descrito como potente estimulador do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Estudos *in vivo* têm mostrado que o tratamento com TNF- $\alpha$  estimula diretamente a secreção de ACTH, GH e prolactina de forma semelhante ao aumento induzido pelo tratamento com IL-1 $\beta$  (BERNARDINI et al., 1990). Além disso, o TNF- $\alpha$  parece estimular o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal de forma indireta, potencializando a ação de outras citocinas como a IL-1 $\beta$ , IL-2 e IL-6. A ação do TNF- $\alpha$  na interação neuroimunoendócrina vai além da ação no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, uma vez que exerce papel inibitório sobre o eixo hipotálamo-hipófise-tireóide em diversos níveis (STEINACKER et al., 2005) e desequilibra a produção de hormônios sexuais, como a testosterona e o estradiol, agindo diretamente sobre as gônadas (BESEDOVSKI et al., 1990).

Na condição de normóxia, encontramos aumento de aproximadamente 130% após o final do exercício em relação ao valor de repouso, porém, uma hora de recuperação não foi suficiente pra restaurar os valores para próximo dos valores basais, não confirmando estudos anteriores no qual o aumento durante o exercício foi rapidamente restabelecido após o final (FISCHER 2006). Já na condição de hipóxia, observamos um comportamento diferente. Não observamos diferenças estatisticamente significantes após o exercício, no entanto, após 1 hora de recuperação foi verificado um aumento de TNF- $\alpha$  em relação a condição pós exercício e também para este mesmo momento na condição de normóxia.

Estudos em altitude mostram que a IL-6 e TNF- $\alpha$  são importantes moduladores da resposta imunológica, que podem ser afetados pela exposição a elevadas altitudes. As citocinas desempenham um papel central na resposta imunológica através da ativação do mecanismo antigênico específico e não-específico e reparação de tecidos. A produção seletiva dessas citocinas pode determinar o resultado de uma resposta, estimulando proteção ou exacerbação da atividade do mecanismo imunológico. Por outro lado, as citocinas podem ser patogênicas, quando produzidas em excesso, resulta em uma superprodução de células inflamatórias, febre, derrame vascular, danos teciduais e, até, choque letal. Assim, múltiplos níveis de regulação gênica de citocinas, por conseguinte, existem para assegurar que, na maioria das circunstâncias, a síntese de citocina é limitada em tempo e espaço (MISHRA et al., 2010).

Estes resultados demonstram que, de fato, o exercício agudo, mesmo que intensidade moderada, possui ação inflamatória, que, por sua vez, é exacerbada pela exposição a hipóxia simulando altitude de 4200 metros. Todavia, a instalação

de uma quadro de inflamação depende da interação entre citocinas pró e antiinflamatórias, sendo que o produto final dessa condição depende da relação entre ambos mediadores.

A IL-10 é uma das principais citocinas anti-inflamatórias. Produzida por diversas células dentre elas os adipócitos e os miócitos, possui ainda potente função de inibir a síntese de outras citocinas, como IL-12, IL-2, IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ . Diminui a proliferação e a função citolítica e secretora de citocinas por célula do tipo Th1 e estimula resposta do tipo Th2. Diminui a ação de monócitos e macrófagos, sendo que atua como co-estimuladora para a proliferação de mastócitos e de células progenitoras (FORTE, 2007).

Diversos estudos têm demonstrado que a IL-10 tende a um aumento durante o exercício em normóxia quando comparado ao repouso, continuando elevado durante a recuperação (PETERSEN & PEERSEN, 2005; WALSH et al., 2011; YAKEU et al., 2010). Esse aumento pode ser dependente da duração e intensidade do exercício, assim como da composição corporal (PETERSEN & PEDERSEN, 2005). Encontramos em nosso estudo aumento de aproximadamente 50% na concentração de IL-10 durante o exercício e ligeira diminuição após uma hora de recuperação na condição de normóxia, confirmando, portanto, estudos anteriores (RIBEIRO et al., 2012; GARCIA et al., 2011; LIRA et al., 2010). Na condição de hipóxia, entretanto, observamos ligeiro aumento durante o exercício e manutenção desse aumento mesmo após a recuperação. Esse foi o primeiro trabalho que avaliou a concentração de IL-10 na condição de hipóxia durante e depois de uma sessão de exercício, o que dificulta a comparação dos nossos dados.



Além disso, quando avaliamos a relação TNF- $\alpha$ /IL-10, em normóxia, o exercício promoveu aumento de aproximadamente 55% na relação TNF- $\alpha$ /IL-10, enquanto que em hipóxia não houve modificação estatística. Esse resultado pode sugerir que os efeitos antiinflamatórios do exercício moderado se sobrepuseram sobre os efeitos inflamatórios da hipóxia.

Os mecanismos pelo qual o exercício na hipóxia regula a resposta inflamatória pós-exercício não é conhecido e carece de novos estudos, uma possibilidade é que parte dessa regulação seja mediada pela disponibilidade de glutamina. A glutamina é um aminoácido não essencial presente em altas concentrações no sangue e nas células musculares. Participa na proliferação e atividade de fibroblastos e linfócitos e favorece na biossíntese de nucleotídeos. Entretanto, durante estados catabólicos como quadros infecciosos, a homeostase da glutamina é alterada e suas reservas, particularmente no músculo esquelético, são depletadas.

O exercício prolongado e extenuante causa redução das concentrações plasmáticas e musculares de glutamina, as quais podem repercutir sobre a imunocompetência do atleta, aumentando a incidência de infecções no trato respiratório superior (ROSA et al., 2010) e inflamação como já descrito em condições fisiopatológicas (COËFFIER et al., 2010; BAN et al., 2008).

Essa diminuição pode ser decorrente da lesão muscular decorrente da prática de exercícios físicos e da utilização de aminoácidos que ocorre durante a prática de exercícios. Nesse sentido, é possível que devido a glutamina ser importante principalmente para linfócitos, neutrófilos e macrófagos, uma diminuição dos níveis plasmáticos da glutamina, poderia levar o organismo sofrer

de uma imunossupressão transitória, devido a um impedimento parcial do sistema imunológico, como demonstrado em quadros patológicos (NEWSHOLME, 1995) e após exercícios extenuantes (ROSA et al., 2010).

## **6. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Como pudemos comprovar, o presente estudo mostrou um estresse causado na situação de hipóxia pelo aumento das citocinas, talvez pela ação do cortisol e catecolaminas liberados durante situações extremas, ou mesmo pela diminuição de glutamina.

Porém, a redução de oxigênio ambiente não mostrou modificações nos marcadores de danos celulares, podendo ser por conta dos testes terem sido exercícios pontuais e agudos.

O exercício moderado em hipóxia atenua os efeitos inflamatórios que a hipóxia apresenta, comprovando a curva em S que demonstra a importância de exercícios moderados para a resposta imunológica

## **7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Abbas, A. K. & Lichtman, A. H. *Imunologia Celular e Molecular*, 5<sup>o</sup> ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.

Almeida, M.B. & Araújo, C.G. Efeito do treinamento aeróbio sobre a frequência cardíaca. *Rev Bras Med Esporte*; v.9; n.2; 2003.

- Ardawi, M.S. & Newsholme, E.A. Glutamine metabolism in lymphocytes of the rats. *Biochem J.* 1983; 212: 835 - 842.
- Ban, K.; Kozar, R.A. Enteral glutamine: a novel mediator of PPARgamma in the postischemic gut. *J Leukoc Biol.* 2008; 84: 595 - 9.
- Bassit, R.A.; Sawada, L.A.; Bacurau, R.F.P.; et al. Branched-Chain Amino Acid Supplementation and the Immune Response of Long-Distance Athletes. *Nutrition* 2002; 18: 376 - 379.
- Bernardini, B.; Kamilaris, T. C.; Cologero, A.E.; et al. Interactions between tumor necrosis factor-alpha, hypothalamic corticotropin-releasing hormone, and adrenocorticotropin secretion in the rat. *Endocrinol.* 1990; 126: 2876 - 2881.
- Besedovsky, H.O.; Del Rey, A.; Klusman, I.; Furukawa, H.; Ardit, G.M.; Kabiersch, A. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1991; 40: 613 - 618.
- Blegen, M.; Cheatham, C.; Caine-bish, N.; et al. The immunological and metabolic responses to exercise of varying intensities in normoxic and hypoxic environments. *J Strength Con Res.* 2008; 22: 1638 - 1644.
- Brancaccio, P.; Maffulli, N.; Buonauro, R.; et al. Serum enzyme monitoring in sports medicine. *Clin Sports Med.* 2008, 27: 1-18.
- Braton, L. J.; et al. Contraction-induced muscle damage is unaffected by vitamin E supplementation. *Med Science Sports Exercise* 2002; 34: 798 - 805.
- Bruungaars, H.; Andersen-Ranberg K.; Jeune B.; et al. A high plasma concentration of TNF-alpha is associated with dementia in centenarians. *Journal Gerontol A Biologic Science Medicine Science* 1999; 54: 357 - 364.

- Calbet J et al. Effect of blood hemoglobin concentration on VO<sub>2</sub>máx and cardiovascular function in lowlanders acclimatized to 5260 m. *J Physiol* 2002; 545(2):715-28.
- Calbet J. On the mechanisms that limit oxygen uptake during exercise in acute and chronic hypoxia: role of muscle mass. *J Physiol* 2009;587(15):477-90.
- Caldewell, C.C.; Kojima, K.; Lukashev, D.; et al. Differential effects of physiologically relevant hypoxic conditions on T lymphocyte development and effector functions. *J Immunol.* 2001; 167: 6140 - 6149.
- Castell, L.M. & Newsholme, E.A. Glutamine and the effects of exhaustive exercise upon the immune response. *Can J Physiol Pharmacol.* 1998; 76: 524 – 532.
- Castell, L.M. Glutamine supplementation in vitro and in vivo, in exercise and immunosuppression. *Sports Med.* 2003; 33: 325 - 345.
- Chao, C.C.; Strgar, F.; Tsang, M.; et al. Effects of swimming exercise on the pathogenesis of acute murine *Toxoplasma gondii* Me49 infection. *Clin Immunol Immunopathol.* 1992; 3: 220 - 226.
- Coëffier, M.; Marion-Letellier, R.; Déchelotte, P. Potential for amino acids supplementation during inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis.* 2010; 16: 518 - 24.
- Curi, R. Glutamina: metabolismo e aplicações clínicas e no esporte. 1a. Ed.. Rio de Janeiro, 2000. p. 177-188.
- Nieman, D.C.; Johanssen, L.M.; Lee, J.W.; et al. Infections episodes in runners before and after the Los Angeles Marathon. *J Sports Med Phys Fitness* 1990; 30: 316 - 328.

- Facco, M.; Zilli, C.; Siviero, M.; et al. Modulation of immune response by the acute and chronic exposure to high altitude. *Med Sci Sports Exerc.* 2005; 37: 768 - 774.
- Febbraio MA, Pedersen BK. Muscle-derived interleukin-6: mechanisms for activation and possible biological roles. *FASEB J.* 2002 (11):1335-47.
- Fischer CP. Interleukin-6 in acute exercise and training: what is the biological relevance?. *Exerc Immunol Rev.* 2006, 12:6-33.
- Forte, W.C.N. *Imunologia: do básico ao aplicado.* 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2007. 17-25p.
- Fox E, Bowers R, Foss M (1991). *Bases fisiológicas da educação física e dos desportos.* 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara.
- Gardeazábal D et al. Oxygen transport during hemodilution with a perfluorocarbon-based oxygen carrier: effect of altitude and hyperoxia. *J Appl Physiol* 2008;105(2):588-94.
- Glesson, M. Nutrition interventions to limit exercise-induced immunodepression. In: Teixeira, AM. *Conferences in exercise immunology.* Coimbra, Portugal. 1a. Edição, 2007. p. 45-70.
- Hagobian, T.A.; Jacobs, K.A.; Subudhi, A.W.; et al. Cytokine responses at high altitude: effects of exercise and antioxidants at 4300m. *Med Sci Sports Exerc.* 2006; 38: 276 - 85.
- Hartmann, G.; Tschop, M.; Fischer, R.; et al. High altitude increases circulating interleukin-6, interleukin-1 receptor antagonist and C-reactive protein. *Cytokine* 2000; 12: 246 - 252.

- Hiscock, N. & Pedersen, B.K. Exercise-induced immunodepression - plasma glutamine is not the link. *J Appl Physiol*. 2002; 93: 813 - 822.
- Hofmann, P; Pokan, R. Value of the application of the heart rate performance curve in sports. *Int J Sports Physiol Perform*. 2010; 5: 437 - 47.
- Hultgren, H. In: High altitude medicine. Ed. Hultgren Publications, San Francisco, 2003.
- Klokner, M.; Kharazmi, A.; Galbo, H.; et al. Influence of in vivo hypobaric hypoxia on function of lymphocytes, neutrocytes, natural killer cells, and cytokines. *J Appl Physiol*. 1993; 74: 1100-6.
- Knechtle B, Rosemann T. Skin-fold thickness and race performance in male mountain ultra-marathoners. *J Hum Sport Exerc* 2009;4(3):211-20.
- Krinski, K.; Elsangedy, H. M.; Colombo, H.; et al. Physical exercise effects in the immunological system. *Rev Bras Med*; v.67; n.7; 2010.
- Lhuissier, F.J.; Brumm, M.; Ramier, D.; et al. Ventilatory and cardiac responses to hypoxia at submaximal exercise are independent of altitude and exercise intensity. *J Appl Physiol* 2012; 112: 566 - 70.
- Mackinnon, L.T. Immunity in athletes. *Int J Sports Med*. 1997; 18: S62-8.
- Mackinnon, L.T. Special feature for the olympics: effects of exercise on the immune system: overtraining effects on immunity and performance in athletes. *Immunol Cell Biol*. 2000; 78: 502 - 509.
- Malm, C. Susceptibility to infections in elite athletes: the S-curve. *Scand J Med Sci Sports* 2006; 16: 4-6.
- Magalhães, J.; Duarte, J.; Ascensão, A. O desafio da altitude. Uma perspectiva fisiológica. *Rev Port Ciência do Desporto* 2002; 2: 81 - 91.

- Magalhães J, Asscensão. Hipóxia de altitude. Um estímulo indutor de alteração na homeostasia redox. *Rev Port Ci Deportes* 2008; 8(3):459-69.
- Mazzeo, R.S.; Wolfel, E.E.; Butterfield, G.E.; et al. Sympathetic responses during 21 days at high altitude (4,300 m) as determined by urinary and arterial catecholamines. *Metabolism* 1994; 43: 1226 - 1232.
- Mazzeo, R.S.; Brooks, G.A.; Butterfield, G.E.; et al. Acclimatization to high altitude increases muscle sympathetic activity both at rest and during exercise. *Am J Physiol.* 1995; 269: R201 – R207.
- Mazzeo, R.S.; Child, A.; Butterfield, G.E.; et al. Sympathoadrenal response to submaximal exercise in women after acclimatization to 4000m. *Metabolism* 2000; 49: 1036 - 1042.
- Mazzeo, R.S. Altitude, exercise and immune function. *Exerc Immunol Rev.* 2005; 11: 6 -16.
- Mazzeo, R.S. Altitude, Stress and Exercise. In: Teixeira, AM. *Conferences in Exercise Immunology.* Coimbra: Universidade de Coimbra, 2007.
- Mazzeo, R.S. Physiological responses to exercise at altitude: an update. *Sports Med.* 2008; 38: 1 - 8.
- Mcardle, W.D.; Katch, F.I.; Katch, V.L. Exercício nas medias e grandes altitudes. *Fisiologia do exercício: Energia, nutrição e desempenho humano.* Rio de Janeiro: Ed Guanabara Koogan, p. 620 - 638. 2008.
- McKenzie, D.C. Respiratory physiology: adaptations to high-level exercise. *Br J Sports Med.* 2012.
- Mishra, K.P. & Ganju, L. Influence of high altitude exposure on the immune system: a review. *Immunological Investigations* 2010; 39: 219 - 234.

Moldoveanu, A.I.; Shephard, R.J.; Shek, P.N. The cytokine response to physical activity and training. *Sports Med*, Toronto 2001; 31: 115 - 144.

Moller, P.; Loft, S.; Lundby, C.; et al. Acute hypoxia and hypoxic exercise induce DNA strand breaks and oxidative DNA damage in humans. *FASEB J.* 2001; 15: 1181 - 6.

Newsholme, E.A. Glutamine and immune cells. *Front Clin Nut.* 1995; 4: 1 - 7.

Nieman, D.C. Immune response to heavy exertion. *J Appl Physiol.* 1997; 82: 1385 - 1394.

Nieman, D.C. Exercise immunology: nutritional countermeasures. *Can J Appl Physiol.* 2001; 26: S45-55.

Nieman, D.C.; Davis, J.M.; Henson, D.A.; Walberg-rankin, J.; Shute, M.; Dunke, C.L. *J Appl Physiol*, 94: 1917 - 1925, 2003.

Niess, A.M.; Fehrenbach, E.; Strobel, G.; et al. Evaluation of stress responses to interval training at low and moderate altitude. *Med Sci Sports Exerc.* 2003; 35: 263 - 269.

Oguri K et al. Effect of moderate altitude on peripheral muscle oxygenation during leg resistance exercise in young males. *J Sports Sci Med* 2004; 3(3):182-9.

Ortega, F.B.; Ruiz, J.R.; Gutiérrez, A.; et al. Extreme mountain bike challenges may induce sub-clinical myocardial damage. *J Sports Med Phys Fitness* 2006; 46: 489 - 93.

Ortega, E.; Giraldo, E.; Hinchado, M.D.; et al. Neuroimmunomodulation during exercise: role of catecholamines as 'stress mediator' and/or 'danger signal' for the innate immune response. *Neuroimmunomodulation* 2007; 14: 206 - 12.



- Pedersen, B.K. & Hofmann-Goetz, L. Exercise and immune system: regulation, integration, and adaptation. *Physiol Rev.* 2000; 80: 1055 - 1081.
- Pedersen, BK; Thorbörn, CA; Akerström, A; Nielsen, R; Fischer, CP. *J Appl Physiol.* 103: 1093-1098, 2007 et al., 2007.
- Pedersen, B.K. & Saltin, B. Evidence for prescribing exercise as therapy in chronic disease. *Scand J Med Sci Sports* 2006; 1: 3 - 63.
- Pedersen, B.K. & Steensberg, A. Exercise and hypoxia: effects on leukocytes and interleukin-6-shared mechanisms? *Med Sci Sports Exerc.* 2002; 34: 2004 - 2013.
- Penkowa M, Keller C, Keller P, Jauffred S, Pedersen BK. Immunohistochemical detection of interleukin-6 in human skeletal muscle fibers following exercise. *FASEB J.* 2003, 17: 2166-2168, 2003.
- Petersen, A.M. & Pedersen, B.K. The anti-inflammatory effect of exercise. *Journal Applied Physiology* 2006, 98: 1154 - 1162..
- Powers, S.K.; Howley, E.T. Exercício e o Meio ambiente. *Fisiologia do exercício: Teoria e aplicação ao condicionamento e desempenho.* São Paulo: Ed. Manole, p. 441 - 461. 2000.
- Ronti T, Lupattelli G, Mannarino E. The endocrine function of adipose tissue: an update. *Clin Endocrinol.* 2006;64:335-65.
- Rosa, L.F. Exercise as a Time-conditioning Effector in Chronic Disease: a Complementary Treatment Strategy. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2004; 1: 63 - 70.
- Scharhag, J; Meyer, T; Gabriel, HH; et al. Does prolonged cycling of moderate intensity affect immune cell function? *Br J Sports Med.* 2005; 39: 171 - 177.

- Shephard, R.J. Special feature for the Olympics: effects of exercise on the immune system: overview of the epidemiology of exercise immunology. *Immunol Cell Biol.* 2000; 78: 485-95.
- Smith, L.L. Cytokine hypothesis of overtraining: a physiological adaptation to excessive exercise. *Med Sci Sport Exer.* 2000; 32: 317 - 331.
- Smith, L.L. Overtraining, Excessive Exercise, and Altered Immunity: Is This a T Helper-1 Versus T Helper-2 Lymphocyte Response? *Sports Med* 2003; 33: 347 -364.
- Steinacker JM, Brkic M, Simsch C, Nething K, Kresz A, Prokopchuk O, Liu Y. *Horm Metab Res.* 37(9): 538 – 544, 2005
- Suzuki K, Yamada M, Kurakake S, Okamura N, Yamaya K, Liu Q, et al. Circulating cytokines and hormones with immunosuppressive but neutrophil-priming potentials rise after endurance exercise in humans. *Eur J Appl Physiol* 2000; 81: 281-287.
- 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. *Aviat Space Environ Med.* 2004; 75: 811 - 817.
- Tiollier, E.; Schmitt, L.; Burnat, P.; et al. Living high-training low altitude training: effects on mucosal immunity. *Eur J Appl Physiol.* 200; 94: 298-304.
- Turnbull, A.V. & Rivier, C.I. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action. *Physiol Rev.* 1999; 79: 1 - 71.
- Urso, M.L.; Clarkson, P.M. Oxidative stress, exercise and antioxidant supplementation. *Toxicology* 2003; 189: 41 - 54.

Walsh, N.P.; et al. Position statement. Part one: Immune function and exercise.

Exercise Immunology Rev.; v. 6; p. 6 - 63; 2011.

Weigent DA, Blalock JE. Production of peptide hormones and neurotransmitters by

the immune system. Chem Immunol. 1997;69:1-30.

Wheatley, K.; Creed, M.; Mellor, A. Hematological changes at altitude. J R Army

Med Corps. 2011; 157: 38 - 42.

Zhang, Y.; Hu, Y.; Wang F. Effects of a 28-day "living high--training low" on T-

lymphocyte subsets in soccer players. Int J Sports Med. 2007; 28: 354 - 8.

## 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. **Objective:** so this study objective was to verify the effects of acute exercise on inflammatory and metabolic parameters after an exercise held in hypoxia. **Materials and Methods:** so volunteers underwent two acute exercise sessions, in normoxia and simulating the altitude of 4200 m. Before, immediately after exercise sessions and 1 hour of rest were collected 10 mL of blood plasma levels. **Results:** both exercise normoxia and hypoxia decreased O<sub>2</sub> saturation and increase in biomarkers of cellular damage. In addition while in normoxia exercise induced inflammatory changes during exercise in hypoxia the exercise promoted changes anti-inflammatory. **Conclusion:** the exercise in hypoxia present additional stress in relation to normoxia exercise; increased intensity was not sufficient to promote additional changes in cellular damage and moderate exercise realized in hypoxia attenuate inflammatory effect of hypoxia.

KEYWORDS: altitude, hypoxia, aerobic exercise, immunosuppression, glutamine

## Anexo 1



**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 exarcebados 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.

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

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

Título do projeto

**Efeitos de uma sessão aguda de exercício moderado realizado em diferentes altitudes sobre parâmetros metabólicos e imunológicos.**

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

Essas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária neste estudo, que visa avaliar se a realização de exercícios em altitudes diferentes 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) 4 sessões de exercício agudo na esteira, em ambiente que simule as altitudes de nível do mar, 1500m, 3000m e 4500m. 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 6 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 dia 2 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, quarto, quinto e sexto dia os voluntários realizarão uma sessão de exercício com duração de 60 minutos com velocidade constante nas altitudes de nível do mar, 1500m, 3000m e 4500m. 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 à situação de altitude somente durante a realização dos 60 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 exercícios serão realizados 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 garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

-----

Assinatura do paciente/representante

Data      /      /     

legal

-----

Assinatura da testemunha

Data \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

-----

Assinatura do responsável pelo estudo Data \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_