

UNIVERSIDADE SANTO AMARO

Curso de Fisioterapia

Lucas Vinícius Moraes

**INVESTIGAÇÃO DA EXPRESSÃO DE RETROVÍRUS ENDÓGENO
HUMANO W EM PRATICANTES DE EXERCÍCIOS FÍSICOS**

São Paulo

2022

Lucas Vinícius Morais

**INVESTIGAÇÃO DA EXPRESSÃO DE RETROVÍRUS ENDÓGENO
HUMANO W EM PRATICANTES DE EXERCÍCIOS FÍSICOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Fisioterapia da Universidade Santo Amaro – UNISA, como requisito parcial para obtenção do título Bacharel em Fisioterapia.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Henrique da Silva Nali

São Paulo

2022

M825i Morais, Lucas Vinícius.

Investigação da expressão de retrovírus endógeno humano W em praticantes de exercício físico / Lucas Vinícius Morais. — São Paulo, 2022.

34 p.: il., color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Fisioterapia) — Universidade Santo Amaro, 2022.

Orientador: Prof. Me. Dr. Luiz Henrique da Silva Nali.

1. Retrovírus Endógeno. 2. Exercício Físico. 3. Desenvolvimento Muscular. I. Nali, Luiz Henrique da Silva, orient. III. Universidade Santo Amaro. IV. Título.

Lucas Vinícius Morais

**INVESTIGAÇÃO DA EXPRESSÃO DE RETROVÍRUS ENDÓGENO
HUMANO W EM PRATICANTES DE EXERCÍCIOS FÍSICOS**

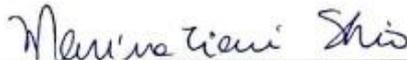
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Fisioterapia da Universidade Santo Amaro – UNISA, como requisito parcial para obtenção do título Bacharel em Fisioterapia.

Data da Aprovação: 17,09,22

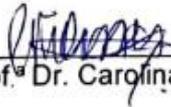
Banca Examinadora



Prof.ª Dr. Luiz Henrique da Silva Nali - Orientador



Prof.ª Dr. Marina Tiemi Shio - Banca Externa



Prof.ª Dr. Carolina Nunes França - Banca Interna

Conceito Final: Aprovado - Nota 10,0

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Jucimara Santos Morais e Gilson Morais, que me incentivaram nos momentos difíceis e compreenderam a minha ausência enquanto eu me dedicava à realização deste trabalho.

À minha querida companheira Karoline dos Santos Gomes pelo seu amor incondicional, por compreender minha dedicação ao projeto de pesquisa e que sempre esteve ao meu lado durante o meu percurso acadêmico.

Agradeço ao meu orientador Luiz Henrique da Silva Nali por aceitar conduzir o meu trabalho de pesquisa, pelas correções e ensinamentos que me permitiram apresentar um melhor desempenho no meu processo de formação profissional ao longo do curso, por todos os conselhos, pela ajuda e pela paciência com a qual guiaram o meu aprendizado.

Aos meus amigos do curso de fisioterapia João Pedro Martins Daenekas, José Gabriel Paz Silva, Marcella Pereira Fontes e Naiara do Carmo Ferlin pelas trocas de ideias e ajuda mútua. Juntos conseguimos avançar e ultrapassar todos os obstáculos.

Ao grupo de pesquisa do Professor Luiz Henrique da Silva Nali, especial aos meus colegas Bruna Reimberg Flose, Elaine Moura Ferreira, Estella Moraes Felix, Giovana de Oliveira Dichman, Graciela dos Santos Soares, Hannar Angelica de Melo Alverga, Kevin Cezar Nascimento Silva, Michelly Damasceno da Silva e Sara Coelho Rangel.

Aos mestrandos Gustavo Gusmão dos Santos e Tabatah Hellen Santos Gomes, pelo suporte e apoio para a realização deste trabalho.

À professora Marina Tiemi Shio pelas valiosas contribuições dadas durante todo o processo laboratorial.

À FAPESP (projeto 2020/11619-5) pelo auxílio na bolsa concedida.

A todos os voluntários que concordaram em participar desse estudo.

Aos professores, por todos os conselhos, pela ajuda e pela paciência com a qual guiaram o meu aprendizado.

RESUMO

Introdução: Os retrovírus são vírus que pertencem as famílias de vírus que possuem o genoma constituído por RNA, são capazes de infectar células somáticas e integrar seu material genético ao genoma do hospedeiro. Acredita-se que os Retrovírus Endógenos Humanos (HERVs) surgiram a partir da infecção de células germinativas de ancestrais humanos por retrovírus exógenos. Atualmente, sabe-se que 8% do genoma humano é resultado destas infecções virais. Alguns desses genes retrovirais continuam funcionais exercendo papéis fisiológicos. Exemplo disto é o HERV da família W que é responsável pela síntese da proteína funcional denominada como Sincitina-1, essa proteína exerce papel fundamental na formação de sincícios e é reconhecida pela importante participação no processo de placentogênese. Além disso, a Sincitina também participa do processo de miogênese. A miogênese pode ser dividida em fases distintas, a de desenvolvimento, que ocorre na fase pré-natal, e a de regeneração, na fase pós-natal. Os exercícios físicos tendem a estimular processos inflamatórios. Sabidamente a inflamação é um fenômeno capaz de alterar aspectos relacionados a expressão gênica e estimular a expressão dos HERVs in situ e de forma sistêmica. Sendo assim, investigar a expressão em Células Mononucleares de Sangue Periférico do HERV-W, pode nos fornecer informações importantes referentes ao comportamento da expressão dos HERVs após uma outra modalidade de exercício físico, e talvez, auxiliar na compreensão do seu papel na reparação do tecido muscular esquelético. **Objetivos:** O objetivo deste estudo é investigar os níveis de expressão de HERV W em praticantes e não praticantes de exercícios físicos após uma sessão aguda de treinamento de força. **Métodos:** este é um estudo transversal, com execução de uma sessão de treino de treino de força, e com coleta de amostra sanguínea anterior a sessão, imediatamente após a sessão e 45 minutos após a sessão. **Resultados:** Os resultados de expressão diferencial do HERV-W após a sessão de treino indicaram que a expressão do HERV-W permaneceu em níveis basais na maioria dos indivíduos do T0 e T1, antes do início dos exercícios e logo após o fim dos exercícios, porém houve um aumento significativo na expressão do HERV-W a partir dos 45 minutos após a prática do exercício físico. **Discussão:** Os dados obtidos neste estudo demonstraram a existência do aumento de expressão de HERV-W após 45 minutos do término da prática de exercício físico em comparação com a primeira coleta, realizada antes do exercício, e a segunda coleta, logo após o exercício. Estes achados podem ser explicados pelo processo inflamatório mediado pelo exercício físico. Sabidamente, a expressão dos HERVs é estimulada por processos inflamatórios. Portanto, este aumento de expressão encontrado aos 45 minutos após o exercício pode estar relacionado com a resposta inflamatória iniciada durante e após o exercício. **Conclusão:** foram encontrados aumentos nos níveis de expressão aos 45 minutos após o término do exercício. O grupo de treinamento de alto volume foi o grupo que mais apresentou aumento nestas taxas, seguido pelo grupo sedentário. O grupo de treinamento de baixo volume não apresentou diferença em relação aos três momentos coletados.

Palavras chaves: Retrovirus Endógenos. Exercício Físico. Desenvolvimento Muscular.

ABSTRACT

Introduction: retroviruses that belong to a family of viruses are the genome consisting of RNA, may be able to infect somatic and integrate genetic material into the host genome. Human Endogenous Retroviruses (HERVs) are believed to be generated from cells from cells of exogenous human ancestors. Currently, it is known that 8% of the human genome is the result of viral discoveries. These retroviral genes continue to function in physiological functions. This is the HERV of the W family, which is responsible for the synthesis of the protein called Syncytin-1, this protein plays a fundamental role in the formation of syncytia and is an example recognized for its important participation in the process of placentogenesis. In addition, Syncytin also participates in the myogenesis process. Myogenesis can be distinguished into a stage of occurrence, which can occur in prenatal stages, and a developmental stage of prenatal, in the postnatal stage. Physical exercises to move inflammatory process. Wisely, inflammation is a phenomenon capable of altering aspects related to gene expression and stimulating the expression of HERVs in situ and in a systemic way. Being an expression in PBMC of HERV-W, it can provide us with an important reference to the behavior of the expression of the exercises after another modality of physical exercise, and perhaps, help in the use of its role HERV-information for the skeletal tissue. **Objectives:** The objective of this study is to investigate the expression levels of HERV W in practitioners and non-practitioners of physical exercises after an acute session of strength training. **Methods:** this is a cross-sectional study, with the execution of a strength training training session, and with blood sample collection before the session, immediately after the session and 45 minutes after the session. **Results:** The results of differential expression of HERV-W after the training session indicated that the expression of HERV-W remained at basal levels in most individuals from T0 and T1, before the beginning of the exercises and soon after the end of the exercises, however, there was a significant increase in the expression of HERV-W from 45 minutes after the practice of physical exercise. **Discussion:** The data obtained in this study demonstrated the existence of increased expression of HERV-W 45 minutes after the end of physical exercise, compared to the first collection, performed before exercise, and the second collection, right after exercise. These findings can be explained by the inflammatory process mediated by physical exercise. It is known that the expression of HERVs is stimulated by inflammatory processes. Therefore, this increase in expression found at 45 minutes after exercise may be related to the inflammatory response initiated during and after exercise. **Conclusion:** increases in expression levels were found at 45 minutes after the end of the exercise. The high-volume training group showed the greatest increase in these rates, followed by the sedentary group. The low-volume training group showed no difference in relation to the three collected moments.

Keywords: Endogenous Retroviruses. Exercise. Muscle Development.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
1.1. O que são os Retrovírus Endógenos Humanos?	8
1.2. HERVS em doenças e na fisiologia humana.....	8
1.3. Miogênese e Sincitina	9
1.4. Exercício, processo inflamatório e HERV	10
1.5. Justificativa	11
2. OBJETIVOS	13
2.1. Objetivo geral	13
2.2. Objetivos específicos	13
3. MÉTODOS.....	14
3.1. Aspectos éticos.....	14
3.2. Critérios de Inclusão:.....	14
3.3. Critérios de Exclusão:	14
3.4. Desenho do estudo	14
3.5. Definição dos grupos e treinamento	14
3.6. Logística laboratorial e expressão diferencial dos HERVs	15
3.7. Resultados Esperados.....	16
4. RESULTADOS	17
5. DISCUSSÃO	21
6. CONCLUSÃO.....	23
REFERÊNCIAS.....	24
ANEXO A – Parecer Consubstanciado do CEP	26
ANEXO B – PAR-Q	32

1. INTRODUÇÃO

1.1. O que são os Retrovírus Endógenos Humanos?

Os retrovírus são vírus que pertencem as famílias de vírus que possuem o genoma constituído por RNA, são capazes de infectar células somáticas e integrar seu material genético ao genoma do hospedeiro, a partir de duas enzimas, a transcriptase reversa e a integrase. Acredita-se que os Retrovírus Endógenos Humanos (HERVs) surgiram a partir da infecção de células germinativas de ancestrais humanos por retrovírus exógenos. A infecção desta linhagem celular garantiu que os genes retrovirais fossem transmitidos verticalmente e que estivessem presentes em todas as células somáticas. Esta integração com o genoma humano ocorreu há mais de 45 milhões de anos. Atualmente, sabe-se que 8% do genoma humano é resultado destas infecções virais.¹⁻³

A estrutura proviral do HERV consiste em duas *Long Terminal Repeats* (LTRs) flanqueando três genes funcionais os *gag*, *pol* e *env*. Durante a evolução humana, as sequências de HERV foram sujeitas a múltiplos eventos mutacionais que resultaram na amplificação, transposição e deleção de partes desses HERVs. Estes eventos mutacionais deram origem ao chamado “DNA não codificante” ou “DNA lixo”.^{1,2} Apesar de receber este nome, estas sequências podem ter funções fisiológicas, participando da regulação de genes proximais, como no caso da apolipoproteína-C1, no fígado, do gene receptor de endotelina B e do gene da pleiotrofina.^{4,5}

1.2. HERVs em doenças e na fisiologia humana

Alguns genes retrovirais continuam ativos e o aumento da expressão desses HERVs pode estar associado ao desenvolvimento de algumas doenças autoimunes como no caso da Artrite Reumatoide e do Lúpus Eritematoso.^{6,7} A relação entre HERVs e Esclerose Múltipla (EM) também tem sido investigada. Foi encontrado o aumento da atividade transcricional de HERV em pacientes com EM. Porém, ainda não foi determinado se o aumento da expressão retroviral, em pacientes com EM, é uma consequência ou a causa da inflamação encontrada na doença.⁸

Entretanto, não só o aumento de expressão dos HERVs possui envolvimento com processos patológicos, o baixo número de cópias de HERV pode estar associado com o diabetes tipo 1. Comparando o número de cópias de HERV-K em indivíduos diabéticos tipo 1 com a quantidade de cópias de indivíduos saudáveis, um estudo

sugeriu que um menor número de cópias de HERV-K está associado ao maior risco de desenvolvimento da doença.⁹

Os HERVs não são associados apenas ao desenvolvimento de doenças, alguns desses genes retrovirais continuam funcionais exercendo papéis fisiológicos. Exemplo disto é o HERV da família W, o seu gene de envelope (um dos poucos ainda inteiramente preservados no genoma humano) é responsável pela síntese da proteína funcional denominada como Sincitina-1, essa proteína exerce papel fundamental na formação de sincícios e é reconhecida pela importante participação no processo de placentogênese. Outra interação benéfica desta proteína é relacionada com a formação de osteoclastos. Além disso, a Sincitina também participa do processo de miogênese, que será melhor descrita no tópico a seguir.¹⁰⁻¹³

1.3. Miogênese e Sincitina

A miogênese pode ser dividida em fases distintas, a de desenvolvimento, que ocorre na fase pré-natal, e a de regeneração, na fase pós-natal. A miogênese durante a fase pré-natal é um processo complexo que envolve a sinalização de tecidos próximos e a diferenciação de mioblastos mononucleados em células mais alongadas, conhecidas como miócitos. Estas células se fundem formando miotubos bi ou trinucleados, essa fusão se repete diversas vezes até a formação de miofibras multinucleadas que possuem centenas a milhares de núcleos.¹⁴⁻¹⁶

Um estudo realizado em camundongos, publicado em 2016, demonstrou que a Sincitina possui importante participação na miogênese, contribuindo para a fusão de células musculares. Concomitantemente, esta proteína é envolvida com a diferença morfológica muscular observada entre o sexo masculino e feminino em mamíferos. Além disso, foi observada a redução da massa muscular e do número de núcleos por fibra muscular em camundongos machos *knockout* para Sincitina quando comparado com machos que expressaram a proteína, fato que não ocorreu em fêmeas.¹³

Na fase pós-natal, as células musculares são altamente especializadas, fato que impede a divisão celular e, por consequência, a regeneração tecidual. Porém células derivadas do dermomiótomo embrionário, conhecidas como células satélites (CS), tornam-se responsáveis pelo crescimento, manutenção e regeneração do músculo na vida pós-uterina. As CSs são consideradas células-tronco musculares residentes. Estas células mononucleadas são precursoras musculares inativas encontradas entre a lâmina basal e o sarcolema. Entretanto, são capazes de reentrar em ciclo celular após exercícios ou lesões proporcionando novos mionúcleos.^{17,18}

Há evidências de aumentos significativos de CSs no período de 30 dias de treinamento de resistência, havendo aumentos ainda maiores após 90 dias de treinamento.¹⁹ Entretanto, comparando o pré e o pós-temporada de atletas de ciclismo foi demonstrado que na pós temporada houve diminuição de CSs por fibra muscular, porém houve um grande aumento de mionúcleos por fibra muscular, indicando um processo de fusão de CSs. Este processo de fusão é importante para manter a homeostase do músculo esquelético. Concomitantemente, houve elevação da taxa de expressão de Sincitina quando comparada com a pré-temporada, podendo ser um indicativo da correlação entre a fusão de CSs e o aumento de expressão da Sincitina-1.²⁰

Outro achado importante deste estudo realizado em ciclistas, é relacionado a expressão da Sincitina-1 *in vitro*. Foram comparados dois meios de cultura, a de mioblastos proliferando em meio de crescimento e a de mioblastos se diferenciando em meio de diferenciação. Neste último caso, além da diferenciação ocorreu também a fusão destas células formando miotubos, conseqüentemente, neste meio de cultura foi encontrada a maior taxa de expressão de Sincitina e do receptor SLC1A4, um dos receptores para esta proteína. Sendo mais um sinal importante da relação entre fusão de células musculares e a Sincitin-1.²⁰

Além da Sincitina existe outra proteína que atua no processo de fusão de células musculares, esta proteína é denominada Caveolina. Ambas as proteínas atuam em conjunto para que ocorra a fusão entre células e foram encontradas no sarcolema de células em fusão. Fato importante é que neste estudo a diminuição da expressão de Sincitina inibiu a fusão de mioblastos, sendo outro forte indicativo da atuação desta proteína oriunda de um HERV na fisiologia humana.²¹

1.4. Exercício, processo inflamatório e HERV

Durante a prática de exercício ocorre alterações no metabolismo muscular devido a necessidade de energia para ocorrer o tracionamento da actina pela miosina, que leva ao encurtamento do sarcômero. Esse processo ocorre diversas vezes durante a realização de exercício físico, fato que contribui para o surgimento de micro lesões e da resposta inflamatória local. Foram reportados achados de neutrófilos infiltrados nos tecidos após exercícios ou lesões musculares. Os neutrófilos, juntamente com os macrófagos, têm importante participação na inflamação e na regeneração tecidual. Os neutrófilos são os primeiros a chegar em áreas lesionadas, ajudam a iniciar o processo inflamatório e contribuem para fagocitose das fibras danificadas.^{22,23}

Os HERVs apresentam aumento de atividade transcricional quando há processos inflamatórios, sendo um importante indicativo da existência de uma relação entre aumento de expressão de HERVs e processo inflamatório. Como exemplo temos os achados de amostras de pacientes com Artrite Reumatoide em que o HERV-K teve níveis de expressão aumentado na presença de citocinas pró-inflamatórias.²⁴ O aumento na expressão de HERV-W também possui associação com processos inflamatórios, sendo evidenciado em amostras de pacientes com Esclerose Múltipla.

25

1.5. Justificativa

Os HERVs compõem uma parcela considerável do genoma humano e alguns genes destes retrovírus exercem papéis fisiológicos, como a regulação de genes adjacentes atuando em diversos sistemas de formas mais diversas. Essa domesticação gênica dos HERVs, também se torna evidente com a expressão e papel fundamental na embriogênese humana, atuando na formação do sinciciotrofoblasto, nas etapas iniciais da formação da placenta. O papel da sincitina é baseado na sua capacidade de fundir células e penetrar no endométrio e formar o sinciciotrofoblasto, porém seu papel fusogênico não é exclusividade durante o estágio embrionário humano, mas também atua na miogênese. Além disso, camundongos *knock-out* para HERV-W (Sincitina), apresentaram uma menor massa muscular comparado aos animais sem essa deleção e, mais recentemente, foi descrito o papel fusogênico do HERV-W na reparação tecidual de atletas de resistência. O que sugere que os HERVs, talvez, não atuem somente no papel da miogênese, mas também atuem em outros momentos fisiológicos da reparação tecidual. Um estudo realizado *in vitro* demonstrou que a sincitina pode interagir com outras proteínas com papel miogênico, como no caso da caveolina. Os exercícios físicos tendem a estimular processos inflamatórios em virtude das micro lesões teciduais e essas lesões aparentemente são mais aparentes em exercícios com força. Sabidamente a inflamação é um fenômeno capaz de alterar aspectos relacionados a expressão gênica e estimular a expressão dos HERVs *in situ* e de forma sistêmica. Sendo assim, investigar a expressão em PBMC do HERV-W, pode nos fornecer informações importantes referentes ao comportamento da expressão dos HERVs após uma outra modalidade de exercício físico, e talvez, auxiliar na compreensão do seu papel na reparação do tecido muscular esquelético. Além disso, as informações obtidas neste estudo, talvez, poderão servir de base para

possíveis compreensões ou intervenções para futuros estudos direcionados à determinadas miopatias.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

- O objetivo deste estudo é investigar os níveis de expressão de HERV W em praticantes e não praticantes de exercícios físicos após uma sessão aguda de treinamento de força.

2.2. Objetivos específicos

- Verificar os níveis de expressão dos HERVs entre indivíduos praticantes de exercícios físicos de força de elevado volume, (> 10 toneladas semanais), baixo volume < 10 toneladas semanais) e não praticantes de treinamento de força (e que não atendem a recomendação de 300 minutos de atividade física semanal);
- Compreender a dinâmica de expressão dos HERVs em diferentes momentos antes e após a prática do exercício físico;

3. MÉTODOS

3.1. Aspectos éticos

Foram incluídos no estudo apenas voluntários que aceitaram participar após a leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Vale destacar, que independente da participação dos voluntários no estudo, não houve quaisquer prejuízos aos alunos no decorrer do curso. As amostras foram coletadas e identificadas com um código alfanumérico para preservar a identidade do voluntário. Além disso, as amostras coletadas foram utilizadas apenas neste estudo. O projeto encontra-se aprovado no comitê de ética do UNISA (Número do Parecer: 4.237.943) (anexo A).

3.2. Critérios de Inclusão:

- Concordar com o termo de consentimento livre e esclarecido;
- Ter disponibilidade para realizar sessão de treino;

3.3. Critérios de Exclusão:

- Ter menos de 18 anos, e/ou contraindicação médica para com a prática de exercícios físicos.

3.4. Desenho do estudo

Este é um estudo transversal, com execução de uma sessão de de treino de força, e com coleta de amostra sanguínea anterior a sessão (repouso), imediatamente após a sessão e 45 minutos após a sessão. Os três grupos realizaram a sessão de treino.

3.5. Definição dos grupos e treinamento

Os voluntários foram recrutados na Universidade Santo Amaro e incluídos aqueles que não apresentaram restrição para a prática de exercício físico de acordo com o questionário de prontidão para atividade física – PAR-Q (anexo B).

Os indivíduos foram divididos em 3 grupos, sendo dois deles que realizaram treinamento de força nos últimos doze meses, ainda divididos pelo volume de treinamento semanal realizado (volume < de 10 toneladas semanais e > de 10 toneladas semanais) e um terceiro grupo que não realizam treinamento de força e não atendem recomendação de 300 minutos de atividade física moderada e vigorosa. Os indivíduos que participaram do estudo foram incluídos em três grupos que serão detalhados a seguir:

GFAV - Grupo treinamento de força alto volume: composto por 20 indivíduos que realizaram treinamento de força (4x por semana ou mais) com volume > 10 toneladas por sessão. Esses voluntários foram submetidos a uma sessão de elevado volume.

GFBV - Grupo treinamento de força de baixo volume: composto por 20 indivíduos que realizaram treinamento de força (2x ou 3 por semana) com volume < 10 toneladas por sessão. Esses voluntários foram submetidos a uma sessão de baixo volume.

GS – Composto por 20 indivíduos saudáveis sedentários em que não realizaram a recomendação de atividade física e não realizaram treino de força (grupo controle). Foi realizada uma breve entrevista para apresentação do TCLE, aplicação do PAR-Q e verificação do histórico de treinamento (últimos 12 meses) e volume de treino das últimas 4 semanas. Após a entrevista, os indivíduos incluídos na pesquisa, realizaram o agendamento da sessão de treino que ocorreu entre 8h e 11h da manhã nas dependências da academia de musculação da Unisa.

O protocolo de treinamento foi composto por sessão de treino padrão, com 10 exercícios, sendo realizados 3 séries de 8 a 12 exercícios até a falha concêntrica

3.6. Logística laboratorial e expressão diferencial dos HERVs

As amostras de sangue em tubo EDTA foram coletadas em três momentos, uma anterior a prática de exercício (T0), uma logo após a prática de exercício (T1) e uma 45 minutos após a prática de exercício (T2). As amostras foram enviadas para o *Unisa Research Center* (URC) para processamento e condução dos experimentos laboratoriais.

As amostras foram identificadas por códigos alfanuméricos a fim de preservar a identidade do participante do estudo. As amostras de sangue foram centrifugadas a 1500g por 10 minutos para a obtenção do PBMC e separada do plasma e dos eritrócitos, foram lisadas com auxílio do tampão EL (Qiagen), ao fim do processo as amostras foram armazenadas a -80°C. As extrações de RNA foram realizadas pelo método de Trizol que consiste na adição de 1000ul de trizol e 200ul de clorofórmio, centrifugadas a 8.000 rpm por 3 minutos, a próxima etapa envolveu a remoção 500ul do sobrenadante e a adição a um microtubo eppendorf juntamente com 500ul de isopropanol, centrifugada a 8.000 rpm por 3 minutos. Ao fim deste processo, removeu-se todo o sobrenadante e foram adicionados 1000ul de etanol 70%, novamente as

amostras foram centrifugadas a 8.000 rpm por 3 minutos. Esta etapa é finalizada removendo todo o sobrenadante e adicionando 40ul de água ultrapura. As amostras novamente foram armazenadas a -80°C até a fase do tratamento com DNase. As amostras foram tratadas com DNase para remoção do DNA genômico. Uma vez feita a confirmação da ausência de DNA genômico por PCR sem transcriptase reversa, o cDNA foi construído e reações de PCR para HERV K e W, foram realizadas. Os níveis de expressão foram quantificados de forma relativa, sendo assim utilizamos primers para o gene endógeno (GAPDH). Esta etapa metodológica já foi descrita anteriormente no artigo: "HERV-K and HERV-W transcriptional activity in myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome" publicado em 2019 (DOI: <https://doi.org/10.1186/s13317-019-0122-8>) e está padronizada pelo nosso grupo.

Os níveis expressos entre os grupos foram avaliados pelo método de $2^{-\Delta\Delta Ct}$, que determina quantas vezes cada indivíduo expressa a mais ou a menos baseados nos grupos controles, a significância da diferença de expressão foi determinada pelo método Teste de Wilcoxon.

3.7. Resultados Esperados

Sabendo que a Sincitina expressa pelo gene env do HERV-W apresenta papel fundamental na fusão dos miócitos, acredita-se que os HERVS possam ser importantes para manutenção, crescimento e reparo do tecido muscular. Devido ao exposto espera-se que os níveis de expressão dos HERVS se elevem após a prática de exercícios.

4. RESULTADOS

Após o processo de recrutamento, houve a aplicação do questionário PAR-Q, verificação do histórico de treinamento (últimos 12 meses) e volume de treino das últimas 4 semanas, os participantes foram divididos em 8 voluntários no grupo GS, 12 no grupo GFBV e 4 no grupo GFAV. A tabela abaixo detalha a divisão dos grupos, a quantidade de indivíduos do sexo feminino e masculino por grupo, a média de idade e o peso médio de cada grupo. Todos os indivíduos incluídos no estudo relataram não possuir qualquer doença.

Grupo	N	sexo		Média de idade	Peso Médio (kg)
		feminino	masculino		
GS*	8	7	1	23,62	60 kg
GFBV**	12	4	8	23,66	79 kg
GFAV***	4	1	3	27,5	67 kg
Total	24	12	12	24,29	70,5

Tabela 1. Dados gerais da amostra.

GS* – Grupo Sedentário. GFBV** – Grupo Treinamento de Força de Baixo Volume. GFAV*** – Grupo Treinamento de Força de Alto Volume.

Todos os indivíduos apresentaram expressão dos Retrovírus Endógenos Humanos da família W em algum tempo do estudo. No decorrer das análises tivemos que excluir 4 amostras do T0, 6 do T1 e 9 do T2, por motivos de degradação do RNA ou de intercorrências relacionadas a coleta da amostra de sangue dos voluntários. Os resultados serão mostrados na tabela 2.

A análise de expressão diferencial foi analisada de acordo com cada grupo (GS, GFBV e GFAV) de forma separada e estão descritas nas figuras 2, 3 e 4. Apesar de termos poucos voluntários em cada um dos grupos, o que dificultou a análise estatística dos grupos de maneira individual, pudemos observar que no grupo GS houve um importante aumento de expressão no momento T2 em comparação com T1 e T0. Já no grupo GFBV não houve diferença durante os três momentos estudados. Enquanto o grupo GFAV há um grande aumento no momento T2 em comparação com o momento T1 e T0.

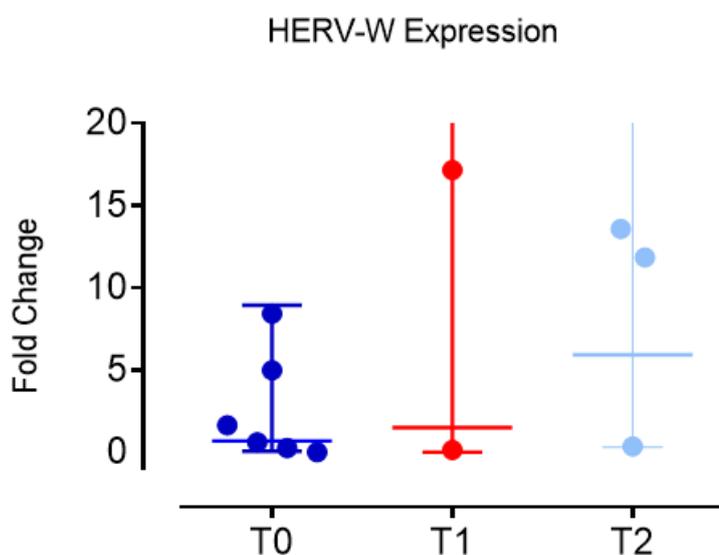


Figura 2. Análise de expressão diferencial de HERV-W em indivíduos do grupo de indivíduos sedentários.

5. DISCUSSÃO

Os dados obtidos neste estudo indicam a existência do aumento de expressão de HERV-W após 45 minutos do término da prática de exercício físico em comparação com a primeira coleta, realizada antes do exercício, e a segunda coleta, logo após o exercício, embora esse aumento não seja significativo devido ao baixo número de voluntários incluídos no estudo. Estes achados podem ser explicados pelo processo inflamatório mediado pelo exercício físico.^{26,27} Sabidamente, a expressão dos HERVs é estimulada por processos inflamatórios.²⁵ Portanto, este aumento de expressão encontrado aos 45 minutos após o exercício pode estar relacionado com a resposta inflamatória iniciada durante e após o exercício.

Quando analisados separadamente os grupos tiveram perfis diferentes de expressão de HERV-W. O grupo GS aumentou os níveis de expressão no momento T2 em comparação com T0 e T1. O grupo GFAV foi o grupo que mais aumentou as taxas de expressão, enquanto o grupo GFBV não demonstrou diferença quanto a expressão nos três momentos estudados. O fato de indivíduos sedentários aumentarem os níveis de expressão após o exercício pode ser um indicativo do maior número de micro lesões encontradas em não praticantes de exercício, estas micro lesões, por sua vez, são importantes desencadeadores inflamatórios.²⁸ Os níveis estáveis do grupo GFBV durante os tempos estudados podem ser explicados devido ao efeito atenuante em relação ao processo inflamatório que ocorre em praticantes de exercício físico moderado.²⁶ Já indivíduos com níveis elevados de treinamento possuem maior nível de fusão de células satélites¹⁹, o que explica o maior nível de expressão de HERV-W no grupo GFAV, já que a Sincitina-1 expressa por estes HERVs atuam na fusão de células musculares e demonstraram aumento de expressão após período de treinamento em atletas de alto rendimento.²⁰

Em nosso estudo encontramos o aumento de expressão de HERV-W após treinamento resistido agudo, demonstrando uma resposta rápida ao exercício, mais precisamente, 45 minutos após o exercício. Na literatura, já foi demonstrada o aumento de expressão da proteína Sincitina1 expressa pelo HERV-W em atletas de alto rendimento, porém a comparação ocorreu entre a pré e a pós temporada, sendo uma escala de tempo maior em relação ao nosso estudo.²⁰

Nossos dados são novos e trazem informações importantes sobre a expressão da Sincitina1 expressa pelo HERV-W, uma proteína fusogênica que comprovadamente atua na fusão de células musculares.^{13,20,21} Além disto, nossos dados podem contribuir para a melhor compreensão das respostas adaptativas ao exercício em indivíduos sedentários e não sedentários e para a elucidação do processo de reparo muscular após o exercício.

Nossos dados foram limitados devido perda de amostras por motivos de degradação do RNA e intercorrências relacionadas a coleta da amostra de sangue dos voluntários, fato que dificultou a análise estatística do estudo. Entretanto, este estudo continua em andamento e incluirá mais voluntários para análises futuras. Além disso, este é o primeiro estudo que investiga a expressão de HERV-W após uma sessão aguda de treinamento e compara indivíduos sedentários a indivíduos treinados.

6. CONCLUSÃO

O HERV-W expressa uma proteína denominada Sincitina1, esta proteína é fundamental para a miogênese, ou seja, para a formação e reparo muscular. No presente estudo investigamos a taxa de expressão de HERV-W em diferentes momentos: antes, logo após e 45 minutos após o exercício físico. Os dados demonstram aumentos nos níveis de expressão de HERV-W aos 45 minutos após o término do exercício. O grupo de treinamento de alto volume foi o grupo que mais apresentou aumento nestas taxas, seguido pelo grupo sedentário. O grupo de treinamento de baixo volume não apresentou diferença em relação aos três momentos coletados. O que pode demonstrar a maior taxa de expressão de HERV-W em indivíduos que praticam exercício físico de alto volume.

Mais dados em uma amostra maior são necessários para que esta hipótese seja comprovada, além de poder contribuir com a elucidação dos mecanismos genéticos e moleculares que envolvem o processo de regeneração muscular.

REFERÊNCIAS

1. Wang M, Qiu Y, Liu H, Liang B, Fan B, Zhou X, et al. Transcription profile of human endogenous retroviruses in response to dengue virus serotype 2 infection. *Virology*. 2020 fevereiro; 544: 21-30.
2. Gifford R, Blomberg J, Coffin J, Fan H, Heidmann T, Mayer J, et al. Nomenclature for endogenous retrovirus (ERV) loci. *Retrovirology*. 2018 agosto; 15(1).
3. Hayward A, Grabherr M, Jern P. Broad-scale phylogenomics provides insights into retrovirus–host Evolution. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013 dezembro; 110(50): 20146-20151.
4. Medstrand P, Landry J, Mager D. Long terminal repeats are used as alternative promoters for the endothelin B receptor and apolipoprotein C-I genes in humans. *J Biol Chem*. 2001 janeiro; 276(3): 1896-1903.
5. Landry J, Mager D. Functional Analysis of the Endogenous Retroviral Promoter of the Human Endothelin B Receptor Gene. *J Virol*. 2003 julho; 77(13): 7459-7466.
6. Trela M, Nelson P, Rylance P. The role of molecular mimicry and other factors in the association of Human Endogenous Retroviruses and autoimmunity. *APMIS*. 2016 janeiro; 124(1-2): 88-104.
7. Mustelin T, Ukadike K. How Retroviruses and Retrotransposons in Our Genome May Contribute to Autoimmunity in Rheumatological Conditions. *Front Immunol*. 2020 novembro; 11.
8. Morandi E, Tarlinton R, Tanasescu R, Gran B. Human endogenous retroviruses and multiple sclerosis: Causation, association or after-effect?. *Mult Scler*. 2017 abril; 23(8): 1050-1055.
9. Mason M, Speake C, Gersuk V, Nguyer Q, O'Brien K, Odegard J, et al. Low HERV-K(C4) Copy Number Is Associated With Type 1 Diabetes. *Diabetes*. 2014 maio; 63(5): 1789-1795.
10. Guo L, Gu F, Xu Y, Zhou C. Increased copy number of syncytin-1 in the trophoblast is associated with implantation of the blastocyst. *Peer J*. 2020; 8.
11. Mi S, Lee X, Li XP, Veldman G, Finnerty H, Lisa Racie, et al. Syncytin is a captive retroviral envelope protein involved in human placental morphogenesis. *Nature*. 2000 fevereiro; 403: 785-789.
12. Sørensen K, Andersen T, Hobolt-Pedersen A, Bjerregaard Bolette B, Larsson L, Delaissé J. Involvement of human endogenous retroviral syncytin-1 in human osteoclast fusion. *Bone*. 2011 abril; 48(4): 837-846.
13. Redelsperger F, Raddi N, Bacquin A, Vernochet C, Mariot V, Gache V, et al. Genetic Evidence That Captured Retroviral Envelope syncytins Contribute to Myoblast Fusion and Muscle Sexual Dimorphism in Mice. *Plos Genetics*. 2016 setembro; 12(9).
14. Tajbakhsh S. Skeletal muscle stem cells in developmental versus regenerative myogenesis. *J Intern Med*. 2009 outubro; 266(4): 372-389.

15. Dal M, Silva P, Robson E, Carvalho F. Mecanismos celulares e moleculares que controlam o desenvolvimento e o crescimento muscular. *R Bras Zootec.* 2007 julho; 21-31.
16. Bentzinger C, Wang Y, Rudnicki M. Building Muscle: Molecular Regulation of Myogenesis. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2012 fevereiro; 4(2).
17. Collins C, Olsen I, Zammit P, Heslop L, Petrie A, Partridge T, et al. Stem Cell Function, Self-Renewal, and Behavioral Heterogeneity of Cells from the Adult Muscle Satellite Cell Niche. *Cell.* 2005 julho; 122(2):289-301.
18. Zammit PS, Partridge TA, Yablonka-Reuveni Z. The skeletal muscle satellite cell: the stem cell that came in from the cold. *J Histochem Cytochem.* 2006 novembro; 54(11):1177-91.
19. Kadi F, Schjerling P, Andersen LL, Charifi N, Madsen JL, Christensen LR, Andersen JL. The effects of heavy resistance training and detraining on satellite cells in human skeletal muscles. *J Physiol.* 2004 agosto; 558(Pt 3): 1005-12.
20. Frese S, Ruebner M, Suhr F, Konou TM, Tappe KA, Toigo M, et al. Long-Term Endurance Exercise in Humans Stimulates Cell Fusion of Myoblasts along with Fusogenic Endogenous Retroviral Genes In Vivo. *PLoS One.* 2015 julho;10(7): e0132099.
21. Bjerregard B, Ziomkiewicz I, Schulz A, Larsson LI. Syncytin-1 in differentiating human myoblasts: relationship to caveolin-3 and myogenin. *Cell Tissue Res.* 2014 julho; 357(1): 355-62.
22. Morgan J, Partridge T. Skeletal muscle in health and disease. *Dis Model Mech.* 2020 fevereiro;13(2).
23. Butterfield TA, Best TM, Merrick MA. The dual roles of neutrophils and macrophages in inflammation: a critical balance between tissue damage and repair. *J Athl Train.* 2006 outubro; 41(4): 457-65.
24. Freimanis G, Hooley P, Ejtehadi HD, Ali HA, Veitch A, Rylance PB, et al. A role for human endogenous retrovirus-K (HML-2) in rheumatoid arthritis: investigating mechanisms of pathogenesis. *Clin Exp Immunol.* 2010 junho; 160(3): 340-347.
25. Tarlinton R, Wang B, Morandi E, Gran B, Khaiboullin T, Martynova E, et al. Differential Expression of HERV-W in Peripheral Blood in Multiple Sclerosis and Healthy Patients in Two Different Ethnic Groups. *Front Pharmacol.* 2020 janeiro; 10:1645.
26. Allen J, Sun Y, Woods JA. Exercise and the Regulation of Inflammatory Responses. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2015; 135: 337-354.
27. Silva F, Macedo D. Exercício físico, processo inflamatório e adaptação: uma visão geral. *Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum.* 2011; 13(4): 320-328.
28. Clarkson PM, Hubal MJ. Exercise-induced muscle damage in humans. *Am J Phys Med Rehabil.* 2002 novembro; 81(11 Suppl): S52-69.

ANEXO A – Parecer Consubstanciado do CEP

UNIVERSIDADE DE SANTO
AMARO - UNISA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: INVESTIGAÇÃO DA EXPRESSÃO DE RETROVÍRUS ENDÓGENOS HUMANOS K E W EM PRATICANTES DE EXERCÍCIOS FÍSICOS

Pesquisador: Luiz Henrique da Silva Nali

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 32990620.5.0000.0081

Instituição Proponente: OBRAS SOCIAIS E EDUCACIONAIS DE LUZ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.237.943

Apresentação do Projeto:

A proposta da pesquisa é investigar os níveis de expressão de algumas famílias de HERVs em praticantes e não praticantes de exercícios físicos após uma sessão aguda de treinamento de força. Metodologia: será feito um estudo transversal, com execução de uma sessão de treino de treino de força, e com coleta de amostra sanguínea anterior a sessão, imediatamente após a sessão e 30 minutos após a sessão. Apenas os grupos que realizam o treinamento de força (elevado volume e baixo volume) realizaram a sessão de treino. Voluntários estudantes da Universidade Santo Amaro serão convidados a participar do estudo. Indivíduos serão divididos em 3 grupos, o recrutamento será feito até 20 pessoas por grupo serem incluídas. Os níveis de expressão entre os grupos serão avaliados pelo método de 2-Ct, que determina quantas vezes cada indivíduo expressa a mais ou a menos baseados nos grupos controles, a significância da diferença de expressão será determinada pelo

Endereço: Rua Profº Enéas de Siqueira Neto, 340

Bairro: Jardim das Imbuías

CEP: 02.450-000

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2141-8687

E-mail: pesquisaunisa@unisa.br

UNIVERSIDADE DE SANTO
AMARO - UNISA



Continuação do Parecer: 4.237.943

método de wilcox.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Com base nesses dados, o objetivo desse estudo é investigar os níveis de expressão de algumas famílias de HERVs em praticantes e não praticantes de exercícios físicos após uma sessão aguda de treinamento de força

Objetivo Secundário:

- Verificar os níveis de expressão dos HERVs entre indivíduos praticantes de exercícios físicos de força elevado volume, (> 10 toneladas semanais), baixo volume < 10 toneladas semanais) e não praticantes de treinamento de força (e que não atendem a recomendação de 300 minutos de AF semanal);
- Compreender a dinâmica de expressão dos HERVs em diferentes momentos antes e após a prática do exercício físico;
- Avaliar os diferentes níveis de expressão das famílias de HERVs

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os riscos envolvidos nas avaliações são classificados como: Pequeno: relacionados a possíveis lesões advindas da prática de exercício físico (entorse, contratura muscular). Esse tipo de lesão em programas de treino pode afetar até 5% da amostra, sendo a recuperação normalmente por repouso. Riscos mínimos com relação a abordagem de coleta de sangue que pode gerar um pequeno incômodo no decorrer da coleta e há a possibilidade da formação de hematomas

Endereço: Rua Profº Enéas de Siqueira Neto, 340

Bairro: Jardim das Imbuías

CEP: 02.450-000

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2141-8687

E-mail: pesquisaunisa@unisa.br

UNIVERSIDADE DE SANTO
AMARO - UNISA



Continuação do Parecer: 4.237.943

Benefícios:

Os voluntários não receberão nenhum benefício direto. No entanto, poderão auxiliar na construção do saber científico referente o processo de reparo de tecido muscular

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Desenho do estudo

Estudo transversal, com execução de uma sessão de treino de treino de força (anexo 2), e com coleta de amostra sanguínea anterior a sessão (repouso), imediatamente após a sessão e 30 minutos após a sessão. Apenas os grupos que realizam o treinamento de força (elevado volume e baixo volume) realizaram a sessão de treino. Voluntários estudantes da Universidade de Santo Amaro serão convidados a participar do estudo. Serão incluídos voluntários que não apresentem restrição para a prática de exercício físico de acordo com o questionário de prontidão para atividade física – PAR-Q (anexo 1).

Indivíduos serão divididos em 3 grupos sendo dois deles que realizam treinamento de força nos últimos doze meses, ainda divididos pelo volume de treinamento semanal realizado (volume < de 8 toneladas semanais e > de 8 toneladas semanais) e um terceiro grupo que não realizam treinamento de força e não atendem recomendação de 300 minutos de atividade física moderada e vigorosa. O recrutamento será feito até 20 pessoas por grupo serem incluídos, os grupos de estudo serão definidos como se segue:

GFAV - Grupo treinamento de força alto volume: Será composto por indivíduos que realizem treinamento de força (4x por semana ou mais) com volume >8 toneladas por sessão. Esses voluntários serão submetidos a uma sessão de elevado volume.
GFBV - Grupo treinamento de força de baixo volume: Será composto por indivíduos que realizem

Endereço: Rua Profº Enéas de Siqueira Neto, 340

Bairro: Jardim das Imbuías

CEP: 02.450-000

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2141-8687

E-mail: pesquisaunisa@unisa.br

UNIVERSIDADE DE SANTO
AMARO - UNISA



Continuação do Parecer: 4.237.943

treinamento de força (2x ou 3 por semana) com volume < 8 toneladas por sessão. Esses voluntários serão submetidos a uma sessão de baixo volume. GS - Indivíduos saudáveis sedentários em que não realizaram a recomendação de atividade física e não realizem treino de força (grupo controle).

Avaliação

Avaliação 1:

Será realizada uma breve entrevista para apresentação do TCLE, aplicação do PAR-Q e verificação do histórico de treinamento (últimos 12 meses) e volume de treino das últimas 4 semanas. Após a entrevista caso o indivíduo seja incluído na pesquisa será realizado o agendamento da sessão de treino que ocorrerá entre 8h e 11h da manhã nas dependências da academia de musculação da Unisa.

Avaliação 2: O protocolo de treinamento será composto por sessão de treino padrão, com 10 exercícios, sendo realizados 3 séries de a 12 exercícios até a falha concêntrica (Riebe, Ehrman, Liguori, Magal, & Medicine, 2018).

As amostras de sangue em tubo EDTA serão coletadas nos três momentos descritos no desenho do estudo, e enviadas para o Unisa Research Center (URC) para processamento e condução dos experimentos laboratoriais.

As amostras serão identificadas por códigos alfanuméricos. As amostras de sangue serão centrifugadas para a obtenção do PBMC e separada do plasma e eritrócito com auxílio do tampão EL (Qiagen). As amostras serão extraídas pelo método de Trizol e tratadas com DNase para remoção do DNA genômico. Uma vez feita a confirmação da ausência de DNA genômico por PCR sem transcriptase reversa, o cDNA será construído e reações de PCR para HERV K e W, serão realizados. Os níveis expressão serão quantificados de forma relativa, sendo assim utilizaremos primers para o gene endógeno (GAPDH).

Endereço: Rua Profº Enéas de Siqueira Neto, 340

Bairro: Jardim das Imbuías

CEP: 02.450-000

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2141-8687

E-mail: pesquisaunisa@unisa.br

UNIVERSIDADE DE SANTO
AMARO - UNISA



Continuação do Parecer: 4.237.943

Os

níveis de expressão de entre os grupos serão avaliados pelo método de 2-Ct, que determina quantas vezes cada indivíduo expressa

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- Pendência atendida:

1) Riscos foram ajustados no TCLE e Plataforma Brasil, granindo assistência ao participante de pesquisa, caso seja necessário, conforme descrito abaixo:

"A coleta de sangue é pouco invasiva e oferece riscos mínimos, onde há um desconforto por conta da coleta e pode, no máximo, gerar alguns hematomas. Com relação aos exercícios resistidos há um risco mínimo relacionados a possíveis lesões advindas da prática de exercício físico (entorse, contratura muscular). Esse tipo de lesão em programas de treino pode afetar até 5% das pessoas, sendo a recuperação normalmente por repouso. Os exercícios físicos de força também podem gerar um leve incômodo característico da atividade física, sendo cessado com o repouso após os exercícios. Em caso de ocorrência de lesão durante a prática dos treinos determinados na prática da pesquisa, você será orientado e encaminhado ao atendimento de emergência do sistema único de saúde ou a um serviço de saúde de sua preferência. "

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

- Aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_1560503.pdf	14/08/2020 13:21:28		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Lucas.docx	14/08/2020 13:17:36	Luiz Henrique da Silva Nali	Aceito
Outros	carta_ao_cep.docx	14/08/2020 13:17:16	Luiz Henrique da Silva Nali	Aceito
Outros	Anexo5_MODELO_termo_Compromisso Confidencialidade1_lucas.docx	03/06/2020 09:29:44	Luiz Henrique da Silva Nali	Aceito

Endereço: Rua Profº Enéas de Siqueira Neto, 340

Bairro: Jardim das Imbuías

CEP: 02.450-000

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2141-8687

E-mail: pesquisaunisa@unisa.br

UNIVERSIDADE DE SANTO
AMARO - UNISA



Continuação do Parecer: 4.237.943

Outros	Carta_de_anuencia.pdf	28/05/2020 18:37:10	Luiz Henrique da Silva Nali	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Retrovirus_endogenos_final.doc x	28/05/2020 18:32:50	Luiz Henrique da Silva Nali	Aceito
Folha de Rosto	FolhaRostoHERVNali.pdf	28/05/2020 18:31:10	Luiz Henrique da Silva Nali	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 26 de Agosto de 2020

Assinado por:
Ana Paula Ribeiro
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Profº Enéas de Siqueira Neto, 340
Bairro: Jardim das Imbuías **CEP:** 02.450-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2141-8687 **E-mail:** pesquisaunisa@unisa.br

ANEXO B – PAR-Q**Questionário de Prontidão para Atividade Física (PAR-Q)**

Este questionário tem o objetivo de identificar a necessidade de avaliação por um médico antes do início da atividade física. Caso você responda "SIM" a uma ou mais perguntas, converse com seu médico ANTES de aumentar seu nível atual de atividade física. Mencione este questionário e as perguntas às quais você respondeu "SIM".

Por favor, assinale "SIM" ou "NÃO" às seguintes perguntas:

1. Algum médico já disse que você possui algum problema de coração e que só deveria realizar atividade física supervisionado por profissionais de saúde?
Sim Não
2. Você sente dores no peito quando pratica atividade física?
Sim Não
3. No último mês, você sentiu dores no peito quando praticou atividade física?
Sim Não
4. Você apresenta desequilíbrio devido à tontura e/ ou perda de consciência?
Sim Não
5. Você possui algum problema ósseo ou articular que poderia ser piorado pela atividade física?
Sim Não
6. Você toma atualmente algum medicamento para pressão arterial e/ou problema de coração?
Sim Não
7. Você realiza algum tratamento médico contínuo, que possa ser afetado ou prejudicado com a atividade física?
Sim Não
8. Você já se submeteu a algum tipo de cirurgia, que comprometa de alguma forma a atividade física?
Sim Não
9. Sabe de alguma outra razão pela qual você não deve praticar atividade física?
Sim Não

Se sim, descreva:

Nome completo: _____ Idade: _____

Se você respondeu "SIM" a uma ou mais perguntas, leia e assine o "Termo de Responsabilidade por Prática de Atividade Física"

Termo de Responsabilidade para Prática de Atividade Física

Estou ciente de que é recomendável conversar com um médico antes de aumentar meu nível de atividade física, por ter respondido "SIM" a uma ou mais perguntas do "Questionário de Prática de Atividade Física" (PAR-Q). Assumo plena responsabilidade por qualquer atividade física praticada em atendimento a essa recomendação.

Nome: _____

Assinatura: _____

_____, _____ de _____ de 20__