



UNIVERSIDADE SANTO AMARO
PROGRAMA DE MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

Renier Soares Pires

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM
L-GLUTAMINA NA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA HDL
EM IDOSOS FISICAMENTE ATIVOS:
FOCO NA PARAXONASE-1 E GLUTATIONA PEROXIDASE**

São Paulo

2022

Renier Soares Pires

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM
L-GLUTAMINA NA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA HDL
EM IDOSOS FISICAMENTE ATIVOS:
FOCO NA PARAXONASE-1 E GLUTATIONA PEROXIDASE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* da Universidade Santo Amaro – UNISA, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. André Luís Lacerda Bachi

Coorientador: Prof. Dr. Luiz Henrique da Silva Nali

São Paulo

2022

P743a Pires, Renier Soares.

Avaliação dos efeitos da suplementação com L-glutamina na atividade antioxidante do HDL em idosos fisicamente ativos: foco na paraxonase-1 e glutathione peroxidase / Renier Soares Pires. — São Paulo, 2022.

67 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) — Universidade Santo Amaro, 2022.

Orientador: Prof. Dr. André Luís Lacerda Bachi.

Coorientador: Prof. Dr. Luiz Henrique da Silva Nali.

1. Aterosclerose. 2. Lipoproteínas. 3. Glutamina. I. Bachi, André Luís Lacerda, orient. II. Nali, Luiz Henrique da Silva, coorient. III. Universidade Santo Amaro. IV. Título.

DEDICATÓRIA

Agradeço aos meus pais, por terem me dado a vida, pelos seus ensinamentos exemplificados em palavras e gestos, por me fazer acreditar que todos os sonhos são possíveis e por me ajudar a vencer toda e qualquer batalha.

Agradeço, em especial, a minha família e aos meus filhos, Davi, Maria Luiza e Manuela, por compreenderem as várias horas em que estive ausente por causa do desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores da Universidade Santo Amaro – UNISA, que agregaram conhecimento para a minha formação acadêmica.

Ao meu professor-orientador, Dr^o André Luís Lacerda Bachi, Nobre Professor Pós- Doutor, a quem tive a honra de tê-lo como meu mentor acadêmico. Aprendi com os seus conselhos e exemplos de resiliência, comprometimento, empatia, profissionalismo, maturidade emocional, ética e, sobretudo, amor ao próximo, qualidades raras de quem é agraciado com honrarias e títulos de um pesquisador renomado mundialmente. Prof.^o Dr. André Luís, muito obrigado por compartilhar um pouco do seu conhecimento, do seu tempo. O senhor, fez a diferença nesta etapa da minha vida!

RESUMO

Objetivo: Neste estudo, objetivou-se avaliar se a suplementação de Gln pode melhorar o balanço redox e a capacidade antioxidante total do HDL, mediada pelas atividades PON-1 e GPx, em idosos fisicamente ativos. **Métodos:** 83 idosos, não praticantes (NP, n=32) e praticantes de um programa de treinamento físico combinado (EFC, n=51), foram separados em 2 subgrupos de acordo com a suplementação: grupos Gln (NP-Gln, n=16 e EFC-Gln, n = 26) e grupos de placebo (NP-PL, n=16 e EFC -PL, n=25). Amostras de sangue foram obtidas antes (pré) e após (pós) 30 dias de suplementação com Gln (0,3g / kg / dia + 10g de maltodextrina) ou placebo (10g de maltodextrina) para avaliar a glicemia, o perfil lipídico, os parâmetros oxidantes e antioxidantes, e atividades GPx e PON-1. **Resultados:** Glicemia mais baixa foi encontrada nos grupos EFC do que nos grupos NP, tanto pré quanto pós-suplementação. Níveis mais elevados de HDL-c e também atividades de peroxidase total (PRx) e GPx foram encontrados nos subgrupos NP-Gln e EFC-Gln pós-suplementação em comparação com os valores anteriores. Além disso, o aumento da atividade da GPx pós-suplementação nesses subgrupos também foi superior aos valores encontrados nos subgrupos NP-PL e EFC-PL, no mesmo período. Curiosamente, maior atividade de PON-1 foi encontrada apenas no subgrupo EFC-Gln pós-suplementação do que os valores basais. Redução da razão entre peróxidos totais e PRx, ferro e PRx, e também peróxidos totais e GPX foram encontrados nos subgrupos NP-Gln e EFC-Gln pós-suplementação em comparação com os valores anteriores, enquanto redução da proporção entre TBARS e PRx ou GPx foram encontrados nos subgrupos EFC-Gln pós-suplementação em comparação com os valores anteriores. Os outros parâmetros permaneceram inalterados.

Palavras-chave: aterosclerose; lipoproteínas; estresse oxidativo; radicais livres; antioxidante; glutamina.

ABSTRACT

Objective: This study aimed to evaluate whether Gln supplementation can improve the systemic redox balance and the total antioxidant capacity of HDL, mediated by PON-1 and GPx activities, in physically active elderly people.

Methods: 83 elderly, non-practitioners (NP, n=32) and practitioners of a combined physical training program (CET, n=51), were separated into 2 subgroups according to supplementation: Gln groups (NP-Gln, n =16 and CET-Gln, n = 26) and placebo groups (NP-PL, n=16 and OBE -PL, n=25). Blood samples were obtained before (pre) and after (post) 30 days of supplementation with Gln (0.3g / kg / day + 10g maltodextrin) or placebo (10g maltodextrin) to assess blood glucose, lipid profile, oxidant and antioxidant parameters, and GPx and PON-1 activities. **Results:** Lower blood glucose was found in the CET groups than in the NP groups, both pre- and post-supplementation. Higher HDL-c levels as well as total peroxidase (PRx) and GPx activities were found in the NP-Gln and CET-Gln subgroups post-supplementation compared to the previous values. Furthermore, the increase in GPx activity after supplementation in these subgroups was also higher than the values found in the NP-PL and CET-PL subgroups, in the same period. Interestingly, higher PON-1 activity was found only in the post-supplementation EFC-Gln subgroup than baseline values. Reduction in the ratio between total peroxides and PRx, iron and PRx, as well as total peroxides and GPX were found in the post-supplementation NP-Gln and CET-Gln subgroups compared to the previous values, while a reduction in the ratio between TBARS and PRx or GPx were found in the post-supplementation CET-Gln subgroups compared to the previous values. The other parameters remained unchanged. **Conclusion:** Although most lipid profile parameters or oxidative stress markers in plasma remained unchanged, a 30-day CET program with Gln supplementation increased HDL-c levels and the antioxidant activities of PRx, GPx and PON-1, showing not just an improvement in redox balance, which can supposedly mitigate atherosclerotic development.

Keywords: aging, taper index, sarcopenic obesity, lipid profile, cardiovascular disease.

LISTA DE ABREVIATURAS

% - Porcentagem

< - Menor que

> - Maior que

1-RM – 1 repetição máxima

apoAI - Apolipoproteína AI

ATP - Adenosina-Trifosfato

AVC - Doença Cerebrovascular

CEP - Comitê de ética em pesquisa

CM –Centímetros

CT - Colesterol total

CV - Eventos Cardiovasculares

DCV - Doenças Cardiovasculares

dL – Decilitro

G – Grama

GPx - Glutationa peroxidase

HDL-c - Colesterol da lipoproteína de alta densidade

HSPs - Proteínas de choque térmico

IAM - Infarto Agudo do Miocárdio

IC - Intervalo de confiança

IPAQ - Questionário Internacional de Atividade Física

IMC - Índice de Massa Corporal

Kg – Kilograma

LCAT - Lecitina-colesterol aciltransferase

LDL-c - Colesterol da lipoproteína de baixa densidade

M – Masculino

m² - Metro Quadrado

mg – Miligrama

ml – Mililitro

MMEa – Massa Muscular Esquelética apendicular

mmHg - Milímetros de mercúrio

N – Tamanho da Amostra

n - Número Absoluto

NCEP - National Cholesterol Education Program

NCEP-ATP III - *National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III*

NP – Não praticante

OMS - Organização Mundial da Saúde

PAF - Fator de ativação de plaquetas

PON 1 - Paraxonase 1

°C - Graus Celsius

SM – Síndrome Metabólica

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TG – Triglicerídeos

UNIFESP - Universidade Federal de São Paulo

UNISA – Universidade Santo Amaro

USA – Estados Unidos da América

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma e design experimental do estudo

Figura 2. Níveis plasmáticos de glicose (glicemia - A) e perfil lipídico (colesterol total - B; triglicérides-C; LDL-c - D; colesterol não-HDL-c - E; e HDL-c - F) em idosos não praticantes e praticantes de um programa de exercício físico combinado, ambos suplementados com L-glutamina ou placebo por 30 dias consecutivos. Barra Branca, antes dos 30 dias e barra preta após os 30 dias. Os dados foram analisados estatisticamente pelo teste *ANOVA* de duas vias para medidas repetidas com pós-teste de *Student-Newman-Keus* e foram apresentados como média e desvio padrão (DP) com um valor de risco de 5% ($p < 0,05$). * $p < 0,05$.

Figura 3. Níveis plasmáticos/séricos de agentes oxidantes (Peróxidos totais - A; TBARS - B; e ferro -C) e antioxidantes (TEAC - D; e ácido úrico - E) em idosos não praticantes e praticantes de um programa de exercício físico combinado, ambos suplementados com L-glutamina ou placebo por 30 dias consecutivos. Os dados foram analisados estatisticamente pelo teste de *Kruskal-Wallis* com pós-teste de *Dunn* e foram apresentados como mediana e intervalo interquartil com valor de risco de 5% ($p < 0,05$).

Figura 4. Resultados da atividade enzimática semelhante à peroxidase (\square mol $\text{H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \cdot \text{mg de proteína}^{-1}$, A), GPx (\square mol $\text{NADPH min}^{-1} \cdot \text{mg proteína}^{-1}$, B) e PON-1 (U/L) nas frações HDL-c de idosos não praticantes e praticantes de um programa de exercício físico combinado, ambos suplementados com L-glutamina ou placebo por 30 dias consecutivos. Os dados foram analisados estatisticamente pelo teste de *Kruskal-Wallis* com pós-teste de *Dunn* e foram apresentados como mediana e intervalo interquartil com valor de risco de 5% ($p < 0,05$). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$.

Figura 5. Razão entre os agentes oxidantes (Peróxidos, TBARS e Ferro) e antioxidantes (Peroxidase e GPx) no plasma de idosos não praticantes e praticantes de um programa de exercícios físicos combinados, ambos suplementados com L-glutamina ou placebo por 30 dias consecutivos. Os dados foram analisados estatisticamente usando o teste ANOVA de duas vias para medidas repetidas com pós-teste de *Student-Newman-Keus* e foram apresentados como média e desvio padrão (DP) com um valor de risco de 5% ($p < 0,05$). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$

Figura 6. Funções biológicas propostas da paraxonase-1 (PON-1) e glutathione peroxidase (GPx / PRx) em lipoproteínas HDL isoladas de indivíduos idosos suplementados com L-glutamina em programas regulares de exercícios. Embora os ácidos graxos 5-hidroxiados não sejam frequentes na fisiologia normal, compostos de ácidos graxos oxidados já foram detectados durante processos inflamatórios em macrófagos e células dendríticas devido à atividade catalítica dos citocromos P-450 e 5-lipooxigenase. PON-1 hidrolisa uma grande variedade de substratos endógenos ou exógenos, alguns dos quais estão envolvidos na progressão da arteriosclerose. Adaptado de: Lou-Bonafonte et al. (2017).

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. As características físicas e níveis de atividade física [médias \pm desvio padrão (DP)] em idosos não praticantes (NP) e praticantes de exercício físico combinado (EFC) antes da suplementação com L-glutamina ou placebo. Nível de significância de * $p < 0,05$.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	- 11 -
2. JUSTIFICATIVA	- 20 -
3. OBJETIVOS	- 21 -
3.1. Objetivo Geral	- 21 -
3.2. Objetivos Específicos	- 21 -
4. MÉTODOS	- 22 -
4.1 Tipo de Estudo	- 22 -
4.2 População Estudada	- 22 -
4.3 Programa de treinamento combinado	- 24 -
4.4. Suplementação com L-glutamina ou placebo	- 25 -
4.5 Coleta dos materiais biológicos.....	- 25 -
4.6 Isolamento da fração HDL-c	- 26 -
4.7 Determinação da glicemia e perfil lipídico	- 26 -
4.8 Determinação dos Biomarcadores pró-oxidantes e antioxidantes	- 26 -
4.9 Determinação da razão entre os parâmetros pró-oxidantes e antioxidantes	- 28 -
4.10 Análise estatística	- 28 -
4.11 Aspectos Éticos.....	- 29 -
5. RESULTADOS	- 30 -
6. DISCUSSÃO	- 35 -
7. CONCLUSÃO	- 40 -
ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) - 53 -	
ANEXO B - TERMO DE COMPROMISSO E CONFIDENCIALIDADE	- 59 -
ANEXO C - APROVAÇÃO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	- 60 -

1. INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV), estão entre as primeiras causas de morte em indivíduos idosos, sendo que na maioria dos casos, a causa subjacente é a aterosclerose ¹⁻³. É sabido que a aterosclerose é uma doença que se desenvolve ao longo da vida ⁴, começando por vezes em uma idade muito jovem, mas que se manifesta clinicamente após décadas, principalmente como Infarto Agudo do Miocárdio (IAM), Doença Cerebrovascular (AVC) ou doença arterial periférica ⁵.

Segundo a OMS a DCV alberga um grupo de doenças do coração e dos vasos sanguíneos e incluem a doença coronariana, doença cerebrovascular, doença arterial periférica, trombose venosa profunda e embolia pulmonar ¹.

A presença dos fatores de risco clássicos como hipertensão, dislipidemia, obesidade, sedentarismo, tabagismo, diabetes e histórico familiar, aumenta a probabilidade de ocorrência da DCV. Vários outros fatores, incluindo questões sociodemográficas, étnicas, culturais, dietéticas e comportamentais, podem também explicar as diferenças no desenvolvimento da DCV entre as populações e suas tendências ao longo das décadas. A implementação de políticas de saúde, entre elas, o estímulo aos hábitos de vida saudáveis, o acesso a medidas para prevenção primária e secundária de DCV, associadas ao tratamento de eventos cardiovasculares (CV), é essencial para o controle das DCV em todos os países, incluindo o Brasil ⁶.

Como anteriormente citado, as dislipidemias representam importante fator de risco para a DCV, sendo o colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) o mais relevante fator de risco modificável para DCV ⁷. Existe ampla evidência advinda de estudos genéticos ⁸ e clínicos com estatinas e outros hipolipemiantes, demonstrando que níveis mais baixos de LDL-c se associam à redução proporcional de desfechos cardiovasculares, incluindo IAM, AVC e morte ^{9,10}.

Em oposição aos efeitos da LDL-c na DCV, é amplamente aceito que o colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL-c), a molécula responsável pelo transporte reverso do colesterol, ou seja, transporte do colesterol dos tecidos periféricos para o fígado tem ações que contribuem para a proteção do leito vascular contra a aterogênese.

Dentre essas ações destacam-se a remoção de lípidos oxidados, em especial a LDL oxidada, atividades anti-inflamatórias, antitrombóticas pela inibição da fixação de moléculas de adesão e monócitos ao endotélio, atividades vasodilatadoras pela estimulação da liberação de óxido nítrico e atividade antioxidante, particularmente devido a enzimas como a Paroxonase 1 (PON 1) e Glutathione peroxidase (GPx) que estão associadas à HDL ¹¹. Estas em conjunto garantem o papel antiaterogênico dessa lipoproteína ¹².

A aterosclerose é uma doença inflamatória crônica de origem multifatorial, que ocorre em resposta à agressão endotelial, acometendo principalmente a camada íntima de artérias de médio e grande calibre ¹³. Diversos fatores como dislipidemia, hipertensão arterial e/ou tabagismo aumentam o risco de formação da placa aterosclerótica. Em geral, as lesões iniciais, denominadas estrias gordurosas, formam-se ainda na infância e caracterizam-se por acúmulo de colesterol em macrófagos infiltrantes nas paredes dos vasos ¹⁴. Com o tempo, mecanismos protetores levam ao aumento do tecido matricial, que circunda o núcleo lipídico, mas, na presença de subtipos de linfócitos de fenótipo mais inflamatório, a formação do tecido matricial se reduz, principalmente por inibição de síntese de colágeno pelas células musculares lisas que migraram para íntima vascular e por maior liberação de metaloproteases de matriz, sintetizadas por macrófagos, tornando a placa lipídica vulnerável a complicações ¹⁵⁻¹⁶. Como consequência, a disfunção endotelial aumenta a permeabilidade da íntima vascular às lipoproteínas plasmáticas, favorecendo a retenção destas no espaço subendotelial. Retidas, as partículas de LDL sofrem oxidação, causando a exposição de diversos neoepítomos, tornando-as imunogênicas. O depósito de lipoproteínas na parede arterial, processo chave no início da aterogênese,

ocorre de maneira proporcional à concentração destas lipoproteínas no plasma. Além do aumento da permeabilidade às lipoproteínas, outra manifestação da disfunção endotelial é o surgimento de moléculas de adesão leucocitária na superfície endotelial, processo estimulado pela presença de LDL oxidada. As moléculas de adesão são responsáveis pela atração de monócitos e linfócitos para as camadas mais íntimas da parede arterial. Induzidos por proteínas quimiotáticas, os monócitos migram para o espaço subendotelial, no qual se diferenciam em macrófagos, que, por sua vez, captam as LDL oxidadas. Os macrófagos repletos de lípidos são chamados de células espumosas e são o principal componente das estrias gordurosas, lesões macroscópicas iniciais da aterosclerose.

Uma vez ativados, os macrófagos são, em grande parte, responsáveis pela progressão da placa aterosclerótica por meio da secreção de citocinas, que amplificam a inflamação, e de enzimas proteolíticas, capazes de degradar colágeno e outros componentes teciduais locais ¹⁷.

Assim, diversos mecanismos podem estar associados à aterogênese e suas complicações, como a oxidação de lipoproteínas (principalmente lipoproteínas de baixa densidade-colesterol – LDL-c) e a alteração fenotípica do endotélio vascular, produzindo substâncias quimiotáticas de linfócitos, liberando espécies reativas de oxigênio, promovendo vasoconstrição e reduzindo propriedades antitrombóticas.

A partir destas alterações, ocorre interação do fator tecidual da íntima vascular com fator VIIa circulante, levando à geração de trombina, ativação plaquetária e formação do trombo, determinando as principais complicações da aterosclerose, IAM e AVC ^{18,19}.

No sentido de diminuir a ocorrência da aterogênese, vale lembrar que o organismo possui a HDL-c, que dentre várias ações apresenta atividade antioxidante, em especial devido à Paraxonase 1 (PON 1) e Glutathione peroxidase (GPx), ambas enzimas que estão associadas a HDL ^{20, 21}.

A Paraxonase-1 (PON-1) é uma enzima que em humanos é codificada pelo gene Pon1 ²², está localizada exclusivamente na lipoproteína de alta densidade (HDL) ²³ e é reconhecidamente um importante componente antiaterosclerótico da HDL ^{24,25}. Foi demonstrado que o gene Pon1 é ativado pelo PPAR- γ , que estimula o aumento da síntese e liberação da PON-1 a partir do fígado, e isso está associado à redução da aterosclerose ²⁶.

Em se tratando de sua ação, tem sido observado que a PON-1 associada à HDL é capaz de hidrolisar pesticidas organofosforados, além de ser responsável pela metabolização de peróxidos lipídicos o que leva à redução do acúmulo de LDL oxidada e maior proteção do organismo ao desenvolvimento de aterosclerose. Evidências sugerem que esse processo se deve em grande parte pela redução da peroxidação lipídica e hidrólise dos peróxidos lipídicos, levando à diminuição na formação de células espumosas e à interação com espécies reativas de oxigênio e nitrogênio ²⁷⁻³⁰.

Estudos evidenciam que a PON-1 purificada é significativamente mais eficiente que a apolipoproteína AI (apoAI) ou a lecitina-colesterol aciltransferase (LCAT) na prevenção da oxidação da LDL, embora a presença desses últimos componentes tenha mostrado ser capaz de aumentar levemente o efeito da PON1 ³⁰. A PON-1 pode acelerar a quebra de hidroperóxidos fosfolipídicos ³¹⁻³³ e o fator de ativação de plaquetas (PAF) ³⁴. Potencialmente, isso gera lipídios, aldeídos e cetonas, o que pode levar à modificação aterogênica da LDL ³⁵.

Em relação à atividade antioxidante da HDL, diferentemente dos antioxidantes que quebram as cadeias, a presença de PON-1 favorece que a HDL evite o acúmulo de peróxidos lipídicos na LDL ²⁵, bem como na parede do vaso ³⁶ por várias horas, continuando assim por muito tempo após o esgotamento dos antioxidantes lipossolúveis.

Interessantemente, o aumento da atividade de PON-1 foi associado à ingestão de polifenóis encontrados, por exemplo, no vinho, chá e suco de

frutas³⁷, bem como na ingestão moderada de álcool ³⁸. Contudo, foi evidenciado que a presença de altos níveis séricos de colesterol (39), resistência à insulina⁴⁰ e inflamação⁴¹ estão associados à diminuição da atividade de PON-1. Foi relatado que a alimentação rica com ácidos graxos monoinsaturados induziu maior atividade de PON-1 sérica quando comparada a dietas ricas em ácidos graxos saturados ou poli-insaturados⁴². Estudos mostraram que tanto o óleo de cozinha degradado⁴³, como uma dieta aterogênica ^{44,45} diminuem a atividade da PON-1 em modelos animais e em seres humanos. Além destes, o envelhecimento e a menopausa também são fatores associados à menor atividade de PON-1⁴⁶.

Em relação ao envelhecimento, tem sido destacado que a oxidação da LDL desempenha um papel crucial na patogênese da aterosclerose associada à “teoria do estresse oxidativo do envelhecimento”.

Essas observações podem contribuir para que indivíduos idosos desenvolvam DCV. Contudo, Bolkovoy & Blair ⁴⁷ mostraram que a mudança no estilo de vida representaria 54% de diminuição da taxa de mortalidade por doenças coronarianas. Na realidade, o que esse estudo sugere é que a adoção de um estilo de vida adequado, incluindo alimentação balanceada e prática regular de exercícios físicos, pode contribuir para diminuir a incidência de várias doenças, e principalmente elevar a qualidade de vida da população idosa.

Assim, manter-se fisicamente ativo é uma atitude que irá beneficiar a relação saúde-doença.

Os efeitos positivos obtidos pela prática de atividade física sob a saúde, de uma forma geral, são inquestionáveis. Entre as implicações ao sistema cardiovascular pode-se incluir a: redução dos níveis séricos de colesterol total (CT), do LDL-c, dos triglicerídeos (TG) e da pressão arterial, em contrapartida ao aumento do HDL-c e a contribuição para o controle glicêmico ⁴⁸.

Vale ressaltar que a OMS recomenda que idosos pratiquem exercícios físicos de maneira não tão diferente de adultos mais jovens, apenas respeitando suas limitações e capacidades. Neste sentido, a realização dos exercícios físicos deve incluir pelo menos 150 minutos de intensidade moderada ou pelo menos 75 minutos de intensidade vigorosa ou uma combinação equivalente por semana. Exercícios de força ou resistidos também devem ser incorporados ao regime de exercícios físicos e devem ser realizados pelo menos duas vezes por semana. As pessoas idosas que não conseguem atender a essas recomendações devido à saúde devem realizar atividades físicas da melhor maneira possível, conforme tolerado ⁴⁹.

Nosso grupo tem mostrado que a prática regular de exercícios físicos combinados (tanto aeróbios quanto resistidos) por um grupo de indivíduos idosos favoreceu não apenas o aumento dos níveis séricos de HDL-c, mas também a transferência de colesterol livre e esterificado, bem como de fosfolipídios do LDL-c para o HDL-c, quando comparados a um grupo de idosos sedentários ⁵⁰. Além disso, em outro estudo pudemos mostrar menores níveis sérios de LDL oxidada no grupo de idosos exercitados em comparação ao grupo de idosos sedentários ⁵¹. Em relação a PON-1, estudos demonstraram que indivíduos adultos ou mesmo idosos que tem um estilo de vida ativo com uma rotina de exercícios físicos possuem maiores níveis da atividade PON-1 ⁵²⁻⁵³.

Outro aspecto que merece ser salientado sobre a PON-1, diz respeito a estudos que objetivaram avaliar os efeitos de diferentes fármacos hipolipemiantes na atividade da PON-1, enquanto um estudo *in vitro* mostrou que hepatócitos humanos tratados com uma variedade de inibidores de HMG-CoA redutase reduziu os níveis de RNA mensageiro da Pon1 quando comparados com células não tratadas ⁵⁴, outros estudos ⁵⁵⁻⁵⁷, mas não todos ⁵⁸⁻⁶⁰, sugerem que os inibidores da HMG-CoA redutase aumentam a atividade PON-1.

Assim, a busca de intervenções dietéticas ou farmacológicas que possam favorecer tanto o aumento da expressão quanto da atividade da PON-1 pode ter uma aplicação na prevenção da aterosclerose.

Neste sentido, a L-glutamina, o aminoácido livre mais abundante no plasma e no tecido muscular, apresenta uma potente ação antioxidante. A glutamina (C₅H₁₀N₂O₃) é um L- α -aminoácido, com peso molecular de aproximadamente 146,15kda e pode ser sintetizada por todos os tecidos do organismo.

Fazem parte de sua composição química nas seguintes quantidades: carbono (41,09%), oxigênio (32,84%), nitrogênio (19,17%) e hidrogênio (6,90%)^{61,62}. É classificada de acordo com seu grupamento R como não carregada, mas é polar, o que significa uma característica mais hidrofílica, sendo facilmente hidrolisada por ácidos ou bases⁶². Como o organismo pode sintetizar glutamina, esta é considerada como um aminoácido não essencial⁶³. Quantitativamente, o principal tecido de síntese, estoque e liberação de glutamina é o tecido muscular esquelético⁶⁴. É amplamente aceito que a glutamina é o aminoácido livre mais abundante no plasma e no tecido muscular, sendo também encontrada em concentrações relativamente elevadas em outros diversos tecidos corporais⁶⁵.

Interessantemente, duas enzimas são responsáveis pela síntese de glutamina a partir do glutamato ou por sua degradação, também em glutamato, a glutamina sintetase e a glutaminase, respectivamente^{66,67}.

Vale destacar que este aminoácido está envolvido em diferentes funções, tais como a proliferação e desenvolvimento de células, o balanço acidobásico, o transporte da amônia entre os tecidos, a doação de esqueletos de carbono para a gliconeogênese, a participação no sistema antioxidante e outras⁶²⁻⁶⁸.

Por meio de técnicas de biologia molecular, foi demonstrado que a glutamina pode também influenciar diversas vias de sinalização celular, em especial a expressão de proteínas de choque térmico (HSPs). As HSPs contribuem para a manutenção da homeostasia da célula na presença de agentes estressores, tais como as espécies reativas de oxigênio (EROs) e espécies reativas de nitrogênio (ERNs), que se configuram como radicais livres⁶⁹.

No intuito de controlar o aumento da produção de radicais livres e manter a homeostase, nosso organismo desenvolveu um sistema de defesa antioxidante, que se intensifica a partir do estímulo dado pelos radicais livres. Entretanto, quando qualquer estímulo, que leve à produção excessiva de radicais livres e/ou à depleção de antioxidantes, conduzir a uma significativa alteração do balanço entre a produção e a remoção dos radicais; evidencia-se o chamado estresse oxidativo.

No estresse oxidativo a elevada concentração de EROs e ERNs pode causar danos moleculares às estruturas celulares, com alteração funcional e prejuízo de funções vitais em diversos órgãos e tecidos⁷⁰.

Assim, de maneira geral, antioxidantes são definidos como substâncias que, quando presentes em baixas concentrações em relação a um substrato oxidável, atrasam ou impedem a oxidação da mesma de maneira eficaz⁷¹.

Existem dois sistemas interconectados de antioxidantes: um sistema não-enzimático que é constituído por micronutrientes, como, por exemplo, vitaminas A, C e E, selênio, zinco, manganês, etc., e por um sistema enzimático formado pela catalase, superóxido dismutase e glutathione peroxidase (GPx)⁷¹.

Segundo a literatura, a glutamina é o principal precursor da síntese de um dos mais importantes agentes antioxidantes enzimáticos do nosso organismo, a glutathione⁷². Desta forma, a depleção de glutamina, pode

contribuir para um desequilíbrio entre os agentes oxidantes, tais como as EROs e os antioxidantes, favorecendo a oxidação de substâncias essenciais para a integridade celular e pode agravar a lesão tecidual ⁷³.

Como já apresentado, a GPx é uma importante enzima presente na HDL e, desta forma, auxilia na atividade antioxidante desta lipoproteína. Especificamente a glutathione peroxidase 1 (GPx1) atua reduzindo os hidroperóxidos lipídicos nos seus correspondentes hidróxidos e, assim, diminui a concentração dessas moléculas oxidativas. Além disso, vários estudos clínicos sugerem um papel ateroprotetor para GPx1 ⁷⁴.

1. JUSTIFICATIVA

Diante das informações apresentadas fica evidente que as enzimas PON-1 e GPx presentes na HDL são essenciais para garantir as propriedades antioxidantes desta lipoproteína. Além disso, a glutamina tem apresentado capacidade de potencializar atividades antioxidantes de maneiras diversas, sendo uma das maneiras mais aceitas o seu aumento da quantidade e atividade da glutathione, especialmente, a GPx.

Contudo, até o momento não foi encontrado nenhum estudo que tenha objetivado avaliar o efeito da suplementação com L-glutamina na atividade antioxidante da HDL por meio da avaliação das enzimas PON-1 e GPx em idosos fisicamente ativos.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Investigar a influência da suplementação com L-glutamina sobre o estado redox e a capacidade antioxidante da HDL por meio da atividade das enzimas paraxonase-1 (PON-1) e glutathione peroxidase (GPx) em idosos fisicamente ativos.

3.2. Objetivos Específicos

1. Avaliar se a suplementação com L-glutamina em idosos fisicamente ativo favorece o equilíbrio redox sistêmico.

2. Avaliar se a suplementação com L-glutamina em idosos fisicamente ativo favorece o aumento da atividade de PON-1 na molécula de HDL.

3. Avaliar se a suplementação com L-glutamina em idosos fisicamente ativo favorece o aumento da atividade de GPx na molécula de HDL.

4. MÉTODOS

4.1 Tipo de Estudo

Trata-se de um ensaio clínico duplo-cego randomizado pré/pós-intervenção.

4.2 População Estudada

Este estudo envolvendo 83 idosos, tanto homem (n=18) quanto mulheres (n=65), que participaram voluntariamente do estudo. Com base no desenho experimental apresentado no fluxograma (Figura 1) é possível verificar que, inicialmente, os voluntários foram separados em 2 grupos: não praticantes (NP, n = 32; homens = 7 e mulheres = 25) e praticantes de treinamento físico combinado (EFC, n = 51; homens = 11 e mulheres = 40).

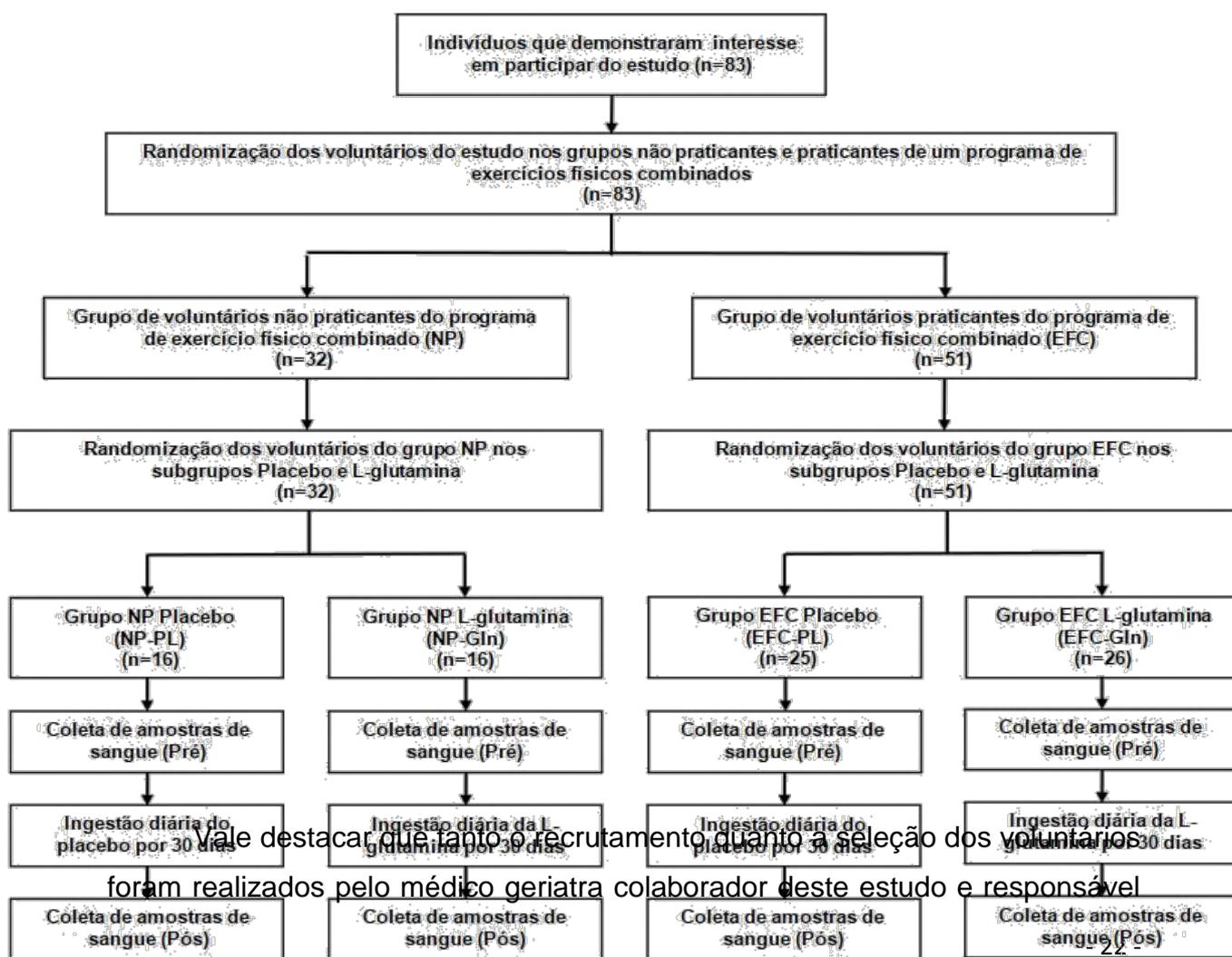


Figura 1. Fluxograma e design experimental do estudo

pelo Programa de Atenção e Cuidados de Saúde Primária ao Idoso pertencente à Disciplina de Geriatria e Gerontologia da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP).

Além disso, é importante esclarecer que a maioria dos voluntários deste estudo também participou de estudos anteriores do nosso grupo ⁷⁵⁻⁷⁹.

Todos os riscos e benefícios do estudo foram fornecidos e discutidos com os voluntários antes deles nos darem o consentimento informado por escrito para sua participação e qualquer coleta de dados. O estudo e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP: número de aprovação 3.623.247 e número CAEE: 218170619.3.0 000.5505). Vale ressaltar que o estudo estava de acordo com as Normas Éticas para a Prática do Exercício Físico ⁸⁰, bem como os experimentos foram realizados de acordo com a Declaração de Helsinque ⁸¹.

Por meio do Questionário de Frequência Alimentar, foi possível obter dados relacionados ao consumo nutricional diário de calorias, proteínas e antioxidantes. Além disso, por meio do prontuário foi possível verificar o uso de medicação de cada voluntário. Assim, com base no registro nutricional, todos os voluntários relataram dieta com no máximo 4.000cal/dia ou ingestão de proteínas >1,75g/kg de massa corporal (critério de exclusão 1). Já, pelo prontuário verificou-se que nenhum dos voluntários fazia uso de suplementos antioxidantes/multivitamínicos (critério de exclusão 2), anti-inflamatórios, estatinas ou outros medicamentos hipolipemiantes no momento do estudo (critério de exclusão 3).

Outros dados clínicos e exames físicos também foram obtidos junto ao prontuário de cada voluntário na Disciplina de Geriatria e Gerontologia da UNIFESP. Nenhum dos participantes apresentava doenças neurológicas, renais e / ou hepáticas, neoplasias, diabetes mellitus tipo I, infecções crônicas,

trombose, doenças cardiovasculares ou outras que impossibilitassem a realização de atividade física.

Por meio do Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ) validado para a população brasileira ^{82,83}, foram avaliados os níveis de atividades físicas semanais de todos os voluntários. Além destas informações, também foram obtidos dados sobre as características antropométricas (medida de peso, altura e índice de massa corporal; IMC) e a composição corporal, neste caso determinada por bioimpedância (BIOSCAN 920-2-S Maltron International Limited, Reino Unido).

4.3 Programa de treinamento combinado

O grupo EFC seguiu um protocolo de treinamento físico combinado consistindo em sessões de 60-75 minutos, realizadas 3 vezes por semana, em dias alternados durante 30 dias. Vale ressaltar que os voluntários participaram desse treinamento por pelo menos 12 meses antes do início do estudo e, durante todo o período, foram orientados e supervisionados pelo mesmo profissional de Educação Física.

O protocolo de treinamento foi realizado em intensidade moderada, com os exercícios aeróbios realizados entre 60 e 75% da frequência cardíaca máxima [estimada pela equação $(208 - 0,7 \times \text{idade})$]. O treinamento de força foi realizado entre 50 a 60% da capacidade de carga máxima para uma única repetição (1-RM), priorizando o treino de pelo menos 2 grupos musculares por sessão, utilizando de 5 a 10 exercícios diferentes ⁸⁴. Para avaliar a intensidade do esforço durante o treinamento de força, os voluntários responderam à Escala de Esforço Percebido de Borg durante a execução dos exercícios ⁸⁴.

4.4. Suplementação com L-glutamina ou placebo

Após a separação inicial dos voluntários entre nos grupos NP e EFC, estes foram aleatoriamente separados em 4 subgrupos: NP-placebo (NP-PL, n=16); NP-L-glutamina (NP-Gln, n=16); EFC-placebo (EFC-PL, n=25); e EFC-L-glutamina (EFC-Gln, n=26). Os indivíduos suplementados com Gln nos grupos NP-Gln e EFC-Gln foram orientados a ingerir 0,3g Gln/kg/dia (Tongliao Meihua Biological Sci Tech Co. Ltda., China) acrescido de 10g/dia de maltodextrina (PR Netto Indústria e Comércio de Alimentos Ltda., SP, Brasil). Os grupos suplementados com PL foram orientados a ingerir 10g/dia de maltodextrina.

Os suplementos (L-glutamina ou placebo) foram fornecidos em sachês para posterior solubilização em 250 mL de água e ingestão imediata, por 30 dias consecutivos (Figura 1).

As doses de Gln utilizadas neste estudo estavam de acordo com as concentrações prescritas determinadas por Gleeson, 2008 ⁸⁵.

4.5 Coleta dos materiais biológicos

Amostras de sangue foram coletadas após 12h de jejum em duas ocasiões distintas: antes (pré) e após 30 dias (pós) de suplementação.

Com relação ao grupo EFC, estes voluntários foram orientados a realizar a última sessão de exercícios físicos 24 horas antes da coleta de sangue. As amostras de sangue para análise bioquímica foram coletadas em tubo contendo ou não o anticoagulante EDTA para obtenção do soro e plasma após coagulação ou não do sangue no próprio tubo.

Logo após, os tubos foram submetidos à centrifugação (2000rpm, 10 minutos, a 4°C) e as alíquotas de soro e plasma obtidas foram armazenadas em freezer -80°C para posteriores análises bioquímicas.

4.6 Isolamento da fração HDL-c

Frações HDL-c dos voluntários do estudo foram isoladas a partir da precipitação das frações LDL-c e VLDL-c após mistura de amostras de plasma com solução de sulfato de heparina-cloreto de manganês, seguindo modificação do protocolo descrito por Ruiz-Albusac e colaboradores ⁸⁶, para minimizar contaminações de lipoproteínas de baixa densidade.

4.7 Determinação da glicemia e perfil lipídico

As concentrações plasmáticas de glicose (# K082-3), colesterol total (# K083-3), HDL-colesterol total (# K015-1) e triglicerídeos (#K117-3) foram determinadas utilizando kits comerciais colorimétricos (BioClin, São Paulo, Brasil), seguindo as instruções do fabricante. Os coeficientes de variância intra e Interensaio foram 2,5-4,5% e 5,0 -6,5%, respectivamente. As concentrações plasmáticas de colesterol não-HDL-c foram estimadas pela subtração dos valores do colesterol total pelos valores da HDL-c (CT-HDL) e as concentrações da LDL-c foram estimadas usando a fórmula de Friedewald [LDL-c=CT-HDL- (TG/5)] ⁸⁷.

4.8 Determinação dos Biomarcadores pró-oxidantes e antioxidantes

Para avaliar o estado redox sistêmico, ou seja, as propriedades pró-oxidantes e antioxidantes nas amostras de nossos voluntários, foram determinadas: (i) no plasma, as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS, um biomarcador de oxidação lipídica), o teor de peróxido lipídico total (LOOH, um agente pró-oxidante), o teor de ácido úrico (um antioxidante) e a capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC, um parâmetro da capacidade antioxidante geral no plasma); (ii) no soro, o teor de ferro total (um metal pró-oxidante que potencialmente, em sua forma ferrosa, catalisa a formação de EROs/ERNS mais agressivos); e (iii) em frações HDL-c; as atividades da glutathiona peroxidase (GPx), da Paraxonase-1 (PON-1) e as atividades semelhantes à peroxidase (PRx).

Kits comerciais adquiridos da Bioclin-Quibasa (Belo Horizonte, Brasil) foram usados para determinar as concentrações de ferro total (#K017-1) no soro e ácido úrico (# K139-1) no plasma. Os peróxidos lipídicos (LOOH) foram determinados pelo método clássico de xilenol-laranja usado no kit comercial #23280 *Pierce™ Quantitative Peroxide Assay Kit* adquirido da *Thermo Fischer Scientific™* (Waltham, Massachusetts, EUA).

A capacidade antioxidante foi determinada por meio do método baseado no decaimento da absorvância do radical relativamente estável ABTS•-, a 405nm. A peroxidação lipídica foi avaliada por meio da avaliação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs) no plasma⁸⁸. A concentração de TBARs no plasma foi medida após o tratamento da amostra com 4% de hidroxitolueno butilado (BHT, em etanol) e posterior reação com 0,375% de ácido tiobarbitúrico em 0,25 M de HCl e 1% de Triton X-100 (15min, a 100°C). O 1,1,2,2-tetroxiethylpropano foi usado como padrão para o cálculo de equivalentes de malondialdeído ($\mu\text{mol MDA/mg}$ de proteína) com base na absorvância do cromóforo a 535nm.

Amostras com frações HDL-c isoladas do plasma, conforme descrito anteriormente, foram utilizadas para medir as atividades das enzimas antioxidantes de GPx, PON-1 e PRx. Resumidamente, a atividade da glutathione peroxidase (GPx) foi analisada indiretamente monitorando o consumo de NADPH a 340nm em um sistema de reação composto por 0,25mM de NaN₃ (azida de sódio), 0,25U/mL de glutathione redutase (GR), 1mM de GSH, 5 μL de amostra, 180 μL de tampão fosfato-EDTA (143mM de fosfato de sódio e 6,3mM de EDTA, pH 7,5) e 0,12mM de NADPH. Após incubação a 37°C durante aproximadamente 30 segundos, 5 μL de hidroperóxido de *tert*-butilo 10mM (t-ButOOH) foram adicionados para iniciar a reação e monitorizados durante 5 minutos, sendo 200 μL de tampão fosfato-EDTA utilizados como referência. A atividade da GPx foi expressa em $\text{U}_{\text{GPX}} \cdot \text{mg protein}^{-1}$ ($1\text{U}_{\text{GPX}} = 1\text{mmol NADPH}$ reduzido por minuto a 25°C, 1atm), considerando o coeficiente de extinção do NADPH de $\epsilon = 6.22 \text{ nM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ⁸⁹.

Já, a atividade da peroxidase (PRx) dependente de H₂O₂ foi determinada medidos em tampão fosfato 0,1M, pH=7,4, na presença de 10mM H₂O₂ e o decaimento da foi monitorado por minuto diretamente a 240nm⁴¹. Finalmente, a atividade da Paraxonase-1 (PON-1) foi medida por fluorescência ((I_{ex/em} = 368/460 nm) usando o kit comercial da Abcam #ab241044 (Cambridge, CB2 0AX, Reino Unido)

4.9 Determinação da razão entre os parâmetros pró-oxidantes e antioxidantes

Com base nos índices bioquímicos acima mencionados, as razões dos parâmetros pró-oxidantes e antioxidantes (pró-oxidante/antioxidante) foram calculadas.

Portanto, os valores individuais de (LOOH/PRx), (LOOH/GPx), (LOOH/PON-1), (Fe/PRx), (Fe/GPx), (Fe/PON-1), (TBARs/PRx), (TBARs/GPx) e (TBARs/PON-1) foram calculados e apresentados como valores médios ± desvio padrão (DP) para cada subgrupo participantes deste estudo.

4.10 Análise estatística

Todos os dados obtidos no presente estudo foram inicialmente analisados pelo teste de *Shapiro-Wilk* para verificar a ocorrência de distribuição normal e, em seguida, a homogeneidade da variância foi avaliada pelo teste de *Levene*.

Dados antropométricos e parâmetros físicos, glicemia, perfil lipídico e avaliações da razão foram todas consideradas variáveis paramétricas e, por isso, foram apresentados como média e desvio padrão (X_±DP). Nesse sentido, o teste T de *Student* foi aplicado para avaliar as diferenças nos parâmetros antropométricos e físicos, enquanto um teste ANOVA de duas vias para medidas repetidas, incluindo o pós-teste de *Student-Newman-Keus* foi

aplicado para avaliar as diferenças na glicemia, perfil lipídico e avaliações da razão.

Dados relacionados aos parâmetros pró-oxidantes e antioxidantes foram considerados variáveis não-paramétricas e, por isso, foram apresentadas em mediana e intervalo interquartil. Neste sentido, o teste de *Kruskal-Wallis* com o pós-teste de *Dunn* foi aplicado para avaliar diferenças significativas nessas variáveis não paramétricas.

O nível de significância foi estabelecido a 5% ($p < 0.05$).

4.11 Aspectos Éticos

O projeto foi encaminhado ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Santo Amaro (UNISA).

5. RESULTADOS

A tabela 1 mostra os dados antropométricos e as características físicas dos voluntários separados nos 4 subgrupos experimentais descritos anteriormente. Em geral, os parâmetros se mostraram semelhantes entre os subgrupos, exceto para o grupo (NP-Gln) que apresentou peso médio maior (+21%) e, conseqüentemente, índice de massa corporal (+14%), do que os demais subgrupos.

Como esperado, ambos os grupos NP (tanto Gln quanto PL) mostraram não apenas níveis mais baixos de atividade física (-52% e -32%, respectivamente), mas também maior tempo na posição sentada (+ 45% e + 43%, respectivamente) do que os grupos EFC.

Tabela 1. As características físicas e níveis de atividade física [médias \pm desvio padrão (DP)] em idosos não praticantes (NP) e praticantes de exercício físico combinado (EFC) antes da suplementação com L-glutamina ou placebo. Nível de significância de * $p < 0,05$.

Características	Voluntários (n = 83)				Valor de p
	Não praticantes (NP, n=32)		Exercício físico combinado (EFC, n=51)		
	Placebo (n=16)	L-glutamina (n=16)	Placebo (n=25)	L-glutamina (n=26)	
Idade (anos)	73.4 \pm 7.2	72.6 \pm 5.5	72.5 \pm 5.6	71.4 \pm 5,9	>0.05
Altura (m)	1.54 \pm 0.10	1.60 \pm 0.10	1.56 \pm 0.10	1.56 \pm 0.08	>0.05
Peso (kg)	66.3 \pm 12.3	74.7 \pm 14.1*	61.5 \pm 10.6	62.8 \pm 12.7	<0.05
Índice de massa corporal (kg/m ²)	27.9 \pm 4.4	28.6 \pm 3.7*	25.1 \pm 3.4	25.4 \pm 3.8	<0.05
Gordura corporal total (%)	40.9 \pm 10.1	38.7 \pm 9.6	35.3 \pm 7.8	36.3 \pm 7.5	>0.05
Massa livre de gordura (%)	57.8 \pm 9.1	61.2 \pm 9.6	64.6 \pm 7.9	64.9 \pm 7,3	>0.05
Massa musculoesquelética (kg)	19.3 \pm 4.2	21.6 \pm 4.1	19.6 \pm 3.7	19.8 \pm 3.8	>0.05
IPAQ					
Atividade física (min/week)	276.8 \pm 66.7*	387.9 \pm 82.7*	571.5 \pm 63.3	646.4 \pm 78.5	<0.05
Posição sentada (min/week)	1850 \pm 267*	1825 \pm 190*	1278 \pm 96.2	1217 \pm 104	<0.05

* Diferenças significativas em comparação com o grupo EFC

Em concordância com a Figura 2 apresentada a seguir, nenhuma diferença foi observada nos níveis de colesterol total (Figura 2B), triglicerídeos (Figura 2C), LDL-c (Figura 2D), colesterol não-HDL-c (Figura 2E) e HDL-c (Figura 2F) nos subgrupos de voluntários antes da suplementação (comparação apenas das barras nomeadas "pré").

Por outro lado, os níveis de glicemia (Figura 2A) se mostraram, em geral, 10% mais elevados nos subgrupos não praticantes (NP) não apenas antes, mas também após o período de suplementação, em comparação com os seus respectivos subgrupos de idosos praticantes (EFC). Em relação às variações pré/pós-suplementação, apenas os grupos suplementados com L-glutamina apresentaram maiores concentrações plasmáticas de HDL-c (NP-Gln, +12% e EFC-Gln, +11%).

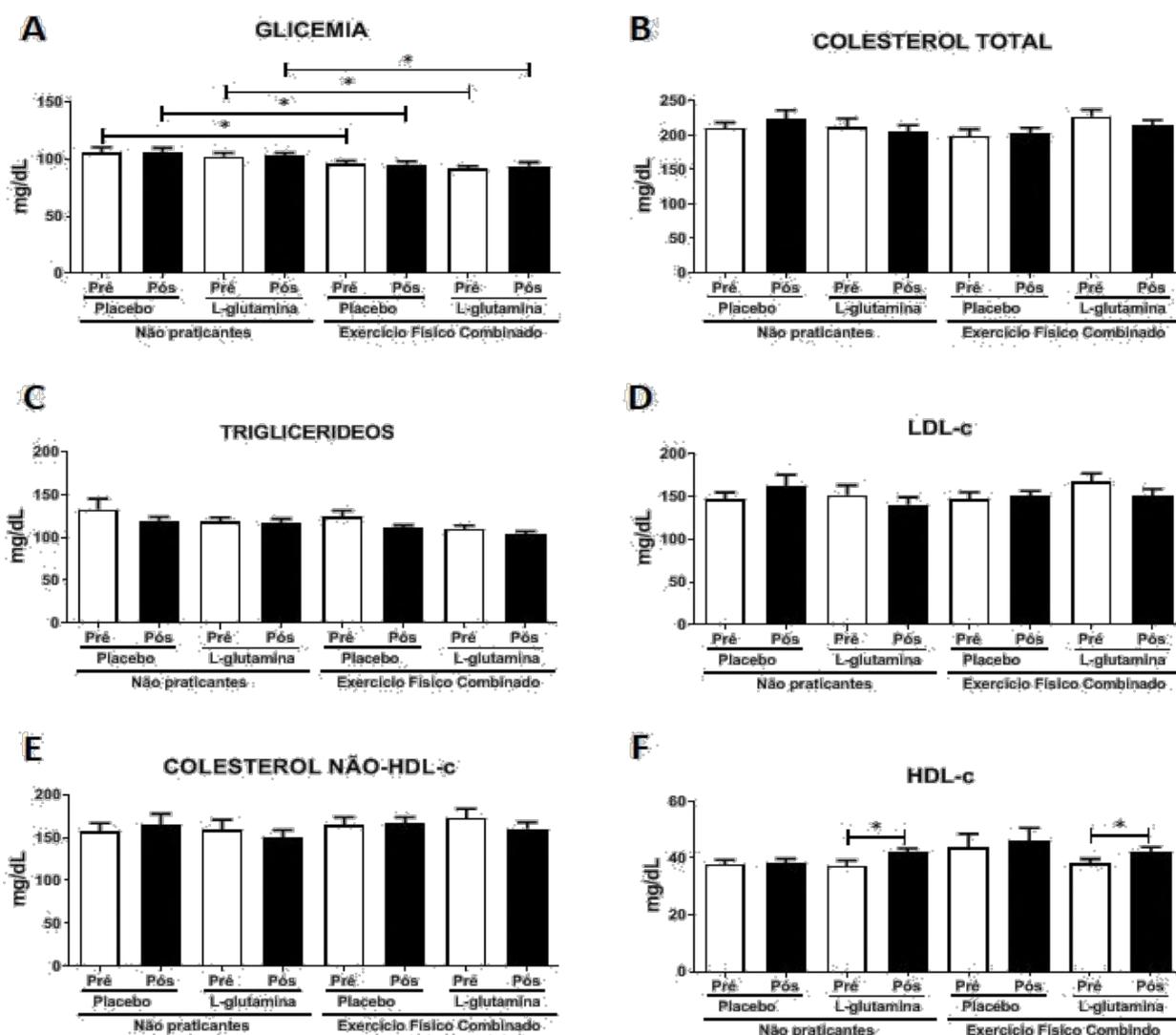


Figura 2. Níveis plasmáticos de glicose (glicemia - A) e perfil lipídico (colesterol total - B; triglicérides - C; LDL-c - D; colesterol não-HDL-c - E; e HDL-c - F) em idosos não praticantes e praticantes de um programa de exercício físico combinado, ambos suplementados com L-glutamina ou placebo por 30 dias consecutivos. Barra Branca, antes dos 30 dias e barra preta após os 30 dias. Os dados foram analisados estatisticamente pelo teste ANOVA de duas vias para medidas repetidas com pós-teste de *Student-Newman-Keus* e foram apresentados como média e desvio padrão (DP) com um valor de risco de 5% ($p < 0,05$). * $p < 0,05$.

Os resultados apresentados na Figura 3 mostram que nenhuma diferença significativa foi evidenciada entre os níveis basais (apenas comparando os dados "pré"), ou entre o período pré/pós-suplementação nos grupos NP e EFC, suplementados com L-Gln ou placebo para o teor de ferro sérico (Figura 3C), e concentrações plasmáticas dos peróxidos lipídios (LOOH, Figura 3A), peroxidação lipídica (TBARS, Figura 3B), antioxidantes totais (TEAC, Figura 3D) e ácido úrico (Figura 3E).

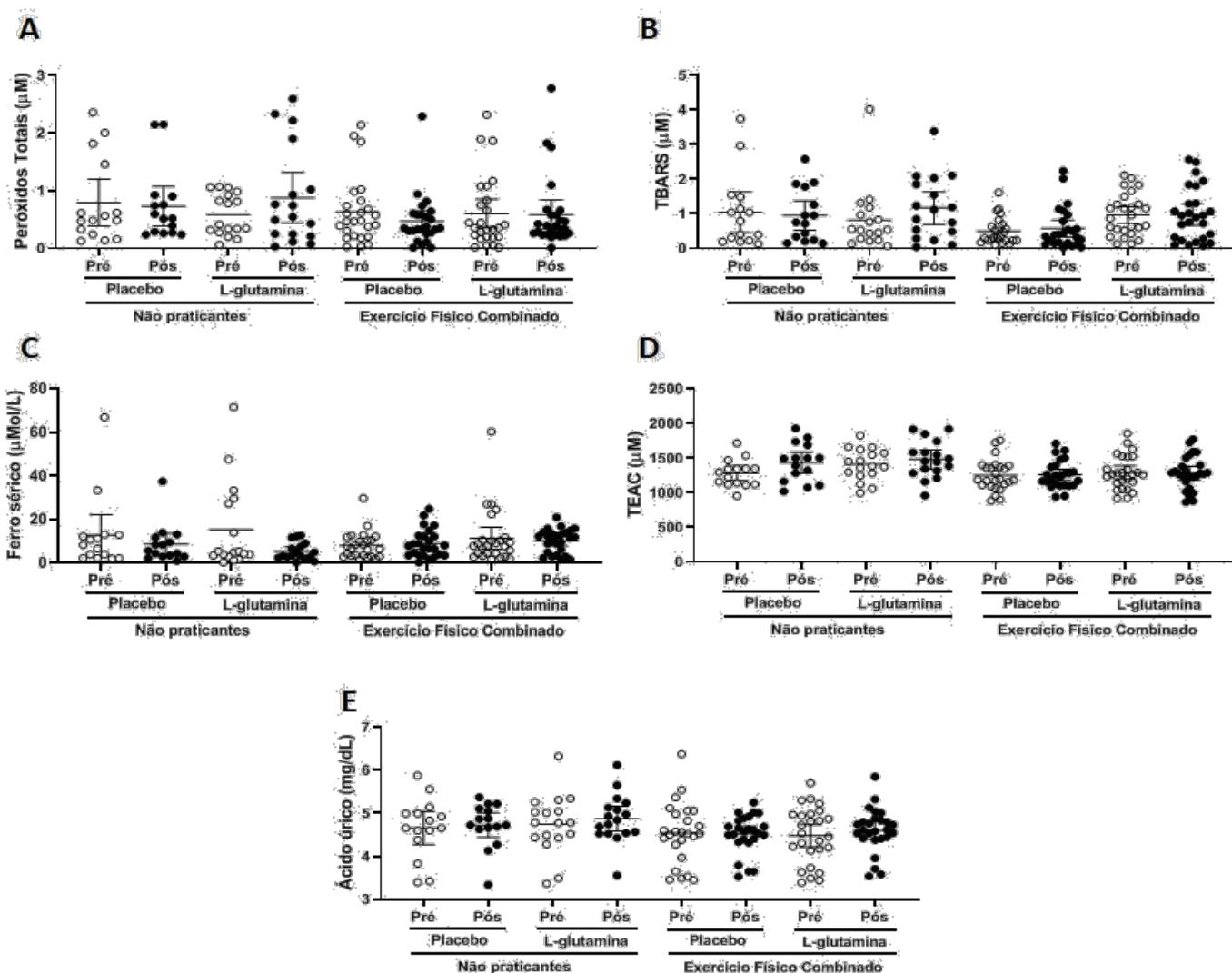


Figura 3. Níveis plasmáticos/séricos de agentes oxidantes (Peróxidos totais - A; TBARS - B; e ferro - C) e antioxidantes (TEAC - D; e ácido úrico - E) em idosos não praticantes e praticantes de um programa de exercício físico combinado, ambos suplementados com L-glutamina ou placebo por 30 dias consecutivos. Os dados foram analisados estatisticamente pelo teste de *Kruskal-Wallis* com pós-teste de *Dunn* e foram apresentados como mediana e intervalo interquartil com valor de risco de 5% ($p < 0,05$).

A Figura 4 mostra as atividades enzimáticas semelhantes à peroxidase (PRx, A), GPx (B) e PON-1 (C) em frações HDL-c nos grupos de indivíduos idosos voluntários do estudo. Aumento das atividades de PRx (Figura 4A) e GPx (Figura 4B) nas avaliações dos tempos pré/pós-suplementação foi observado em ambos os grupos suplementados com Gln, independentemente da prática de exercícios físicos: 5 vezes e 3,8 vezes no subgrupo NP-Gln e 3,6 vezes e 3,3 vezes no subgrupo EFC-Gln, respectivamente. Além disso, maior atividade de PON-1 nas comparações dos tempos pré/pós-suplementação foi observada somente no subgrupo EFC-Gln (1,2 vezes, Figura 4C).

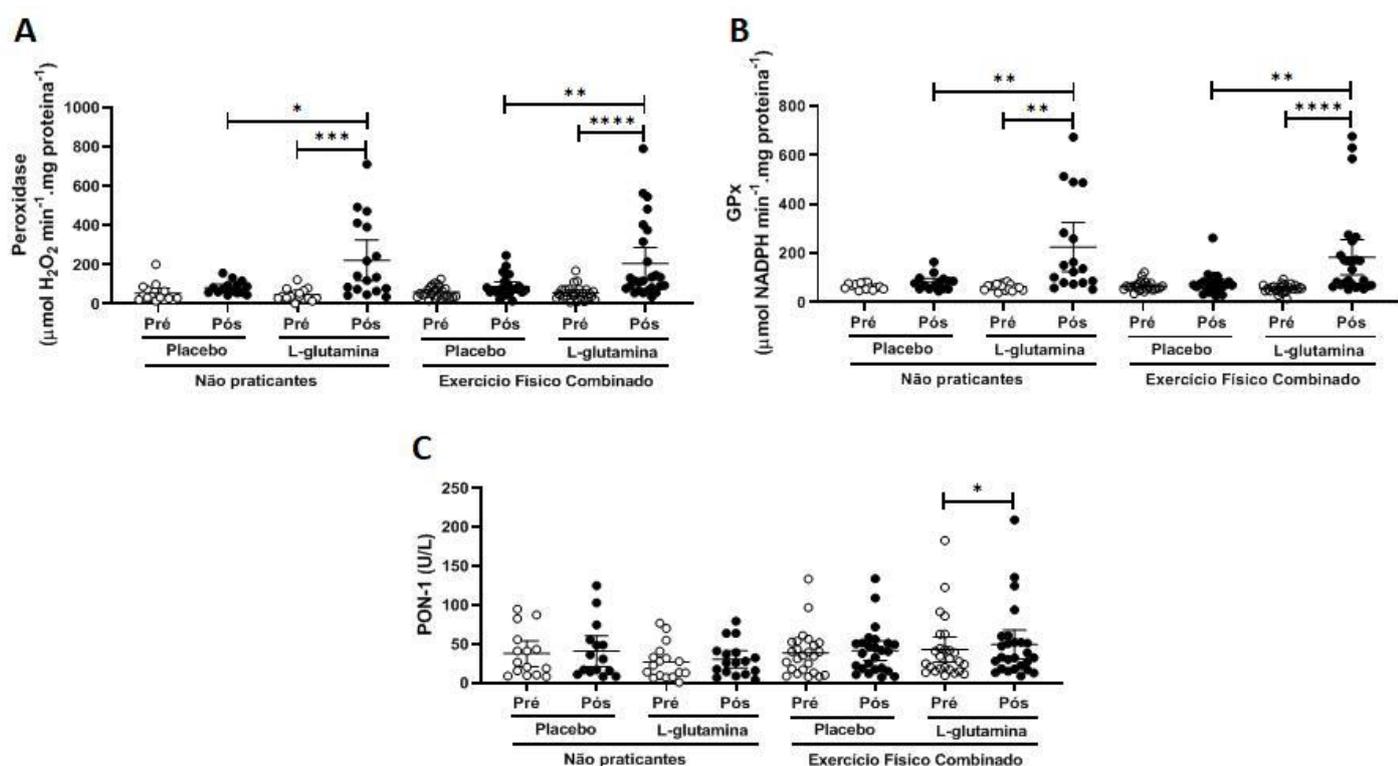


Figura 4. Resultados da atividade enzim\u00e1tica semelhante \u00e0 peroxidase ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \cdot \text{mg}$ de prote\u00edna⁻¹, A), GPx ($\mu\text{mol NADPH min}^{-1} \cdot \text{mg prote\u00edna}^{-1}$, B) e PON-1 (U/L) nas fra\u00e7\u00f5es HDL-c de idosos n\u00e3o praticantes e praticantes de um programa de exerc\u00edcio f\u00edsico combinado, ambos suplementados com L-glutamina ou placebo por 30 dias consecutivos. Os dados foram analisados estatisticamente pelo teste de *Kruskal-Wallis* com p\u00f3s-teste de *Dunn* e foram apresentados como mediana e intervalo interquartil com valor de risco de 5% ($p < 0,05$). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$.

As razões individuais de pró-oxidante / antioxidante mostraram que a suplementação com Gln causou diminuição significativa nos níveis plasmáticos de LOOH expressos por ambas as atividades PRx e GPx, tanto em não praticantes quanto em indivíduos mais velhos que se exercitam (Figuras 5A e 5B). O mesmo efeito foi observado nas razões (Fe / PRx), embora (Fe / GPx) não tenha mostrado nenhuma diferença (Figura 5E). Ao contrário, os índices de peroxidação lipídica relacionados às atividades antioxidantes, a saber (TBARs / PRx) e (TBARs/ GPx).

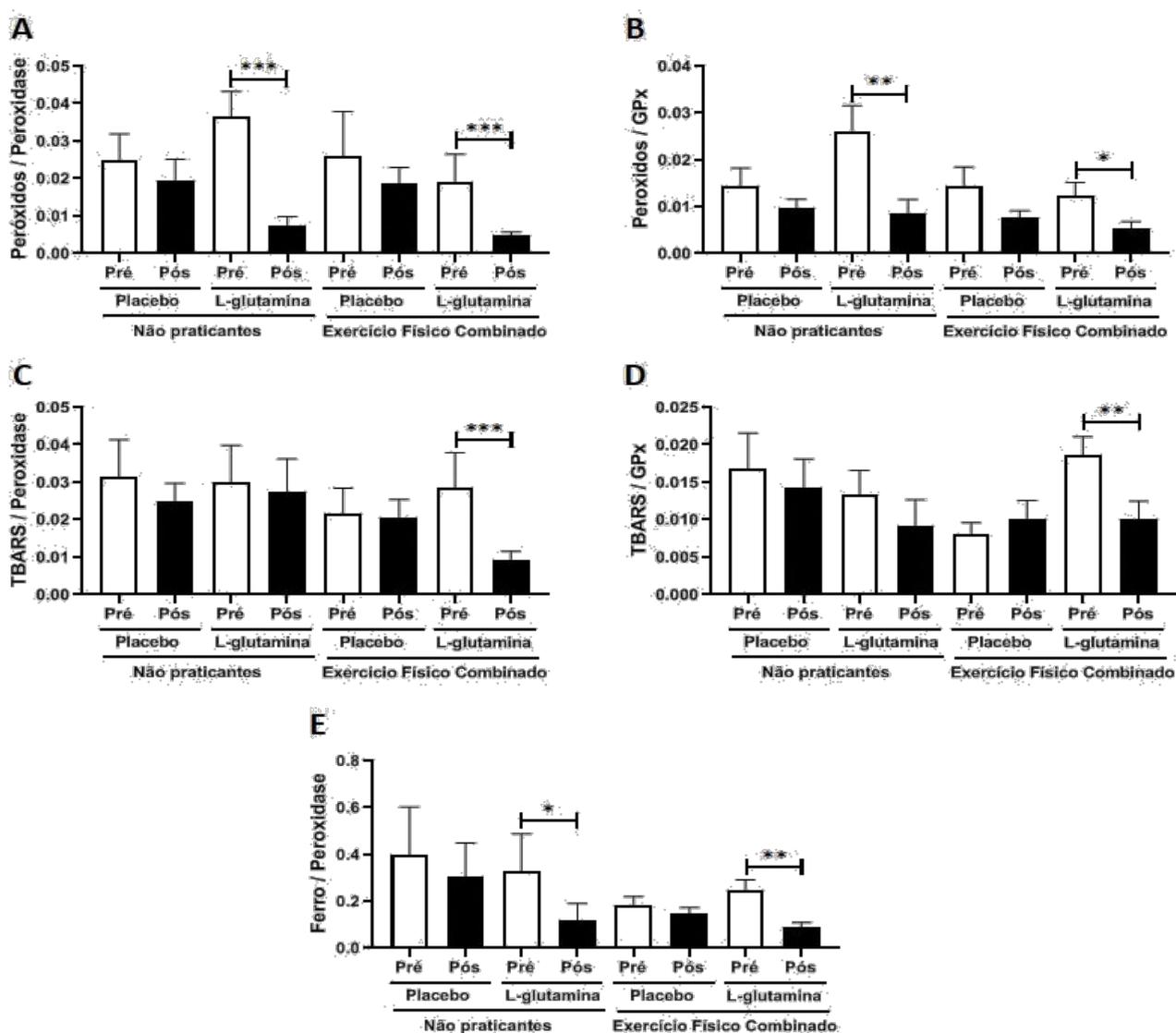


Figura 5. Razão entre os agentes oxidantes (Peróxidos, TBARS e Ferro) e antioxidantes (Peroxidase e GPx) no plasma de idosos não praticantes e praticantes de um programa de exercícios físicos combinados, ambos suplementados com L-glutamina ou placebo por 30 dias consecutivos. Os dados foram analisados estatisticamente usando o teste ANOVA de duas vias para medidas repetidas com pós-teste de *Student-Newman-Keuls* e foram apresentados como média e desvio padrão (DP) com um valor de risco de 5% ($p < 0,05$). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$.

6. DISCUSSÃO

Nossos resultados não apenas reforçam os benefícios de exercícios regulares combinados no controle da glicemia, mas também demonstram que a suplementação com Gln aumentou as atividades de PRx e GPx e, notavelmente, de PON-1 em promover uma melhora geral da capacidade antioxidante do HDL-c em idosos praticantes de exercícios físicos combinados.

Quando acompanhados de nutrição adequada, os exercícios físicos têm sido sugerido como uma intervenção essencial para garantir uma vida saudável, especialmente em indivíduos em idades mais avançadas ⁹⁰.

A desnutrição proteica e a deficiência de aminoácidos são problemas graves associados ao envelhecimento que têm sido constantemente associados à sarcopenia, disfunções neuromotoras, distúrbios cognitivos e alterações do humor, como depressão e ansiedade, em indivíduos mais velhos ⁹¹. Os benefícios dos exercícios regulares em idosos bem nutridos são desencadeados principalmente por adaptações metabólicas e fisiológicas de longo prazo induzidas por estímulos endócrinos, respiratórios, cardiovasculares, musculares e cognitivos impostos por exercícios progressivamente desafiadores ⁸⁴.

Corroborando os benefícios do treinamento físico sobre os parâmetros metabólicos associados às DCVs, particularmente em termos de controle da glicose ^{51; 92-94}, foi demonstrado que os subgrupos EFC apresentaram valores de glicemia inferiores aos subgrupos NP, independentemente da suplementação aqui oferecida. Além disso, é importante ressaltar que os notáveis benefícios do EFC no controle da glicemia não foram prejudicados pela ingestão de maltodextrina, um polissacarídeo de glicose, nem alterados pela suplementação de Gln. Alguns estudos em outros lugares demonstraram que Gln pode auxiliar no controle da glicose através da secreção de peptídeo semelhante ao glucagon (GLP) -1 de células L intestinais ⁹⁵⁻⁹⁷.

Além dessa constatação de que o período de suplementação não alterou a glicemia, também foi observado que um programa de 30 dias de treinamento físico combinado com suplementação de L-glutamina não resultou em

alterações significativas no perfil lipídico (Fig.2) ou nos marcadores de estresse oxidativo (Fig. 3) em plasma/soro de idosos. Por outro lado, a suplementação de Gln causou um aumento nas concentrações circulantes de HDL-c, o que poderia ser proporcionado por atividades antioxidantes/antiinflamatórias mais elevadas encontradas nos subgrupos suplementados com Gln (Fig. 2). Embora tenhamos mostrado recentemente que os idosos praticantes de EFC exibiram concentrações mais altas de HDL-c no soro em comparação com um grupo sedentário ⁵¹, a falta de diferenças significativas no perfil lipídico e nos marcadores de estresse oxidativo observada aqui é realmente plausível, pois foram abordados dois grupos de idosos fisicamente ativos, independentemente das diferenças evidenciadas no IPAQ. Foi presumido que os perfis lipídicos ou biomarcadores redox podem ser significativamente diferentes se compararmos, por exemplo, grupos fisicamente ativos com indivíduos sedentários, como estudado anteriormente.

Como mencionado anteriormente, a aterosclerose é uma doença progressiva geralmente causada por dislipidemia crônica, hipercolesterolemia, estresse oxidativo e subsequente inflamação vascular avançada ⁹⁸. Além do controle da lipídemia, prevenir e/ou retardar a oxidação do LDL circulante pela ação do HDL é um fator fundamental para conter a progressão da aterosclerose em indivíduos mais velhos.

Portanto, considerando as limitações fisiológicas impostas pelo processo de envelhecimento, a eficácia de programas de nutrição/suplementação, associada ou não ao treinamento físico, tem sido estudada em idosos ⁹⁹⁻¹⁰⁰.

Nesse sentido, nosso resultado mostrando que a suplementação de Gln aumentou as concentrações de HDL-c é uma das novidades deste estudo. Além disso, é tentador sugerir que o aumento mediado por Gln da concentração de HDL-c também poderia reverter em aumentos do conteúdo de apolipoproteínas A, uma vez que apolipoproteína glutamina I (apoLP-Gln-I ou apoA-I) e apolipoproteína glutamina II (apoLP-Gln -II ou apoA-II) são os principais componentes proteicos de HDL ¹⁰¹⁻¹⁰². Finalmente, as secreções de apo A-IV de HDL-c também foram estimuladas pela suplementação de Gln in vitro ¹⁰³. Mais experimentos são necessários para confirmar esta hipótese.

Os dados relatados aqui também mostraram que as atividades PRx e GPx foram aumentadas nas lipoproteínas HDL-c após a suplementação com Gln. A esse respeito, muitos estudos propuseram que a suplementação de Gln melhora os conteúdos de Glutathione (GSH) em órgãos e sangue, uma vez que Gln é um precursor (via conversão anterior de L-glutamina → L-glutamato) da biossíntese de GSH na maioria das células e tecidos ¹⁰⁴. Portanto, não é surpreendente que a suplementação de Gln afetaria diretamente o metabolismo redox, especialmente nas defesas antioxidantes dependentes de tiol ¹⁰⁵. Estudos com roedores apoiam a noção de que os níveis gerais de GSH aumentam com a suplementação de Gln ¹⁰⁶⁻¹⁰⁷. No entanto, a suplementação de Gln em humanos mostrou efeitos mais substanciais nas capacidades antioxidantes em indivíduos com baixo status de GSH, por exemplo, pacientes com HIV ¹⁰⁸. Além disso, já foi relatado que a suplementação de Gln aumentou os níveis de circulação de GSH e GSSG em um grupo de mulheres idosas que praticam exercícios ¹⁰⁹. Embora não seja avaliado de forma eficaz aqui, podemos supor que, com base na teoria do envelhecimento dos radicais livres, os indivíduos mais velhos estão cronicamente expostos a diferentes graus de desequilíbrios redox nos tecidos e na circulação sanguínea ¹¹⁰, o que poderia acelerar a formação de ox-LDL ¹¹¹. É fundamental mencionar que a GPx faz parte dos principais componentes proteicos das partículas de HDL e está principalmente relacionada à sua propriedade antioxidante de proteger o LDL contra a oxidação ¹¹². Finalmente, a atividade PRx residual relatada aqui (Fig. 4) demonstra a capacidade do HDL-c de remover concomitantemente as moléculas de H₂O₂ que também são potencialmente prejudiciais à LDL, especialmente na presença de íons ferrosos (Fe²⁺), metais catalíticos da reação de Fenton ¹¹³. Portanto, nossos achados sobre a suplementação de Gln corroboram o conceito de que, independentemente do treinamento físico combinado, os benefícios da relação antioxidante/pró-oxidante foram induzidos em relação ao HDL.

Ao contrário, a atividade da PON-1 aumentou apenas no HDL-c de indivíduos EFC suplementados com Gln. Na verdade, esse recurso representa outra descoberta nova do presente estudo e adiciona uma nova propriedade à suplementação de Gln no contexto da função antioxidante de HDL.

Curiosamente, a controvérsia ainda prevalece na literatura, uma vez que foi relatado que o treinamento físico pode aumentar ¹¹⁴⁻¹¹⁵ ou não afetar ¹¹⁶ a PON-1 atividades em HDL-c. Até agora, a associação entre Gln e PON-1 está relacionada a características genéticas, uma vez que existem 2 formas polimórficas principais de PON-1 (Q e R) atualmente identificadas em humanos.

A diferença entre as formas polimórficas Q e R reside em um único aminoácido encontrado na posição 191 (glutamina ou arginina, Gln191 ou Arg191, respectivamente). Também foi relatado que a presença do alelo R (levando à mutação Arg191) em homozigotos apresenta um alto risco para doença cardíaca coronária, enquanto a presença de alelos Q / R e Q / Q são mais protetores contra patologias cardíacas ¹¹⁷. Assim, de acordo com a literatura, o alelo Q, que é mais abundante que o alelo R, está intimamente associado ao efeito protetor do PON-1 contra aterosclerose ¹¹⁸. Apesar de não termos avaliado as características genéticas dos voluntários idosos participantes de nosso estudo, é improvável que a suplementação de Gln possa ter afetado os padrões genéticos de expressão de PON-1 em nossos voluntários. São escassas as informações sobre o efeito do Gln, ou fatores de transcrição desencadeados pela suplementação de Gln, no aumento da expressão do gene Pon-1.

A Fig. 6 apresenta os possíveis mecanismos pelos quais a suplementação de Gln poderia melhorar a capacidade antioxidante geral do HDL-c e, subsequentemente, proteger as partículas de LDL da oxidação. Esta figura ilustra as atividades enzimáticas induzidas por L-glutamina da glutathione peroxidase (GPx / PRx) e da paraoxonase-1 (PON-1), como efeitos ateroprotetores, em HDL de adultos mais velhos se exercitando (além de apoA-I e lecitina-colesterol aciltransferase, ApoA1 e LCAT, respectivamente), GPx / PRx removem peróxidos LOOH e/ou H₂O₂, potenciais promotores de radicais muito agressivos alcoxil (LO •) e hidroxil (HO •), enquanto PON-1 hidrolisa ligações éster de compostos pró-inflamatórios dentro de LDL, como 5'-hidroxiacil-fosfatidilcolina.

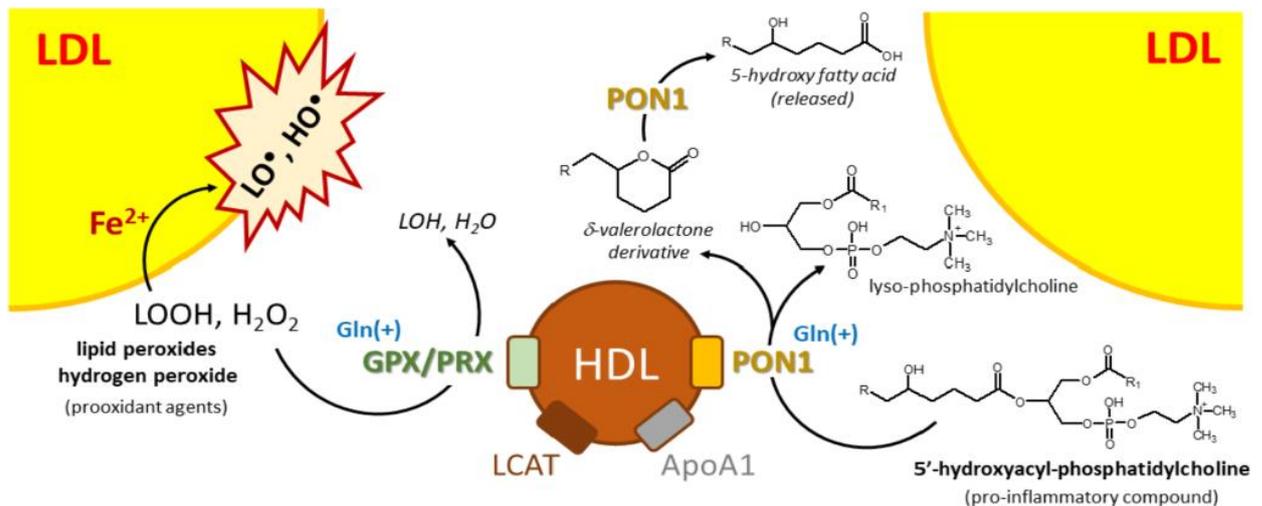


Figura 6. Funções biológicas propostas da paraxonase-1 (PON-1) e glutatona peroxidase (GPx / PRx) em lipoproteínas HDL isoladas de indivíduos idosos suplementados com L-glutamina em programas regulares de exercícios. Embora os ácidos graxos 5-hidroxisados não sejam frequentes na fisiologia normal, compostos de ácidos graxos oxidados já foram detectados durante processos inflamatórios em macrófagos e células dendríticas devido à atividade catalítica dos citocromos P-450 e 5-lipooxigenase. PON-1 hidrolisa uma grande variedade de substratos endógenos ou exógenos, alguns dos quais estão envolvidos na progressão da arteriosclerose. Adaptado de: Lou-Bonafonte et al. (2017).

O ajuste preciso de intensidade, duração e tipos de exercícios é a chave para planejar corretamente os programas de exercícios físicos voltados para a população idosa e suas comorbidades ⁸⁴.

Embora um efeito "imediato" no perfil lipídico e nos marcadores de estresse oxidativo não tenha sido observado (na verdade, após 30 dias de intervenção), é tentador sugerir que benefícios vasculares de longo prazo foram obtidos devido ao aumento de GPx, PRx e PON-1 atividades no conteúdo circulante mais alto de lipoproteínas HDL em indivíduos mais velhos exercitados + Gln suplementados.

Deve-se notar que a suplementação de Gln a longo prazo não deve exceder > 40 g / dia devido aos seus efeitos negativos em muitas vias bioquímicas e de sinalização ¹¹⁹. A glutamina não só compete pela absorção contra outros aminoácidos, como a cistina, mas também prejudica a síntese de glutamato endógeno. Além disso, a suplementação de Gln pode aumentar a produção de amônia, ao mesmo tempo que prejudica o transporte e a desintoxicação da amônia ¹¹⁹).

7. CONCLUSÃO

Nossos resultados mostraram que um programa de 30 dias de exercícios físicos combinados (EFC) com suplementação de L-glutamina não resultou em alterações significativas na glicemia, na maioria dos parâmetros do perfil lipídico, ou mesmo nos marcadores de estresse oxidativo no plasma/soro de idosos. No entanto, podemos demonstrar, pela primeira vez, que a associação de EFC com L-glutamina aumentou a concentração de HDL-c e também as atividades de PRx, GPx e PON-1, o que pode levar a uma melhora das defesas antioxidantes e, conseqüentemente, mitigar o desenvolvimento da aterosclerose em indivíduos idosos praticantes de exercícios físicos

Embora a amostra seja probabilística (ou seja, representa os pacientes selecionados para procedimento cirúrgico de varizes no hospital onde foi realizada a pesquisa por meio da amostragem sistemática) não representa a população geral de pessoas da cidade de São Paulo (ou de qualquer outra grandeza) que estejam passando por situação de internação hospitalar e cirurgia. Ainda, é importante considerar que ter lido as instruções, questões e alternativas das escalas de autopreenchimento possa ter gerado algum tipo de viés de informação aos resultados apresentados.

REFERÊNCIAS

1. WHO, “The top 10 causes of death, fact sheet, updated January 2017. Ageing and health, fact sheet N°404,” 2016.
2. Baldrighi M, Mallat Z, Li X, NLRP3 inflammasome pathways in atherosclerosis, *Atherosclerosis*. 267 (2017) 127–138.
3. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Adams RJ, Berry JD, Brown TM, et al., Heart disease and stroke statistics—2011 update: a report from the American Heart Association, *Circulation* 123 (2011) e18–e209.
4. Barros IL, Bezerra LC, Gomes R, Morais N, Novaes CM, Gebara OC, et al. Predictors of subclinical carotid atherosclerosis in middle-aged women, *PLoS One* 13 (2018) e0197582.
5. L MD, Zipes DP., Libby P, Bonow RO. Braunwald. Tratado de doenças cardiovasculares. 10ª Edição. Rio de Janeiro. Elsevier, 2018.
6. SBC, “Atualização da Diretriz de Prevenção Cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia”, 2019.
7. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*. 2004;364(9438):937-52.
8. Ference BA, Ginsberg HN, Graham I, Ray KK, Packard CJ, Bruckert E, et al. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. 1. Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *Eur Heart J*. 2017;38(32):2459-72.
9. Trialists C, Baigent C, Blackwell L, Emberson J, Holland LE, Reith C, et al. Cholesterol Treatment Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomised trials. *Lancet*. 2010; 376(9753):1670-81.
10. Navarese EP, Robinson JG, Kowalewski M, Kolodziejczak M, Andreotti F, Bliden K, et al. Association Between Baseline LDL-C Level and Total and Cardiovascular Mortality After LDL-C Lowering: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA*. 2018;319(15):1566-79.

11. Soran H, Schofield JD, Durrington PN. Antioxidant properties of HDL. *Front Pharmacol.* 2015 Oct 16; 6:222. doi: 10.3389/fphar.2015.00222. eCollection 2015.
12. Vaisberg, M., Bachi, A.L.L., Latrilha, C. *et al.* Lipid Transfer to HDL is Higher in Marathon Runners than in Sedentary Subjects, but is Acutely Inhibited During the Run. *Lipids* 47, 679–686, 2012.
13. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl JMed.* 1999;340(2):115-26.
14. Berenson GS, Wattigney WA, Tracy RE, Newman WP 3rd, Srinivasan SR, Webber LS, et al. Atherosclerosis of the aorta and coronary arteries and cardiovascular risk factors in persons aged 6 to 30 years and studied at necropsy (The Bogalusa Heart Study). *Am J Cardiol.* 1992;70(9):851-8.
15. Libby P. Mechanisms of acute coronary syndromes and their implications for therapy. *N Engl J Med.* 2013;368(21):2004-13.
16. Quillard T, Araújo HA, Franck G, Shvartz E, Sukhova G, Libby P. TLR2 and neutrophils potentiate endothelial stress, apoptosis and detachment: implications for superficial erosion. *Eur Heart J.* 2015;36(22):1394-404.
17. Ammirati E, Moroni F, Magnoni M, Camici PG. The role of T and B cells in human atherosclerosis and atherothrombosis. *Clin Exp Immunol.* 2015;179(2):173-87.
18. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med.* 2005;352(16):1685-95.
19. Coughlin SR. Thrombin signalling and protease-activated receptors. *Nature.* 2000;407(6801):258-64.
20. Mackman N. Triggers, targets and treatments for thrombosis. *Nature.* 2008;451(7181):914-8.
21. Primo-Parmo SL, Sorenson RC, Teiber J, La Du BN (May 1996). "The human serum paraoxonase/arylesterase gene (PON1) is one member of a multigene family". *Genomics.*

22. Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 473-80
23. Getz GS, Reardon CA (Jun 2004). "Paraoxonase, a cardioprotective enzyme: continuing issues". *Current Opinion in Lipidology*.
24. Mackness M, Mackness B (Nov 2004). "Paraoxonase 1 and atherosclerosis: is the gene or the protein more important?". *Free Radical Biology & Medicine*.
25. Khateeb J, Gantman A, Kreitenberg AJ, Aviram M, Fuhrman B (Jan 2010). "Paraoxonase 1 (PON1) expression in hepatocytes is upregulated by pomegranate polyphenols: a role for PPAR-gamma pathway". *Atherosclerosis*.
26. Mackness MI, Abbott CA, Arrol S, et al. The role of high density lipoprotein and lipid-soluble antioxidant vitamins in inhibiting low-density lipoprotein oxidation. *Biochem J* 1993; 294: 829-35.
27. Mackness MI, Arrol S, Durrington PN. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. *FEBS Letts* 1991; 286: 152-4
28. Watson AD, Berliner JA, Hama SY, et al. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase: inhibition of the biological activity of minimally oxidised low-density lipoprotein. *J Clin Invest* 1995; 96: 2882-91
29. Aviram M, Billecke S, Sorenson R, et al. Paraoxonase active site required for protection against LDL oxidation involves its free sulphhydryl group and is different from that required for its arylesterase/paraoxonase activities: selective action of human paraoxonase alloenzymes Q and R. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1998; 10: 1617-24.
30. Arrol S, Mackness MI, Durrington PN. High-density lipoprotein associated enzymes and the prevention of low-density lipoprotein oxidation. *Eur J Lab Med* 1996; 4: 33-8
31. Watson AD, Berliner JA, Hama SY, et al. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase: inhibition of the biological activity of minimally oxidised low-density lipoprotein. *J Clin Invest* 1995; 96: 2882-91
32. Aviram M, Billecke S, Sorenson R, et al. Paraoxonase active site required for protection against LDL oxidation involves its free sulphhydryl group and is different from that required for its arylesterase/paraoxonase activities: selective

action of human paraoxonase alloenzymes Q and R. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1998; 10: 1617-24

33. Mackness MI, Arrol S, Abbott CA, et al. Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. *Atherosclerosis* 1993; 104: 129-35

34. Rodrigo L, Mackness B, Durrington PN, et al. Hydrolysis of platelet-activating factor by human serum paraoxonase. *Biochem J* 2001; 354: 1-7

35. Mackness MI, Durrington PN. High density lipoprotein, its enzymes and its potential to influence lipid peroxidation. *Atherosclerosis* 1995; 115: 243-53.

36. Aviram M, Hardak E, Vaya J, et al. Human serum paraoxonase (PON1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions: PON1 esterase and peroxidase-like activities. *Circulation* 2000; 101: 2510-7.

37. Aviram M, Dornfold L, Rosenblat M, et al. Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modification of LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 1062-76

38. van der Gaag MS, van Tol A, Scheek LM, et al. Daily moderate alcohol consumption increases serum paraoxonase activity; a diet controlled, randomised intervention study in middle-aged men. *Atherosclerosis* 1999; 147 (2): 405-10

39. Mackness MI, Harty D, Bhatnagar D, et al. Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin-dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 1991; 86: 193-9

40. Kordonouri O, James RW, Bennetts JB, et al. Modulation by blood glucose levels of activity and concentration of paraoxonase in young patients with type 1 diabetes mellitus. *Metabolism* 2001; 50: 657-60

41. Van Lenten BJ, Wagner AC, Navab M, et al. Oxidised phospholipids induce changes in hepatic paraoxonase and Apo J but not monocyte chemoattractant protein-1 via interleukin-6. *J Biol Chem* 2001; 276: 1923-9

42. Kudchodkar BJ, Lacko AG, Dory L, et al. Dietary fat modulates serum paraoxonase 1 activity in rats. *J Nutr* 2000; 130: 2427-33

43. Sutherland WHF, Walker RJ, de Jong SA, et al. Reduced postprandial serum paraoxonase activity after a meal rich in used cooking fat. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 1340-7
44. Shih DM, Gu L, Hama S, et al. Genetic-dietary regulation of serum paraoxonase expression and its role in atherogenesis in a mouse model. *J Clin Invest* 1996; 97: 1630-9
45. Mackness MI, Bouiller A, Hennuyer M, et al. Paraoxonase activity is reduced by a pro-atherosclerotic diet in rabbits. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 269: 232-6.
46. James RW, Leviev K, Righetti A. Smoking is associated with reduced serum paraoxonase activity and concentration in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2000; 101: 2252-7
47. Bolkovoy JL, Blair SN. Aging and exercise: a health perspective. *J Aging Phys Act* 1994; 2(3): 243-60.
48. Abete I, Goyenechea E, Zulet MA, Martinez JA. Obesity and metabolic syndrome: potential benefit from specific nutritional components. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2011;21(Suppl 2): B1-15.
49. OMS. “Recomendações globais sobre atividade física para a saúde. Genebra, Suíça: Organização Mundial da Saúde”; 2011. pp. 29–32.
50. Bachi AL, Rocha GA, Sprandel MC, et al. Exercise Training Improves Plasma Lipid and Inflammatory Profiles and Increases Cholesterol Transfer to High-Density Lipoprotein in Elderly Women. *J Am Geriatr Soc.* 2015;63(6):1247-1249.
51. Bachi AL, Barros MP, Vieira RP, et al. Combined Exercise Training Performed by Elderly Women Reduces Redox Indexes and Proinflammatory Cytokines Related to Atherogenesis. *Oxid Med Cell Longev.* 2019; 2019:6469213.
52. Casella-Filho A, Chagas AC, Maranhão RC, et al. Effect of exercise training on plasma levels and functional properties of high-density lipoprotein cholesterol in the metabolic syndrome. *Am J Cardiol.* 2011;107(8):1168-1172.
53. Russo A, Pirisinu I, Vacca C, et al. An intensive lifestyle intervention reduces circulating oxidised low-density lipoprotein and increases human

paraoxonase activity in obese subjects. *Obes Res Clin Pract.* 2018;12(Suppl 2):108-114.

54. Gouédard C, Koum-Besson N, Barouki R, et al. Opposite regulation of the human paraoxonase-1 gene PON1 by fenofibrate and statins. *Mol Pharmacol* 2003; 63: 945-56.

55. Tomas M, Senti M, Garcia-Faria F, et al. Effect of simvastatin therapy on paraoxonase activity and related lipoproteins in familial hypercholesterolaemic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 2113-9.

56. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, et al. Atorvastatin and gemfibrozil metabolites, but not the parent drugs are potent antioxidants against lipoprotein oxidation. *Atherosclerosis* 1998; 138: 271-80.

57. Paragh G, Balogh Z, Seres I, et al. Effect of gemfibrozil on HDL-associated serum paraoxonase activity and lipoprotein profile in patients with hyperlipidaemia. *Clin Drug Invest* 2000; 19: 277-82.

58. Durrington PN, Mackness MI, Bhatnagar D, et al. Effects of two different fibric acid derivatives on lipoproteins, cholesteryl ester transfer, fibrinogen, plasminogen activator inhibitor and paraoxonase activity in type IIb hyperlipoproteinaemia. *Atherosclerosis* 1998; 138: 217-25.

59. Balogh Z, Fulop P, Seres I, et al. Effect of simvastatin on serum paraoxonase activity. *Clin Drug Invest* 2001; 21: 505-10.

60. Turay J, Grniaková V, Valka J. Changes in paraoxonase and apolipoprotein A-I, B, C-III and E in subjects with combined familial hyperlipoproteinaemia treated with ciprofibrate. *Drugs Exp Clin Res* 2000; 26: 83-8.

61. Curi R. Glutamina: metabolismo e aplicações clínicas e no esporte. Rio de Janeiro: Sprint, 2000. 261p.

62. Rogero MM, Tirapegui JO. Considerações nutricionais e bioquímicas da suplementação de glutamina em atletas: controvérsias e aspectos atuais. *J Metab Nutr.* 2003; 7:106-17.

63. Moreira A, Kekkonen RA, Delgado L, Fonseca J, Korpela R, Haahtela T. Nutritional modulation of exercise-induced immunodepression in athletes: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Nutr.* 2007; 61:443-60.

64. Van De Poll MG, Soeters PB, Deutz NP, Fearon KH, Dejong CC. Renal metabolism of amino acids: its role in interorgan amino acid exchange. *Am J Clin Nutr.* 2004; 79:185-97.
65. Rowbottom DG, Keast D, Morton AR. The emerging role of glutamine as an indicator of exercise stress and overtraining. *Sports Med.* 1996; 21:80-97.
66. Newsholme P, Procopio J, Lima MMR, Pithon-Curi TC, Curi R. Glutamine and glutamate – their central role in cell metabolism and function. *Cell Biochem Funct.* 2003; 21:1-9.
67. Rowbottom DG, Keast D, Morton AR. The emerging role of glutamine as an indicator of exercise stress and overtraining. *Sports Med.* 1996; 21:80-97.
68. Newsholme P, Lima MMR, Procopio J, Pithon-Curi TC, Doi SQ, Bazotte RB, et al. Glutamine and glutamate as vital metabolites. *Braz J Med Biol Res.* 2003; 36:153-63.
69. Leite JS, Raquel Raizel, Hypólito TM, Rosa TS, Cruzat VF, Tirapegui J. L-glutamine and L-alanine supplementation increase glutamine-glutathione axis and muscle HSP-27 in rats trained using a progressive high-intensity resistance exercise. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2016 Aug;41(8):842-849. doi: 10.1139/apnm-2016-0049. Epub 2016 Mar 28.
70. Niess AM, Dickhuth HH, Northoff H, Fehrenbach E. (1999) Free radicals and oxidative stress in exercise – immunological aspects. *Exerc. Immunol. Rev.* 5:22-56; Dröge W. (2005) Oxidative stress and ageing: is ageing a cysteine deficiency syndrome? *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 360(1464):2355-72.
71. Ferreira AL, Matsubara LS. (1997) Free radicals: concepts, associated diseases, defense system and oxidative stress. *Rev Assoc Med Bras.* 43(1):61-68, Sandoval, A.E.P. (2005) Estresse oxidativo metabólico e doenças crônicas não transmissíveis: uma proposta de estilo de vida saudável. *In: Medicina do Esporte: Princípios e Práticas.* Porto Alegre: Artmed, 77-96.
72. Shrestha N, Chand L, Han MK, Lee SO, Kim CY, Jeong YJ. Glutamine inhibits CCl₄ induced liver fibrosis in mice and TGF- β 1 mediated epithelial-mesenchymal transition in mouse hepatocytes. *Food Chem Toxicol.* 2016 Jul; 93:129-37. Doi: 10.1016/j.fct.2016.04.024. Epub 2016 Apr 29.
73. Valencia E, Marin A, Hardy G. (2002a) Glutathione – Nutritional and pharmacological viewpoints: Part VI. *Nutrition.* 18:291-292.

74. Podrez EA, Anti-oxidant properties of high-density lipoprotein and atherosclerosis. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2010 Jul;37(7):719-25. Doi: 10.1111/j.1440-1681.2010.05380.x. Epub 2010 Mar 30.
75. Almeida EB, Santos JMB, Paixão V, Amaral JB, Foster R, Sperandio A, et al. L-Glutamine Supplementation Improves the Benefits of Combined-Exercise Training on Oral Redox Balance and Inflammatory Status in Elderly Individuals. *Oxid Med Cell Longev*. 2020; 2020:2852181.
76. Bachi AL, Rocha GA, Sprandel MC, Ramos LR, Gravina CF, Pithon-Curi TC, et al. Exercise Training Improves Plasma Lipid and Inflammatory Profiles and Increases Cholesterol Transfer to High-Density Lipoprotein in Elderly Women. *J Am Geriatr Soc*. 2015;63(6):1247-9.
77. Bachi AL, Barros MP, Vieira RP, Rocha GA, de Andrade PBM, Victorino AB, et al. Combined Exercise Training Performed by Elderly Women Reduces Redox Indexes and Proinflammatory Cytokines Related to Atherogenesis. *Oxid Med Cell Longev*. 2019;2019:6469213.
78. Monteiro FR, Roseira T, Amaral JB, Paixão V, Almeida EB, Foster R, et al. Combined Exercise Training and L-Glutamine Supplementation Enhances Both Humoral and Cellular Immune Responses after Influenza Virus Vaccination in Elderly Subjects. *Vaccines (Basel)*. 2020;8(4).
79. Paixão V, Almeida EB, Amaral JB, Roseira T, Monteiro FR, Foster R, et al. Elderly Subjects Supplemented with L-Glutamine Shows an Improvement of Mucosal Immunity in the Upper Airways in Response to Influenza Virus Vaccination. *Vaccines (Basel)*. 2021;9(2).
80. Harriss DJ, Atkinson G. Ethical Standards in Sport and Exercise Science Research: 2016 Update. *Int J Sports Med*. 2015;36(14):1121-4.
81. Association GAotWM. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *J Am Coll Dent*. 2014;81(3):14-8.
82. Craig CL, Marshall AL, Sjöström M, Bauman AE, Booth ML, Ainsworth BE, et al. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sports Exerc*. 2003;35(8):1381-95.
83. Matsudo SMM. Envelhecimento, atividade física e saúde. *BIS Boletim do Instituto de Saúde (Impresso)*. 2009(47):76-9.

84. ACSM ACoSM. ACSM's guidelines for exercise testing and prescription:
Lippincott Williams & Wilkins; 2013.
85. Gleeson M. Dosing and efficacy of glutamine supplementation in human exercise and sport training. *J Nutr.* 2008;138(10):2045S-9S.
86. Ruiz-Albusac JM, Velásquez E, Montes A. Differential precipitation of isolated human plasma lipoproteins with heparin and manganese chloride. *Clin Chem.* 1988;34(2):240-3.
87. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972;18(6):499-502.
88. Ayub A, Mackness MI, Arrol S, et al. Serum paraoxonase after myocardial infarction. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 330-5.
89. Senti M, Tomas M, Vila J, et al. Relationship of age-related myocardial infarction risk and Gln/Arg 192 variants of the human paraoxonase gene: the Regicor study. *Atherosclerosis* 2001; 156: 443-9.
90. Schoufour, J.D., Tieland, M., Barazzoni, R., Ben Allouch, S., van der Bie, J., Boirie, Y., et al., 2021. The relevance of diet, physical activity, exercise, and persuasive technology in the prevention and treatment of sarcopenic obesity in older adults. *Front. Nutr.* 8, 661449.
91. Roberts, H.C., Lim, S.E.R., Cox, N.J., Ibrahim, K., 2019. The challenge of managing undernutrition in older people with frailty. *Nutrients* 11 (4).
92. Umpierre, D., Ribeiro, P.A., Kramer, C.K., Leitão, C.B., Zucatti, A.T., Azevedo, M.J., et al., 2011. Physical activity advice only or structured exercise training and association with HbA1c levels in type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 305 (17), 1790–1799.
93. Pan, B., Ge, L., Xun, Y.Q., Chen, Y.J., Gao, C.Y., Han, X., et al., 2018. Exercise training modalities in patients with type 2 diabetes mellitus: a systematic review and network meta-analysis. *Int. J. Behav. Nutr. Phys. Act.* 15 (1), 72.
94. Ha, M.S., Son, W.M., 2018. Combined exercise is a modality for improving insulin resistance and aging-related hormone biomarkers in elderly Korean women. *Exp. Gerontol.* 114, 13–18.
95. Samocha-Bonet, D., Chisholm, D.J., Gribble, F.M., Coster, A.C., Carpenter, K.H., Jones, G. R., et al., 2014. Glycemic effects and safety of L-

glutamine supplementation with or without sitagliptin in type 2 diabetes patients- a randomized study. *PLoS One* 9 (11), e113366.

96. Mansour, A., Mohajeri-Tehrani, M.R., Qorbani, M., Heshmat, R., Larijani, B., Hosseini, S., 2015. Effect of glutamine supplementation on cardiovascular risk factors in patients with type 2 diabetes. *Nutrition* 31 (1), 119–126.

97. Schatzki, R., 1968. The significance of rigidity of the jejunum in the diagnosis of postoperative jejunal ulcers. *Am. J. Roentgenol. Radium Therapy, Nucl. Med.* 103 (2), 330–338.

98. Kou, M., Ding, N., Ballew, S.H., Salameh, M.J., Martin, S.S., Selvin, E., et al., 2021. Conventional and novel lipid measures and risk of peripheral artery disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 41 (3), 1229–1238.

99. Hortobágyi, T., Money, J., Zheng, D., Dudek, R., Fraser, D., Dohm, L., 2002. Muscle adaptations to 7 days of exercise in young and older humans: eccentric overload versus standard resistive training. *J. Aging Phys. Act.* 10 (3), 290–305.

100. Paterson, D.H., Warburton, D.E., 2010. Physical activity and functional limitations in older adults: a systematic review related to Canada's physical activity guidelines. *Int. J. Behav. Nutr. Phys. Act.* 7, 38.

101. Baker, H.N., Gotto, A.M., Jackson, R.L., 1975. The primary structure of human plasma high density apolipoprotein glutamine I (ApoA-I). II. the amino acid sequence and alignment of cyanogen bromide fragments IV, III, and I. *J. Biol. Chem.* 250 (7), 2725–2738.

102. Jackson, R.L., Morrisett, J.D., Pownall, H.J., Gotto, A.M., 1973. Human high density lipoprotein, apolipoprotein glutamine II. The immunochemical and lipid-binding properties of apolipoprotein glutamine II derivatives. *J. Biol. Chem.* 248 (15), 5218–5224.

103. Le Bacquer, O., Nazih, H., Blotti`ere, H., Meynial-Denis, D., Laboissee, C., Darmaun, D., 2001. Effects of glutamine deprivation on protein synthesis in a model of human enterocytes in culture. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 281 (6), G1340–G1347.

104. Valencia, E., Marin, A., Hardy, G., 2002. Impact of oral L-glutamine on glutathione, glutamine, and glutamate blood levels in volunteers. *Nutrition* 18 (5), 367–370.

105. Gould, R.L., Pazdro, R., 2019. Impact of supplementary amino acids, micronutrients, and overall diet on glutathione homeostasis. *Nutrients* 11 (5).

106. Cruzat, V.F., Tirapegui, J., 2009. Effects of oral supplementation with glutamine and alanyl-glutamine on glutamine, glutamate, and glutathione status

in trained rats and subjected to long-duration exercise. *Nutrition* 25 (4), 428–435.

107. Leite, J.S., Raizel, R., Hypólito, T.M., Rosa, T.D., Cruzat, V.F., Tirapegui, J., 2016. L-glutamine and l-alanine supplementation increase glutamine-glutathione axis and muscle HSP-27 in rats trained using a progressive high-intensity resistance exercise. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 41 (8), 842–849.

108. Borges-Santos, M.D., Moreto, F., Pereira, P.C.M., Ming-Yu, Y., Burini, R.C., 2012. Plasma glutathione of HIV+ patients responded positively and differently to dietary supplementation with cysteine or glutamine. *Nutrition* 28 (7–8), 753–756.

109. Amirato, G.R., Borges, J.O., Marques, D.L., Santos, J., Santos, C.A., Andrade, M.S., et al., 2021. L-glutamine supplementation enhances strength and power of knee muscles and improves glycemia control and plasma redox balance in exercising elderly women. *Nutrients* 13 (3), 1025.

110. Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., et al., 2018. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin. Interv. Aging* 13, 757–772.

111. Mitra, S., Deshmukh, A., Sachdeva, R., Lu, J., Mehta, J.L., 2011. Oxidized low-density lipoprotein and atherosclerosis implications in antioxidant therapy. *Am J Med Sci* 342 (2), 135–142.

112. Zimetti, F., Adorni, M.P., Marsillach, J., Marchi, C., Trentini, A., Valacchi, G., et al., 2021. Connection between the altered HDL antioxidant and anti-inflammatory properties and the risk to develop Alzheimer's disease: a narrative review. *Oxidative Med. Cell. Longev.* 2021, 6695796.

113. Agil, A., Fuller, C.J., Jialal, I., 1995. Susceptibility of plasma to ferrous iron/hydrogen peroxide-mediated oxidation: demonstration of a possible Fenton reaction. *Clin. Chem.* 41 (2), 220–225.

114. Baghaiee, B., Karimi, P., Ebrahimi, K., Dabagh Nikoo Kheslat, S., Sadeghi Zali, M.H., Daneshian Moghaddam, A.M., et al., 2018. Effects of a 12-week aerobic exercise on markers of hypertension in men. *J. Cardiovasc. Thorac. Res.* 10 (3), 162–168.

115. Casella-Filho, A., Chagas, A.C., Maranhão, R.C., Trombetta, I.C., Cesena, F.H., Silva, V. M., et al., 2011. Effect of exercise training on plasma levels and functional properties.

116. Woudberg, N.J., Mendham, A.E., Katz, A.A., Goedecke, J.H., Lecour, S., 2018. Exercise intervention alters HDL subclass distribution and function in obese women. *Lipids Health Dis.* 17 (1), 232.

117. Hu, Y., Tian, H., Liu, R., 2003. Gln-Arg192 polymorphism of paraoxonase 1 is associated with carotid intima-media thickness in patients of type 2 diabetes mellitus of chinese. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 61 (1), 21–27.
118. Aviram, M., Billecke, S., Sorenson, R., Bisgaier, C., Newton, R., Rosenblat, M., et al., 1998. Paraoxonase active site required for protection against LDL oxidation involves its free sulfhydryl group and is different from that required for its arylesterase/ paraoxonase activities: selective action of human paraoxonase allozymes Q and R. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 18 (10), 1617–1624.
119. Holecek, M., 2013. Side effects of long-term glutamine supplementation. *JPEN J. Parenter. Enteral Nutr.* 37 (5), 607–616.

ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Estes esclarecimentos estão sendo apresentados para solicitar sua participação livre e voluntária, no projeto (AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM L-GLUTAMINA NA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO HDL EM IDOSOS FISICAMENTE ATIVOS: FOCO NA PARAXONASE-1 E GLUTATIONA PEROXIDASE), do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Santo Amaro - UNISA, que será realizado pelo pesquisador (Renier Soares Pires) como Trabalho de Conclusão de Curso sob orientação do Prof. (André Luis Lacerda Bachi).

As doenças cardiovasculares (DCV), estão entre as primeiras causas de morte em indivíduos idosos, sendo que na maioria dos casos, a causa subjacente é a aterosclerose. O aumento da quantidade e atividade do HDL-c também está associado à redução do desenvolvimento da DCV. A Paraxonase (PON1), enzima que está localizada exclusivamente na HDL, e Glutaciona Peroxidase (GPx), são responsáveis pela metabolização de peróxidos lipídicos levando a redução de LDL oxidada e conseqüentemente do desenvolvimento de aterosclerose. Embora evidências apontem que a atividade de PON1 e a GPx diminuam com o avanço da idade, a adoção de um estilo de vida ativa favorece a manutenção da atividade PON1 e GPx em idosos. Além disso, intervenções dietéticas que possam favorecer tanto o aumento da expressão quanto da atividade da PON1 e GPx devem ser implementadas e podem ter uma aplicação na prevenção da aterosclerose. Neste sentido, a Glutamina, um aminoácido, apresenta uma potente ação antioxidante e com isso pode levar a redução da peroxidação lipídico.

Este projeto tem como objetivo avaliar a influência da suplementação com L-Glutamina sobre a expressão e atividade da PON1 e GPx em idosos praticantes de um programa de exercícios físicos combinados, minimizando, o desenvolvimento e ocorrência das DCV.

Os voluntários serão separados em dois grupos: grupo LG, que fará ingestão de dose diária de 0,3g/kg/dia de L-Glutamina; e grupo PLA, que fará ingestão de dose diária de placebo.

Amostras de soro, obtidas antes e após 30 dias de suplementação, serão utilizadas para avaliar a quantidade e a atividade de PON1 e GPx, bem como dos níveis de HDL.

Dados antropométricos, de composição corporal, capacidade funcional, nível de atividade física e função muscular, serão utilizados para caracterização dos grupos de voluntários do estudo.

Todos os participantes do estudo serão submetidos a testes funcionais que caracterizam o risco de ocorrência de quedas em idosos como: *Timed Up & Go* TUGT, velocidade de marcha, Bateria Curta de Teste de Desempenho Físico (*Short Physical Performance Battery*).

Será aplicado questionários para avaliação do hábito alimentar e estado nutricional através de recordatório de 24 horas. Para averiguar se os grupos de voluntários do estudo são sedentários, ou o nível de atividade física diária das amostras, será utilizado o Questionário Internacional de Atividade Física IPAQ.

O exercício físico constituído pelo programa de treinamento combinado, consistirá em treinos de 3 (três) dias por semana, com 1 (uma) hora de treino para cada dia. Durante todo o estudo, todos os voluntários serão supervisionados por um profissional de Educação Física, para garantir a continuidade do programa de exercícios físicos combinados propostos.

A periodização, frequência e intensidade utilizadas no programa de treinamento, serão baseadas nas recomendações do Colégio Americano de Medicina do Esporte e da Associação Americana de Cardiologia, que preconizam: para atividades aeróbias de intensidade moderada, acumular pelo menos 30 até 60 minutos por dia, em sessões de no mínimo até 10 minutos

cada, totalizando 150 a 300 minutos por semana que podem ser distribuídos em até 5 dias, ou ainda realizar 20 a 30 minutos por dia de atividade em intensidade vigorosa, totalizando 75 a 150 minutos por semana, que podem ser distribuídos de 2 a 3 dias.

O programa de treinamento combinado será constituído por exercícios aeróbios (variando entre 60 a 75% frequência cardíaca máxima), associados a exercícios de resistência muscular localizada (musculação), variando entre 50 a 60% de 1RM (repetição máxima).

Cada sessão de treinamento aeróbio, será constituída por 30 minutos de exercícios aeróbios, de intensidade moderada, que variam de 60 a 75% de sua frequência cardíaca máxima (Fc-max), avaliada por meio de um frequencímetro (marca Polar, modelo FT1, Polar - Finlândia), realizados tanto com exercícios para a melhoria da estabilização postural e do ritmo (com aulas de dança), como exercícios realizados em equipamentos como *step* e cama elástica (*jump*).

O treinamento com exercícios resistidos localizados será realizado em intensidade moderada, variando entre 50 a 60% de 1RM (repetição máxima), respeitando as diretrizes preconizadas pela ACSM para a prescrição de exercícios resistidos.

Os exercícios envolverão 5 a 10 diferentes exercícios para os seguintes grupos musculares: membros inferiores e superiores, abdômen, glúteos e aqueles relacionados à estabilização postural, incluindo dorsal e lombar. Os exercícios serão realizados em 2 séries de 10 a 20 repetições, 30 minutos por dia, com uso de anilhas ou pesos livres, logo após o término do treino aeróbio.

O treino resistido será aplicado 2 a 3 vezes por semana e, cada sessão de treino, envolverá diferentes combinações de dois grupos musculares descritos acima, sendo realizados em 4 dias consecutivos.

O paciente tem o direito de não responder as perguntas que não se sentir à vontade, não participar de todo estudo, ou de todas as avaliações.

Os riscos decorrentes de sua participação na pesquisa são mínimos, podendo haver pequeno desconforto no momento da coleta das amostras de material biológico, como, por exemplo, formação de pequeno hematoma (mancha roxa) no momento de coleta de sangue. Com relação aos demais procedimentos a serem realizados como: avaliação clínica e física com ênfase nas análises antropométricas e de composição corporal, da capacidade funcional, nível de atividade física e função muscular, não haverá risco nenhum. Além disso, cansaço ou aborrecimento ao responder os questionários; constrangimento ao se expor durante a realização de testes de qualquer natureza; alterações na autoestima provocadas pela evocação de memórias ou por reforços na conscientização sobre sua condição física; quebra de sigilo.

Todos os voluntários terão acompanhamento clínico, com acesso aos resultados de seus respectivos exames realizados, assim como ciência da respectiva avaliação da composição corporal e consciência do seu atual nível de atividade física. Será disponibilizado suporte técnico e especializado para uma prática segura de exercícios físicos, ofertados pelos colaboradores deste projeto.

A execução do estudo trará evidente contribuição para melhor compreensão de como se dão as alterações na função e massa muscular, bem como da resposta imune e inflamatória do idoso, além de possibilitar a implantação de novas estratégias de promoção de saúde desta população.

É garantido o acesso, em qualquer etapa do estudo, aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas ou informações sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores.

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP-UNISA) – Rua Prof. Enéas de Siqueira Neto, 340, Jardim das Imbuías, SP – Tel.: 2141-8687.

É garantida sua liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de qualquer benefício que você tenha obtido junto à Instituição, antes, durante ou após o período deste estudo. As informações obtidas pelos pesquisadores serão analisadas em conjunto com as de outros participantes, não sendo divulgada a identificação de nenhum deles.

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas.

Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa. (No caso de ressarcimento de despesas dos participantes da pesquisa e delas decorrentes, tais como transporte e alimentação, explicitar como ocorrerá esse ressarcimento e suas condições – Res. 466/12.II.21).

Em caso de dano pessoal, diretamente relacionado aos procedimentos deste estudo (nexo causal comprovado), a qualquer tempo, fica assegurado ao participante o respeito a seus direitos legais, bem como procurar obter indenizações por danos eventuais.

Uma via deste Termo de Consentimento ficará em seu poder.

São Paulo, ____/____/____

Se você concordar em participar desta pesquisa assine no espaço determinado abaixo e coloque seu nome e o nº de seu documento de identificação..

Nome: (do participante):

Doc. Identificação:

Ass:

Nome: (do representante legal)

.....

Doc. Identificação:

.....

Nível de representação: (genitor, tutor, curador, procurador.)

.....

Nome do participante:

Declaro (amos) que obtive (mos) de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste participante (ou do representante legal deste participante) para a participação neste estudo, conforme preconiza a Resolução CNS 466, de 12 de dezembro de 2012, IV.3 a 6.

Assinatura do pesquisador responsável pelo estudo

Data: _____

ANEXO B - TERMO DE COMPROMISSO E CONFIDENCIALIDADE

(Elaborado de acordo com a Resolução 466/2012-CNS/CONEP)

Em referência a pesquisa intitulada (**Avaliação dos efeitos da suplementação com L-Glutamina na atividade do HDL em idosos fisicamente ativos: Foco na Paraxonase-1 e Glutathione Peroxidase**, eu (Renier Soares Pires) e minha equipe, composta por (André Luis Lacerda Bachi, nome de todos da equipe), comprometemo-nos a manter em anonimato, sob sigilo absoluto, durante e após o término do estudo, todos os dados que identifiquem o sujeito da pesquisa, usando apenas para divulgação os dados inerentes ao desenvolvimento do estudo.

Asseguo o compromisso com a privacidade e a confidencialidade dos dados utilizados, preservando integralmente o anonimato e a imagem do participante, bem como a sua não estigmatização.

Asseguo também, a não utilização das informações em prejuízo das pessoas e/ou da comunidade, inclusive em termos de autoestima, de prestígio e/ou econômico financeiro.

Comprometemo-nos também com a destruição, após o término da pesquisa, de todo e qualquer tipo de mídia que possa vir a identificá-lo tais como filmagens, fotos, gravações, questionários, formulários e outros.

Local, data: ___/___/___

Pesquisador

Responsável:

.....

Assinatura e carimbo

Assinatura de todos os membros da equipe

ANEXO C - APROVAÇÃO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

UNIVERSIDADE DE SANTO
AMARO - UNISA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM L-GLUTAMINA NA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA HDL EM IDOSOS FÍSICAMENTE ATIVOS: FOCO NA PARAXONASE-1 E GLUTATIONA PEROXIDASE

Pesquisador: RENIER SOARES PIRES

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 47726621.0.0000.0081

Instituição Proponente: OBRAS SOCIAIS E EDUCACIONAIS DE LUZ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.928.390

Apresentação do Projeto:

- Idem à relatoria anterior.

Objetivo da Pesquisa:

- Idem à relatoria anterior.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

- Idem à relatoria anterior.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

- Idem à relatoria anterior.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- Co-participação - apresentada;

- TCLE - Ok (inserido no parecer consubstanciado).

- Termo de Confidencialidade dos dados: ok

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

- Aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Endereço: Rua Profª Enias de Siqueira Neto, 340

Bairro: Jardim das Imbuías

CEP: 02.450-000

UF: SP

Município: SÃO PAULO

Telefone: (11) 2141-8687

E-mail: pesquisaunisa@unisa.br

Continuação do Parecer: 4.000.090

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1750986.pdf	22/06/2021 07:34:02		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	PARECERCEPTCLE.pdf	22/06/2021 07:25:39	RENIER SOARES PIRES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	termodecompromissoeconfidencialidade.pdf	20/06/2021 23:27:17	RENIER SOARES PIRES	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projetomestrado2021glutamina.docx	20/06/2021 23:14:06	RENIER SOARES PIRES	Aceito
Solicitação registrada pelo CEP	autorizar.pdf	15/06/2021 19:15:04	RENIER SOARES PIRES	Aceito
Folha de Rosto	FRRenier.pdf	06/06/2021 11:37:21	RENIER SOARES PIRES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	CartaCEP.doc	23/05/2021 12:29:43	RENIER SOARES PIRES	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SÃO PAULO, 24 de Agosto de 2021

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

Endereço: Rua Profª Enias de Siqueira Neto, 340

Bairro: Jardim das Imbuías

CEP: 02.450-000

UF: SP

Município: SÃO PAULO

Telefone: (11)2141-8687

E-mail: pesquisa@unisa.br