

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
ESCOLA SUPERIOR DE EDUCAÇÃO FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EDUCAÇÃO FÍSICA**



DISSERTAÇÃO

**Efeito dose-resposta de diferentes volumes de treinamento concorrente
em parâmetros do estresse oxidativo e inflamatórios em mulheres pós-
menopausadas: um Ensaio Clínico Randomizado**

MATHEUS PINTANEL SILVA DE FREITAS

Pelotas, RS

2015

MATHEUS PINTANEL SILVA DE FREITAS

Efeito dose-resposta de diferentes volumes de treinamento concorrente em parâmetros do estresse oxidativo e inflamatórios em mulheres pós-menopausadas: um Ensaio Clínico Randomizado

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Educação Física da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área do conhecimento: Educação Física. Linha de pesquisa: Atividade Física e Saúde).

Orientador: Prof. Dr. Airton José Rombaldi

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Francieli Moro Stefanello

Pelotas, 2015

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

F863e Freitas, Matheus Pintanel Silva de

Efeito dose-resposta de diferentes volumes de treinamento concorrente em parâmetros do estresse oxidativo e inflamatórios em mulheres pós-menopausadas : um ensaio clínico randomizado / Matheus Pintanel Silva de Freitas ; Airton José Rombaldi, orientador ; Francieli Moro Stefanello, coorientador. — Pelotas, 2015.

164 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Educação Física, Escola Superior de Educação Física, Universidade Federal de Pelotas, 2015.

1. Sistema imune. 2. Radicais livres. 3. Antioxidantes. 4. Exercício físico. 5. Envelhecimento. I. Rombaldi, Airton José, orient. II. Stefanello, Francieli Moro, coorient. III. Título.

CDD : 796

Elaborada por Patrícia de Borba Pereira CRB: 10/1487

Banca examinadora:

Prof. Dr. Airton José Rombaldi (orientador)
Escola Superior de Educação Física (UFPEL)

Prof. Dr. Marlos Rodrigues Domingues
Escola Superior de Educação Física (UFPEL)

Prof. Dr. Fábio Yuzo Nakamura
Universidade Estadual de Londrina (UEL)

Prof. Dr. Fernando Vinholes Siqueira
Escola Superior de Educação Física (UFPEL)

Agradecimentos:

- À minha mãe, Jane, pelo amor incondicional, apoio e incentivo em todas as minhas escolhas, além de passar todos os valores morais que hoje possuo. Foi a pessoa mais determinante para eu ter chegado até aqui, pois foram dela os primeiros ensinamentos.
- Ao meu orientador, professor e amigo, Airton Rombaldi, pelo apoio e ajuda incansável em minha jornada acadêmica, pelos ensinamentos, pelas oportunidades a mim confiadas e, por ser ele, hoje, a pessoa a quem me espelho profissionalmente. Me ensinaste mais do que conteúdos e teorias, me ensinaste o gosto pelo saber e os meios para encontrá-lo.
- Ao meu avô, Dorvil (*in memoriam*), por ter me deixado o maior exemplo de determinação e caráter.
- À minha avó, Oscarina, por, apesar de todos os problemas vividos, estar sempre me dando força e amor, e entender meu afastamento decorrente dos inúmeros compromissos acadêmicos.
- À minha namorada, Nicole, por toda a ajuda durante minha vida acadêmica e apoio nos momentos difíceis, pelo companheirismo e por me fazer sempre querer ser melhor.
- Novamente à Nicole e, também, ao César, pela ajuda incansável em todas as três coletas maçantes que acompanharam a realização desse estudo. Eu não conseguiria sem vocês.
- À minha sogra, Leilá, e ao meu sogro, Nelci, por toda ajuda cedida durante o mestrado.
- À minha coorientadora, Francieli Stefanello (Fran), por toda a ajuda, ensinamentos passados e liderança em todas as análises bioquímicas. Pela empolgação, paciência e disponibilidade em sempre me atender quando surgia alguma dúvida.
- Novamente à Fran e à Professora Rose, junto com seus grupos de pesquisa, pela análise impecável de todos os dados bioquímicos. Gurias, vocês são as melhores.
- Aos professores, Marlos, Fábio e Fernando (Caco), por sempre se mostrarem dispostos a ajudar quando necessário e, agora, aceitarem fazer parte de minha

banca o que, tenho certeza, irá enriquecer muito o meu trabalho, devido à responsabilidade e conhecimentos pertinentes a cada um.

- À professora Adriana, pelo fornecimento e ajuda no contato inicial com às idosas que compuseram minha amostra, além de sempre estar disposta a ajudar no que fosse preciso.
- Aos meus seis amigos (Otávio, Marcelo, Maurício, Matheus, Joubert e Tiago), os quais sempre me dão força e serão, para sempre, os irmãos que escolhi.
- Aos Integrantes do Grupo de Estudos do Laboratório de Bioquímica e Fisiologia do Exercício (LABFex) que foram determinantes na logística das coletas sanguíneas e na preparação do sangue para as análises bioquímicas.
- À Nutricionista, Priscila, e toda sua equipe, por terem analisado os dados do recordatório alimentar de 24 horas;
- Às meninas que participaram de todo o estudo como amostra, ao pessoal que atuou como instrutores de musculação, aos farmacêuticos que realizaram a coleta sanguínea, enfim, todos que participaram e colaboraram de alguma forma para que este estudo fosse realizado, pois, sem vocês, nada disso seria possível.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.” (Arthur Schopenhauer)

Resumo

FREITAS, Matheus Pintanel Silva de. Efeito dose-resposta de diferentes volumes de treinamento concorrente em parâmetros do estresse oxidativo e inflamatórios em mulheres pós-menopausadas: um Ensaio Clínico Randomizado. 2015. 163f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Educação Física. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Objetivo: Verificar o efeito dose-resposta de 12 semanas de diferentes volumes de treinamento concorrente em parâmetros inflamatórios e do estresse oxidativo em mulheres pós-menopausadas. **Métodos:** Este ensaio clínico randomizado realizou uma intervenção em quatro grupos (controle, 90, 150 e 210 minutos por semana de exercício físico) em mulheres pós-menopausadas previamente sedentárias. O protocolo consistiu em três sessões por semana de treinamento concorrente (metade da sessão com treinamento aeróbio e a outra parte com treinamento resistido em aparelhos de musculação). Parâmetros inflamatórios e do estresse oxidativo foram analisados em três momentos (linha base, 6^a e 12^a semana). **Resultados:** das 144 mulheres inicialmente contatadas, 42 foram selecionadas para o estudo e randomizadas em um dos quatro grupos. Os grupos de 150 e 210 minutos por semana reduziram os valores de TBARS na 12^a semana; aumentaram os valores do conteúdo tiólico total na 6^a semana, retornando aos valores iniciais na 12^a semana; e tiveram a atividade enzimática da GPx significativamente inferior ao grupo controle na 12^a semana. O grupo controle teve um aumento dessa atividade na 6^a semana, permanecendo na 12^a. Na 12^a semana, todos os valores de SOD dos grupos exercitados foram menores do que os do grupo controle, que teve um aumento desses valores na 12^a semana quando comparado às semanas anteriores. A atividade enzimática da ADA aumentou no grupo de 210 minutos por semana na 6^a semana, permanecendo na 12^a. A atividade da BChE e os níveis de IL-6 não apresentaram diferenças. **Conclusão:** 150 minutos por semana ou mais, durante 12 semanas de treinamento concorrente podem reduzir o estresse oxidativo em mulheres pós-menopausadas.

Palavras-chave: Sistema imune; Radicais livres; Antioxidantes; Exercício físico; Atividade física; Envelhecimento.

Abstract

FREITAS, Matheus Pintanel Silva de. Dose-response effects of different volumes of concurrent training in oxidative stress and inflammation parameters on postmenopausal women: a Randomized Clinical Trial. 2015. 163f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Educação Física. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Purpose: To verify the dose-response effect of different volumes of concurrent training on inflammatory and oxidative stress parameters in post-menopausal women over 12 weeks. **Methods:** This randomized clinical trial done an intervention on four groups (control, 90, 150 or 210 min/week of physical exercise) of previously sedentary post-menopausal women. The protocol consisted of three sessions per week of concurrent training (half session with aerobic training and the other part with weight training). Inflammatory and oxidative parameters were analyzed in three moments (baseline, 6th and 12th week). **Results:** Of the 144 women screened, 42 were selected to the study and randomized into one of the four groups. The groups of 150 and 210 min/week had lower TBARS values at the 12th week than the previous moments; increased thiol content values at the 6th week, returning to initial levels at the 12th week; and at the 12th week had significantly lower GPx activity than the control group. The control group had an increase of this activity at the 6th week, remaining at the 12th. At the 12th week, all SOD values of the exercise groups were lower than the control group, which had higher values at week 12 than other moments. ADA activity was increased in the group of 210 min/week at the 6th week, remaining at the 12th. BChE activity and IL-6 presented no differences. **Conclusion:** 150 min/week or more, for 12 weeks of concurrent training can reduce the oxidative stress in post-menopausal women.

Keywords: Immune System; Reactive Oxygen Species; Antioxidants; Exercise; Physical Activity; Elderly.

Sumário

1. Projeto de pesquisa.....	13
2. Relatório de trabalho de campo	63
3. Artigo 1 (revisão sistemática)	66
4. Artigo 2 (artigo original)	92
5. Press-release	128
6. Anexos	131

Introdução Geral

A presente dissertação de mestrado atende ao regimento do Programa de Pós-Graduação em Educação Física da Escola Superior de Educação Física da Universidade Federal de Pelotas. O volume final contém as seguintes seções:

1- PROJETO DE PESQUISA: apresentado e defendido no dia 17 de março de 2014, com a incorporação das sugestões dos revisores professores Marlos Rodrigues Domingues e Fábio Yuzo Nakamura;

2- RELATÓRIO DO TRABALHO DE CAMPO: descrição dos pontos do projeto que sofrem modificações no decorrer da pesquisa;

3- ARTIGO 1 (REVISÃO SISTEMÁTICA): Efeito do exercício físico no sistema imune de mulheres menopausadas: revisão sistemática. O artigo será submetido ao periódico Revista Brasileira de Medicina do Esporte;

4- ARTIGO 2 (ARTIGO ORIGINAL): Dose-response effects of different volumes of concurrent training in oxidative stress and inflammation parameters on postmenopausal women: a Randomized Clinical Trial. O artigo será submetido ao periódico PLoS ONE;

5- PRESS-RELEASE: comunicado breve com os principais achados destinados à imprensa local;

6- ANEXOS: anexos utilizados no trabalho.

1. Projeto de pesquisa

(Dissertação de Matheus Pintanel Silva de Freitas)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
ESCOLA SUPERIOR DE EDUCAÇÃO FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EDUCAÇÃO FÍSICA



PROJETO DE MESTRADO

**Efeito dose-resposta de diferentes volumes de exercício estruturado na
atividade da adenosina deaminase, proteína-C-reativa e sobre parâmetros
de estresse oxidativo em mulheres menopausadas: um Ensaio Clínico
Randomizado**

MATHEUS PINTANEL SILVA DE FREITAS

Pelotas, RS

2014

Matheus Pintanel Silva de Freitas

Efeito dose-resposta de diferentes volumes de exercício estruturado na atividade da adenosina deaminase, proteína-C-reativa e sobre parâmetros de estresse oxidativo em mulheres menopausadas: um Ensaio Clínico Randomizado

Projeto de Mestrado que será apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Educação Física da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Educação Física (linha de pesquisa: Atividade Física e Saúde).

Orientador: Prof. Dr. Airton José Rombaldi

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Francieli Moro Stefanello

Pelotas, 2014

Banca examinadora:

Prof. Dr. Airton José Rombaldi (orientador)

Escola Superior de Educação Física (UFPEL)

Prof. Dr. Marlos Rodrigues Domingues

Escola Superior de Educação Física (UFPEL)

Prof. Dr. Fábio Yuzo Nakamura

Universidade Estadual de Londrina (UEL)

Sumário

1. Introdução	18
1.1 Objetivo Geral	19
1.2 Objetivos Específicos	20
1.3 Justificativa.....	20
1.4 Hipóteses	22
2. Revisão de Literatura	22
2.1 Sistema imune	22
2.1.1 Variáveis imunes do desfecho	23
2.2 Estresse oxidativo	24
2.3 Efeito da atividade física sobre a imunidade	25
2.4 Imunidade e menopausa.....	26
2.5 Alimentação e imunidade	27
3. Metodologia.....	28
3.1 Delineamento	28
3.1.1 Cegamento	28
3.2 População	29
3.3 Amostra.....	29
3.4 Randomização	29
3.5 Adesão ao estudo	29
3.6 Critérios de inclusão.....	29
3.7 Critérios de exclusão.....	29
3.8 Variáveis do estudo.....	30
3.9 Intervenção	33
3.10 Capacitação	37
3.11 Controle de qualidade	37
3.12 Análise estatística	38
3.13 Aspectos éticos	38
4. Orçamento.....	39
5. Cronograma	40
6. Referências	41
7. Anexos	51
7.1 Par-Q	51
7.2 Termo de consentimento livre e esclarecido	52
7.3 Instrumento para coleta de dados de linha base.....	53

1. Introdução

A relação positiva entre a atividade física e saúde é amplamente conhecida. A Organização Mundial de Saúde (OMS) indica que a inatividade física é um fator de risco para as doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), podendo levar a alterações metabólicas/fisiológicas que provocam hipertensão, hiperglicemia, hiperlipidemia, sobrepeso e obesidade (WHO, 2011), sendo que a ela é atribuído um número maior de mortes por ano em comparação ao tabagismo (WEN; WU, 2012). Assim, o movimento corporal é um importante componente para a prevenção dessas morbidades que são as principais causas de morte no mundo. Dados de 2008 demonstram que as DCNT foram responsáveis por 63% do total de mortes globais (WHO, 2011; ALWAN et al., 2010). Ademais, estudo epidemiológico demonstrou que 1,3 milhões de mortes por ano poderiam ser prevenidas se 25% da inatividade física fosse eliminada (LEE et al., 2012).

Desta forma, a OMS recomendou que adultos devem realizar pelo menos 150 minutos semanais de atividade física (AF) distribuídos em episódios de, no mínimo, 10 minutos para que ocorram benefícios substanciais à saúde (WHO, 2010). Porém, uma das principais barreiras à prática de AF no Brasil é a falta de tempo, tanto em adultos (REICHERT et al., 2007) quanto em idosos (REICHERT et al., 2007; CASSOU et al., 2011). Já em países desenvolvidos, essa barreira é a mais prevalente (BOOTH et al., 1997; BROWNSON et al., 2001; KIMM et al., 2006). O conhecimento do impacto desta barreira na prática de atividade física, instigou à realização de pesquisas com o objetivo de verificar se um volume inferior à recomendação de AF seria suficiente para melhorar a condição de saúde do indivíduo.

Em estudos anteriores, ficou claro que uma quantidade inferior do que a recomendação de AF foi suficiente para diminuir o risco para a ocorrência de doenças cardiovasculares (WEN et al., 2011; LEE et al., 2001). Ademais, ensaio clínico randomizado constatou que uma quantidade de exercício aeróbio equivalente a 50% da recomendação foi suficiente para diminuir o risco para tais doenças (CHURCH et al., 2007).

Desregulações na imunidade também são associadas com o desenvolvimento de algumas doenças crônicas (MATHIS; SHOELSON, 2011; GILLUM et al., 2005; SIEMES et al., 2006; WANG et al., 2011; DOSSUS et al., 2010). O sistema imune é responsável pelo reconhecimento e eliminação de material não próprio (qualquer substância estranha que entra no organismo) e é dividido em imunidade inata e imunidade adaptativa, que acabam por atuar simultaneamente. O primeiro gera uma resposta imunitária inicial (rápida) e defende o organismo de maneira não-específica, geralmente precedendo e desencadeando a imunidade adaptativa que, por sua vez, responde ao antígeno de forma específica, gerando memória imunológica (McARDLE et al., 2011; PLAYFAIR; CHAIN, 2013).

No que se refere ao sistema imune, sabemos que, de modo geral, o exercício aeróbio atua de forma positiva reforçando a defesa imunológica natural (MAKRAS et al., 2005), diferentemente do exercício resistido em que parece não haver um consenso na literatura, pois há resultados relatando que não houve alteração no número e na atividade citotóxica das células *natural killer* (NK) (NIEMAN et al., 1994) e que, ao contrário, houve redução no grau de inflamação sistêmica (PRESTES et al., 2009). Além disto, o exercício extenuante causa imunossupressão (STEENBERG et al., 2001), devido, em parte, a uma produção exagerada de espécies reativas de oxigênio (ERO), causando estresse oxidativo tecidual (ANGELI et al., 2004; ASCENSAO et al., 2003).

Desta forma, existem dúvidas a respeito da intensidade, modelo e duração da AF necessária para que as mudanças benéficas ocorram (GLEESON et al., 2011). Além disto, as mudanças endócrinas que as mulheres sofrem na menopausa acarretam uma série de disfunções, inclusive a atenuação da resposta imune (OLSEN; KOVACS, 1996; MEDEIROS et al., 2003), o que torna incerto o efeito da AF sobre a imunomodulação dessa população.

1.1 Objetivo Geral:

Verificar o efeito dose-resposta de diferentes volumes de um programa de exercícios físicos estruturado (composto com exercícios contínuo e resistido)

na atividade da adenosina deaminase (ADA), proteína-C-reativa (PCR), interleucina-6 (IL-6) e sobre parâmetros de estresse oxidativo em mulheres menopausadas ao longo de 12 semanas.

1.2 Objetivos Específicos:

- Determinar o efeito dose-resposta longitudinal de um programa com 90, 150 e 210 minutos por semana de treinamento concorrente (60, 100 e 140% da recomendação, respectivamente), com exercício aeróbio moderado e treinamento resistido com periodização linear, sobre a atividade da enzima ADA em soro;
- Comparar o efeito dos diferentes volumes de exercício sobre a atividade da enzima ADA em soro;
- Determinar o efeito dose-resposta longitudinal de um programa com 90, 150 e 210 minutos por semana de treinamento concorrente (60, 100 e 140% da recomendação, respectivamente), com exercício aeróbio moderado e treinamento resistido com periodização linear, sobre a concentração sérica da PCR e da IL-6;
- Comparar o efeito dos diferentes volumes de exercício sobre a concentração sérica da PCR e da IL-6;
- Determinar o efeito dose-resposta longitudinal de um programa com 90, 150 e 210 minutos por semana de treinamento concorrente (60, 100 e 140% da recomendação, respectivamente), com exercício aeróbio moderado e treinamento resistido com periodização linear, sobre diferentes parâmetros de estresse oxidativo em sangue total;
- Comparar o efeito dos diferentes volumes de exercício sobre diferentes parâmetros de estresse oxidativo em sangue total.

1.3 Justificativa

O sistema imune é responsável pela defesa do organismo contra qualquer tipo de micro-organismo invasor, remoção de células mortas, estabelecimento da memória imunológica (SCHULENBURG et al., 2004),

combate do crescimento anormal de células cancerosas (McARDLE et al., 2011) e sua desregulação é associada com o desenvolvimento de algumas doenças, como diabetes tipo 2 (MATHIS; SHOELSON, 2011), doenças cardiovasculares (GILLUM et al., 2005) e câncer (SIEMES et al., 2006; WANG et al., 2011; DOSSUS et al., 2010). Neste sentido, a realização de exercícios aeróbios é um dos fatores que contribuem para uma melhora no sistema imune (MAKRAS et al., 2005), diminuindo o risco para estas doenças e fortalecendo as defesas do organismo. Porém, apesar de seus conhecidos efeitos benéficos, não se tem clareza dos efeitos do treinamento resistido sobre a imunomodulação, pois há resultados conflitantes na literatura (NIEMAN et al., 1994; PRESTES et al., 2009). Além disso, não foi encontrado artigo científico em que a intervenção fora realizada com treinamento concorrente.

Adicionalmente, as mudanças endócrinas que as mulheres sofrem na menopausa acarretam uma série de disfunções, como, pressão arterial sistólica elevada, deterioração do perfil lipídico no sangue e aumento do peso corporal (VOZAROVA et al., 2002; MARGOLIS et al., 2005; ANGELI et al., 2010), inclusive a atenuação da resposta imune (OLSEN; KOVACS, 1996; MEDEIROS et al., 2003), o que torna incerto o efeito da AF sobre a imunidade dessa população. Além disso, Gleeson, et al. (2011), em sua revisão de literatura sobre os efeitos anti-inflamatórios do exercício, destacaram a importância da realização de estudos na tentativa de estabelecer o modelo, a intensidade e a duração do exercício que é requerida para otimizar os efeitos anti-inflamatórios. Porém, foram encontrados em pesquisa sistemática, dois ensaios clínicos randomizados que objetivaram verificar o efeito de diferentes volumes de AF em parâmetros do sistema imune de mulheres menopausadas, mas, com resultados conflitantes e sem controlar a alimentação (JOHANNSEN et al., 2012; STEWART et al., 2010).

Por conseguinte, levando em conta que melhoras no sistema imune estão relacionadas com desfechos importantes em saúde; que há uma lacuna a respeito do volume mínimo suficiente para acarretar em melhoras nesses parâmetros, o que pode ser determinante para as pessoas se engajarem ou não em um programa de AF, já que uma das principais barreiras à prática de AF é a falta de tempo (REICHERT et al., 2007); a escassez de ensaios clínicos

randomizados em mulheres menopausadas intervindo com atividade física e buscando avaliar mudanças no sistema imune; e a ausência desse delineamento de estudo com intervenção baseada em treinamento concorrente, este estudo se justifica.

Espera-se, que através dos resultados obtidos neste projeto, seja possível caracterizar o volume de treinamento mínimo para melhorar a eficiência do sistema imune, com uma menor produção de ERO, em longo prazo, e com isso traçar diretrizes quanto às recomendações populacionais para mulheres menopausadas no sentido de prevenir vários tipos de DCNT.

1.4 Hipóteses

- Diferentes volumes de exercício físico estruturado diminuirão a concentração sérica de PCR, IL-6 e aumentarão a atividade da ADA e das defesas anti-oxidantes em todos os grupos de intervenção.
- Haverá efeito dose-resposta na diminuição da concentração sérica de PCR, IL-6 e no aumento da atividade da ADA e das defesas anti-oxidantes ao longo da intervenção.

2. Revisão de Literatura

2.1 Sistema imune:

O sistema imune é composto de um agrupamento de células, hormônios e moduladores interativos que são responsáveis pela defesa do organismo perante invasões de vírus, bactérias, fungos e macromoléculas estranhas, além de impedir o crescimento anormal de células cancerosas (McARDLE et al., 2011). É dividido, didaticamente, em duas divisões funcionais: imunidade inata e imunidade adaptativa. O sistema imune inato responde aos estímulos de maneira não específica e é responsável pela resposta imune inicial, sendo composto por componentes anatômicos e fisiológicos (pele, membranas mucosas, temperatura corporal, neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monócitos, células NK e barreiras inflamatórias). Já o sistema imune adaptativo, responde ao antígeno de forma específica, apresentando memória imunológica, sendo

composto por linfócitos T e B especializados e imunoglobulinas (McARDLE et al., 2011; ROSA; VAISBERG, 2002; MEDEIROS et al., 2007).

2.1.1 Variáveis imunes do desfecho:

Nucleosídeos e nucleotídeos de adenina são responsáveis pela regulação de várias respostas imunes e inflamatórias. O ATP extracelular se caracteriza como sendo uma molécula pró-inflamatória que atua na estimulação e proliferação de linfócitos e, ainda, liberando citocinas (BOURS et al., 2006). Entretanto, a adenosina tem um papel anti-inflamatório e imunossupressor, pois ela inibe a proliferação das células T e realiza a liberação de citocinas pró-inflamatórias (GESSI et al., 2007).

A ADA (também conhecida como E.C.3.5.4.4) é uma enzima chave no metabolismo de purinas que está envolvida na deaminação irreversível de adenosina e desoxiadenosina em inosina e desoxi-inosina, respectivamente. Essa enzima é amplamente distribuída em tecidos de vertebrados e apresenta um importante papel no controle dos níveis de adenosina (SHAROYAN et al., 2006; FRANCO et al., 2007). A principal função da ADA está relacionada ao desenvolvimento e manutenção do sistema imune, participando ativamente da imunorregulação de processos inflamatórios (ANTONIOLI et al., 2007; GHAEMI et al., 2011; MARTINEZ-NAVIO et al., 2011).

A PCR é um marcador inflamatório e sua concentração elevada está relacionada ao aumento do risco para vários tipos de câncer, como o de mama (SIEMES et al., 2006) e endométrio (WANG et al., 2011; DOSSUS et al., 2010), bem como, de doença arterial coronariana (HUNG et al., 2008).

A IL-6 é um citocina envolvida na resposta imune inata, o que significa que há uma elevação dos seus níveis séricos caso ocorra alguma infecção, sendo produzida por monócitos e macrófagos (KISHIMOTO, 2005). Também pode estar envolvida na resposta imune adquirida, induzindo os linfócitos B a produzirem imunoglobulinas (KISHIMOTO, 1989). Pode ter um papel anti e pró-inflamatório, pois uma infusão aguda de IL-6 conduz a uma condição anti-inflamatória (STEENSBERG et al., 2003), mas sob condição crônica induz a uma condição pró-inflamatória.

2.2 Estresse oxidativo:

Os radicais livres são definidos como qualquer elemento químico que, em sua camada orbital mais externa, possua um ou mais elétrons desemparelhados, sendo altamente instáveis e muito reativos. Pode-se citar como exemplo o ânion superóxido, radical hidroxila e radical peroxila. Entretanto, existem algumas espécies não radicalares, tais como o peróxido de hidrogênio e oxigênio *singlet*, que podem ser tão prejudiciais quanto os radicais livres. Dessa forma, o conjunto de espécies não radicais e radicais livres classifica-se como espécies reativas (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007).

As ERO são geradas continuamente no metabolismo, principalmente na cadeia respiratória mitocondrial, onde em funcionamento normal, 2-5% do oxigênio consumido é incompletamente reduzido. A formação dessas espécies é fisiologicamente importante no processo fagocitário, de sinalização celular, e resposta imunológica (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). Por outro lado, produção das ERO é aumentada devido ao metabolismo elevado do exercício aeróbico (PATTWELL; JACKSON, 2004) e do exercício resistido (McBRIDE, et al., 1998).

As ERO, quando em excesso, podem danificar proteínas, o DNA celular, causando mutações, ou a camada lipídica da membrana celular (McARDLE et al., 2011). Sendo assim, quando há um desequilíbrio entre os sistemas pró e antioxidantes, de maneira que os primeiros sejam predominantes ocorre o que chamamos de estresse oxidativo (McARDLE et al., 2011). Esse pode estar envolvido na patogênese de diversas doenças, como enfisema pulmonar, doenças inflamatórias, aterosclerose, câncer e envelhecimento (MENEGUINI, 1987; SOUTHORN; POWIS, 1988). Adicionalmente, pode aumentar o fracionamento proteico e a atrofia muscular durante longos períodos de inatividade física (McARDLE, et al., 2011).

Porém, na medida em que o exercício produz espécies reativas, as defesas antioxidantes normais do organismo ou são adequadas ou aumentam na mesma proporção, pois enzimas como a catalase, glutathione peroxidase e superóxido dismutase sofrem um aumento em virtude das adaptações ao treinamento (POWERS, et al., 1999; SHERN-BREWER, et al., 1998; VINCENT, et al., 1999).

As espécies reativas também possuem uma ação benéfica relacionada com o sistema imune, pois quando estão em proporções fisiológicas, exercem funções metabólicas essenciais para a homeostasia celular. Em uma lesão muscular oriunda da realização de um exercício excêntrico, por exemplo, os neutrófilos, monócitos e linfócitos são recrutados para o local de inflamação, onde produzem ERO e enzimas proteolíticas para limpar e reparar o tecido lesado (STUPKA, et al., 2000).

2.3 Efeito da atividade física sobre a imunidade:

Alguns estudos têm abordado o efeito do exercício físico sobre o sistema imunológico (DAVIDSON, et al., 2006; BRUNELLI et al, 2014) e sobre dano oxidativo (DAVIES, et al., 1982; PATTWELL; JACKSON, 2004). No que se refere ao sistema imune, sabe-se que esse é sensível às alterações na homeostase orgânica, como ocorre em AF (BESEDOVSKY, et al., 1985; BESEDOVSKY; DEL REY, 1996). O exercício aeróbico de intensidade moderada promove adaptações agudas como o reforço das funções imunes naturais por várias horas (GLEESON, 2007), principalmente, com um aumento da função de leucócitos (BACURAU, et al., 2000; BRUUNSGAARD; PEDERSEN, 2000; GLEESON; PYNE, 2000; NIEMAN, 2000), mais especificamente na atividade de uma subpopulação de linfócitos fagocíticos, as células NK, as quais proporcionam a primeira linha de defesa contra os patógenos (McARDLE, et al., 2011). Evidências mostram que o efeito crônico do exercício aeróbico moderado, também atua positivamente nas funções imunes naturais (MAKRAS, et al., 2005), inclusive aumentando a atividade citotóxica das células NK e diminuindo a redução das funções das células T relacionadas com a idade e na produção associada de citocinas (MACKINNON, 2000; JONSDOTTIR, et al., 1997).

Com relação ao exercício resistido, os achados tendem a ser diferentes, pois um estudo recente constatou que o organismo de adultos jovens estava imunossuprimido 15 minutos após uma sessão desse tipo de treinamento, porém, 24 horas após o exercício a contagem sérica total de leucócitos, monócitos, neutrófilos e linfócitos estavam normais (BRUNELLI et al. 2014),

indicando que esse tipo de exercício pode não alterar agudamente a imunidade de adultos jovens.

No mesmo sentido, Nieman et al. (1994) estudaram o efeito crônico desse tipo de exercício no sistema imune e observaram que nove anos de treinamento com exercícios de resistência não afetou o número nem a atividade de repouso das células NK em comparação à indivíduos sedentários. Isso devido a uma ativação maior de monócitos do que em exercício aeróbico. Por outro lado, Prestes et al. (2009) verificaram que 16 semanas de treinamento resistido com periodização linear reduziram o quadro de inflamação sistêmica.

No entanto, deve-se salientar que os exercícios vigorosos e exaustivos prolongados podem causar imunossupressão, diminuindo as atividades das células NK, a produção de anticorpos pelos plasmócitos e a resposta proliferativa dos linfócitos (PEDERSEN; HOFFMAN-GOETZ, 2000; PERES, et al., 2005; JONSDOTTIR, 2000), além de deprimir as funções das células T e B (STEENBERG, et al., 2001; SUZUI, et al., 2004).

Evidências demonstram que a imunossupressão observada após uma sessão intensa de exercício se dá, em parte, devido à produção exagerada de ERO o que causa um aumento no estresse oxidativo nos tecidos (ANGELI, et al., 2004; ASCENSAO, et al., 2003).

Estudos sobre o efeito do treinamento concorrente sobre essas variáveis são escassos na literatura científica, porém Lazzarotto (2007), em sua tese de doutorado documentou um aumento no número de linfócitos T CD4+ ($p=0,0034$) após 12 semanas, com três sessões semanais, de treinamento concorrente.

2.4 Imunidade na menopausa:

As mulheres menopausadas, em função da hipoestrogenia, têm uma queda imunológica (OLSEN; KOVACS, 1996; MEDEIROS et al, 2003) e aumento na concentração de citosinas pró-inflamatórias (PFEILSCHIFTER et al., 2002) as quais estão relacionadas com o aumento do risco de desenvolver doenças cardiovasculares (REILLY et al., 2005), osteoporose

(PFEILSCHIFTER et al., 2002), diabetes do tipo 2 (KADOGLU et al., 2007) e caquexia geriátrica (YEH et al., 2001), o que torna incerto o efeito da atividade física na imunidade de mulheres na menopausa, visto que não há um corpo suficiente de evidências na literatura científica.

Em pesquisa realizada de forma sistemática nas bases de dados bibliográficos MedLine/PubMed, SciELO, Scopus, Lilacs e Bireme, com as palavras-chave Humans; Immune System; Physical Activity; Physical Fitness; Exercise; Postmenopause; Postmenopausal Period; Humanos; Sistema Imunológico; Pós-Menopausa; Atividade Física; Aptidão Física e Exercício, limitando para ensaios clínicos randomizados, foram encontrados oito estudos, sendo que destes, cinco concluíram que a AF moderada atuou positivamente na função imune (CAMPBELL et al., 2009; CHUBAK et al., 2006; JOHANNSEN et al., 2012; KARADENIZ et al., 2002; PRESTES et al., 2009) e os demais que não houve associação (CAMPBELL et al., 2008; IMAYAMA et al., 2012; STEWART et al., 2010). Não foram encontrados resultados negativos entre a prática de AF e a imunidade de mulheres menopausadas, nem estudos com AF intensa.

Ademais, notamos que há uma lacuna sobre o efeito de diferentes volumes de exercício físico sobre a imunomodulação de mulheres menopausadas, pois apenas dois estudos foram encontrados sobre essa temática, com resultados divergentes (JOHANNSEN et al., 2012; STEWART et al., 2010) e mensurando diferentes parâmetros, sendo que houve modificações quando o total de leucócitos e neutrófilos foram medidos (JOHANNSEN et al., 2012) e sem associação no que se refere à PCR (marcador inflamatório) (STEWART et al., 2010). Não foi encontrado estudo em que a intervenção fora realizada com treinamento concorrente, e apenas um estudou com treinamento resistido (PRESTES et al., 2009). O restante foi com exercício aeróbico moderado, evidenciando uma lacuna de ensaios clínicos randomizados intervindo com diferentes tipos de AF.

2.5 Alimentação e imunidade

A alimentação pode alterar o sistema imune com o treinamento físico, pois, em relação aos macronutrientes, atletas de endurance que ingerem

bebidas carboidratadas durante uma competição ou ensaio prolongado sofrem uma menor queda na imunidade do que atletas que não consomem carboidratos (SCHARHAG et al., 2006), tanto em maratonas (NIEMAN et al., 2001), quanto em 2,5 horas de uma corrida de alta intensidade ou de ciclismo em triatletas (NIEMAN et al., 1998), sugerindo uma otimização, mediada pelos carboidratos, do sistema imune durante o exercício prolongado de alta intensidade. No entanto, esse efeito não é observado em treinamento intenso de resistência (NIEMAN et al., 2004).

No que se refere ao consumo de micronutrientes, a suplementação com as vitaminas antioxidantes C e E potencializa o sistema imune em adultos jovens e sadios de forma mais pronunciada do que a suplementação de apenas umas delas (JENG et al., 1996). Ainda, o suplemento diário de 200 mg de vitamina E aprimora índices das células T em indivíduos idosos e sadios (MEYDANI et al., 1997). Porém, a suplementação diária prolongada com uma dose fisiológica de vitaminas e minerais ou com 200 mg de vitamina E não reduziu a incidência nem a gravidade de infecções agudas do trato respiratório em idosos. Dos que possuíam a infecção, suplementação de vitamina E aumentava a duração da enfermidade e restrição da atividade (GRATT et al., 2002). Para praticantes de exercícios intensos prolongados, a suplementação de vitamina C melhora a imunidade, principalmente nos predispostos à infecções no trato respiratório superior (HEMILÄ, 1996; PETERS-FUTRE, 1997).

3. Metodologia

3.1 Delineamento:

Trata-se de um ensaio clínico randomizado.

3.1.1 Cegamento:

O estudo será uni-cego, pois quem analisará os resultados desconhecerá o tratamento. Isso devido a impossibilidade de cegamento da amostra e pesquisador perante o tratamento (variável independente), que se trata de treinamento físico.

3.2 População:

Mulheres menopausadas que residem na cidade de Pelotas, RS.

3.3 Amostra:

Amostra calculada para alfa (ou erro) de 5%, beta (ou poder) de 80%, considerando as médias e desvios-padrão dos níveis da PCR (AKBARPOUR, 2013), será de seis sujeitos em cada um dos quatro grupos, totalizando 24 sujeitos. Será realizada amostragem aleatória por conveniência de 42 mulheres da fila de espera do Núcleo de Atividades para a Terceira Idade (NATI), da Escola Superior de Educação Física (ESEF) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

3.4 Randomização:

Será realizada alocação sistemática com base no IMC em um dos quatro grupos [1- controle sedentário; 2- 60% da recomendação semanal de atividade física; 3- 100% da recomendação; 4- 140% da recomendação (WHO, 2010)].

3.5 Adesão ao estudo:

Será necessária uma frequência superior a 91% do total de sessões para considerar que a mulher aderiu ao programa, sendo excluídas do estudo caso falem um número maior que 3 sessões.

3.6 Critérios de inclusão:

Serão incluídas no estudo todas as mulheres menopausadas (pelo menos há um ano sem menstruação), que concordem participar do estudo e sem impedimentos físicos de qualquer ordem.

3.7 Critérios de exclusão:

Serão excluídas do estudo aquelas pessoas que responderem positivamente a, pelo menos, uma das questões do instrumento PAR-Q (Anexo 6.1), que apresentarem histórico de diabetes e/ou câncer, que tiveram os ovários removidos cirurgicamente e utilizem betabloqueadores.

Além disso, serão excluídas da pesquisa caso uma das variáveis mensuradas durante o teste de esforço não tenham o comportamento adequado (elevação estágio-dependente da pressão arterial sistólica e frequência cardíaca e queda ou manutenção da pressão arterial diastólica).

3.8 Variáveis do estudo:

Variáveis	Definição	Escala	Operacionalização
Dependentes			
Atividade enzimática da ADA	Numérica contínua	U/L	-----
Proteína C-reativa	Numérica contínua	mg/L	-----
Interleucina-6	Numérica contínua	pg/mL	-----
Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)	Numérica contínua	Nmol TBARS/mg de proteína	-----
Conteúdo tiólico total	Numérica contínua	nmol TNB/mg de proteína	-----
Atividade da catalase	Numérica contínua	U/mg proteína	-----
Atividade da superóxido dismutase	Numérica contínua	U/mg proteína	-----
Aptidão física	Numérica contínua	mL.kg ⁻¹ .min ⁻¹	-----
Independentes			
Volume de exercício	Categórica ordinal	Escala de 1 a 4	1= controle (sedentário) 2= 50% recomendação 3= 75% recomendação 4= 100% recomendação
Independentes (possíveis variáveis de confusão)			
Índice de massa corporal	Categórica ordinal	Escala de 1 a 3	1= eutrófico 2= sobrepeso 3= obesidade
Alimentação	Numérica Contínua	Kcal	-----
Escolaridade	Categórica ordinal	Escala de 1 a 5	1= nenhum ou primário incompleto 2= até a 4ª série (antigo primário) ou ginásial (primeiro grau)

			incompleto 3= ginásial (primeiro grau) completo ou colegial (segundo grau) incompleto 4= colegial (segundo grau) completo ou superior incompleto 5= superior completo
Renda familiar	Numérica contínua	Em reais	-----
Idade	Numérica discreta	Anos completos	-----
Nº de passos/dia	Numérica discreta	Passos/dia	-----
Nível de atividade física no domínio do lazer e deslocamento	Numérica contínua	Minutos de atividade física	-----
Remédios de uso contínuo	Categórica nominal	-----	-----
Força de preensão manual	Numérica contínua	Kgf	-----

O $VO_{2\text{pico}}$ será estimado através de um protocolo submáximo em cicloergômetro em dois momentos do estudo (na linha base e na 12ª semana). Os sujeitos irão se exercitar em uma carga constante durante seis minutos, na qual, no final do sexto minuto, a FC esteja entre 130 e 170 bpm. Para a segurança dos sujeitos, a PA será medida ao final de cada minuto. O $VO_{2\text{pico}}$ será estimado utilizando a equação proposta por Marley & Lionnerud (1976).

O nível de atividade física será medido através das seções de lazer e deslocamento do *International Physical Activity Questionnaire* (IPAQ), versão longa, com período recordatório de uma semana habitual

A pressão arterial será coletada por meio de um esfigmomanômetro de aneroide e estetoscópio, ambos da marca BD. A frequência cardíaca será mensurada através de um frequencímetro da marca Polar. A percepção de esforço será medida por intermédio da escala de esforço percebido de Borg, variando de 6 a 20.

O teste de preensão manual será realizado através de dinamometria, com dinamômetro da marca Takei Scientific Instruments e modelo T.K.K.5401, onde a pessoa se posicionará em pé, com as pés unidos, braços junto ao corpo, com cotovelos estendidos e com a mão dominante segurando o dinamômetro. Quando o pesquisador der um sinal, a pessoa terá 3 segundos para apertar o aparelho. Serão realizadas três tentativas e será utilizado o maior valor encontrado.

A massa corporal será coletada através de uma balança eletrônica digital marca Filizola com resolução de 0,1kg. A estatura será medida com estadiômetro de parede tendo a escala de resolução de 0,1 centímetros. A partir das variáveis peso e altura será calculado o índice de massa corporal (IMC) utilizando critérios de classificação segundo a WHO (1995).

O consumo de bebidas alcoólicas será coletado através das perguntas: 1) Alguma vez na vida você já ingeriu bebida alcoólica?; 2) Você ingere bebida alcoólica atualmente?; 3) Se você não bebe atualmente, há quanto tempo parou de beber?; Se bebe atualmente, bebe diariamente uma dose, mais de uma dose ou esporadicamente?; 4) Nos últimos 30 dias, qual o máximo de doses que você bebeu em uma mesma ocasião?.

Os remédios de uso contínuo serão coletados por uma questão aberta onde será perguntado se a pessoa utiliza algum remédio de uso contínuo e, caso positivo, para qual doença, qual o nome do medicamento e a dosagem ingerida.

O sangue periférico será coletado em frascos sem e com anticoagulante (Heparina) por um enfermeiro treinado. O plasma e o soro serão separados e armazenados. Os eritrócitos serão isolados, lavados com solução fisiológica, diluídos em água e armazenados em freezer (-80°C). A atividade da ADA será determinada segundo Guisti e Galanti (1984) e expressa em U/L.

A determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico será realizada pelo método de Esterbauer e Cheeseman (1990). A curva de calibração será realizada utilizando 1,1,3,3-tetrametoxipropano, seguindo o

mesmo tratamento das amostras. Os resultados serão calculados em nmol de TBARS/mg proteína.

A medida do conteúdo tiólico total será realizada pelo método de Aksenov e Markesbery (2001). Os resultados serão expressos em nmol TNB/mg de proteína.

A determinação da atividade da catalase será determinada de acordo com o método descrito por Aebi (1984), baseado na decomposição da H_2O_2 , acompanhada a 240 nm, à temperatura ambiente. Os resultados serão expressos em unidades /mg de proteína (sendo uma unidade definida como a quantidade de enzima que decompõe 1 μ mol de H_2O_2 /min/mg de proteína). A atividade da superóxido dismutase será realizada utilizando kit comercial RANSOD® (Randox Laboratories, UK).

Os níveis séricos de PCR serão determinados pela técnica de ELISA, com a utilização do kit comercial da R&D Systems (Minneapolis, MN, EUA) de acordo com as instruções do fabricante.

A quantificação da IL-6 no soro será avaliada por Elisa, utilizando Kits comerciais (eBIOSCIENCE, San Diego, USA), seguindo instruções do fabricante.

3.9 Intervenção:

Todos os nomes da lista de espera de ginástica do projeto NATI, da ESEF-UFPeI, serão contatados via telefone para verificar se há interesse em participar da pesquisa e, caso positivo, averiguar se preenchem os critérios de inclusão e se têm diabetes e/ou qualquer tipo de câncer e, caso tenham hipertensão, se utilizam betabloqueadores.

Caso algum sujeito não preencha os critérios de inclusão e tenha diabetes e/ou qualquer tipo de câncer e utilize betabloqueador para controlar a hipertensão, ele não participará do estudo e voltará à lista de espera. Para todo sujeito excluído nesta fase, outro será sorteado para o contato inicial, garantindo o número previsto de participantes.

Todas as mulheres selecionadas que concordem em participar da pesquisa irão à ESEF na semana seguinte para assinar o termo de consentimento livre e esclarecido, responder um instrumento que avalia a prontidão para atividade física (PAR-Q), retirar aproximadamente 10 mL de sangue intravenoso (onde serão coletados todos os dados bioquímicos) e medir massa corporal e estatura, utilizados posteriormente no cálculo do índice de massa corporal (IMC). Caso respondam positivamente a uma questão do PAR-Q, serão excluídas do estudo, direcionadas à Unidade Básica de Atendimento da área de abrangência de sua residência para que um médico realize uma avaliação de saúde física e, também, serão realocadas à fila de espera do projeto.

Os participantes serão marcados, dependendo de sua disponibilidade, para retornar à ESEF individualmente a partir da semana seguinte, para coletar os dados restantes de linha base. Será marcado um participante por hora. A coleta se dará na seguinte ordem: 1) Preenchimento de um questionário (que compreenderá as variáveis idade, sexo, nível socioeconômico, escolaridade, consumo de bebidas alcoólicas, nível de atividade física no domínio do lazer e deslocamento e remédios de uso contínuo); 2) recordatório alimentar de 24 horas; 3) medida da pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC) de repouso; 4) teste de preensão manual; 5) teste de caminhada de 6 minutos; 6) entrega do pedômetro para que elas usem em tempo integral até o primeiro dia de intervenção.

Caso algum sujeito seja excluído da amostra por anormalidade na PA ou na FC, tanto de repouso, quanto em exercício, será realizado um laudo que será direcionado a uma unidade básica de saúde e/ou cardiologista e outra pessoa da fila de espera do NATI será sorteada para compor seu lugar, garantindo o número previsto de participantes.

Será realizada média de passos por semana de todos os grupos referente ao tempo de uso do pedômetro até o primeiro dia de intervenção para calcular os passos por semana de linha base.

A alocação dos sujeitos nos diferentes grupos do estudo se dará após a coleta das informações de linha base, e os participantes serão notificados via telefone sobre o resultado da alocação.

A intervenção começará na semana seguinte ao término das avaliações de linha base e se desenvolverá durante 12 semanas, com os treinamentos sendo realizados todas as segundas, quartas e sextas-feiras das 8 horas às 9 horas e 10 minutos (1ª turma da manhã), das 9 horas e 10 minutos às 10 horas e 20 minutos (2ª turma da manhã) e das 15 horas às 16 horas e 10 minutos (turma da tarde). Cada participante participará de uma única turma (independente da duração da sessão do mesmo), a qual será agendada previamente ao início da intervenção dependendo da disponibilidade de cada um, podendo haver trocas de horário caso necessário.

O grupo 60% da recomendação semanal de atividade física realizará 30 minutos por sessão de exercício físico, sendo que destes, 15 minutos serão destinados à realização de exercício aeróbio realizado em bicicletas ergométricas horizontais e 15 minutos de exercícios resistidos nos aparelhos de musculação.

O grupo 100% da recomendação semanal de atividade física realizará 50 minutos por sessão de exercício físico, sendo que destes, 25 minutos serão destinados à realização de exercício aeróbio realizado em bicicletas ergométricas horizontais e 25 minutos de exercícios resistidos nos aparelhos de musculação

O grupo 140% da recomendação semanal de atividade física realizará 70 minutos por sessão de exercício físico, sendo que destes, 35 minutos serão destinados à realização de exercício aeróbio realizado em bicicletas ergométricas horizontais e 35 minutos de exercícios resistidos nos aparelhos de musculação.

A cada três semanas, partindo da primeira semana de intervenção, serão realizadas novas coletas sanguíneas para analisar o efeito dose-resposta longitudinal nos parâmetros bioquímicos, junto com medidas de peso, altura e o

teste de preensão manual. Essas coletas serão realizadas nas quintas-feiras para não serem realizadas junto com o treinamento.

As mulheres irão utilizar pedômetros durante os três meses de intervenção e só retirarão no momento da sessão do exercício físico estruturado, onde o avaliador tomará nota, na própria ficha da participante, do número de passos realizados nos dias entre as sessões. Os pedômetros serão da marca Digi-Walker, modelo SW-700.

O recordatório alimentar de 24 horas será realizado em três momentos do estudo: ao início (linha base), na metade (6ª semana) e ao final (12ª semana), para analisar a manutenção ou diferença do comportamento nutricional, principalmente referente à ingestão de micronutrientes.

A intensidade do exercício aeróbio será determinada através da percepção do esforço, onde os sujeitos da pesquisa irão se exercitar entre os níveis 14 e 15 da escala de esforço percebido de Borg.

O treinamento resistido será uma adaptação da periodização linear proposta por Botero et al. (2013) para mulheres menopausadas, onde as participantes serão submetidas a uma semana de adaptação em que serão realizadas 2 séries de 10 a 12 repetições submáximas em cada aparelho de musculação. Durante essa fase, será enfatizada a correta execução dos movimentos, bem como a familiarização com os exercícios de resistência.

Na semana seguinte (semana 2), começará a realização do treinamento resistido periodizado, o qual será composto de três séries para cada aparelho de musculação, com intervalo de um minuto entre elas, variando as repetições máximas (RM) da seguinte maneira: 1) semana dois à semana quatro: de 12 à 14 RM; 2) semanas 5-8: 10 à 12 RM; 3) semanas 9-12: 8 à 10 RM. Os grupos musculares exercitados durante o treinamento resistido serão: peitoral, dorsal, quadríceps e bíceps femoral, bíceps braquial e tríceps.

Todas as sessões de exercício físico serão monitoradas por pessoas treinadas para garantir a execução perfeita dos exercícios no que diz respeito à postura, volume e intensidade, as quais, serão alunos do curso de Licenciatura e Bacharelado em Educação da Universidade Federal de Pelotas.

3.10 Capacitação:

Os monitores do treinamento físico serão treinados durante um turno no que diz respeito à apresentação visual da ficha individual de treinamento dos sujeitos da pesquisa, os exercícios que serão realizados, a forma correta de realizá-los, a periodização de toda a intervenção e o tempo da sessão de treinamento de cada grupo.

O pesquisador principal e a nutricionista colaboradora já estão capacitados quanto a aplicação do recordatório alimentar de 24 horas.

Os integrantes da pesquisa que irão manusear o sangue terão um treinamento de um turno sobre suas respectivas funções, onde serão realizadas todas as análises do estudo, porém com amostras sanguíneas que estão estocadas no laboratório de Biomarcadores do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas.

A análise dos parâmetros bioquímicos do sangue será realizada no laboratório de Biomarcadores do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas por pessoas treinadas nas análises de interesse.

Os integrantes que irão aplicar o questionário terão um turno de treinamento para a familiarização com o instrumento e técnica de entrevista.

O treinamento das equipes será em dias diferentes.

3.11 Controle de qualidade:

Para o controle de qualidade, as amostras sanguíneas serão analisadas em triplicata; serão realizadas reuniões semanais de acompanhamento com as pessoas da equipe que irão supervisionar o treinamento físico; durante toda a intervenção e nas análises do resultado cada membro da equipe terá uma única função a desempenhar e os dados serão digitados em duplicata no software EpiData 3.1.

3.12 Análise estatística:

Para a realização da análise estatística será utilizado o pacote estatístico Stata 12.0. O teste de Shapiro-Wilk será utilizado para determinar a normalidade de distribuição e o teste de Bartlett para verificar a homogeneidade das variâncias. Em caso de atendimento aos pressupostos anteriormente mencionados, será utilizada Análise de Variância Fatorial seguido do *post hoc* de Tukey. Em caso de não atendimento dos pressupostos, será utilizado o Teste de Friedman ou a variável será transformada para logaritmo. Adicionalmente será testada tendência linear entre os diferentes grupos. Os resultados serão expressos como média $\pm$ desvio padrão. As variáveis passos/dia, e consumo alimentar (especialmente micronutrientes), caso atendam os pressupostos de normalidade serão testadas através da Análise de Variância Fatorial, caso contrário, pelo teste de Friedman. Em caso de diferenças estatisticamente significantes entre os grupos e/ou entre os momentos, serão introduzidas na análise para controle de confusão a partir da Análise de Covariância (ANCOVA). Todas as análises serão feitas por intenção de tratar. O nível mínimo de significância aceito será de 5%.

3.13 Aspectos éticos:

O projeto será submetido para a Plataforma Brasil visando a aprovação no comitê de ética em pesquisa com seres humanos. Neste estudo existem riscos normais à prática de exercícios físicos. Além disso, a intervenção e os testes físicos serão supervisionados por pessoal formado em primeiros-socorros, aptos a prestarem atendimento emergencial e, caso ocorra algum problema, a SAMU (fone: 192) será acionada.

Todos os participantes irão assinar o termo de consentimento livre e esclarecido (anexo 2). Após a intervenção, será oferecido ao grupo controle realizar um dos protocolos de treinamento utilizados neste estudo por tempo indeterminado, já que, em virtude do delineamento de pesquisa, é necessário que um dos grupos não seja exposto à intervenção para garantir que os possíveis resultados encontrados sejam devido à intervenção, e não ao acaso.

O benefício de participar da pesquisa relaciona-se ao fato que os resultados serão incorporados ao conhecimento científico e posteriormente a situações de ensino-aprendizagem. O benefício direto para a amostra do estudo é que todas as mulheres irão começar a um programa de exercícios físicos antes do que se continuassem na fila de espera do NATI (mesmo o grupo controle), pois elas só seriam alocadas no NATI no ano de 2015. Após o estudo, as mulheres que desejarem, poderão continuar o programa de exercício físico sem algum custo por tempo indeterminado.

Todas as mulheres que (durante os testes ou durante a intervenção) apresentarem algum problema de saúde, serão encaminhadas para a Unidade Básica de Atendimento da área de abrangência de sua residência junto com um laudo escrito pelo pesquisador.

Por se tratar de um ensaio clínico randomizado, o projeto será submetido ao ClinicalTrials (<http://clinicaltrials.gov/>) e ao site específico para registro de ensaios clínicos do Ministério da Saúde do Brasil (<http://www.ensaiosclinicos.gov.br/>).

4. Orçamento

Parâmetros de estresse oxidativo: R\$ 1.500,00 (Kit SOD + ácido tiobarbitúrico);

ADA: R\$ 1.000,00 (adenosina).

6. Referências:

AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods in Enzymology**, v. 105, p. 121-126, 1984.

AKBARPOUR, M. The effect of aerobic training on serum adiponectin and leptin levels and inflammatory markers of coronary heart disease in obese men. **Biology of Sport**, v. 30, n. 1, p. 21-27, 2013.

AKSENOV M.Y, MARKESBERY W.R. **Neuroscience Letters**, v. 302, p. 141-145, 2001.

ALWAN, A. et al. Monitoring and surveillance of chronic noncommunicable diseases: progress and capacity in high-burden countries. **The Lancet**, v. 376, n. 9755, p. 1861-1868, 2010.

ANGELI, A. et al. The overtraining syndrome in athletes: a stress-related disorder. **Journal of Endocrinological Investigation**, v. 27, p. 603-612, 2004.

ANGELI, F. et al. Neutrophil count for the identification of postmenopausal hypertensive women at increased cardiovascular risk. **Obstetrics and gynecology**, v. 115, p. 695–703, 2010.

ANTONIOLI, L. et al. Inhibition of adenosine deaminase attenuates inflammation in experimental colitis. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 322, p. 435–442, 2007.

ASCENSAO, A. et al. Exercise and cardiac oxidative stress. **Revista Portuguesa de Cardiologia**, v. 22, p. 651-678, 2003.

BACURAU, R.F. et al. Effect of a moderate intensity exercise training protocol on the metabolism of macrophages and lymphocytes of tumour-bearing rats. **Cell Biochemistry & Function**, v. 18, p. 249-258, 2000.

BESEDOVSKY, H.O.; DEL REY, A.E.; SORKIN, E. Immune-neuroendocrine interactions. **The Journal of Immunology**, v. 135, p. 750s-754s, 1985.

BESEDOVSKY, H.O.; DEL REY, A. Immune-neuro-endocrine interactions: facts and hypotheses. **Endocrine Reviews**, v. 17, p. 64-102, 1996.

BOOTH, M.L. et al. Physical activity preferences, preferred sources of assistance, and perceived barriers to increased activity among physically inactive Australians. **Preventive Medicine**, v. 26, n. 1, p. 131-137, 1997.

BOTERO, J.P. et al. Effects of long-term periodized resistance training on body composition, leptin, resistin and muscle strength in elderly post-menopausal women. **The Journal of sports medicine and physical fitness**, v. 53, n. 3, p. 289-294, 2013.

BOURS, M. et al. Adenosine 5'-triphosphate and adenosine as endogenous signaling molecules in immunity and inflammation. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 112, p. 358-404, 2006.

BROWNSON, R.C. et al. Environmental and policy determinants of physical activity in the United States. **American Journal of Public Health**, v. 91, n. 12, p. 1995-2003, 2001.

BRUNELLI, D.T. et al. Immune responses to an upper body tri-set resistance training session. **Clinical Physiology and Functional Imaging**, v. 34, n. 1, p. 64-71, 2014.

BRUUNSGAARD, H.; PEDERSEN, B.K. Special feature for the Olympics: effects of exercise on the immune system: effects of exercise on the immune system in the elderly population. **Immunology & Cell Biology**, v. 78, p. 523-531, 2000.

CAMPBELL, P.T. et al. A yearlong exercise intervention decreases CRP among obese postmenopausal women. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 41, n. 8, p. 1533-1539, 2009.

CAMPBELL, P.T. et al. Effect of exercise on in vitro immune function: a 12-month randomized, controlled trial among postmenopausal women. **Journal of Applied Physiology**, v. 104, n. 6, p. 1648-1655, 2008.

CASSOU, A.C.N. et al. Barriers to physical activity among Brazilian elderly women from different socioeconomic status: a focus-group study. **Journal of Physical Activity & Health**, v. 8, n. 1, p. 126-132, 2011.

CHUBAK, J. et al. Moderate-intensity exercise reduces the incidence of colds among postmenopausal women. **The American Journal of Medicine**, v. 119, n. 11, p. 937-942, 2006.

CHURCH, T.S. et al. Effects of different doses of physical activity on cardiorespiratory fitness among sedentary, overweight or obese postmenopausal women with elevated blood pressure: a randomized controlled trial. **The Journal of the American Medical Association**, v. 297, n. 19, p. 2081-2091, 2007.

DAVIDSON, S.R.; BURNETT. M.; HOFFMAN-GOETZ L. Training effects in mice after longterm voluntary exercise. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 38, p. 250-255, 2006.

DAVIES, K.J.A. et al. Free radicals and tissue damage produced by exercise. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 107, p. 1198-1205, 1982.

DOSSUS, L. et al. Obesity, inflammatory markers, and endometrial cancer risk: a prospective case-control study. **Endocrine-Related Cancer**, v. 17, p. 1007–1019, 2010.

ESTERBAUER H., CHEESEMAN K.H. **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 407-421, 1990.

FRANCO, R. et al. Enzymatic and extraenzymatic role of adenosine deaminase 1 in T-cell-dendritic cell contacts and in alterations of the immune function. **Critical reviews in immunology**, v. 27, p. 495–509, 2007.

GESSI, S. et al. Adenosine and lymphocyte regulation. **Purinergic Signalling**, v. 3, p. 109-116, 2007.

GHAEMI OSKOUIE, F. et al. High levels of adenosine deaminase on dendritic cells promote autoreactive T cell activation and diabetes in nonobese diabetic mice. **The Journal of Immunology**, v. 186, p. 6798–6806, 2011.

GILLUM, R.F.; MUSSOLINO, M.E.; MADANS, J.H. Counts of neutrophils, lymphocytes, and monocytes, cause-specific mortality and coronary heart disease: the NHANES-I epidemiologic follow-up study. **Annals of Epidemiology**, v. 15, p. 266–271, 2005.

GLEESON, M. Invited review. Immune function in sport and exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 103, n. 2, p. 963-699, 2007.

GLEESON, M. et al. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. **Nature Reviews Immunology**, v. 11, n. 9, p. 607-615, 2011.

GLEESON, M.; PYNE, D.B. Special feature for the Olympics: effects of exercise on the immune system: exercise effects on mucosal immunity. **Immunology & Cell Biology**, v. 78, p. 536-544, 2000.

GRATT, J.M.; SCHOUTEN, E.G.; KOK, F.J. Effect of daily vitamin E and multivitamin/mineral supplementation on acute respiratory tract infections in elderly persons. **The Journal of the American Medical Association**, v. 288, n. 6, p. 715-721, 2002.

GUISTI, G.; GALANTI, B. Colorimetric method. In: BERGMEYER, H.U. (ed). **Methods of enzymatic analysis**. Verlag Chemie, Weinheim. 1984.

HALLIWELL, Barry; GUTTERIDGE, John M.C. **Free radicals in biology and medicine**. 4.ed. New York: Oxford UK, 2007. 704 p.

HEMILÄ, H. Vitamin C and common cold incidence: a review of studies with subjects under heavy physical stress. **International Journal of Sports Medicine**, v. 17, n. 5, p. 379-383, 1996.

HUNG, J. et al. C-reactive protein and interleukin-18 levels in relation to coronary heart disease: prospective cohort study from Busselton Western Australia. **Heart, Lung and Circulation**, v. 17, n. 2, p. 90-95, 2008.

IMAYAMA, I. et al. Effects of a caloric restriction weight loss diet and exercise on inflammatory biomarkers in overweight/obese postmenopausal women: a randomized controlled trial. **Cancer Research**, v. 72, n. 9, p. 2314-2326, 2012.

JENG, K.C. et al. Supplementation with vitamins C and E enhances cytokine production by peripheral blood mononuclear cells in healthy adults. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 64, n. 6, p. 960-965, 1996.

JOHANNSEN, N.M. et al. Effect of Different Doses of Aerobic Exercise on Total White Blood Cell (WBC) and WBC Subfraction Number in Postmenopausal Women: Results from DREW. **PLoS ONE**, v. 7, n. 2, p. e31319, 2012.

JONSDOTTIR, I.H. Exercise immunology: neuroendocrine regulation of NK-cells. **International Journal of Sports Medicine**, v. 21, Suppl. 1, p. S20-S23, 2000.

JONSDOTTIR, I.H.; HOFFMANN, P.; THORÈN, P. Physical exercise, endogenous opioids and immune function. **Acta physiologica Scandinavica. Supplementum**, v. 640, p. 47-50, 1997.

KADOGLU, N. P. et al. Exercise reduces resistin and inflammatory cytokines in patients with Type 2 diabetes. **Diabetes Care**, v. 30, p. 719–721, 2007.

KARADENIZ, G. et al. Does chronic exercise alter immune parameters in postmenopausal women? **International Journal of Immunotherapy**, v. 18, n. 3-4, p. 99-104, 2002.

KIMM, S.Y. et al. Self-perceived barriers to activity participation among sedentary adolescent girls. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 38, n. 3, p. 534-540, 2006.

KISHIMOTO, T. Interleukin-6: from basic science to medicine – 40 years in immunology. **Annual Review of Immunology**, v. 23, p. 1-21, 2005.

KISHIMOTO, T. The biology of interleukin-6. **Blood Journal**, v. 74, p. 1-10, 1989.

LAZZAROTTO, Alexandre Ramos. **O treinamento concorrente com séries simples nos parâmetros imunológicos, virológico, cardiorrespiratório e muscular de indivíduos infectados pelo vírus da Imunodeficiência Humana Tipo 1**. 2007. 83 f. Tese (Doutorado em Ciências do Movimento Humano) - Escola de Educação Física, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

LEE, I.M. et al. Physical activity and coronary heart disease in women: is "no pain, no gain" passé? **The Journal of the American Medical Association**, v. 285, n. 11, p. 1447-1454, 2001.

LEE, I-M. et al. Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: an analysis of burden of disease and life expectancy. **The Lancet**, v. 380, n. 9838, p. 219-229, 2012.

MACKINNON, L.T. Chronic exercise training effects on immune function. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 32, suppl. 7, p. S369-S376, 2000.

MAKRAS, P. et al. Effect of 4 weeks of basic military training on peripheral blood leucocytes and urinary excretion of catecholamine and cortisol. **Journal of Sports Sciences**, v. 23, p. 825-834, 2005.

MARGOLIS, K.L. et al. Leukocyte count as a predictor of cardiovascular events and mortality in postmenopausal women: the Women's Health Initiative Observational Study. **Archives of internal medicine**, v. 165, p. 500–508, 2005.

MARLEY, W.; LIONNERUD, A. A three-year study of the Astrand-Ryhming Step Test. **Research Quarterly**, v. 47, p. 211-217, 1976.

MARTINEZ-NAVIO, J.M. et al. Adenosine deaminase potentiates the generation of effector, memory, and regulatory CD4 + T cells. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 89, p. 127–136, 2011.

MATHIS, D.; SHOELSON, S. Immunometabolism: na emerging frontier. **Nature Reviews Immunology**, v. 11, p. 81–93, 2011.

McARDLE, William D.; KATCH, Frank I.; KATCH, Victor L. **Fisiologia do Exercício: nutrição, energia e desempenho humano**; 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, Traduzido por Taranto, G. 2011. 1061 p.

McBRIDE, J.M. et al. Effect of resistance exercise on free radical production. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 30, n. 1, p. 67-72, 1998.

MEDEIROS, S.F.; MAITELLI, A.; NINCE, A.P.B. Efeitos da terapia hormonal na menopausa sobre o sistema imune. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 29, n. 11, p. 593-601, 2007.

MEDEIROS, S.F.; OLIVEIRA, V.N.; YAMAMOTO, M.M.W. Epidemiologia clínica do climatério. **Reprodução & Climatério**, v. 18, n. 1, p. 79-86, 2003.

MENEGUINI R. A toxicidade do oxigênio. **Ciência Hoje**, v. 5, n. 28, p. 57-62, 1987.

MEYDANI, S.N. et al. Vitamin E supplementation and in vivo immune response in healthy elderly subjects. **The Journal of the American Medical Association**, v. 277, n. 17, p. 1380-1386, 1997.

NIEMAN, D.C. et al. Cytokine changes after a marathon race. **Journal of Applied Physiology**, v. 91, n. 1, p. 109-114, 2001.

NIEMAN, D.C. et al. Influence of carbohydrate ingestion on immune changes after 2 h of intensive resistance training. **Journal of Applied Physiology**, v. 96, n. 4, p. 1293-1298, 2004.

NIEMAN, D.C. et al. Influence of mode and carbohydrate on the cytokine response to heavy exertion. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 30, n. 5, p. 671-678, 1998.

NIEMAN, D.C. et al. Natural killer cell cytotoxic activity in weight trainers and sedentary controls. **The Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 8, n. 4, p. 251, 1994.

NIEMAN, D.C. Is infection risk linked to exercise workload? **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 32, suppl. 7, p. S406-S411, 2000.

OLSEN, N.J.; KOVACS, W.J. Gonadal steroids and immunity. **Endocrine Reviews**, v. 17, n. 4, p. 369-384, 1996.

PATTWELL, D.M.; JACKSON, M.J. Contraction-induced oxidants as mediators of adaptation and damage in skeletal muscle. **Exercise and Sport Sciences Reviews**, v. 32, n. 1, p. 14-18, 2004.

PEDERSEN, B.K.; HOFFMAN-GOETZ, L. Exercise and the immune system: regulation, integration, and adaptation. **Physiological Reviews**, v. 80, p.1055-1081, 2000.

PERES, C.M.; OTTON, R.; CURI, R. Modulation of lymphocyte proliferation by macrophages and macrophages loaded with arachidonic acid. **Cell Biochemistry and Function**, v. 23, p. 373-381, 2005.

PETERS-FUTRE, E.M. Vitamin C, neutrophil function, and URTI risk in distance runners: the missing link. **Exercise Immunology Review**, v. 3, p. 32-52, 1997.

PFEILSCHIFTER, J. et al. Changes in proinflammatory cytokine activity after menopause. **Endocrine Reviews**, v. 23, p. 90–119, 2002.

PLAYFAIR, J.H.L.; CHAIN, B.M. **Imunologia básica**: guia ilustrado de conceitos fundamentais; 9.ed. Barueri, SP: Manole, Traduzido por Oliveira, S.I. 2013. 112 p.

POWERS, S.K.; JI, L.L.; LEEUWENBURGH, C. Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a review. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 31, n. 7, p. 987-997, 1999.

PRESTES, J. et al. Effects of resistance training on resistin, leptin, cytokines, and muscle force in elderly post-menopausal women. **Journal of Sports Sciences**, v. 27, n. 14, p. 1607-1615, 2009.

REICHERT, F.F. et al. The role of perceived personal barriers to engagement in leisure-time physical activity. **American Journal of Public Health**, v. 97, n. 3, p. 515-519, 2007.

REILLY, M. P. et al. Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans. **Circulation**, v. 111, p. 932–939, 2005.

ROSA, L. F. P. B. C.; VAISBERG, M.W. Influências do exercício na resposta imune. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 8, n. 4, p. 167-172, 2002.

SCHARHAG, J. et al. Effects of graded carbohydrate supplementation on the immune response in cycling. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 38, n. 2, p. 286-292, 2006.

SCHULENBURG, H.; KURZ, C.L.; EWBANK, J.J. Evolution of the innate immune system: the worm perspective. **Immunological Reviews**, v. 198, p. 36–58, 2004.

SHAROYAN, S. et al. Influence of dipeptidyl peptidase IV on enzymatic properties of adenosine deaminase. **Acta Biochimica Polonica**, v. 53, p. 539–546, 2006.

SHERN-BREWER, S. et al. Exercise and cardiovascular disease: a new perspective. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 18, n.7, p. 1181-1187, 1998.

SIEMES, C. et al. C-reactive protein levels, variation in the C-reactive protein gene, and cancer risk: the Rotterdam Study. **Journal of Clinical Oncology**, v. 24, p. 5216–5222, 2006.

SOUTHORN PA, POWIS G. Free radicals in medicine II. Involvement in human disease. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 63, p. 390-408, 1988.

STEENSBURG, A. et al. IL-6 enhances plasma IL-1ra, IL-10, and cortisol in humans. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, vol. 285, n. 2, p. E433–E437, 2003.

STEENSBURG, A. et al. Strenuous exercise decreases the percentage of type 1 T cells in the circulation. **Journal of Applied Physiology**, v. 91, n. 4, p. 1708-1712, 2001.

STEWART, L.K. et al. Effects of different doses of physical activity on C-reactive protein among women. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 42, n. 4, p. 701-707, 2010.

STUPKA, N. et al. Gender differences in muscle inflammation after eccentric exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 89, n. 6, p. 2325-2332, 2000.

SUZUI, M. et al. Natural killer cell lytic activity and CD56(dim) and CD56(bright) cell distributions during and after intensive training. **Journal of Applied Physiology**, v. 96, n. 6, p. 2167-2173, 2004.

VINCENT, H.K. et al. Exercise training protects against contraction-induced lipid peroxidation in the diaphragm. **European Journal of Applied Physiology**, v. 79, n. 3, p. 268-273, 1999.

VOZAROVA, B. et al. High white blood cell count is associated with a worsening of insulin sensitivity and predicts the development of type 2 diabetes. **Diabetes**, v. 51, p. 455–461, 2002.

WANG, T. et al. Aprospective study of inflammation markers and endometrial cancer risk in postmenopausal hormone nonusers. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 20, p. 971–977, 2011.

WEN, C.P. et al. Minimum amount of physical activity for reduced mortality and extended life expectancy: a prospective cohort study. **The Lancet**, v. 378, n. 9798, p. 1244-1253, 2011.

WEN, C.P.; WU, X. Stressing harms of physical inactivity to promote exercise. **The Lancet**, v. 380, n. 9838, p. 192-193, 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global recommendations on physical activity for health**. Geneva: World Health Organization; 2010

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global status report on noncommunicable diseases 2010**. Geneva: World Health Organization; 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Physical Status**: The use and interpretation of anthropometry. Geneva: World Health Organization; 1995.

YEH, S. S. et al. The correlation of cytokine levels with body weight after megestrol acetate treatment in geriatric patients. **Journals of Gerontology: Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 56, n. 1, p. 48–54, 2001.

7. Anexos

7.1 Par-Q:



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
ESCOLA SUPERIOR DE EDUCAÇÃO FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM EDUCAÇÃO FÍSICA
EFEITO DOSE-RESPOSTA ENTRE DIFERENTES VOLUMES DE EXERCÍCIO ESTRUTURADO NA
IMUNOMODULAÇÃO E SISTEMA REDOX EM MULHERES MENOPAUSADAS.

PAR-Q

Nome: _____

Data: ____/____/____

1. Alguma vez, um médico ou profissional de saúde disse que você possui um problema no coração e recomendou que fizesse atividade física sob supervisão médica? (0) Sim (1) Não	SUPERMED ____
2. Você sente ou já sentiu dor no peito quando faz atividade física? (0) Sim (1) Não	DPEIAF ____
3. Você sentiu dor no peito, sem fazer esforços nos últimos meses? (0) Sim (1) Não	DPEIREP ____
4. Você tende a cair ou perder a consciência como resultado de tonteira? (0) Sim (1) Não	TONT ____
5. Você tem algum problema ósseo, muscular ou articular que poderia ser agravado com a prática de atividade física? (0) Sim (1) Não	PROSS ____
6. Algum médico já recomendou o uso de medicamentos para a sua pressão arterial ou condição cardiovascular (ex: diuréticos e outros)?	BBLOQ ____

(0) Sim (1) Não	
7. Você tem conhecimento, através de sua própria experiência ou aconselhamento médico, de alguma outra razão que o impeça de praticar atividades físicas sem supervisão médica? (0) Sim (1) Não	SUMED __

7.2 Termo de consentimento livre e esclarecido:

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Pesquisador responsável: Airton José Rombaldi
 Instituição: Escola Superior de Educação Física da Universidade Federal de Pelotas
 Endereço: Rua Luiz de Camões, 625, Pelotas/RS
 Telefone: (53) 3273-2752

Concordo em participar do estudo “Efeito dose-resposta de diferentes volumes de exercício estruturado na atividade da adenosina deaminase, proteína-C-reativa e sobre parâmetros de estresse oxidativo em mulheres menopausadas”. Estou ciente de que estou sendo convidado a participar voluntariamente do mesmo.

PROCEDIMENTOS: Fui informado de que o objetivo geral do estudo será “Verificar o efeito dose-resposta de diferentes volumes de um programa de exercícios físicos estruturado na atividade da adenosina deaminase, proteína-C-reativa e sobre parâmetros de estresse oxidativo em mulheres menopausadas ao longo de 12 semanas”, cujos resultados serão mantidos em sigilo e somente serão usadas para fins de pesquisa. Estou ciente de que a minha participação envolverá “ser sorteada em um dos grupos de exercício ou no grupo controle e, caso sorteada para o grupo exercitado, realizar um programa estruturado de exercícios físicos durante três meses ou, caso sorteada para o grupo controle, realizar aulas de pintura uma vez por semana. Serão realizadas três coletas sanguíneas, junto com medidas de peso, altura e o teste de preensão manual durante o período de estudo. No início e ao final da intervenção, irei realizar um teste submáximo de esforço e preencher um recordatório alimentar (que será preenchido, também, na metade do estudo). Também irei utilizar um pedômetro, em tempo integral, durante toda a intervenção”.

RISCOS E POSSÍVEIS REAÇÕES: Fui informado que existem riscos normais à prática de exercícios físicos. Além disso, a intervenção e os testes físicos serão supervisionados por pessoas formadas em primeiros-socorros, aptos a prestarem atendimento emergencial e, caso ocorra algum problema, a SAMU 192 será chamada.

BENEFÍCIOS: O benefício de participar da pesquisa relaciona-se ao fato que os resultados serão incorporados ao conhecimento científico e posteriormente a situações de ensino-aprendizagem, além de que, irei começar um programa estruturado de exercícios físicos antes do que se continuasse na fila de espera do projeto NATI.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA: Como já me foi dito, minha participação neste estudo será voluntária e poderei interrompê-la a qualquer momento.

DESPESAS: Eu não terei que pagar por nenhum dos procedimentos, nem receberei compensações financeiras.

CONFIDENCIALIDADE: Estou ciente que a minha identidade permanecerá confidencial durante todas as etapas do estudo.

CONSENTIMENTO: Recebi claras explicações sobre o estudo, todas registradas neste formulário de consentimento. Os investigadores do estudo responderam e responderão, em qualquer etapa do estudo, a todas as minhas perguntas, até a minha completa satisfação. Portanto, estou de acordo em participar do estudo. Este Formulário de Consentimento Pré-Informado será assinado por mim e arquivado na instituição responsável pela pesquisa.

Nome do participante/representante legal: _____

Identidade: _____

ASSINATURA: _____ DATA: ____ / ____ / ____

DECLARAÇÃO DE RESPONSABILIDADE DO INVESTIGADOR: Expliquei a natureza, objetivos, riscos e benefícios deste estudo. Coloquei-me à disposição para perguntas e as

respondei em sua totalidade. O participante compreendeu minha explicação e aceitou, sem imposições, assinar este consentimento. Tenho como compromisso utilizar os dados e o material coletado para a publicação de relatórios e artigos científicos referentes a essa pesquisa. Se o participante tiver alguma dúvida ou preocupação sobre o estudo pode entrar em contato através do meu endereço acima. Para outras considerações ou dúvidas sobre a ética da pesquisa, entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da ESEF/UFPel – Rua Luís de Camões, 625 – CEP: 96055-630 - Pelotas/RS; Telefone CEP (53)3273-2752.

ASSINATURA DO PESQUISADOR RESPONSÁVEL: _____

7.3 Instrumento para coleta de dados de linha base:



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

ESCOLA SUPERIOR DE EDUCAÇÃO FÍSICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EDUCAÇÃO FÍSICA

EFEITO DOSE-RESPOSTA DE DIFERENTES VOLUMES DE EXERCÍCIO ESTRUTURADO NA ATIVIDADE DA ADENOSINA DEAMINASE, PROTEÍNA-C-REATIVA E SOBRE PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO EM MULHERES MENOPAUSADAS: UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO

Questionário

Nº do questionário _____ (não preencher)	NQUES _____
1. Data: ____/____/____	DATA ____/____/____
2. Nome: _____	
3. Data de Nascimento: ____/____/____	DNASC ____/____/____
4. Renda Familiar (em reais): _____	RENFAM _____
5. Estado Civil: (0) Casada ou vive com companheiro (1) Solteira (2) Separada (3) Viúva (9) IGN	ESTCI _____
6. Cor da pele: (0) Branca (1) Negra (2) Outro (9) IGN	COR _____
7. Escolaridade: (0) Ensino fundamental incompleto (1) Ensino fundamental completo (2) Ensino médio incompleto (3) Ensino médio completo (4) Ensino superior incompleto (5) Ensino superior completo (9) IGN	ESC _____
8. Você utiliza algum remédio de uso contínuo? (0) Não (1) Sim Qual? _____ Dosagem: _____	REMED _____ QUAL _____ DOS _____

(9) IGN	
Tabagismo	
9. Vocês já fumou alguma vez na vida? (0) Não (PULE PARA O PRÓXIMO BLOCO, QUESTÃO 14) (1) Sim (9) IGN	JAFUM _____
10. Você fuma atualmente? (0) Não (1) Sim (PULE PARA QUESTÃO 12) (8) NSA (9) IGN	FUMO _____
11. Se você não fuma atualmente, há quanto tempo parou de fumar? _____ anos _____ meses (PULE PARA QUESTÃO 14) (888) NSA (999) IGN	PAROUTEM _____
12. Se fuma atualmente: (0) Fuma diariamente (um ou mais cigarros por dia há mais de um mês) (1) Fuma ocasionalmente (um ou mais cigarros no mês) (PULE PARA QUESTÃO 14) (8) NSA (9) IGN	FUMAATU _____
13. Se fuma diariamente, quantos cigarros fuma por dia? _____ cigarros (888) NSA (999) IGN	NUMCIGAR _____
Consumo de bebidas alcoólicas	
Lembrando que uma dose refere-se a 285 mL (1 copo) de cerveja, ou 120 mL (1 taça) de vinho, ou 30 mL (1 shot – como de dose) de destilados.	
14. Alguma vez na vida você ingeriu bebida alcoólica? (0) Não (PULE PARA A QUESTÃO 19) (1) Sim (9) IGN	JABEB _____
15. Você ingere bebida alcoólica atualmente? (0) Não (1) Sim (PULE PARA A QUESTÃO 17) (8) NSA (9) IGN	BEBO _____
16. Se você bebe atualmente, há quanto tempo parou de beber? _____ anos _____ meses (PULE PARA QUESTÃO 19) (888) NSA (999) IGN	PAROUBEBTEM _____

17. Se bebe atualmente: (0) bebe diariamente (uma dose) (1) bebe diariamente (mais de uma dose) (2) bebe esporadicamente (8) NSA (9) IGN	BEBEATU____
18. Nos últimos 30 dias, qual o máximo de doses que você bebeu em uma mesma ocasião? _____ doses (888) NSA (999) IGN	MAXDOS____
Agora vamos conversar sobre <u>atividades físicas</u>. Para responder essas perguntas você deve saber que <u>atividades físicas fortes</u> são as que exigem grande esforço físico e que fazem respirar <u> muito mais rápido </u> que o normal. <u>Atividades físicas médias</u> são as que exigem esforço físico médio e que fazem respirar <u>um pouco mais rápido</u> que o normal. Em todas as perguntas sobre atividade física, considere uma <u>semana habitual</u> e responda somente sobre aquelas que duram <u>pelo menos 10 minutos seguidos</u>.	
Agora eu gostaria que você pensasse apenas nas atividades que você faz no seu <u>tempo livre, lazer</u>.	
19. Quantos dias por semana você faz caminhadas no seu tempo livre? (0) Nenhum, PULE PARA A QUESTÃO 21 (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) dias	ANDADIALA____
20. SE CAMINHA: Nos dias em que você caminha no seu tempo livre, quanto tempo no total duram essas caminhadas por dia? ____ horas ____ minutos = ____ minutos	ANDALA____
21. Quantos dias por semana você faz atividades físicas FORTES no seu tempo livre, como correr, fazer ginástica de academia, pedalar em ritmo rápido, praticar esportes competitivos, etc.? (0) Nenhum, PULE PARA A QUESTÃO 23 (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) dias	DIASFORLA____
22. SE FAZ ATIVIDADES FÍSICAS FORTES: Nos dias em que você faz essas atividades FORTES, quanto tempo no total elas duram por dia? ____ horas ____ minutos = ____ minutos	TEMFORLA____
23. Quantos dias por semana você faz atividades físicas MÉDIAS sem contar as caminhadas no seu tempo livre, como nadar ou pedalar em ritmo médio, praticar esportes por diversão, etc.? (0) Nenhum, PULE PARA A QUESTÃO 25 (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) dias	DIASMEDLA____
24. SE FAZ ATIVIDADES FÍSICAS MÉDIAS: Nos dias em que você faz essas atividades MÉDIAS, quanto tempo no total elas duram por dia? ____ horas ____ minutos = ____ minutos	TEMMEDLA____
Agora eu gostaria que você pensasse como você <u>se desloca de um lugar ao outro</u>. Pode ser a ida e vinda do trabalho, quando vai fazer compras, visitar amigos, ir ao supermercado, etc. Lembre de falar apenas das atividades que você faz em uma <u>semana habitual</u> e que duram pelo menos <u>10 minutos seguidos</u>.	

Lanche da tarde 1				
Local:				
Horário:				
Lanche da tarde 2				
Local:				
Horário:				
Jantar				

Fim do recordatório alimentar				
Resultados dos testes				
32. Frequência cardíaca de repouso: _____ bpm			FCR _____	
33. Pressão arterial de repouso: _____/____ mmHg			PAR _____	
34. Teste de prensão manual: _____ kgf			KGF _____	
35. Distância percorrida no teste de 6 minutos: _____ metros			T6 _____	
36. Peso: _____ kg			PESO _____	
37. Altura: _____ cm			ALTUR _____	
38. Passos por dia: _____ passos			PASSOS _____	

2. Relatório do trabalho de campo

(Dissertação de Matheus Pintanel Silva de Freitas)

Relatório do trabalho de campo:

Destinei esse espaço para dissertar a respeito das mudanças do projeto de pesquisa original que foram necessárias para a realização do estudo. A metodologia do artigo 2 da presente dissertação explica detalhadamente a metodologia utilizada.

O estudo foi realizado quase que inteiramente como descrito no projeto, porém, em decorrência de alguns aspectos, as mudanças listadas abaixo foram necessárias para o desenvolvimento da pesquisa.

Inicialmente, previa-se que as coletas sanguíneas seriam realizadas a cada três semanas, porém isso aumentaria a chance de recusa e o preço do estudo. Devido a isso, optou-se por realizar apenas três coletas no decorrer da intervenção (na linha base, no meio –6ª semana– e no final do estudo –12ª semana–). Para assegurar que mediríamos os efeitos crônicos do exercício, e não os efeitos agudos, optou-se por realizar as coletas sanguíneas 48 horas após a última sessão de exercício físico.

Alguns desfechos bioquímicos precisaram ser modificados. Caso analisássemos os níveis de PCR e IL-6, o custo do estudo estaria demasiadamente alto. Como as perdas começaram a ser maiores do que esperávamos, e o cálculo do tamanho de amostra pela IL-6 gerava um número menor de pessoas por grupo, optou-se pela retirada da PCR. Em contrapartida, já possuíamos os kits para análise da Butirilcolinesterase (BChE), então substituímos a PCR pela BChE. Ademais, o espectrofotômetro utilizado nas análises da atividade da catalase estragou uma semana após nossas análises, e como os valores estavam demasiadamente absurdos, resolveu-se retirá-los das análises evitando um possível erro de medida em decorrência de problemas no equipamento.

No que se refere às sessões de treinamento resistido, ao invés de fazermos como estava planejado (o que, possivelmente, impediria a realização desse treinamento dentro do tempo estipulado), notamos que se fizéssemos em forma de circuito, o tempo seria controlado exatamente conforme fora planejado. O circuito se deu da seguinte forma: existiam 10 aparelhos em uma

ordem preestabelecida, as mulheres colocavam-se dispostas uma em cada aparelho e começavam a fazer o treinamento. A faixa de repetições máximas continuou como planejado, porém elas faziam quantas séries o tempo permitisse, pois logo após terminarem o circuito de 10 aparelhos, elas retornavam ao primeiro e reiniciavam as atividades.

O estudo se tornou duplo-cego, pois além do pesquisador que analisou os resultados, a equipe que coletou os dados estava cega em relação aos grupos de intervenção.

Inicialmente, fora definido que uma adesão inferior que 91% excluiria a paciente do estudo, porém achamos um critério muito rígido e, como somente seis das 31 mulheres que completaram o estudo aderiram menos que 75% das sessões de treinamento e o número da amostra já estava pequeno, decidimos que esse controle era desnecessário.

Devido ao teste para aptidão cardiorrespiratória ser, inicialmente, um teste submáximo que levava em conta a frequência cardíaca para o cálculo do consumo máximo de oxigênio, definimos que a utilização de beta-bloqueadores seria um critério de exclusão. Porém, como a maior parte das mulheres contatadas utilizava esse tipo de medicamento, optamos por não realizar uma estimativa do consumo máximo de oxigênio e testar a aptidão física através do teste de caminhada de 6 minutos. Devido a isso, o uso de beta-bloqueadores não foi um critério de exclusão.

O número de passos dados por dia, mensurado pelos pedômetros, seria uma variável de controle da atividade física que as mulheres faziam fora da intervenção. Porém a grande maioria dos pedômetros apresentou algum defeito que impossibilitava o uso de seus dados. Devido a isso, optou-se por retirar o número de passos da análise e utilizar, para esse fim, somente o nível de atividade física medido pelo IPAQ.

Todas as análises estatísticas seriam realizadas com o método de intenção de tratar, porém como as perdas superaram os 20%, decidimos analisar sem a intenção de tratar.

3. Artigo 1 (revisão sistemática)

(Dissertação de Matheus Pintanel Silva de Freitas)

O artigo será submetido ao periódico Revista Brasileira de Medicina do Esporte e já encontra-se formatado nas normas da mesma, as quais podem ser encontradas no Anexo 1.

Artigo de revisão sistemática

Efeito do exercício físico no sistema imune de mulheres menopausadas: revisão sistemática

*Physical exercise effects on the immune system in post-menopausal women:
systematic review*

Matheus Pintanel Freitas^{1,2,3}

Francieli Moro Stefanello^{4,5}

Nicole Gomes Gonzales^{1,2,3}

César Augusto Häfele^{1,2,3}

Airton José Rombaldi^{1,2,3}

1- Programa de Pós-Graduação em Educação Física, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.

2- Grupo de Estudos em Epidemiologia da Atividade Física, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.

3- Grupo de Estudos do Laboratório de Bioquímica e Fisiologia do Exercício, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.

4- Laboratório de Biomarcadores, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil

5- Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil

Autor responsável: Matheus Pintanel Freitas

Avenida Brasil, 582 – Bairro Fragata, Pelotas, RS – CEP: 96025-000

Telefone: +55 53 81146311

E-mail: matheus.pintanel@hotmail.com

**Efeito do exercício físico no sistema imune de mulheres menopausadas:
revisão sistemática**

**Physical exercise effects on the immune system in post-menopausal
women: systematic review**

RESUMO

Mulheres na menopausa sofrem mudanças endócrinas que acarretam uma série de disfunções, inclusive a atenuação da resposta imune. Nesse sentido, realizou-se uma revisão sistemática da literatura que objetivou buscar ensaios clínicos randomizados (ECR) que verificassem o efeito do exercício físico na imunomodulação em mulheres pós-menopausadas. Utilizou-se as bases de dados eletrônicas MedLine/PubMed, SciELO, Scopus, Lilacs e Bireme, com as seguintes palavras-chave: Humans, immune system, physical activity, exercise, physical fitness, postmenopause e postmenopausal period. Utilizou-se como critério de exclusão dos títulos e resumos, os artigos que deixavam claro não tratar do efeito do exercício/atividade física sobre o sistema imune e artigos que estudaram mulheres com câncer e/ou diabetes. Foram encontrados sete artigos para análise. As intervenções duraram de seis meses à 19,9 anos, com amostras variando de 18 a 421 pessoas. Todos os estudos utilizaram o exercício aeróbio moderado como intervenção. Apenas um estudo utilizou medida subjetiva para avaliar o sistema imune, sendo que os demais estudos utilizarem medidas bioquímicas diretas. Em relação ao efeito do exercício sobre a imunomodulação, 57,1% dos ECR concluíram que o exercício físico atuou positivamente no sistema imune de mulheres menopausadas e nenhum

mostrou efeito negativo. A proteína C-reativa e contagem de células imunológicas foram as mais pesquisadas, com quatro estudos cada, onde, apenas um em cada variável mostrou associação significativa na diminuição desses parâmetros. Três estudos pesquisaram a variável interleucina-6 e dois a amilóide A, sem demonstrar associação significativa; dos dois estudos que avaliaram imunoglobulinas, apenas um mostrou associação para o aumento da imunoglobulina A. Conclui-se que é pouco provável que o exercício aeróbico prejudique o sistema imune de mulheres menopausadas e é necessária a realização de novos ECR que objetivem verificar as mudanças na imunomodulação dessa população que abranjam diferentes volumes e tipos de exercício físico.

Palavras-chave: Imunidade; Atividade física; Pós-menopausa; Inflamação; Leucócitos.

ABSTRACT

Menopausal women suffer endocrine changes that cause multiple disorders, including attenuation of immune response. In this sense, was conducted a systematic literature review which aimed to find randomized controlled trials (RCT) which had verified the effect of physical exercise on immune modulation in postmenopausal women. Electronic databases of MEDLINE/PubMed, SciELO, Scopus, Lilacs and Bireme were used with the following keywords: Humans, immune system, physical activity, exercise, physical fitness, postmenopause and postmenopausal period. The exclusion criteria of titles and abstracts were articles which not measured the effect of exercise/physical

activity on the immune system and had studied women with cancer and/or diabetes. Seven articles were included in analysis. Interventions ranged from six months to 19.9 years, with samples ranging from 18 to 421 people. All studies used aerobic exercise as intervention. Only one study used subjective measure to evaluate the immune system. The others used biochemical measurements. Regarding the effect of exercise on immune modulation, 57.1% of RCT concluded that physical exercise acted positively on immune system of menopausal women and no one showed negative effect. C-reactive protein and immune cell count were the most researched variables, with four studies each, where only one in each variable showed decrease in these parameters. Three studies investigated interleukin-6 and two investigated serum amyloid A, without showing significant association; the two studies that evaluated immunoglobulins, only one showed association with a improvement of immunoglobulin A. Was concluded that aerobic exercise do not prejudice the immune system of post-menopausal women, and is necessary to perform new RCT to verify the changes in immunomodulation of menopausal women covering different volumes and types of exercise.

Key-words: Immunity; Physical Activity; Postmenopause; Inflammation; Leukocytes.

INTRODUÇÃO

É consenso na literatura que a prática de atividade física tem uma forte relação com a saúde. Dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) indicam que a inatividade física é fator de risco para as doenças crônicas não transmissíveis¹, as quais, são a principal causa de morte no mundo, sendo responsáveis por 63% do total de mortes globais no ano de 2008¹. Recentemente foi determinado que se 25% da inatividade física fosse eliminada no mundo, 1,3 milhões de mortes por ano poderiam ser prevenidas².

Alguns estudos têm abordado o efeito da atividade/exercício físico sobre o sistema imunológico^{3,4}, o qual é responsável pela defesa do organismo contra bactérias, vírus e fungos e macromoléculas estranhas ao organismo, além de combater o crescimento anormal de células cancerosas⁵.

O sistema imune responde de forma aguda ao exercício aeróbio moderado aumentando as funções imunes naturais por algumas horas⁶. No mesmo sentido, os efeitos crônicos desse tipo de exercício implicam na melhora da imunidade⁷, pois aumentam a atividade citotóxica das células *Natural Killer* (NK) e atenuando a redução das funções das células T relacionadas com a idade e na produção associada de citocinas^{8,9}.

Por outro lado, o exercício resistido parece ter efeitos agudos diferentes daqueles proporcionados pelo exercício aeróbio, pois estudo recente constatou que 24 horas após uma seção de treinamento resistido, a contagem sérica total de leucócitos, monócitos, neutrófilos e linfócitos estavam normais⁴, indicando que esse tipo de exercício pode não alterar agudamente a imunidade de

adultos jovens. Indo ao encontro dessa informação, há evidência indicando que o treinamento resistido parece não fazer efeito a longo prazo¹⁰.

Porém, as mudanças endócrinas que acometem mulheres na menopausa acarretam uma série de disfunções, inclusive a atenuação da resposta imune^{11,12}, e são escassas as informações a respeito dos efeitos dos diferentes tipos de exercícios físicos sobre a imunomodulação nessa população. Por esta razão, este estudo objetiva revisar a literatura de forma sistemática para analisar os efeitos de diferentes tipos de treinamento na imunomodulação em mulheres na pós-menopausa.

MÉTODOS

Trata-se de uma revisão sistemática da literatura que teve como estratégia de pesquisa a busca por ensaios clínicos randomizados (ECR) que objetivassem verificar o efeito do exercício físico na imunomodulação em mulheres pós-menopausadas, nas bases de dados bibliográficos MedLine/PubMed, SciELO, Scopus, Lilacs e Bireme. Foram utilizadas as seguintes palavras-chave: Humans; Immune system; Physical activity; Physical fitness; Exercise; Postmenopause; Postmenopausal period; Humanos; Sistema imunológico; Pós-menopausa; Atividade física; Aptidão física e Exercício.

A busca foi realizada em inglês para a pesquisa no MedLine/PubMed e Scopus, português no SciELO e Lilacs e ambos idiomas na Bireme, com as seguintes combinações: 1) Humans; Immune System; Physical Activity; Postmenopause e seus equivalentes em português; 2) Humans; Immune System; Exercise; Postmenopause e seus equivalentes em português; 3) Humans; Immune System; Physical Fitness; Postmenopause e seus

equivalentes em português; 4) Humans; Immune System; Physical Activity; Postmenopausal Period; 5) Humans; Immune System; Exercise; Postmenopausal Period e 6) Humans; Immune System; Physical Fitness; Postmenopausal Period.

Todos os artigos foram exportados para o software gerenciador de referências EndNote, sendo excluídos os duplicados. Em seguida, foram feitas as análises do título e, posteriormente, do resumo para aplicação dos critérios de exclusão. Por último, realizou-se a leitura de todas referências dos artigos inclusos nesta revisão, na tentativa de encontrar novos estudos para compor a amostra. As referências dos artigos encontrados também foram lidas a fim de incrementar a busca de trabalhos relacionados ao tema.

A busca de artigos foi realizada por pesquisadores independentes e quando surgiam dúvidas referentes aos estudos, um terceiro pesquisador foi consultado. Foi definido como critério de exclusão dos títulos e resumos, os artigos que deixavam claro não tratar do efeito do exercício/atividade física sobre o sistema imune e artigos que estudaram mulheres com câncer e/ou diabetes. A busca ocorreu no período entre agosto e novembro de 2013.

RESULTADOS

Foram encontrados, após pesquisa por todas as combinações de palavras-chaves supracitadas e com filtro para ECR, 26 artigos no *MedLine/PubMed*, dois no *Scopus* e nenhum nas demais bases de dados, totalizando 28 estudos. Destes, 21 eram duplicados, restando sete manuscritos para a leitura dos títulos.

Após leitura dos títulos, um artigo foi excluído pois avaliou o efeito da suplementação com proteína de soja na concentração de linfócitos de mulheres na menopausa. Dos seis estudos que se qualificaram para leitura crítica dos resumos, dois foram excluídos por não se tratarem de ECR, restando quatro manuscritos para leitura das referências^{13, 14-16}.

Três artigos adicionais foram encontrados a partir do referencial teórico vasculhado¹⁶⁻¹⁸. Porém, após leitura das referências dos mesmos, nenhum outro artigo foi incluído. Com isso, sete ECR foram incluídos nesta revisão (Figura 1).

FIGURA 1: INSERIR AQUI

Como pode-se observar na tabela 1, as intervenções duraram de seis meses^{15,19} à 19,9 anos¹⁹, com amostras variando de 18¹⁶ a 421¹⁹ pessoas. Todos os estudos utilizaram o exercício aeróbio moderado como intervenção. Apenas um estudo utilizou medida subjetiva para avaliar o sistema imune¹⁸, que incluía questionários autoaplicáveis, nos quais os participantes do estudo deveriam relatar o número de episódios de alergias, infecções do trato respiratório superior (resfriados e gripes) e outras infecções, que tenham ocorrido nos últimos três meses. Os demais utilizaram medidas bioquímicas objetivas, as quais estão expressas na tabela 1.

No que se refere aos resultados, notamos que as variáveis proteína C-reativa (PCR)^{14,15,17,19} e a contagem de células imunológicas^{13,14-16} foram as mais pesquisadas, com quatro estudos cada, onde, destes, apenas um em cada variável mostrou associação significativa no sentido de diminuição desses parâmetros. Dentre os que verificaram a contagem de células, dos três que

avaliaram a concentração de leucócitos¹⁴⁻¹⁶, apenas um mostrou decréscimo significativo de sua concentração, porém a amostra um quadro de inflamação sistêmica¹⁵. Dos dois estudos que avaliaram a concentração de neutrófilos^{14,15}, um relatou queda significativa em sua concentração¹⁵. Além desses, três estudos pesquisaram a variável interleucina-6 (IL-6)^{14,15,17} e dois a amilóide A^{14,17}, sem demonstrar associação significativa. Dos dois estudos que avaliaram imunoglobulinas^{13,16}, apenas um mostrou associação para o aumento da imunoglobulina A (IgA)¹⁶. Todas as outras variáveis objetivas não tiveram mudanças significativas em virtude da prática de exercícios físicos e foram pesquisadas em apenas um estudo.

Considerando o efeito do exercício sobre a imunomodulação, notamos que 57,1% dos ECR concluíram que o exercício físico atuou positivamente no sistema imune de mulheres menopausadas e que nenhum mostrou efeito negativo.

TABELA 1. INSERIR AQUI

DISCUSSÃO

Dos sete estudos incluídos nesta revisão, quatro concluíram que o exercício físico atuou positivamente na imunidade de mulheres na menopausa¹⁵⁻¹⁸ e nenhum relatou efeitos negativos, indicando que, provavelmente, o exercício físico moderado não prejudica o sistema imune dessa população. É importante salientar que a imunidade é um sistema

complexo composto de um grupamento de células, hormônios e moduladores interativos⁵, e, provavelmente, nem todos eles respondem ao exercício físico. Nesse sentido, os parâmetros imunitários serão discutidos individualmente.

Dos quatro manuscritos que avaliaram PCR em função do exercício físico^{14,15,17,19}, apenas um mostrou diferença significativa, demonstrando redução nos níveis dessa proteína¹⁷. Estudo de delineamento muito semelhante no que se refere ao tipo, duração e intensidade do exercício, características da amostra, critérios de inclusão e exclusão e duração da intervenção não demonstrou essa associação¹⁴. Essa discrepância pode ser explicada pelo fato do estudo de Imayama et al.¹⁴ ter um tamanho de amostra com poder suficiente somente para detectar as mudanças no desfecho primário (estrona no soro) e nos desfechos secundários (hormônios sexuais adicionais, metabolismo da glicose, densidade da mamografia, composição corporal, qualidade de vida e hemograma completo, incluindo contagem de leucócitos e neutrófilos), que não incluíram os níveis de PCR. Além disto, como todos os estudos foram realizados com exercício aeróbio em que pelo menos um grupo estava acima da recomendação de atividade física (>150 min/semanais), as pesquisas que não obtiveram associação^{15,19} tiveram seis meses de intervenção, enquanto que o estudo de Campbell et al.¹⁷ teve duração de 12 meses, sugerindo que volumes totais maiores de treinamento sejam necessários para reduzir a concentração de PCR em mulheres menopausadas.

Considerando que a PCR é um marcador inflamatório^{20,21}, reduções em seus níveis séricos representam uma melhora no quadro de inflamação sistêmica, visto que, níveis acima de 8 mg/L caracterizam essa condição²². Com exceção do estudo de Johannsen et al.¹⁵, o qual não informou os níveis

de linha base da PCR, os demais estavam com valores normais, o que pode explicar o motivo da falta de associação com o exercício. Porém, como o estudo de Campbell et al.¹⁷ interviu por um tempo prolongado, o sistema de controle inflamatório pode ter se modificado cronicamente melhorando ainda mais seu nível de homeostase, reduzindo os níveis dessa proteína. Como nenhum estudo utilizou treinamento resistido e concorrente e mulheres eutróficas, não está claro o efeito desses modelos de treinamento sobre as concentrações de PCR nessa população.

No que se refere à concentração de leucócitos, apenas um dos estudos apresentou uma modificação significativa¹⁵, ocorrendo um decréscimo na concentração de glóbulos brancos (no grupo que fez 50% a mais que a recomendação de atividade física) e, como a amostra dessa pesquisa apresentava um quadro de inflamação sistêmica, a redução da concentração de leucócitos indica uma melhora inflamatória, visto que diante de qualquer infecção no organismo a quantidade dessas células no sangue tende a aumentar. O fato de que uma pessoa saudável apresenta entre 4.001 e 10.000 leucócitos/mm³ de sangue (valores abaixo de 4.001 caracterizam condição de leucopenia e acima de 10.000, leucocitose)²³ pode explicar o porquê dos outros dois estudos não demonstrarem modificação na concentração dessas células^{14,16}, pois nenhum deles informou que as mulheres estavam com inflamação sistêmica, sendo que o estudo de Imayama et al.¹⁴ relatou que a média da concentração de leucócitos na linha base era de 5.700 e 5.840 por mm³ de sangue entre o grupo controle e exercício, respectivamente, caracterizando valores normais.

Similarmente ao observado com a contagem de leucócitos totais, no estudo de Johannsen et al.¹⁵, em mulheres menopausadas com inflamação sistêmica, o grupo que recebeu um volume de carga de exercício físico 50% acima da recomendação de atividade física diminuiu a concentração de neutrófilos, enquanto que Imayama et al.¹⁴, em seu estudo com mulheres na menopausa sem inflamação sistêmica, não obteve diferença estatisticamente significativa nessa variável.

Como os neutrófilos são uma subpopulação de leucócitos que chegam primeiramente às áreas de inflamação, a redução observada no estudo de Johannsen et al.¹⁵ pode ser explicada por uma melhora no quadro inflamatório, uma vez que sua concentração normal é acima de 2.000 neutrófilos/mm³ de sangue²³. Considerando que, a média dos grupos controle e exercício na linha base do estudo de Imayama et al.¹⁴ era de 3.260 e 3.400 neutrófilos/mm³ de sangue, respectivamente, e que as mulheres não apresentavam quadro de inflamação sistêmica, é esperado que a concentração de neutrófilos se mantenha dentro da normalidade. Porém, no estudo que mediu a contagem de linfócitos, monócitos, basófilos e eosinófilos¹⁵, mesmo em mulheres com um quadro de inflamação sistêmica, não houve modificações em suas concentrações, indicando que a contagem dessas células não sofre alterações com a prática de exercício aeróbio.

As imunoglobulinas estão ligadas ao sistema imune adquirido (responsável pela memória imunológica)^{5,24}. Sendo assim, é provável que necessitem de um tempo maior de intervenção para responder a algum estímulo. Este fato foi demonstrado no estudo de Karadeniz et al.¹⁶, em que 19,9 anos de 7,2 h por semana de treinamento aeróbio ocasionou um aumento

na IgA, o que não ocorreu no outro estudo que verificou essa variável¹³, onde, ao que provavelmente, um ano de intervenção com ≥ 45 min por dia, cinco dias por semana de exercício aeróbio, não foi suficiente para produzir qualquer efeito nas imunoglobulinas de mulheres menopausadas.

A IL-6 é uma citocina envolvida na resposta imune inata, o que significa que há uma elevação dos seus níveis séricos em caso de infecção, sendo produzida por monócitos e macrófagos²⁵. Também pode estar envolvida na resposta imune adquirida, induzindo os linfócitos B a produzirem imunoglobulinas²⁶. Pode ter um papel anti- e pró-inflamatório, pois agudamente a IL-6 conduz a uma condição anti-inflamatória^{27,28}, mas sob condição crônica induz a uma condição pró-inflamatória²⁹. Ademais, altos níveis dessa citocina estão correlacionados com a obesidade³⁰, o que pode explicar o fato de que os três estudos que a pesquisaram^{14,15,17} não encontraram associação entre esse desfecho e a prática do exercício físico, pois as amostras de todos eram compostas por mulheres com sobrepeso/obesidade, indicando que o exercício físico realizado tenha sido insuficiente para diminuir os níveis inflamatórios gerados pela obesidade.

Chubak et al. pesquisaram o número de infecções no trato respiratório superior (ITRS) e de resfriados ocorridas nos últimos três meses, de mulheres pós-menopausadas, com sobrepeso/obesidade, não fumantes, sedentárias e provenientes da região de Seattle, USA, através de um instrumento subjetivo (questionário)¹⁸. Os resultados indicaram que as mulheres menopausadas do grupo controle tinham três vezes mais risco de ter resfriados em comparação com o grupo experimental, porém o risco para ITRS não diferiu entre os grupos. A conclusão dos autores é que o exercício aeróbio melhora

discretamente a função imune. Entende-se que a verificação da eficiência do sistema imune no combate ou prevenção de uma infecção seja a melhor forma de estudá-lo, contudo, esses achados devem ser interpretados com cautela, visto que instrumentos subjetivos estão sujeitos a uma forte limitação que é o viés de memória, o qual, pode distorcer os resultados.

Ademais, o estudo de Campebell et al.¹³ não demonstrou influência do exercício físico na citotoxicidade das células NK e na proliferação dos linfócitos-T. Porém, como a citotoxicidade é uma propriedade química celular responsável por destruir outras células, induzindo apoptose celular²⁹ e a proliferação dos linfócitos-T é o mecanismo pelo qual os linfócitos aumentam de número para combater substâncias não próprias no organismo²⁹, é de se esperar que essas variáveis não sofram modificações na ausência de infecções, como foi o caso do estudo citado¹³.

O estudo que investigou as mudanças na concentração de amiloide A sérica também não obteve associação com a prática de exercício físico aeróbico. Sabendo que essa proteína é utilizada como um marcador de atividade inflamatória³¹ e a amostra da pesquisa¹⁴ não apresentava um quadro de inflamação sistêmica, a falta de associação dos níveis dessa com o exercício físico pode ser explicada pelo fato que não havia necessidade biológica que seus níveis se modificassem, pois já estavam dentro da normalidade.

O FNT- α é uma das citocinas envolvidas nas respostas inflamatórias e imunes³². A presença de lipopolissacarídeos da membrana de bactérias gram negativas³³ estimula sua produção por macrófagos ativados, linfócitos e monócitos³⁴. O estudo de Johannsen et al.¹⁵ não demonstrou uma diminuição

na concentração do FNT- α nos diferentes volumes de exercício aeróbio realizado no período de seis meses, indicando que esse tipo de exercício não é capaz de modificar os níveis dessa citocina. O fato que pode ser explicado pela redução, ocasionada pelo exercício físico, da contagem de neutrófilos em mulheres menopausadas¹⁵, sem modificação das demais subpopulações de leucócitos, dentre as quais, as que produzem o FNT- α .

CONCLUSÕES

Tendo em vista que ECR é o melhor delineamento de estudo para fornecer evidências da efetividade de intervenções e tratamentos na área da saúde³⁵, surpreende o número reduzido desse tipo de metodologia de pesquisa com marcadores do sistema imune em mulheres menopausadas. Devido a isso, faz-se necessário a realização de novos ECR para que tenhamos expressivo corpo de evidências a respeito do efeito do exercício físico na imunidade dessa população.

Considerando que o sistema imune é construído por uma interação de diversos fatores⁵, qualquer mudança nos desfechos aqui abordados terá consequências na imunidade geral. Desta forma, podemos concluir que (1) é necessária a realização de novos ECR que objetivem verificar as mudanças na imunomodulação de mulheres menopausadas que abranjam diferentes volumes e tipos de exercício físico; (2) é pouco provável que o exercício aeróbio atue de forma a prejudicar o sistema imune de mulheres menopausadas; (3) é necessário a realização de novos ECR para confirmar se o exercício físico tem uma ação benéfica na imunidade dessa população; e (4) é necessário que os próximos estudos pesquisem em amostras com os

parâmetros séricos de imunidade já alterados em linha base, para que possam verificar o efeito da intervenção sobre os mesmos ou que verifiquem o funcionamento do sistema imune perante uma infecção antes e após a intervenção.

REFERÊNCIAS

- 1- World Health Organization. Global status report on noncommunicable diseases 2010. Geneva: World Health Organization; 2011.
- 2- Lee I-M, Shiroma EJ, Lobelo F, Puska P, Blair SN, Katzmarzyk PT. Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: an analysis of burden of disease and life expectancy. *Lancet*. 2012;380(9838):219-29.
- 3- Davidson SR, Burnett M, Hoffman-Goetz L. Training effects in mice after long term voluntary exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 2006;38(2):250-5.
- 4- Brunelli DT, Caram K, Nogueira FRD, Libardi CA, Prestes J, Cavaglieri CR. Immune responses to an upper body tri-set resistance training session. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2014;34(1):64-71.
- 5- McArdle WD, Katch FI, Katch VL. *Fisiologia do Exercício: nutrição, energia e desempenho humano*. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2011.
- 6- Gleeson M. Immune function in sport and exercise. *J Appl Physiol*. 2007;103(2):693-99.
- 7- Makras P, Koukoulis GN, Bourikas G, Papatheodorou G, Bedevis K, Menounos P, et al. Effect of 4 weeks of basic military training on peripheral

blood leucocytes and urinary excretion of catecholamine and cortisol. *J Sports Sci.* 2005;23:825-34.

8- Mackinnon LT. Chronic exercise training effects on immune function. *Med Sci Sports Exerc.* 2000;32(Suppl 7):S369-76.

9- Jonsdottir IH, Hoffmann P, Thorèn P. Physical exercise, endogenous opioids and immune function. *Acta Physiol Scand Suppl.* 1997;640:47-50.

10- Nieman DC, Henson DA, Herring J, Sampson C, Suttles J, Conley M, et al. Natural killer cell cytotoxic activity in weight trainers and sedentary controls. *J Strength Cond Res.* 1994;8(4):251.

11- Olsen NJ, Kovacs WJ. Gonadal steroids and immunity. *Endocr Rev.* 1996;17(4):369-84.

12- Medeiros SF, Oliveira VN, Yamamoto MMW. Epidemiologia clínica do climatério. *Reprod Clim.* 2003;18(1):79-86.

13- Campbell PT, Wener MH, Sorensen B, Wood B, Chen-Levy Z, Potter JD, et al. Effect of exercise on in vitro immune function: a 12-month randomized, controlled trial among postmenopausal women. *J Appl Physiol* (1985). 2008;104(6):1648-55.

14- Imayama I, Ulrich CM, Alfano CM, Wang C, Xiao L, Wener MH, et al. Effects of a caloric restriction weight loss diet and exercise on inflammatory biomarkers in overweight/obese post menopausal women: a randomized controlled trial. *Cancer Res.* 2012;72(9):2314-26.

15- Johannsen NM, Swift DL, Johnson WD, Dixit VD, Earnest CP, Blair SN, et al. Effect of different doses of aerobic exercise on total white blood cell (WBC)

and WBC sub fraction number in post menopausal women: Results from DREW. PLoS One. 2012; 7(2):e31319.

16- Karadeniz G, Buyukyazi G, Gunduz T, Kutlu N, Ozbakkaloglu B. Does chronic exercise alter immune parameters in post menopausal women? Int J Immuno Ther. 2002; 18(3-4):99-104.

17- Campbell PT, Campbell KL, Wener MH, Wood BL, Potter JD, McTiernan A, et al. A year long exercise intervention decreases CRP among obese post menopausal women. Med Sci Sports Exerc. 2009;41(8):1533-9.

18- Chubak J, McTiernan A, Sorensen B, Wener MH, Yasui Y, Velasquez M, et al. Moderate-intensity exercise reduces the incidence of colds among postmenopausal women. Am J Med. 2006; 119(11):937-42.

19- Stewart LK, Earnest CP, Blair SN, Church TS. Effects of different doses of physical activity on C-reactive protein among women. Med Sci Sports Exerc. 2010; 42(4):701-7.

20- Haverkate F, Thompson SG, Pyke SDM, [Gallimore JR](#), [Pepys MB](#). Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and unstable angina. Lancet. 1997; 349(9050): 462-6.

21- Ridker PM. C-reactive protein and the risks of future myocardial infarction and thrombotic stroke. Eur Heart J. 1998; 19(1):1-3.

22- Shine B, de Beer FC, Pepys MB. Solid phase radioimmuno assays for human C-reactive protein. Clin Chim Acta. 1981;117(1): 13-23.

23- Simpósio sobre Leucopenia, São Roque, SP, 1987. Rev. Soc. bras. Hematol. Hemot 9:57-160, 1987.

Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, Colégio Brasileiro de Hematologia. Simpósio Leucopenia, Maio 1987, São Roque, São Paulo.

24- Rosa LFPBC, Vaisberg MW. Influências do exercício na resposta imune. *Rev Bras Med Esporte*. 2002;8(4):167-72.

25- Kishimoto T. Interleukin-6: from basic science to medicine – 40 years in immunology. *Annu Rev Immunol*. 2005;23: 1-21.

26- Kishimoto T. The biology of interleukin-6. *Blood*. 1989; 74(1): 1-10.

27- Xing Z, Gauldie J, Cox G, Baumann H, Jordana M, Lei XF, et al. IL-6 is an anti-inflammatory cytokine required for controlling local or systemic cutaneous inflammatory responses. *J Clin Invest*. 1998; 101(2):311-20.

28- Steensberg A, Fischer CP, Keller C, Møller K, Pedersen BK. IL-6 enhances plasma IL-1ra, IL-10, and cortisol in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2003;285(2):E433–7.

29- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Imunologia celular e molecular*, 5 ed., Rio de Janeiro: Elsevier; 2005.

30- Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2005; 115(5): 911–20.

31- Gayer CRM, Pinheiro GRC, Andrade CAF, Freire SM, Coelho MGP. Avaliação da proteína amiloide A sérica na atividade clínica da artrite reumatóide. *Rev Bras Reumatol*. 2003;43(4):199-205.

32- Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumor. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1975;72(9):3666-70.

33- Iino K, Toriyama M, Ogawa H, Kawakami M. Cholesteatoma debris as an activator of human monocytes. *Acta Otolaryngol*. 1990;110(5-6):410-5.

34- Bingham III CO. The pathogenesis of rheumatoid arthritis: pivotal cytokines involved in bone degradation and inflammation. J Rheumatol Suppl. 2002; 29(Suppl 65):3-9.

35- Kirkwood BR, Sterne JAC. Essential Medical Statistics. 2nd ed. Massachusetts: Black well Science; 2009.

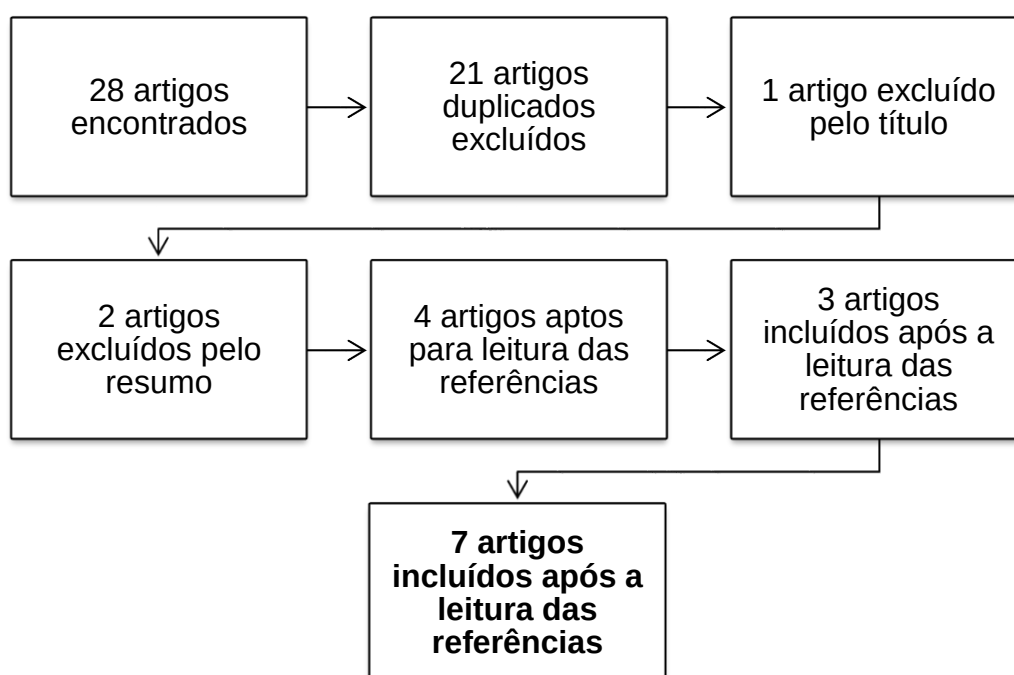


Figura 1. Fluxograma dos estágios de seleção dos artigos que compuseram o estudo.

Tabela 1. Características dos estudos incluídos na revisão de acordo com o nome do primeiro autor, número de participantes no estudo, duração do estudo, tipo de exercício físico utilizado nas intervenções, os parâmetros avaliados, os principais resultados e as conclusões sobre a imunidade.

Estudo	Local de realização do estudo	Amostra/ Duração do estudo	Tipo de exercício/ volume	Parâmetros avaliados	Principais resultados	Conclusão
Campbell et al. ¹²	Seattle, USA	115 mulheres menopausadas sedentárias com sobrepeso ou obesidade/ 12 meses.	Aeróbio de intensidade moderada (60-75% da FCM)/ ≥ 45 min por dia, 5 dias por semana.	Citotoxicidade das células NK, proliferação dos linfócitos T, contagem de linfócitos T, linfócitos B, células NK e fenótipos, e imunoglobulinas.	Atividade citotóxica das células NK e proliferação dos linfócitos-T não diferiram entre o grupo experimental e controle. Demais variáveis também não mostraram nenhum padrão claro de associação.	12 meses de exercício aeróbio não teve efeito na função imune.
Imayama et al. ¹³	Seattle, USA	204 mulheres menopausadas com sobrepeso ou obesidade* / 12 meses.	Aeróbio de intensidade moderada à vigorosa (70-85% da FCM)/ 225 min por semana	PCR, amilóide A sérica, IL-6, e contagem de leucócitos e neutrófilos.	Não houve redução na PCR, amilóide A sérica, IL-6, níveis de leucócitos e níveis de neutrófilos, quando comparado ao grupo controle.	12 meses de exercício aeróbio não teve efeito na função imune.
Johannsen et al. ¹⁴	Dallas, USA	390 mulheres menopausadas sedentárias com sobrepeso ou obesidade/ 6 meses.	Aeróbio a 50% do VO_{2pico} / Na RAF (8 KKS), 50% abaixo da RAF (4 KKS) e 50% acima da RAF (12 KKS)	Contagem total de leucócitos e em suas subfrações (linfócitos, monócitos, neutrófilos, basófilos e eosinófilos), IL-6, FNT- α e PCR.	Houve uma redução dose-dependente, com uma significativa redução no grupo 12 KKS, na contagem total de leucócitos e nos neutrófilos. Foi observada uma redução mais acentuada desses parâmetros nas mulheres com alta contagem de	6 meses de exercício aeróbio diminuiu o quadro inflamatório de maneira dose-dependente.

					leucócitos na linha base. Não houveram modificações significativas nos demais parâmetros.	
Karadeniz et al. ¹⁵	Manisa, TR	18 mulheres menopausadas/ 19,9 anos	Aeróbio/ 7,2 h por semana	Contagem de leucócitos, linfócitos T e B e IgA.	Houve um aumento significativo na IgA. Não houveram modificações significativas nos demais parâmetros.	19,9 anos de exercício físico levou a uma melhora na resposta imune.
Campbell et al. ¹⁶	Seattle, USA	115 mulheres menopausadas sedentárias com sobrepeso ou obesidade/ 12 meses.	Aeróbio de intensidade moderada (60-75% da FCM)/ ≥ 45 min por dia, 5 dias por semana.	PCR, amilóide A sérica e IL-6	Na amostra total houve redução da PCR em 10% no grupo experimental e aumento de 12% no controle, sem alteração nos demais parâmetros. Quando analisadas as obesas ou com obesidade abdominal, houve uma redução mais acentuada da PCR.	12 meses de exercício aeróbio melhorou a função imune de mulheres menopausadas obesas ou com obesidade abdominal.
Chubak et al. ¹⁷	Seattle, USA	115 mulheres menopausadas sedentárias com sobrepeso ou obesidade/ 12 meses.	Aeróbio de intensidade moderada (40% da FCM até a semana 7 e de 60-75% da FCM da semana 8 à 12)/ 45min por dia, 5 dias por semana.	Número de ITRS nos últimos 3 meses, perguntado por questionário a cada 3 meses.	O grupo controle tinha 3 vezes mais risco de ter resfriados em comparação com o grupo experimental. O risco para ITRS não diferiu entre os grupos.	12 meses de exercício aeróbio melhorou discretamente a função imune.
Stewart et al. ¹⁸	Louisiana, USA	421 mulheres menopausadas sedentárias com sobrepeso ou obesidade e	Aeróbio a 50% do VO_{2pico} / Na RAF (8 KKS), 50%	PCR	Não houveram modificações significativas na PCR em nenhum dos	6 meses de exercício aeróbio não teve efeito na função imune.

com PAS elevada/ 6 meses.	abaixo da RAF (4 KKS) e 50% acima da RAF (12 KKS)	grupos exercitados quando comparado com o grupo controle.
---------------------------------	--	--

NK: *Natural Killer*; PCR: Proteína C-reativa; IL-6: Interleucina-6; ITRS: Infecções no trato respiratório superior; RAF: Recomendação de atividade física (equivalente à 150 min de atividade física por semana); KKS: kcal/kg/semana; FNT- α : Fator de necrose tumoral alfa; IgA: Imunoglobulina A; RM: repetição máxima; PAS: pressão arterial sistólica; FCM: frequência cardíaca máxima.

* Estudo distribuiu as mulheres em 4 grupos; como utilizamos nessa revisão somente o grupo do exercício físico e o grupo controle, analisamos o resultado de 204 mulheres menopausadas. A amostra total do estudo foi de 439 mulheres.

4. Artigo 2 (artigo original)

(Dissertação de Matheus Pintanel Silva de Freitas)

O artigo será submetido ao periódico PLoS ONE e já encontra-se formatado nas normas do mesmo, as quais podem ser encontradas no Anexo 2.

TITLE PAGE

Effects of different volumes of concurrent training on oxidative stress and inflammatory parameters on postmenopausal women: a Randomized Clinical Trial

Matheus Pintanel Freitas¹

Francieli Moro Stefanello¹

Airton José Rombaldi¹

1- Federal University of Pelotas - Pelotas, Southern, Brazil

Corresponding author:

Matheus Pintanel Freitas

Avenida Brasil, 582

96025-000

Pelotas, Brazil

Phone(fax): + 55 53 84260556

E-mail: matheus.pintanel@hotmail.com

ABSTRACT

Purpose: To verify the effect of different volumes of concurrent training on oxidative stress and inflammatory parameters on postmenopausal women over 12 weeks.

Methods: This randomized clinical trial was carried out using four groups of previously sedentary postmenopausal women. The groups were divided as follows: sedentary control group, and groups which practiced physical exercise during 90, 150 and 210 min/week. The protocol consisted of three sessions per week of concurrent training (aerobic training and weight training divided equally). Oxidative stress and inflammatory parameters were analyzed at three moments (baseline, 6th and 12th week).

Results: Considering the 144 screened women, 42 were selected for the study and randomized into one of the four groups. The groups of 150 and 210 min/week showed lower thiobarbituric acid reactive substances values at the 12th week in comparison to the previous moments; increased thiol content values at the 6th week which returned to the initial level at the 12th week; and at the 12th week there was a significant lower level of glutathione peroxidase activity in comparison to the control group. The control group presented an increase in the glutathione peroxidase activity at the 6th week, remaining high at the 12th. In this period, all superoxide dismutase values of the exercise groups were lower than the control group, which had higher values at week 12 than other moments. Adenosine deaminase activity increased in the group of 210 min/week at the 6th week, remaining high at the 12th. Butyrylcholinesterase activity and Interleukin-6 presented no differences.

Conclusion: Concurrent training of 150 min/week or more for 12 weeks may reduce the oxidative stress in postmenopausal women.

Keywords: Immune System; Reactive Oxygen Species; Antioxidants; Exercise; Physical Activity; Elderly.

INTRODUCTION

Inflammation is produced by innate immunity, however, as the majority of adaptive effects are carried out by interaction with innate immunity, the adaptive responses are frequently followed by inflammation(1). This inflammatory process is produced by mast cell when damaged, complement system and acute phase proteins, and it is supposed to increase the endothelium permeability, in response to an infection, and promote chemotaxis(1), which is essential to immunity responses.

However, systemic inflammation is harmful to the organism as it produces vascular damages which can lead to severe illness, organ failure and ultimately death(1). In addition, low-grade systemic inflammation is associated with some dysfunctions such as insulin resistance, atherosclerosis, neurodegeneration, tumor growth(2-4) and increased risk of cancer(5). Elevated inflammatory biomarkers, such as interleukin-6 (IL-6) and C-reactive protein (CRP) are associated with an increased risk for several cancers(6-10), cardiovascular disease(11), osteoporosis(12), diabetes mellitus(13) and geriatric cachexia(14).

Oxidative stress, imbalance between reactive species formation and antioxidant system, also plays an important role on these inflammatory processes, as reactive nitrogen and oxygen species produced from leukocytes and other inflammatory cells, in a chronic condition, may increase tissue damage which may initiate several chronic diseases such as carcinogenesis(5). In physiological proportions, reactive oxygen species (ROS) are involved in the phagocytic process, cell signaling and immune response(15). Nevertheless, oxidative stress is involved in the pathogenesis of several diseases such as pulmonary emphysema, inflammatory diseases, atherosclerosis, cancer and premature aging(16).

Postmenopausal women, in consequence to hypoestrogenism, have high concentrations of pro-inflammatory cytokines(12) and an immunological dysfunction(17). Therefore, it is important to investigate not only lower risk treatments but also

nonpharmacologic ones for reducing inflammatory biomarkers and prevent all disorders associated with them.

Therefore, physical exercise becomes a valuable alternative due to its chronic anti-inflammatory effects(4,18-20). In addition, it has a chronic antioxidant effect on enzymes as catalase, glutathione peroxidase (GPx) and superoxide dismutase (SOD) are increased due to training adaptations(21). However, when a search about clinical trials regarding this theme was performed, just four studies were found(22-25), which showed contradictory effects. All of them were done with aerobic exercise, but only Campbell et al.(24) found a decrease in C-reactive protein (CRP) after 12 months of intervention. The other studies found no association between inflammatory parameters and aerobic exercise(22,23,25).

Moreover, despite its well-known beneficial effects, the influence from other kinds of exercise such as resistance training on immunomodulation is not clear (26,27). New studies are required to optimize the anti-inflammatory effects of physical exercise(28). Thus, the objective of this study was to verify the effects of different volumes of concurrent training on inflammatory and oxidative stress parameters in postmenopausal women over 12 weeks.

MATERIALS AND METHODS:

Study Design

This study was a prevention, factorial assignment, double blind (investigator, outcomes assessor), randomized, safety/efficacy, dose-response exercise trial with a non-exercise control group and three exercise groups with increasingly higher exercise volumes.

Participants

Eligible participants were all women who were in the waiting list of a gymnastics project and were in accordance with the inclusion criteria: to be in the postmenopausal period, sedentary life style and able to participate in the exercise program. Exclusion criteria were the following:

a positive answer to, at least, one of the questions of the PAR-Q instrument (29), diabetes and/or cancer history, or oophorectomy. All of them were invited to join the study by telephone calls, based on telephone numbers registered on the waiting list.

The study took place at the Faculty of Physical Education of the Federal University of Pelotas, in the city of Pelotas, southern Brazil, from March 2014 to September 2014. Physical training was carried out in the weight room and blood collection at the Biochemistry and Exercise Physiology Laboratory. Biochemistry analyses were done at the Faculty of Biochemistry, in the same university.

Intervention

All selected women, who agreed to participate in the study, went to the Faculty of Physical Education on the same day to sign the informed consent document, answer the PAR-Q instrument, collect baseline blood samples and measure height and body weight (to calculate the BMI).

In the following week, all participants returned, individually, to collect the remaining baseline data (an hour per person). The order was: 1) Filling in a questionnaire (with the variables age, family income, educational level, alcohol consumption, physical activity level in the leisure time and commuting domains, and chronic use medicines); 2) a 24-hour food recall; 3) blood pressure and heart rate measurement at rest; 4) handgrip strength test, and 5) six-minute walk test. Subjects' randomization was made after baseline data collection.

The physical intervention was done with concurrent training, beginning in the week after measures and it was developed for 12 weeks. Physical training was conducted three times a week. The 90 min/week group (equivalent to 60% of the WHO recommendation for physical activity total volume(30)) performed 30 minutes per session (15 minutes of cycle ergometer aerobic exercise and 15 minutes of weight training). The 150 min/week group (100% of the

recommendation) performed 50 minute sessions (25 min for each type of exercise). The 210 min/week group (140% of the recommendation) performed 70 minute sessions per day (35 min for each type of exercise). The control group did not take part in the intervention and was advised to maintain their normal activities.

The aerobic exercise was performed on cycle-ergometers and the subjects exercised between the levels 14 and 15 of Borg's scale of perceived exertion, to ensure a moderate intensity during all follow-up. The weight training was an adaptation of a linear periodization suggested by Bottero et al. (31) to post-menopausal women. The first week was an preparation phase, where the subjects performed 10-12 submaximal repetitions in each weight machine. In the period between the 2nd and 4th week, women performed 12-14 maximal repetitions (MR); 5th-8th week, 10-12 MR; 9th-12th, 8-10 MR.

The exercised muscles were pectoral, dorsal, quadriceps, hamstrings, adductors, abductors, biceps and triceps. Subjects performed as many series as possible during the time dedicated to weight exercises as all exercises were done in a circuit of 10 exercises on weight machines. The woman who performed one series on the first machine moved on to the next machine. When the circuit was complete, the woman went back to the first machine and repeated the circuit as many times as possible until time was up. All exercise sessions were monitored by trained people (weight training instructors) to ensure perfect exercises execution with regard to posture, volume and intensity.

The blood samples were collected at the beginning of the study (week zero), in the middle (6th week) and at the end (12th week), to analyze the longitudinal effect. With the exception of the first, the blood collection was done 48 hours after the last bout of exercise. Measures of handgrip strength, performance on the six-minute walk test, height, body weight, food intake and physical activity done outside the intervention, were done at the beginning and at 12th week.

Outcomes

Descriptive variables

Age, family income, marital status, skin color, educational level, chronic use medicines, smoking and alcohol intake were measured by a structured questionnaire. Age was quantified in complete years; family income was quantified by the income of all persons in the participant's home; educational level was quantified in complete years of studying.

Heart rate at rest was measured using a Polar® RS800CX model digital heart rate monitor and quantified in beats per minute (bpm). Blood pressure was measured in mmHg with a BD® aneroid sphygmomanometer and a BD® stethoscope.

Control variables

The body weight was collected using a Filizola® electronic scale, with 0.1 kg of precision. The height was measured using a stadiometer with precision scale of 0.1 cm. Based on weight and height, the BMI was calculated and classified in accordance to WHO guidelines of 1995(32).

The physical activity level performed outside intervention was obtained through leisure time and commuting sections of the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) long version, using the usual week as recall period, and quantified in minutes per week of physical activity.

The food intake was measured by a 24-hour food recall, and the following variables were analyzed: total calories, protein, lipids, carbohydrate, fiber, iron, vitamin C, D and E, saturated fatty acids, omega 3, omega 6, copper, magnesium, manganese, zinc, selenium and arginine intake.

Secondary outcome

The six-minute walk test was performed according to the international guidelines (33) and quantified in meters. The handgrip strength test was performed with dynamometry, with a Takei Scientific Instruments® T.K.K.5401 model dynamometer. The person was positioned standing with feet together, arms close to the body, extended elbows and dominant hand holding the dynamometer. After the signal, the individual had three seconds to press the device with maximum force. Three attempts were made and the highest value was used.

Primary outcome (biochemistry analyses)

. Sample collection and preparation:

Blood samples of 10mL were obtained from subjects. Heparinized blood samples were centrifuged at 1000 ×g for 10 min and plasma was removed and frozen at – 80 °C until biochemical determinations (thiobarbituric acid reactive substances -TBARS- and thiol content). Erythrocytes were washed three times with cold saline solution and the lysates were prepared by addition of 1 mL of distilled water to 100 µL of washed erythrocytes. The lysates were frozen at – 80 °C until antioxidant enzymes activities. Serum was obtained by venous puncture without anticoagulant to determine Adenosine Deaminase (ADA), Butyrylcholinesterase (BChE) and Interleukin-6 (IL-6).

. Oxidative stress parameters:

TBARS were determined in plasma according to the method described by Ohkawa et al.(34). The plasmatic concentration of sulfhydryl groups was determined as described by Aksenov and Markesbery(35). Erythrocyte GPx activity was measured by using a commercially available kit (RANSEL®; Randox Lab, Antrim, United Kingdom). Erythrocyte SOD activity was measured by the method described by Misra and Fridovich(36).

. Inflammatory parameters:

ADA activity in serum was determined according to Giusti and Gakis(37). BChE activity was performed in serum. The BChE enzymatic assay was determined by a modification of the spectrophotometric method of Ellman et al.(38). Cytokine quantification was assessed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using commercial kits for human IL-6 (Millipore, United Kingdom), according to the manufacturer's instructions.

. Protein determination:

Plasma/serum and erythrocyte protein concentrations were determined, respectively, by Biuret method — using the commercial kit of Labtest® (Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, MG, Brazil) — and by the method of Lowry et al.(39).

Sample size

To detect differences at the post-intervention, changes in IL-6 levels, and for ANCOVA's analysis, a sample size of 5, 3 and 3 patients per group, respectively, was necessary. It was calculated based on the Akbarpour(40) study, considering a two-sided 5% significance level and a power of 90%.

Randomization

A stratified randomization was done based on the BMI of each patient. The four highest BMI were randomly allocated into one of the four groups by a random number generator. This process was repeated until nine people were allocated in each group. After that, the stratified randomization was done just in the exercise groups as we understood that the dropout rate could be higher in these groups than in the control group.

Blinding

This is a double blind study, where data collectors and investigators (who did the biochemistry and statistical data analysis) were blinded to participant randomization assignment.

Participants and weight training instructors' blinding was impossible due the fact that the treatment (independent variable) was physical exercise, but we regularly reminded participants not to discuss their randomization assignments with the assessment team members.

Ethical aspects

The study protocol was reviewed and approved by the Federal University of Pelotas' institutional review board and registered under the number 27371214.4.0000.5313. The written informed consent was obtained from all participants prior to joining the study. After the intervention, was offered to the control group to do one of the physical protocols for 12 weeks.

The study is registered in the ClinicalTrials.gov as a randomized controlled trial under the identifier NCT02331446.

Statistical methods

Data were double entered into an Excel spreadsheet, followed by checking inconsistencies. Statistical analyses were run using Stata 12.0. The normality of the variables was tested by Shapiro-Wilk test. Numerical parametric data were reported as mean $\pm$ standard deviation and numerical non-parametric data as median and interquartile range (IR). Categorical data were reported as absolute number and percentage. The intention-to-treat analysis was not used. The level of significance was set in $p < .05$.

One-way Analysis of Variance (ANOVA) with a Bonferroni's test as a *post-hoc* test was used to find statistical differences in the parametric numerical outcomes of description among groups and Kruskal-Wallis test with the Dunn's *post-hoc* for their non-parametric equivalents. With a significant ANOVA or Kruskal-Wallis, variables were used in the between groups primary analyses as covariates (ANCOVA). For categorical data was performed the Fisher's exact test to

find any association between groups. With a significant association, skin color, continuous use of drugs, smoking and alcohol intake were used as covariates in primary analysis (between groups).

To analyze between group differences in control and secondary outcomes, at the baseline and at the 12th week, the ANOVA with a Bonferroni's *post-hoc* was used for normal data and Kruskal-Wallis test with the Dunn's *post-hoc* for non-parametric data. Any statistical difference in between group analyses of control outcomes (body mass index, physical activity level and any food intake variable) was used as covariates in primary analyses (between groups). To analyze the changes from baseline to 12th week (intragroup analysis) in control and secondary outcomes, the T-test for paired samples and Wilcoxon test for paired samples was used with parametric and non-parametric data, respectively.

As none of the variables that could enter as covariates had significant difference in between groups analysis, the ANOVA with a Bonferroni's *post-hoc* (parametric data) or Kruskal-Wallis test with the Dunn's *post-hoc* (non-parametric) was used to analyze the between group differences at baseline of primary outcomes. If one of them had presented differences among groups at the baseline, this data would enter as a covariate (ANCOVA) in the analysis between groups at the 6th and 12th week. If not, the same baseline analysis would be made at the others moments (6th and 12th week).

To analyze the significant changes on primary outcomes (intragroup analysis) at three moments of study (baseline, 6th week and 12th week), were performed a repeated measures analysis of variance to parametric data and the Skillings-Mack test to non-parametric data. The Tukey HSD pairwise comparisons were used as *post-hoc* in the repeated measures analysis of variance. The Wilcoxon test for paired samples was used as *post-hoc* in the Skillings-Mack test. Was used the p value of Greenhouse-Geisser correction in the repeated measures ANOVA.

RESULTS:

From the 144 women screened, 42 had no history of cancer/diabetes, were not engaged on an oriented physical activity program and were willing to join the study. The 42 selected women were then randomized into one of the four groups (9 in the control group and 11 into each intervention group). The study presented a 35.7% loss rate, and diseases were responsible for 11.9% of it. All of these diseases were age-related (osteoarticular disorders and heart problems), observed during the intervention and not related to physical exercise (Figure 1). As only six from the 27 women who completed the study adhered to less than 75% of the exercise program, we understand that it was unnecessary to control for this factor.

As summarized in Table 1, the median (IR) age of the study population was 63 years (60-68), median (IR) family income was US\$ 612.00 (US\$ 338.00 - US\$ 1015.00). The mean (SD) of the resting heart rate was 65.5 bpm (10.6), the mean (SD) of the systolic and diastolic blood pressure was 120.8 (14.3) and 76.4 (10.6), respectively, within normal limits. All these data did not differ among the groups.

In relation to categorical variables (Table 2), with the exception of marital status, which we understood that does not influence inflammatory and oxidative stress parameters, all of them did not differ among the groups. Most women lived without partners, were white, had not completed high school (31% had incomplete primary school), were on chronic medicine use, did not smoke and drank alcohol sporadically.

Table 3 shows that the values of control variables (BMI and physical activity level) were similar among groups at the baseline and at the 12th week. Moreover, the scores of the groups did not change after 12 weeks of intervention. Due to the excess of studied variables, we chose not to display food intake data in tables. In relation to dietary variables that interfere on inflammatory and oxidative parameters, the total calories, protein, lipids, carbohydrate, fiber, iron, vitamin C, D and E, saturated fatty acids, omega 3, omega 6, copper, magnesium,

manganese, zinc, selenium and arginine intake were not altered from baseline to the end of intervention (12 weeks) in all groups.

The same pattern was observed when performing the six-minute walk test (one of our secondary outcomes), where no differences in intragroup and between group analysis were found. However, the performance of handgrip strength increased from baseline to the 12th week in the 210 min/week group, with no differences in other comparisons (between and intragroup).

Table 4 shows the changes in oxidative stress markers. In relation to the TBARS, the group of 90 min/week presented different values compared to the control group at baseline. At 6th and 12th weeks, these values did not differ among groups. However, the measures carried out at the 12th week in the groups of 150 min/week and 210 min/week were significantly lower than the values from baseline and at the 6th week. The thiol content presented no significant differences among groups in all intervention moments. However, the values of 150 and 210 min/week groups at the 6th week were higher than the baseline values, returning to initial levels at the 12th week.

The values of Glutathione peroxidase (GPx) at the baseline and 6th week were similar among groups. At the 12th week, the groups of 150 and 210 min/week had significantly lower GPx activity than the control group. Furthermore, the control group had an increase in this activity at the 6th week, remaining at this level at the 12th week. With regard Superoxide dismutase (SOD) activity, at the 6th week in the 150 min/week group this enzyme activity was lower than the control group. At the 12th week, all values of the exercise groups were statistically lower than the control group. In relation to the intragroup analysis, only the control group presented differences, the values at 12th week were higher than the baseline and 6th week (Table 4).

Table 5 shows the results on inflammatory parameters. ADA activity was increased in the group of 210 min/week at the 6th week, remaining at the same level at the 12th week, with no

differences among groups in all moments. However, the BChE activity and IL-6 levels were not influenced by the intervention and presented no differences among groups.

DISCUSSION

Oxidative stress

The ROS are continuously generated in the metabolism, mainly in the mitochondrial respiratory chain, which in normal operation, 2-5% of the oxygen consumed is incompletely reduced. The formation of these species is physiologically important in phagocytic process, cell signaling and immune response(41). However, when in excess, they can damage proteins, cellular DNA (causing mutations), or the lipid bilayer of the cell membrane(42). In this sense, when there is an imbalance between the ratio of oxidant substances and antioxidant system, with the first is predominant, we call oxidative stress(42). The ROS production is increased due to the elevated oxygen uptake during aerobic(43) and weight exercises(44). However, in consequence of the physical exercise, the organism suffers adaptations which lead to an increase in the antioxidant defenses, such as GPx, SOD and catalase enzymes(21,45,46).

The present data suggest that 12 weeks of concurrent training with volumes at or above public health recommendations for health improvement(30) can reduce oxidative damage, as the groups of 150 and 210 min/week had a reduction of TBARS levels at the 12th week (which is an oxidative stress marker). Besides, they had no modifications in the antioxidant enzymes (GPx and SOD), which could result in the reduction of the antioxidant and oxidant ratio, in favor of the first. Furthermore, it was also observed in the same groups, that thiol content increased at the 6th week, but at the 12th week it returned to baseline values. Considering that total thiol content reflects glutathione (GSH) concentrations and protein-bound sulfhydryl groups(47), it is possible that these exercise volumes presented antioxidant effects.

Nevertheless, the control group presented no changes in oxidative markers (TBARS and thiol content) and an increase in the antioxidants enzymes activity (GPx at 6th week, remaining at this level at the 12th week, and SOD at 12th week). The increases at 12th week were so expressive that the GPx value was statistically higher than the 150 and 210min/week groups and SOD value was higher than all exercise groups. It could be speculated that this increase on antioxidants defenses in the control group was responsible for the maintenance of oxidative marker levels, which showed no difference. On the other hand, the group of 90 min/week had no difference in neither of these parameters, indicating that the possibility of this volume of concurrent training was sufficient to combat oxidative stress without the necessity to increase the antioxidant defenses.

A study which investigated the influence of physical exercise on oxidative parameters of post-menopausal women was not found, but when the effects of concurrent training in these parameters were studied, it could be observed that in Schaun et al.(48), 12 weeks of 105 minutes of this training was able to improve systemic redox and antioxidant defenses in sedentary middle aged males. However, a high performance concurrent training carried out simultaneously with judo training led to negative effects of oxidative stress(49). It is likely that this difference occurred as in the study of Radovanovic(49), the training was done with athletes and for that reason, in a higher intensity than the health programs.

Another contrary result was found in Medeiros et al. (50), where the subjects who perform 180 min/week of concurrent training had negative effects in oxidative stress, whereas the group that perform 300 min/week did not have important changes on these parameters. The authors concluded that the results were contradictory and more studies are needed to elucidate these mechanisms, and hypothesized that the intensity and frequency of 180 min/week were not sufficient to modulate antioxidant defenses and thereby induce the necessary adjustments to reduce damage to lipids(50). However, a recent work concluded that a 12-week program of nutritional and aerobic exercise intervention in overweight/obese

sedentary women decreased levels of oxidative stress when accompanied by weight loss and improved fitness(51). In Medeiros et al.(50), the group of 300 min/week had a more significant decrease in body weight and BMI and was the only group that increased the free-fat mass and decreased the body fat percentage. Perhaps, this may be the reason for better results in the 300 min/week group.

Nevertheless, our data are in agreement with different studies which concluded that physical exercise has a positive effect on the oxidative parameters(52-56), indicating that, for post-menopausal women, 150 min/week or more of concurrent training will have a reduction in oxidative stress from the 12th week.

Inflammation

The immune system consists of organs, cells, hormones and interactive molecule modulators, which are responsible for the recognition and disposal of non-self material that enters the organism(1), preventing the abnormal growth of cancer cells and removing dead cells(42). It is divided in innate and adaptive immunity, which act simultaneously(1). The first generates initial immune response and defends the organism in a non-specific manner, usually preceding and triggering the adaptive immunity that responds to the antigen in a specific form, generating immunological memory(1,42).

Cytokines are molecules responsible for the communication between cells, principally immune cells. It is one of the two ways a cell can send signals to another one to divide, differentiate, secrete antibody and so on (another way is the receptor-receptor interaction, by direct cell contact)(1). The most important cytokines are tumor necrosis factor alpha (TNF- α), interleukin 6 (IL-6) and interleukin 1 (IL-1). The IL-6 is involved in the innate response, being produced by monocytes and macrophages(57); and in the adaptive immunity, inducing the B lymphocytes to produce immunoglobulins(58). This cytokine has an anti- and proinflammatory

role, as it acutely leads to an anti-inflammatory condition(59,60), but chronically it induces to a proinflammatory(61).

Data from literature have demonstrated that physical exercise has anti-inflammatory effects(4,18-20). However, in relation to the effects of concurrent training, the literature showed no association with the inflammatory markers (such as IL-6, TNF- α and CRP)(47), supporting our findings in relation to IL-6. In addition, all trials which evaluated changes on inflammatory parameters mediated by physical exercise in post-menopausal women were done with aerobic exercise and had different effects(22-25). Campbell et al. (24) was the only study that found a decrease in inflammatory parameters (CRP) in 12 months of intervention in women who performed 225 min/week of aerobic exercise. In the present study, the highest volume of aerobic exercise was 105 min/week, which may indicate that the effects of aerobic exercise and weight training do not add up. However, other studies(22,23,25) also have a group above the WHO recommendation(30) which showed no significant difference, therefore supporting our results. Nevertheless, no study showed an inflammatory effect of physical exercise, but more clinical trials with this population and concurrent training, evaluating a complete inflammatory scenario are needed for a better understanding of this theme.

In addition to the levels of IL-6, the present study also evaluated the activity of the enzymes that have a crucial role in inflammatory process such as BChE and ADA. BChE is an enzyme capable of hydrolyzing a variety of esters including acetylcholine (ACh)(62), which acts in various non neuronal cells, such as in the immune system and blood cells(63), and as an anti-inflammatory agent that induces a decrease in the production of pro-inflammatory cytokines by macrophages(64). Das(65) has suggested that an increase in BChE activity results in reduced ACh levels in serum and tissues, leading to disrupted cholinergic anti-inflammatory responses which amplify systemic inflammation. In this sense, some studies have suggested that BChE activity could be a relevant marker to early detection of inflammation(65,66).

We demonstrated that exercise did not alter the BChE activity in post-menopausal women. This finding corroborates with other experimental data from literature which showed that BChE activity was not altered after six week of swimming protocol(67). Although it is well documented that regular physical exercise exerts anti-inflammatory effects, it can be inferred that these effects were not associated with the BChE enzyme.

ADA is a key enzyme of purine metabolism, being related to the immune system development and maintenance, participating in the immunoregulation of inflammatory processes(68-70) while it is involved in the irreversible deamination of adenosine and deoxyadenosine to inosine and deoxyinosine, respectively(71,72). Our results demonstrated that the post-menopausal women who performed 210 min/week of concurrent training for six weeks had an increase in the ADA activity, remaining at the 12th week. It is well established in the literature that adenosine exhibits potent anti-inflammatory and immunosuppressive actions by inhibiting both proliferation of T cells and secretion of pro-inflammatory cytokines, such as TNF- α and IFN- γ . In this sense, an increase in the ADA activity observed in our study could decrease adenosine levels contributing to inflammatory process. However, we can exclude this fact since BChE and IL-6 were not altered.

An important aspect to be discussed is that adenosine is an important nucleoside involved in the skeletal muscle blood flow regulation and oxygen supply during muscle contractions(73). The increased use of ATP during muscle contractions is an important mechanism to increase the adenosine levels, which can be diffused through the interstitial space to the blood stream(74). Considering that skeletal muscle is an important source of adenosine, the increase in the ADA activity observed in our study can reflect the significant increase of this nucleoside after exercise. Moreover, increased levels of adenosine could interact with adenosine receptors and exerts anti-inflammatory effects.

Secondary outcomes

This trial showed that the performance in the six-minute walk test was not modified in any exercise group, indicating that 12 weeks of 90, 150 or 210 min/week of concurrent training was not sufficient to improve fitness. However, WHO indicates a minimum of 150 minutes of aerobic activity is necessary to improve health(30), and the highest volume of aerobic exercise was 105 min/week, which also may indicate that the effects of aerobic exercise and weight training do not add up.

On the other hand, WHO's recommendations indicate that the weight training has to be performed two days a week(30), and if each day spent the same time of aerobic recommendations, weight training had to be performed for 100 min/week. In our study, the group of 210 min/week of concurrent training performed 105 min/week of weight training, and was the one that increased strength (measured by the handgrip strength test).

Limitations and strengths

Limitations

The test performed to estimate the cardiorespiratory fitness was not specific to measure physical activity performed by the women. The test was done walking (six-minute walking test) and the aerobic training was carried out on cycle-ergometers.

Strengths

To our knowledge, this study is the first clinical trial which evaluated the effects of 12 weeks with different volumes of concurrent training in inflammatory and oxidative parameters of post-menopausal women. In addition, we controlled physical activity performed outside intervention and food intake.

Conclusion

In conclusion, 150 min/week or more, for 12 weeks of concurrent training can reduce the oxidative stress in post-menopausal women. In addition, 90 min/week of concurrent training is sufficient to control the oxidative stress without any change in antioxidant defenses.

Future clinical trials should be addressed to evaluate a complete inflammatory scenario in order to investigate the real role of concurrent training on the post-menopausal women.

REFERENCES

1. Playfair JHL, Chain BM. Immunology at a Glance; 10th ed. Oxford: Wiley-Blackwell; 2013.
2. Leonard BE. Inflammation, depression and dementia: are they connected? *Neurochem Res.* 2007; 32: 1749–1756.
3. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA.* 2001; 286: 327–334.
4. Pedersen BK, Saltin B. Evidence for prescribing exercise as therapy in chronic disease. *Scand J Med Sci Sports.* 2006; 16 (Suppl. 1): 3–63.
5. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature.* 2002; 420: 860–867.
6. Siemes C, Visser LE, Coebergh JW, Splinter TA, Witteman JC, Uitterlinden AG, et al. C-reactive protein levels, variation in the C-reactive protein gene, and cancer risk: the Rotterdam Study. *J Clin Oncol.* 2006; 24: 5216–5222.
7. Tsilidis KK, Branchini C, Guallar E, Helzlsouer KJ, Erlinger TP, Platz EA. C-reactive protein and colorectal cancer risk: a systematic review of prospective studies. *Int J Cancer.* 2008; 123: 1133-1140.
8. Heikkila K, Harris R, Lowe G, Rumley A, Yarnell J, Gallacher J, et al. Associations of circulating C-reactive protein and interleukin-6 with cancer risk: findings from two prospective cohorts and a meta-analysis. *Cancer Causes Control.* 2009; 20: 15–26.

9. Wang T, Rohan TE, Gunter MJ, Xue X, Wactawski-Wende J, Rajpathak SN, et al. A prospective study of inflammation markers and endometrial cancer risk in postmenopausal hormone nonusers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2011; 20: 971–977.
10. Dossus L, Rinaldi S, Becker S, Lukanova A, Tjonneland A, Olsen A, et al. Obesity, inflammatory markers, and endometrial cancer risk: a prospective case-control study. *Endocr Relat Cancer.* 2010; 17: 1007–1019.
11. Reilly MP, Lehrke M, Wolfe ML, Rohatgi A, Lazar MA, Rader DJ. Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans. *Circulation.* 2005; 111: 932–939.
12. Pfeilschifter J, Ködtiz R, Pfohl M, Schatz H. Changes in proinflammatory cytokine activity after menopause. *Endocrine Reviews.* 2002; 23: 90–119.
13. Kadoglou NP, Perrea D, Iliadis F, Angelopoulou N, Liapis C, Alevizos M. Exercise reduces resistin and inflammatory cytokines in patients with Type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2007; 30: 719–721.
14. Yeh SS, Wu S, Levine DM, Parker TS, Olson JS, Stevens MR, et al. The correlation of cytokine levels with body weight after megestrol acetate treatment in geriatric patients. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2001; 56: 48–54.
15. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine.* 4th ed. New York: Oxford UK; 2007.
16. Southorn PA, Powis G. *Free radicals in medicine II. Involvement in human disease.* Mayo Clin Proc. 1988; 63: 390-408.
17. Olsen NJ, Kovacs WJ. Gonadal steroids and immunity. *Endocr Rev.* 1996; 17(4): 369-384.
18. Petersen AM, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol.* 2005; 98: 1154–1162.

19. Mathur M, Pedersen BK. Exercise as a mean to control low-grade inflammation. *Mediators Inflamm.* 2008; doi: 10.1155/2008/109502.
20. Walsh NP, Gleeson M, Shephard RJ, Gleeson M, Woods JA, Bishop NC, et al. Position statement. Part one: immune function and exercise. *Exerc Immunol Rev.* 2011; 17: 1–65.
21. Powers SK, Ji LL, Leeuwenburgh C. Exercise training induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a review. *Med Sci Sports Exerc.* 1999; 31(7): 987-997.
22. Imayama I, Ulrich CM, Alfano CM, Wang C, Xiao L, Wener MH, et al. Effects of a caloric restriction weight loss diet and exercise on inflammatory biomarkers in overweight/obese post menopausal women: a randomized controlled trial. *Cancer Res.* 2012; 72(9): 2314-2326.
23. Johannsen NM, Swift DL, Johnson WD, Dixit VD, Earnest CP, Blair SN, et al. Effect of different doses of aerobic exercise on total white blood cell (WBC) and WBC sub fraction number in post menopausal women: Results from DREW. *PLoS ONE.* 2012; 7(2): e31319.
24. Campbell PT, Campbell KL, Wener MH, Wood BL, Potter JD, McTiernan A, et al. A year long exercise intervention decreases CRP among obese post menopausal women. *Med Sci Sports Exerc.* 2009; 41(8): 1533-1539.
25. Stewart LK, Earnest CP, Blair SN, Church TS. Effects of different doses of physical activity on C-reactive protein among women. *Med Sci Sports Exerc.* 2010; 42(4): 701-707.
26. Nieman DC, Henson DA, Herring J, Sampson C, Suttles J, Conley M, et al. Natural killer cell cytotoxic activity in weight trainers and sedentary controls. *J Strength Cond Res.* 1994; 8(4): 251.
27. Prestes J, Shiguemoto G, Botero JP, Frollini A, Dias R, Leite R, et al. Effects of resistance training on resistin, leptin, cytokines, and muscle force in elderly post-menopausal women. *J Sports Sci.* 2009; 27(14): 1607-1615.

28. Gleeson M, Bishop NC, Stensel DJ, Lindley MR, Mastana SS, Nimmo MA. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. *Nat Rev Immunol*. 2011; 11(9): 607-615.
29. Shephard RJ. PAR-Q, Canadian Home Fitness Test and Exercise Screening Alternatives. *Sports Med*. 1988; 5(3): 185-195.
30. World Health Organization. Global recommendations on physical activity for health. Geneva: World Health Organization; 2010.
31. Botero JP, Shiguemoto GE, Prestes J, Marin CT, Do Prado WL, Pontes CS, et al. Effects of long-term periodized resistance training on body composition, leptin, resistin and muscle strength in elderly post-menopausal women. *J Sports Med Phys Fitness*. 2013; 53(3): 289-294.
32. World Health Organization. Physical Status: The use and interpretation of anthropometry. Geneva: World Health Organization; 1995.
33. American Thoracic Society Official Statement. ATS Statement: Guidelines for the Six-Minute Walk Test. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002; 166: 111–117.
34. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*. 1979; 95(2): 351-358.
35. Aksenov MY, Markesbery WR. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*. 2001; 302(2-3): 141-145.
36. Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem*. 1972; 247(10): 3170-3175.

37. Giusti G, Gakis C. Temperature conversion factors, activation energy, relative substrate specificity and optimum pH of adenosine deaminase from human serum and tissues. *Enzyme*. 1971; 12: 417-425.
38. Ellman GL, Courtney KD, Andres V Jr, Feather-stone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol*. 1961; 7: 88-95.
39. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951; 193, 265-275.
40. Akbarpour M. The effect of aerobic training on serum adiponectin and leptin levels and inflammatory markers of coronary heart disease in obese men. *Biol Sport*. 2013; 30(1): 21-27.
41. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. 4th ed. New York: Oxford UK; 2007.
42. McArdle WD, Katch FI, Katch VL. *Exercise Physiology: Nutrition, Energy, and Human Performance*; 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2010.
43. Pattwell DM, Jackson MJ. Contraction induced oxidants as mediators of adaptation and damage in skeletal muscle. *Exerc Sport Sci Rev*. 2004; 32(1): 14-18.
44. McBride JM, Kraemer WJ, Triplett-McBride T, Sebastianelli W. Effect of resistance exercise on free radical production. *Med Sci Sports Exerc*. 1998; 30(1): 67-72.
45. Shern-Brewer R, Santanam N, Wetzstein C, White-Welkley J, Parthasarathy S. Exercise and cardiovascular disease: a new perspective. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998; 18(7): 1181-1187.
46. Vincent HK, Powers SK, Demirel HA, Coombes JS, Naito H. Exercise training protects against contraction induced lipid peroxidation in the diaphragm. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1999; 79(3): 268-273.

47. Aksenov MY, Markesbery WR. Change in thiol content and expression of glutathione redox system gene in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*. 2001; 302(2-3): 141-145.
48. Schaun MI, Dipp T, Rossato Jda S, Wilhelm EN, Pinto R, Rech A, et al. The effects of periodized concurrent and aerobic training on oxidative stress parameters, endothelial function and immune response in sedentary male individuals of middle age. *Cell Biochem Funct*. 2011; 29(7): 534-542.
49. Radovanovic D, Bratic M, Nurkic M, Cvetkovic T, Ignjatovic A, Aleksandrovic M. Oxidative stress biomarker response to concurrent strength and endurance training. *Gen Physiol Biophys*. 2009; 28 Spec No:205-211.
50. Medeiros NS, Abreu FG, Colato AS, de Lemos LS, Ramis TR, Dorneles GP, et al. Effects of Concurrent Training on Oxidative Stress and Insulin Resistance in Obese Individuals. *Oxid Med Cell Longev*. 2015; 2015: 697181.
51. Bianchi VE, Ribisl PM. Reactive Oxygen Species Response to Exercise Training and Weight Loss in Sedentary Overweight and Obese Female Adults. *J Cardiopulm Rehabil Prev*. 2015 Mar 24. [Epub ahead of print].
52. Lennon SL, Quindry JC, French JP, Kim S, Mehta JL, Powers SK. Exercise and myocardial tolerance to ischaemia–reperfusion. *Acta Physiol Scand*. 2004; 182(2): 161–169.
53. Aguilo A, Tauler P, Pilar Guix M, Villa G, Córdova A, Tur JA, et al. Effect of exercise intensity and training on antioxidants and cholesterol profile in cyclists. *J Nutr Biochem*. 2003; 14(6): 319–325.

54. Nojima H, Watanabe H, Yamane K, Kitahara Y, Sekikawa K, Yamamoto H, et al. Effect of aerobic exercise training on oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*. 2008; 57(2): 170–176.
55. Husain K. Interaction of exercise training and chronic NOS inhibition on blood pressure, heart rate, NO and antioxidants in plasma of rats. *Pathophysiology*. 2003; 10(1): 47–56.
56. Ramel A, Wagner KH, Elmadfa I. Correlations between plasma noradrenaline concentrations, antioxidants, and neutrophil counts after submaximal resistance exercise in men. *Br J Sports Med*. 2004; 38(5): E22.
57. Kishimoto T. Interleukin-6: from basic science to medicine – 40 years in immunology. *Annu Rev Immunol*. 2005; 23: 1-21.
58. Kishimoto T. The biology of interleukin-6. *Blood Journal*. 1989; 74: 1-10.
59. Xing Z, Gauldie J, Cox G, Baumann H, Jordana M, Lei XF, et al. IL-6 is an anti-inflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. *J Clin Invest*. 1998; 101(2): 311-320.
60. Steensberg A, Fischer CP, Keller C, Møller K, Pedersen BK. IL-6 enhances plasma IL-1ra, IL-10, and cortisol in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2003; 285(2): E433-E437.
61. Abbas AK, Lichtman AH. *Cellular and Molecular Immunology*; 5th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005.
62. Darvesh S, Leblanc AM, Macdonald IR, Reid GA, Bhan V, Macaulay RJ, et al. Butyrylcholinesterase activity in multiple sclerosis neuropathology. *Chem Biol Interact*. 2010; 187: 425–431.
63. De Almeida JP, Saldanha C. Nonneuronal cholinergic system in human erythrocytes: biological role and clinical relevance. *J Membr Biol*. 2010; 234: 227–234.

64. De Oliveira P, Gomes AQ, Pacheco TR, Vitorino de Almeida V, Saldanha C, Calado A. Cell-specific regulation of acetylcholinesterase expression under inflammatory conditions. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2012; 51: 129–137.
65. Das UN. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase as possible markers of low-grade systemic inflammation, *Med Sci Monit.* 2007; 13(12): RA214-RA221.
66. Zivkovic AR, Schmidt K, Sigl A, Decker SO, Brenner T, Hofer S. Reduced Serum Butyrylcholinesterase Activity Indicates Severe Systemic Inflammation in Critically ill Patients. *Mediators of Inflammation.* 2015; doi: 10.1155/2015/274607.
67. Cardoso AM, Abdalla FH, Bagatini MD, Martins CC, Fiorin FS, Baldissarelli J, et al. Swimming Training Prevents Alterations in Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Activities in Hypertensive Rats. *Am J Hypertens.* 2014; 27(4): 522-529.
68. Antonioli L, Fornai M, Colucci R, Ghisu N, Da Settimo F, Natale G, et al. Inhibition of adenosine deaminase attenuates inflammation in experimental colitis. *J Pharmacol Exp Ther.* 2007; 322(2): 435-442.
69. Ghaemi Oskouie F, Shameli A, Yang A, Desrosiers MD, Mucsi AD, Blackburn MR, et al. High levels of adenosine deaminase on dendritic cells promote autoreactive T cell activation and diabetes in nonobese diabetic mice. *J Immunol.* 2011; 186(12): 6798-6806.
70. Martinez-Navio JM, Casanova V, Pacheco R, Naval-Macabuhay I, Climent N, Garcia F, et al. Adenosine deaminase potentiates the generation of effector, memory, and regulatory CD4 + T cells. *J Leukoc Biol.* 2011; 89(1): 127-136.
71. Franco R, Pacheco R, Gatell JM, Gallart T, Lluís C. Enzymatic and extraenzymatic role of adenosine deaminase 1 in T-cell-dendritic cell contacts and in alterations of the immune function. *Crit Rev Immunol.* 2007; 27(6): 495-509.

72. Sharoyan S, Antonyan A, Mardanyan S, Lupidi G, Cristalli G. Influence of dipeptidyl peptidase IV on enzymatic properties of adenosine deaminase. *Acta Biochim Pol.* 2006; 53(3): 539-546.
73. Rådegran G, Calbet JA. Role of adenosine in exercise-induced human skeletal muscle vasodilatation. *Acta Physiol Scand.* 2001; 171(2): 177-185.
74. Ballard HJ. ATP and adenosine in the regulation of skeletal muscle blood flow during exercise. *Sheng Li Xue Bao.* 2014; 66(1): 67-78.

Figure 1. Participant flow diagram.

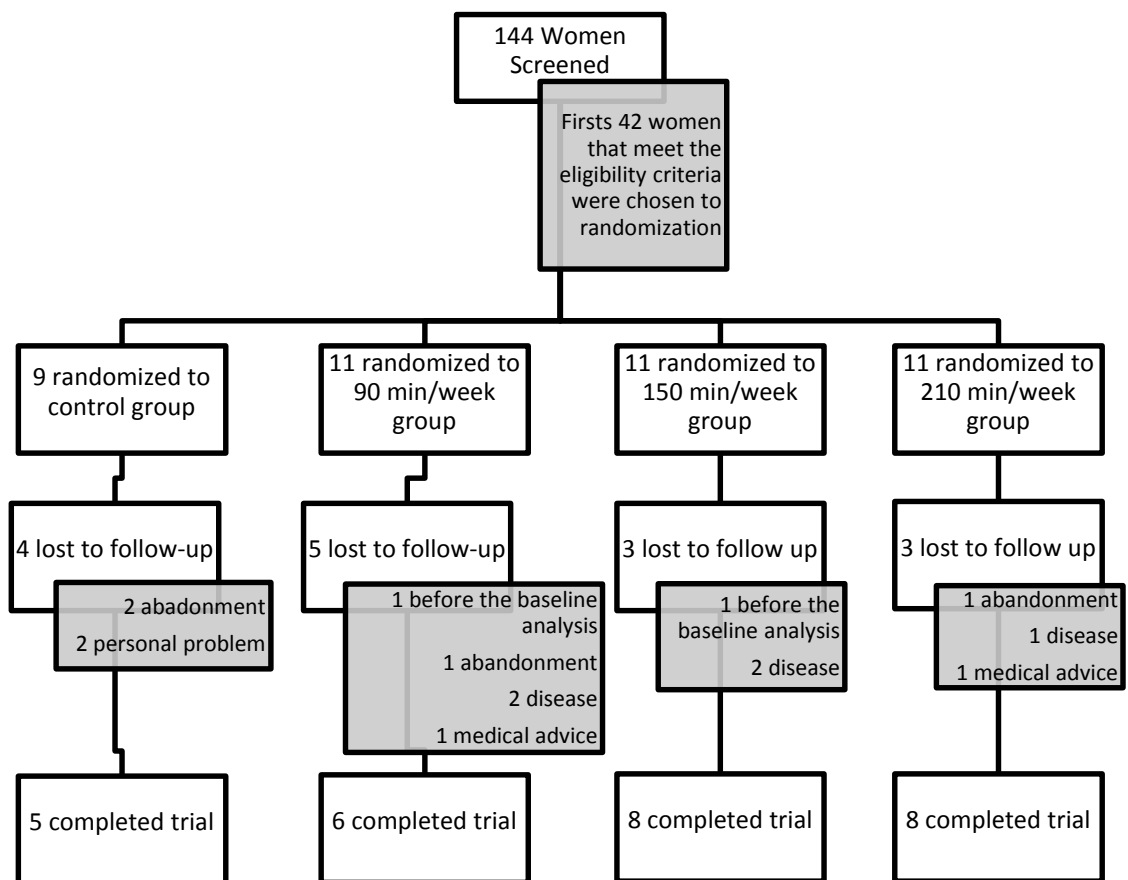


Table 1. Description of numerical outcomes between interventions groups. All values are presented as mean ($\pm$ standard deviation) for parametric data or median (interquartile range) for nonparametric data.

Variable	Group		p*
Age (complete years)	Control	70 (63-73)	0.1¥
	90 min/week	62 (52-74)	
	150 min/week	61.5 (59-67)	
	210 min/week	63 (62-65)	
	Total	63 (60-68)	
Familiar income (US\$)	Control	846 (612-1692)	0.2¥
	90 min/week	538 (338-846)	
	150 min/week	867 (444-1269)	
	210 min/week	423 (306-655)	
	Total	612 (338-1015)	
Resting heart rate (bpm)	Control	65.8 (7.9)	0.9#
	90 min/week	64.7 (13.1)	
	150 min/week	64.5 (9.2)	
	210 min/week	68.1 (12.1)	
	Total	65.5 (10.6)	
Systolic blood pressure (mmHg)	Control	119.8 (6.7)	1.0#
	90 min/week	118.2 (20.4)	
	150 min/week	121.2 (12.4)	
	210 min/week	121.0 (14.2)	
	Total	120.8 (14.3)	
Diastolic blood pressure (mmHg)	Control	74.4 (8.8)	0.8#
	90 min/week	75.2 (17.2)	
	150 min/week	76.0 (7.0)	
	210 min/week	78.7 (7.1)	
	Total	76.4 (10.6)	

* The statistics tests were done between the groups values, excluded the total values

One-Way Analysis of Variance

¥ Kruskal-Wallis test

Table 2. Description of categorical outcomes between interventions groups. All values are exposed as n (%).

Variable		Group				p*
		Control (n= 9)	90 min/week (n=10)	150 min/week (n=10)	210 min/week (n =11)	
Marital status	Married	4 (44.4)	4 (40.0)	7 (70.0)	1 (9.1)	0.04
	Others	5 (55.6)	6 (60.0)	3 (30.0)	10 (90.9)	
Skin color	White	7 (77.8)	8 (80.0)	8 (80.0)	8 (72.7)	1.0
	Others	2 (22.2)	2 (20.0)	2 (20.0)	3 (27.3)	
Educational level	Incomplete primary school	1 (11.2)	4 (4.0)	3 (3.0)	4 (36.4)	0.7
	Primary school	3 (33.3)	3 (3.0)	1 (1.0)	2 (18.2)	
	Incomplete high school	1 (11.1)	1 (1.0)	2 (2.0)	0 (0.0)	
	High school	3 (33.3)	1 (1.0)	4 (4.0)	2 (18.2)	
	Incomplete higher education	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (18.2)	
	Higher education	1 (11.1)	1 (1.0)	0 (0.0)	1 (9.0)	
Continuous use of drugs	No	0 (0.0)	1 (10.0)	1 (10.0)	1 (9.1)	1.0
	Yes	9 (100.0)	9 (90.0)	9 (90.0)	10 (90.9)	
Smoking	No	8 (88.9)	8 (80.0)	9 (90.0)	10 (90.9)	0.9
	Yes	1 (11.1)	2 (20.0)	1 (10.0)	1 (9.1)	
Alcohol intake	Daily (one dose)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (10.0)	0 (0.0)	0.4
	Sporadically	5 (55.6)	4 (40.0)	7 (70.0)	5 (45.5)	
	No	4 (44.4)	6 (60.0)	2 (20.0)	6 (54.5)	

* Fisher's exact test

Table 3. Change in control (body mass index and physical activity level) and secondary (handgrip strength and performance in the six-minute walk test) outcomes between week 0 and week 12. All values are presented as mean ($\pm$ standard deviation) for parametric data or median (interquartile range) for nonparametric data. Food intake (control outcome) is showed in the text.

Variable	Group	Baseline (n 40)	Week 12 (n 27)	p
Handgrip strength (kgf)	Control	23.61 (3.91)	22.98 (4.92)	0.8 ^σ
	90 min/week	23.80 (5.46)	26.56 (5.76)	0.08 ^σ
	150 min/week	25.03 (5.70)	26.67 (6.64)	0.1 ^σ
	210 min/week	24.81 (4.23)	30.39 (4.19)	0.004 ^σ
	p	0.9 [#]	0.2 [#]	
Performance in the six-minute walk test (meters)	Control	466.49 (97.89)	514.5 (124.24)	0.6 ^σ
	90 min/week	515.78 (69.08)	581.02 (76.02)	0.07 ^σ
	150 min/week	552.62 (62.29)	559.57 (53.03)	0.2 ^σ
	210 min/week	539.77 (46.17)	586.69 (66.53)	0.06 ^σ
	p	0.05 [#]	0.5 [#]	
Body Mass Index	Control	29.69 (28.14-34.98)	28.09 (27.35-31.12)	0.7 ^ω
	90 min/week	28.25 (23.84-31.96)	28.03 (23.71-29.61)	0.1 ^ω
	150 min/week	28.62 (23.61-30.44)	28.97 (24.54-30.15)	0.4 ^ω
	210 min/week	29.56 (24.49-30.68)	28.20 (24.74-32.49)	0.3 ^ω
	p	0.4 [¥]	0.8 [¥]	
Physical activity level (min/week)	Control	30 (0-120)	90 (40-120)	0.7 ^ω
	90 min/week	35 (0-200)	90 (60-90)	0.6 ^ω
	150 min/week	60 (0-120)	65 (20-125)	0.4 ^ω
	210 min/week	150 (80-300)	150 (60-240)	0.7 ^ω
	p	0.1 [¥]	0.6 [¥]	

One-Way Analysis of Variance (between groups)

¥ Kruskal-Wallis test (between groups)

σ T-test for paired samples (intragroup)

ω Wilcoxon test for paired samples (intragroup)

Table 4. Change in oxidative stress markers according to the intervention weeks. All values are presented as mean ($\pm$ standard deviation) for parametric data or median (interquartile range) for nonparametric data.

Variable	Group	Baseline (n 40)	Week 6 (n 31)	Week 12 (n 27)	p
TBARS (nmol TBARS/ mg protein)	Control	0.100 (0.022)	0.119 (0.020)	0.073 (0.040)	0.08*
	90 min/week	0.144 (0.039)£	0.159 (0.053)	0.095 (0.020)	0.08*
	150 min/week	0.131 (0.028)	0.162 (0.049)	0.062 (0.024)††	0.002*
	210 min/week	0.137 (0.017)	0.149 (0.018)	0.070 (0.019)††	0.002 ^α
	p	0.01 [#]	0.3 ^μ	0.1 ^μ	
Thiol content (nmol TNB/ mg protein)	Control	9.00 (1.45)	12.26 (2.50)	9.24 (1.44)	0.06*
	90 min/week	7.74 (0.94)	12.10 (3.69)	8.55 (2.53)	0.2 ^α
	150 min/week	7.73 (1.85)	12.42 (4.31)†	7.80 (1.51)‡	0.008 ^α
	210 min/week	7.07 (1.63)	12.13 (3.65)†	8.32 (1.52)‡	0.01 ^α
	p	0.06 [#]	1.0 [#]	0.5 [#]	
Glutathione peroxidase (U/mg protein)	Control	42.91(30.10-63.04)	105.01 (20.80)†	106.67 (14.45)†	0.03*
	90 min/week	54.24(41.41-79.59)	91.26 (44.79)	81.72 (12.52)	0.2*
	150 min/week	68.32(42.43-84.64)	80.57 (43.76)	80.04 (18.26)£	1.0*
	210 min/week	63.40(47.25-73.96)	98.87 (33.17)	77.32 (13.01)£	0.05*
	p	0.4 [¥]	0.7 [#]	0.01 [#]	
Superoxide dismutase (U/mg protein)	Control	6.10 (1.33)	6.04 (0.62)	7.75 (0.62)††	0.02*
	90 min/week	5.31 (0.79)	5.04 (1.67)	4.79 (1.29)£	0.4*
	150 min/week	5.72 (1.44)	4.20 (0.79)£	4.86 (1.06)£	0.08*
	210 min/week	4.67 (1.11)	5.02 (1.15)	4.78 (1.46)£	0.9*
	p	0.06 [#]	0.03 [#]	<0.001 [#]	

One-Way Analysis of Variance (between groups)

μ Analysis of covariance controlling to the baseline scores (between groups)

¥ Kruskal-Wallis test (between groups)

£ Difference statistically significant (p<0.05) of the control group values (between groups)

* Repeated measures analysis of variance (intragroup)

α Skillings-Mack test (intragroup)

† Difference statistically significant (p<0.05) of the baseline values (intragroup)

‡ Difference statistically significant (p<0.05) of the week 6 values (intragroup)

Table 5. Change in inflammation parameters according to the intervention weeks. All values are presented as mean ($\pm$ standard deviation) for parametric data or median (interquartile range) for nonparametric data.

Variable	Group	Baseline (n 40)	Week 6 (n 31)	Week 12 (n 27)	p
Interleukin-6 (pg/mL)	Control	4.60(3.96-5.77)	3.62(3.42-4.41)	4.47(4.26-4.54)	0.2*
	90 min/week	4.58(3.62-4.88)	4.14(3.54-4.29)	3.82(3.57-8.92)	0.9 α
	150 min/week	4.50(3.84-6.35)	4.39(4.06-4.87)	4.71(3.46-5.39)	0.5 α
	210 min/week	5.27(4.05-13.01)	4.67(3.67-6.69)	5.55(3.97-7.01)	0.4 α
	p	0.5 ¥	0.4 ¥	0.5 ¥	
Butyrylcholinesterase μ mol BuSCh/h/mg of protein	Control	9.35 (2.79)	10.07 (0.83)	11.16 (1.65)	0.05*
	90 min/week	10.83 (2.00)	11.46 (2.83)	9.49 (1.28)	0.4*
	150 min/week	7.44 (4.31)	9.40 (2.85)	8.71 (1.78)	0.5*
	210 min/week	7.31 (4.23)	11.02 (2.83)	10.34 (2.77)	0.4*
	p	0.2 $\text{\#}$	0.4 $\text{\#}$	0.2 $\text{\#}$	
Adenosine deaminase (U/L)	Control	31.12 (5.96)	42.11 (10.74)	43.11 (20.21)	0.1 α
	90 min/week	29.94 (11.72)	42.54 (10.07)	45.89 (9.75)	0.06*
	150 min/week	31.83 (5.84)	42.34 (11.53)	37.83 (10.51)	0.08*
	210 min/week	25.91 (8.45)	45.03 (9.05) $\dagger$	47.70 (17.90) $\dagger$	0.002*
	p	0.4 $\text{\#}$	0.9 $\text{\#}$	0.6 $\text{\#}$	

$\text{\#}$ One-Way Analysis of Variance (between groups)

¥ Kruskal-Wallis test (between groups)

* Repeated measures analysis of variance (intragroup)

α Skillings-Mack test (intragroup)

$\dagger$ Difference statistically significant ($p < 0.05$) of the base line values (intragroup)

5. *Press-release*

(Dissertação de Matheus Pintanel Silva de Freitas)

Mulheres na menopausa que realizam três sessões de prática de atividade física por semana reduzem o risco de doenças crônicas

A menopausa se caracteriza pela redução na produção dos hormônios relacionados com o controle da ovulação e com o desenvolvimento das características sexuais femininas (os estrogênios). Essa deficiência é chamada de hipoestrogenia. Como consequência, as mulheres estão a, pelo menos, um ano sem menstruar possuem uma concentração acima do normal de inflamação no corpo, além de imunidade baixa.

Estresse oxidativo é uma disfunção que pode causar uma série de doenças, como enfisema pulmonar, aterosclerose, câncer, doenças inflamatórias e envelhecimento precoce. O estresse oxidativo está diretamente relacionado com a inflamação, pois células inflamatórias produzem espécies reativas de oxigênio. Devido a isso, mulheres na menopausa têm uma produção naturalmente elevada dessas espécies, causando estresse oxidativo.

O treinamento concorrente é amplamente realizado em academias de ginástica/musculação, tanto para pessoas que estão em busca de qualidade de vida, quanto para as que visam algum objetivo mais específico (como aumento da massa muscular, da resistência, etc.). Esse método é caracterizado por exercícios prolongados (como caminhada ou exercícios na bicicleta) e de musculação na mesma sessão de treino. Como o exercício contínuo já tem efeitos conhecidos que combatem o estresse oxidativo e a inflamação, torna-se importante verificar se o exercício contínuo associado ao treino de musculação tem capacidade de diminuir o estresse oxidativo.

O aluno do curso de Mestrado em Educação Física da Universidade Federal de Pelotas, Prof. Matheus Pintanel Silva de Freitas, sob orientação do Prof. Dr. Airton José Rombaldi e coorientação da Prof.^a Dr.^a Francieli Moro Stefanello, realizou um estudo que verificou o efeito de diferentes durações de treinamento concorrente em parâmetros inflamatórios e do estresse oxidativo em mulheres pós-menopausadas durante 12 semanas.

Eles realizaram um estudo que incluiu 42 mulheres pós-menopausadas divididas em quatro grupos. Um grupo realizava nenhum tipo de exercício, os outros realizavam três sessões de treinamento concorrente por semana, sendo que o segundo grupo realizava 30 minutos a cada sessão, o terceiro, 50 minutos e o quarto, 70 minutos.

No final do estudo, os pesquisadores chegaram à conclusão de que a realização do treinamento concorrente em três seções por semana com 50 minutos ou mais de duração diminuiu o estresse oxidativo das participantes. Então, se você está na menopausa e quer reduzir o estresse oxidativo de seu

organismo (prevenindo uma série de doenças como enfisema pulmonar, aterosclerose, câncer, doenças inflamatórias e envelhecimento precoce), além de acumular todos os efeitos benéficos que um estilo de vida ativo traz para sua vida, basta se engajar em um programa de treinamento concorrente com o educador físico mais próximo e realizar três sessões durante a semana, de 50 minutos ou mais.

6. Anexos

(Dissertação de Matheus Pintanel Silva de Freitas)

Anexo 1. Normas de submissão da RBME



INSTRUÇÕES AOS AUTORES

- [Escopo e Política](#)
- [Forma e preparação de manuscritos](#)
- [Envio de manuscritos](#)

ISSN 1517-8692 *versão impressa*

ISSN 1806-9940 *versão on-line*

Escopo e Política

A Revista Brasileira de Medicina do Esporte - RBME (Brazilian Journal of Sports Medicine) órgão oficial de publicação bimestral da Sociedade Brasileira de Medicina do Exercício e do Esporte (SBMEE), indexada na Web Of Science (ISI), SciELO, SIBRADID, Excerpta Medica-EMBASE, Physical Education Index, LILACS e SIRC-Sportdiscus.

A **RBME** adota as regras de preparação de manuscritos da *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals (International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. Ann Intern Med 1997;126:36-47)*, disponível (www.icmje.org).

TAXA PARA PUBLICAÇÃO: Para possibilitarmos a viabilização e continuidade da **Revista Brasileira de Medicina do Esporte (RBME)** informamos aos autores que a partir da edição vol. 20 nº 01- 2014, será instituída uma taxa para publicação de artigos quando de sua aprovação. Após a liberação do trabalho para publicação, comunicada pelo editor-chefe, deverão efetuar o depósito em nome da Associação Brasileira de Medicina do Esporte - CNPJ 30.504.005-0001-12; Banco Bradesco, agência 0449, Conta: 0001353-6. Enviar comprovante de depósito para o e-mail atharbme@uol.com.br mencionando o número de protocolo do trabalho (**RBME 0000**), o título do artigo e o nome do autor de correspondência/submissão. **VALORES: Para os sócios da Sociedade Brasileira de Medicina e do Exercício e do Esporte (SBMEE) o valor corresponderá à R\$ 800,00 (\$337 dólares) e para não sócios R\$ 1.000,00 (\$420 dólares).** Na submissão do manuscrito, após completar o cadastro, o autor deve ler e concordar com os termos de originalidade, relevância e qualidade, bem como sobre a cobrança da taxa. Ao indicar sua

ciência desses itens, o manuscrito será registrado no sistema para avaliação.

Forma e preparação de manuscritos

DUPLA SUBMISSÃO: os artigos submetidos à **RBME** serão considerados para publicação somente com a condição de que não tenham sido publicados ou não estejam em processo de avaliação para publicação em outro periódico, seja na sua versão integral ou em parte. A **RBME** não considerará para publicação artigos cujos dados tenham sido disponibilizados na Internet para acesso público. Se houver no artigo submetido algum material em figuras ou tabelas já publicado em outro local, a submissão do artigo deverá ser acompanhada de cópia do material original e da permissão por escrito para reprodução do material.

CONFLITO DE INTERESSE: os autores deverão explicitar qualquer potencial conflito de interesse relacionado ao artigo submetido, conforme determinação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (RDC 102/ 2000) e do Conselho Federal de Medicina (Resolução nº 1.595/2000). Esta exigência visa informar os editores, revisores e leitores sobre relações profissionais e/ou financeiras (como patrocínios e participação societária) com agentes financeiros relacionados aos produtos farmacêuticos ou equipamentos envolvidos no trabalho, os quais podem teoricamente influenciar as interpretações e conclusões do mesmo. A existência ou não de conflito de interesse declarado estarão ao final de todos os artigos publicados.

BIOÉTICA DE EXPERIMENTOS COM SERES HUMANOS: a realização de experimentos envolvendo seres humanos deve seguir a resolução específica do Conselho Nacional de Saúde (nº 196/96) disponível (www.conselho.saude.gov.br), incluindo a assinatura de um termo de consentimento informado e a proteção da privacidade dos voluntários.

BIOÉTICA DE EXPERIMENTOS COM ANIMAIS: a realização de experimentos envolvendo animais deve seguir resoluções específicas (Lei nº 6.638, de 08 de maio de 1979; e Decreto nº 24.645 de 10 de julho de 1934).

ENSAIOS CLÍNICOS: A **RBME** apoia as políticas para registro de ensaios clínicos da Organização Mundial de Saúde (OMS) e do Comitê Internacional de Editores de Diários Médicos (ICMJE), reconhecendo a importância dessas iniciativas para o registro e divulgação internacional de informação sobre estudos clínicos, em acesso aberto. Sendo assim, somente serão aceitos para publicação, a partir de 2007, os artigos de pesquisas clínicas que tenham recebido um número de identificação em um dos Registros de Ensaios Clínicos validados pelos critérios estabelecidos pela OMS e ICMJE, cujos endereços estão disponíveis no site do ICMJE. O número de identificação deverá ser registrado no texto do artigo.

REVISÃO PELOS PARES (PEER REVIEW): todos os artigos submetidos serão avaliados, por revisores (duplo-cego) com experiência e competência profissional na respectiva área do trabalho e que emitirão parecer fundamentado, os quais serão utilizados pelos Editores para decidir sobre a aceitação do mesmo. Os critérios de avaliação dos artigos incluem: originalidade, contribuição para corpo de conhecimento da área, adequação metodológica, clareza e atualidade. Considerando o crescente número de submissões à **RBME**, artigos serão também avaliados quanto à sua relevância no que tange à contribuição para o

conhecimento específico na área. Assim, artigos com adequação metodológica e resultados condizentes poderão não ser aceitos para publicação quando julgados como de baixa relevância pelos Editores. Tal decisão de recusa não estará sujeita a recurso ou contestação por parte dos autores. Os artigos aceitos para publicação poderão sofrer revisões editoriais para facilitar sua clareza e entendimento sem alterar seu conteúdo.

CORREÇÃO DE PROVAS GRÁFICAS: logo que prontas, as provas gráficas em formato eletrônico serão enviadas, por e-mail, para o autor responsável pelo artigo. Os autores deverão devolver, também por e-mail, a prova gráfica com as devidas correções em, no máximo, 48 horas após o seu recebimento.

DIREITOS AUTORAIS: todas as declarações publicadas nos artigos são de inteira responsabilidade dos autores. Entretanto, todo material publicado torna-se propriedade da Editora, que passa a reservar os direitos autorais. Portanto, nenhum material publicado na **RBME** poderá ser reproduzido sem a permissão por escrito da Editora. Todos os autores de artigos submetidos à **RBME** deverão assinar um Termo de Transferência de Direitos Autorais, que entrará em vigor a partir da data de aceite do trabalho.

PREPARAÇÃO DO MANUSCRITO: o artigo submetido deve ser digitado em espaço duplo, fonte Arial 12, tamanho A4, sem numerar linhas ou parágrafos, e numerando as páginas no canto superior direito. Figuras e tabelas devem ser apresentados no final do artigo em páginas separadas. No corpo do texto, deve-se informar os locais para inserção das tabelas ou figuras. No texto, números menores que 10 são escritos por extenso, enquanto que números de 10 em diante são expressos em algarismos arábicos. Os manuscritos que não estiverem de acordo com as instruções aos autores, em relação ao estilo e formato serão devolvidos sem revisão pelo Conselho Editorial.

FORMATO DOS ARQUIVOS: para o texto, usar editor de texto do tipo Microsoft Word para Windows ou equivalente. Não enviar arquivos em formato PDF. As tabelas e quadros deverão estar em seus arquivos originais (Excel, Access, Powerpoint, etc.) As figuras deverão estar nos formatos *jpg* ou *tif* em alta resolução com 300 *DPIs*. Deverão estar incluídas no arquivo *Word*, mas também devem ser enviadas separadamente (anexadas durante a submissão do artigo como documento suplementar em seus arquivos originais).

- **Página de rosto:** deve conter (1) categoria do artigo; (2) o título do artigo, que deve ser objetivo, mas informativo em português e inglês com até 80 caracteres; (3) nomes completos dos autores; instituição; formação acadêmica de origem (a mais relevante); cidade, estado e país; (4) nome do autor correspondente, com endereço completo, telefone e e-mail. A titulação dos autores não deve ser incluída.
- **Resumo:** deve conter (1) o resumo em português e em inglês, com não mais do que 300 palavras, estruturado somente nos artigos originais de forma a conter introdução objetivo, métodos, resultados e conclusão.
- **Palavras-chave:** deve conter três a cinco palavras-chave que não constem no título do artigo. Usar obrigatoriamente em português termos baseados nos descritores em Ciências da Saúde (DeCS) (www.decs.bireme.br), e em inglês apresentar *keywords* baseados no *Medical Subject Heading (MeSH)*, do *Index Medicus* (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/>).
- **Introdução:** deve conter (1) justificativa objetiva para o estudo, com referências pertinentes ao assunto, sem realizar uma revisão extensa; (2) objetivo do artigo.

- **Materiais e Métodos:** deve descrever o experimento (quantidade e qualidade) e os procedimentos em detalhes suficientes que permitam a outros pesquisadores reproduzirem os resultados ou darem continuidade ao estudo. Deve conter: (1) descrição clara da amostra utilizada; (2) termo de consentimento para estudos experimentais envolvendo humanos; (3) identificação dos métodos, aparelhos (fabricantes e endereço entre parênteses) e procedimentos utilizados de modo suficientemente detalhado, de forma a permitir a reprodução dos resultados pelos leitores; (4) descrição breve e referências de métodos publicados, mas não amplamente conhecidos; (5) descrição de métodos novos ou modificados; (6) quando pertinente, incluir a análise estatística utilizada, bem como os programas utilizados.
- **Resultados:** deve conter (1) apresentação dos resultados em sequência lógica, em forma de texto, tabelas e figuras; evitar repetição excessiva de dados em tabelas ou figuras e no texto; (2) enfatizar somente observações importantes.
- **Discussão:** deve conter (1) ênfase nos aspectos originais e importantes do estudo, evitando repetir em detalhes dados já apresentados na Introdução e nos Resultados; (2) relevância e limitações dos achados, confrontando com os dados da literatura, incluindo implicações para futuros estudos.
- **Conclusões:** especificar apenas as conclusões que podem ser sustentadas, junto com a significância clínica (evitando excessiva generalização). Tirar conclusões baseadas nos objetivos e hipóteses do estudo. A mesma ênfase deve ser dada a estudos com resultados negativos ou positivos. Recomendações podem ser incluídas, quando relevantes.
- **Agradecimentos:** deve conter (1) contribuições que justificam agradecimentos, mas não autoria; (2) fontes de financiamento e apoio de uma forma geral; (3) os autores são responsáveis em obter permissão, por escrito, de todos os que receberam agradecimentos nominais, uma vez que os leitores podem inferir que estas pessoas endossam as conclusões.
- **Referências:** devem ser numeradas na sequência em que aparecem no texto, em formato sobrescrito. As referências citadas somente em legendas de tabelas ou figuras devem ser numeradas de acordo com uma sequência estabelecida pela primeira menção da tabela ou da figura no texto. O estilo das referências bibliográficas deve seguir as regras do *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals* (International Committee of Medical Journal Editors - *Ann Intern Med.* 1997;126(1):36-47. <http://www.icmje.org>). Alguns exemplos mais comuns são mostrados abaixo. Para os casos não mostrados aqui, consultar a referência acima. Os títulos dos periódicos devem ser abreviados de acordo com o *Index Medicus* (*List of Journals Indexed*: <http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html>). Se o periódico não constar dessa lista, deve-se utilizar a abreviatura sugerida pelo próprio periódico. Deve-se evitar utilizar "comunicações pessoais" ou "observações não publicadas" como referências. Um resumo apresentado deve ser utilizado somente se for a única fonte de informação.

Exemplos:

- 1) **Artigo padrão em periódico:** (deve-se listar todos os autores; se o número ultrapassar seis, colocar os seis primeiros, seguidos por et al.): You CH, Lee KY, Chey RY, Mrnguy R. Electrocardiographic study of patients with unexplained nausea, bloating and vomiting. *Gastroenterology.* 1980;79(2):311-4. Goate AM, Haynes AR, Owen MJ, Farrall M, James LA, Lai LY, et al. Predisposing locus for Alzheimer's disease on chromosome 21. *Lancet.* 1989;1(8634):352-5.
- 2) **Autor institucional:** The Royal Marsden Hospital Bone-Marrow Transplantation Team. Failure of syngeneic bone-marrow graft without preconditioning in post-

hepatitis marrow aplasia. *Lancet*. 1977;2(8041):742-4.

3) **Livro com autor(es) responsáveis por todo o conteúdo:** Armour WJ, Colson JH. *Sports injuries and their treatment*. 2nd ed. London: Academic Press; 1976.

4) **Livro com editor(es) como autor(es):** Diener HC, Wilkinson M, editors. *Drug-induced headache*. New York: Springer-Verlag; 1988.

5) **Capítulo de livro:** Weinstein L, Swartz MN. Pathologic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, editors. *Pathologic physiology: mechanisms of disease*. Philadelphia: Saunders; 1974. p.457-72

TABELAS: as tabelas devem ser elaboradas em espaço 1,5, devendo ser planejadas para ter como largura uma (8,7cm) ou duas colunas (18 cm). Cada tabela deve possuir um título sucinto; itens explicativos devem estar ao pé da tabela. A tabela deve conter médias e medidas de dispersão (DP, EPM, etc.), não devendo conter casas decimais irrelevantes. As abreviaturas devem estar de acordo com as utilizadas no texto e nas figuras. Os códigos de identificação de itens da tabela devem estar listados na ordem de surgimento no sentido horizontal e devem ser identificados pelos símbolos padrão.

FIGURAS: serão aceitas figuras em preto-e-branco. Imagens coloridas poderão ser publicadas quando forem essenciais para o conteúdo científico do artigo. Nestes casos, o custo serão arcados pelos autores. Para detalhes sobre figuras coloridas, solicitamos contatar diretamente a Atha Editora (atharbme@uol.com.br). Figuras coloridas poderão ser incluídas na versão eletrônica do artigo sem custo adicional para os autores. Os desenhos das figuras devem ser consistentes e tão simples quanto possível. Não utilizar tons de cinza. Todas as linhas devem ser sólidas. Para gráficos de barra, por exemplo, utilizar barras brancas, pretas, com linhas diagonais nas duas direções, linhas em xadrez, linhas horizontais e verticais. A **RBME** desestimula fortemente o envio de fotografias de equipamentos e animais. As figuras devem ser impressas com bom contraste e largura de uma coluna (8,7cm) no total. Utilizar fontes de no mínimo 10 pontos para letras, números e símbolos, com espaçamento e alinhamento adequados. Quando a figura representar uma radiografia ou fotografia sugerimos incluir a escala de tamanho quando pertinente.

TIPOS DE ARTIGOS

ARTIGO ORIGINAL: a **RBME** aceita todo tipo de pesquisa original nas áreas de Medicina e Ciências do Exercício e do Esporte, incluindo pesquisas em seres humanos e pesquisa experimental. Deve ser estruturado com os seguintes itens: Resumo estruturado; Introdução; Materiais e Métodos; Resultados; Discussão e Conclusões.

ARTIGOS DE REVISÃO: os artigos de revisão são habitualmente encomendados pelo Editor a autores com experiência comprovada na área. Que expresse a experiência publicada do (a) autor (a) e não reflita, apenas, uma revisão da literatura. Artigos de revisão deverão abordar temas específicos com o objetivo de atualizar os menos familiarizados com assuntos, tópicos ou questões específicas nas áreas de Medicina e Ciências do Exercício e do Esporte. O Conselho Editorial avaliará a qualidade do artigo, a relevância do tema escolhido e o comprovado destaque dos autores na área específica abordada. A inadequação de qualquer um dos itens acima acarretará na recusa do artigo pelos editores, sem que o mesmo seja enviado para o processo de revisão pelos pares.

REVISÃO SISTEMÁTICA/ATUALIZAÇÃO/META-ANÁLISE: a **RBME** encoraja os autores a submeterem artigos de revisão sistemática da literatura nas áreas de

Medicina e Ciências do Exercício e do Esporte. O Conselho Editorial avaliará a qualidade do artigo, a relevância do tema escolhido, o procedimento de busca, os critérios para inclusão dos artigos e o tratamento estatístico utilizado. A inadequação de qualquer um dos itens acima acarretará na recusa do artigo pelos editores, sem que o mesmo seja enviado para o processo de revisão pelos pares.

Recomendações para artigos submetidos à Revista Brasileira de Medicina do Esporte

Tipo de Artigo	Resumo	Número de palavras**	Referências	Figuras	Tabela
Original	Estruturado máximo 300 palavras	2.500	30	10	6
Revisão*/ Revisão Sistemática/ Meta-análise	Não estruturado máximo 300 palavras	4.000	60	3	2
Atualização	Não estruturado máximo 300 palavras	4.000	60	3	2

*a convite dos Editores; ** excluindo resumo, referências, tabelas e figuras.

Envio de manuscritos

INSTRUÇÕES PARA ENVIO: todos os artigos deverão ser submetidos diretamente no site <http://submission.scielo.br/index.php/rbme>. Na submissão eletrônica do artigo, os autores deverão anexar como Documento Suplementar: (1) Termo de Divulgação de Potencial Conflito de Interesses; (2) Termo de Transferência de Direitos Autorais. Não serão aceitas submissões por e-mail, correios ou quaisquer outras vias que não a submissão eletrônica no site supra-mencionado.

Caso ocorra a necessidade de esclarecimentos adicionais, favor entrar em contato com a Atha Comunicação e Editora - Rua: Machado Bittencourt, 190, 4º andar - Vila Mariana - São Paulo Capital CEP 04044-000 - E-mail: atharbme@uol.com.br - telefone 55-11-5087-9502 com Fernanda Colmatti /Arthur T. Assis.

Todo o conteúdo do periódico, exceto onde identificado, está licenciado sob uma [Licença Creative Commons](#) Atribuição-tipo BY-NC.

[[Home](#)] [[Sobre esta revista](#)] [[Corpo editorial](#)] [[Assinaturas](#)]



Todo o conteúdo do periódico, exceto onde está identificado, está licenciado sob uma Licença Creative Commons

Sociedade Brasileira de Medicina do Exercício e do Esporte
Av. Brigadeiro Luis Antônio, 278, 6º andar
01318-901 - São Paulo, SP, Brasil.
Tel: +55 11 3106-7544
Fax: +55 11 3106-8611

e-Mail

revista@medicinadoesporte.org.br

Anexo 2. Normas de submissão da revista PLOS ONE

PLOS ONE Manuscript Guidelines

As of January 2015, our manuscript guidelines have been updated in line with our new submission requirements. Please review the information below to properly prepare and format your submission. For a detailed overview of what has changed, please see our [PLOS Blogs post](#).

1. [Format Requirements](#)
2. [Guidelines for Standard Sections](#)
 - [Title](#)
 - [Authors and Affiliations](#)
 - [Abstract](#)
 - [Introduction](#)
 - [Materials and Methods](#)
 - [Results, Discussion, and Conclusions](#)
 - [Acknowledgments](#)
 - [References](#)
 - [Figure Legends](#)
 - [Supporting Information Captions](#)
 - [Data Reporting Guidelines](#)
 - [Accession Numbers](#)
 - [Striking Images](#)
 - [Tables](#)
3. [Specific Reporting Guidelines](#)
 - [Human Subject Research](#)
 - [Clinical Trials](#)
 - [Animal Research](#)
 - [Observational and Field Studies](#)
 - [Cell Line Research](#)
 - [Blots and Gels](#)
 - [Antibodies](#)
 - [Systematic Review/Meta-Analysis](#)
 - [Paleontology and Archaeology Research](#)
 - [Software Papers](#)
 - [Database Papers](#)
 - [New Zoological Taxon](#)
 - [New Botanical Taxon](#)

- [New Fungal Taxon](#)
- [Qualitative Research](#)

1. Format Requirements

PLOS ONE does **not** consider presubmission inquiries. All submissions should be prepared with the following files:

- Cover letter
- Manuscript, including tables and figure legends
- Figures (guidelines for preparing figures can be found at the [Figure and Table Guidelines](#))
Prior to submission, authors who believe their manuscripts would benefit from professional editing are encouraged to use language-editing and copyediting services. Obtaining this service is the responsibility of the author, and should be done before initial submission. These services can be found on the web using search terms like "scientific editing service" or "manuscript editing service." Submissions are **not** copyedited before publication.

In addition to the guidelines below, please refer to our downloadable sample files to make sure that your submission meets our formatting requirements:

- [Download sample title, author list, and affiliations page \(PDF\)](#)
- [Download full manuscript sample \(PDF\)](#)
Submissions that do not meet the [PLOS ONE Publication Criterion for language standards](#) may be rejected.

Cover Letter

You should supply an approximately one page cover letter that:

- Concisely summarizes why your paper is a valuable addition to the scientific literature
- Briefly relates your study to previously published work
- Specifies the type of article you are submitting (for example, research article, systematic review, meta-analysis, clinical trial)
- Describes any prior interactions with PLOS regarding the submitted manuscript
- Suggests appropriate *PLOS ONE* Academic Editors to handle your manuscript (view a [complete listing of our academic editors](#))
- Lists any opposed reviewers

Your cover letter should **not** include requests to reduce or waive publication fees. Should your manuscript be accepted, you will have the opportunity to include your requests at that time. See [PLOS ONE Editorial Policy](#) for more information regarding publication fees.

Manuscript Organization

PLOS ONE considers manuscripts of any length. There are no explicit restrictions for the number of words, figures, or the length of the supporting information, although we encourage a concise and accessible writing style. We will **not** consider monographs.

All manuscripts should be double-spaced and include line numbers and page numbers.

Manuscripts should begin with the ordered sections:

- Title
 - Authors
 - Affiliations
 - Abstract
 - Introduction
- and end with the sections of:

- Acknowledgments
 - References
 - Supporting Information Captions
- Figures should be cited in ascending numeric order upon first appearance. Each figure caption should then be inserted immediately after the first paragraph in which it is cited in the article file.

Figures should not be included in the main manuscript file. Each figure must be prepared and submitted as an individual file. Find more information about preparing figures [here](#).

Tables should be cited in ascending numeric order upon first appearance. Each table should then be inserted immediately after the first paragraph in which it is cited in the article file.

The title, authors, and affiliations should all be included on a title page as the first page of the manuscript file.

There are no explicit requirements for section organization between these beginning and ending sections. Articles may be organized in different ways and with different section titles, according to the authors' preference. In most cases, internal sections include:

- Materials and Methods
 - Results
 - Discussion
 - Conclusions (optional)
- PLOS ONE* has no specific requirements for the order of these sections, and in some cases it may be appropriate to combine sections. Guidelines for individual sections can be found [below](#). Limit section and sub-sections to three headings levels.

Abbreviations should be kept to a minimum and defined upon first use in the text. Non-standard abbreviations should not be used unless they appear at least three times in the text.

Standardized nomenclature should be used as appropriate, including appropriate usage of species names and SI units.

PLOS articles do not support text footnotes. If your accepted submission contains footnotes, you will be asked to move that material into either the main text or the reference list, depending on the content.

Manuscript File Requirements

Authors may submit their manuscript files in Word (as .doc or .docx), LaTeX (as .pdf), or RTF format. Word files must not be protected.

LaTeX Submissions. If you would like to submit your manuscript using LaTeX, you must author your article using the [PLOS ONE LaTeX template and BibTeX style sheet](#). Articles prepared in LaTeX may be submitted in PDF format for use during the review process. After acceptance, however, .tex files will be required. Please consult our [LaTeX guidelines](#) for a list of what will be required.

Microsoft Word Submissions with Equations. If your manuscript is or will be in Microsoft Word and contains equations, you must follow the instructions below to make sure that your equations are editable when the file enters production.

1. Format display equations only in MathType (<http://www.dessci.com/en/products/mathtype/>).
2. Inline equations should be completely input via MathType. Do not include an equation that is part text, part MathType.
3. Do not use graphic objects.
If you have already composed your article in Microsoft Word and used its built-in equation editing tool, your equations will become unusable during the typesetting process. To resolve this problem, re-key your equations using MathType.

If you do not follow these instructions, PLOS will not be able to accept your file.

[Back to top](#)

2. Guidelines for Standard Sections

Title

Manuscripts must be submitted with both a full title and a short title, which will appear at the top of the PDF upon publication if accepted. Only the full title should be included in the manuscript file; the short title will be entered during the online submission process.

The full title must be 250 characters or fewer. It should be specific, descriptive, concise, and comprehensible to readers outside the subject field. Avoid abbreviations if possible. Where appropriate, authors should include the species or model system used (for biological papers) or type of study design (for clinical papers).

Examples:

- Impact of Cigarette Smoke Exposure on Innate Immunity: A *Caenorhabditis elegans* Model
- Solar Drinking Water Disinfection (SODIS) to Reduce Childhood Diarrhoea in Rural Bolivia: A Cluster-Randomized, Controlled Trial

The short title must be 50 characters or fewer and should state the topic of the paper.

[Back to top](#)

Authors and Affiliations

All author names should be listed in the following order:

- First names (or initials, if used),
- Middle names (or initials, if used), and
- Last names (surname, family name)

Each author should list an associated department, university, or organizational affiliation and its location, including city, state/province (if applicable), and country. If the article has been submitted on behalf of a consortium, all author names and affiliations should be listed at the end of the article.

This information cannot be changed after initial submission, so please ensure that it is correct.

To qualify for authorship, one should contribute to **all** of the following:

1. Conception and design of the work, acquisition of data, or analysis and interpretation of data
2. Drafting the article or revising it critically for important intellectual content
3. Final approval of the version to be published

4. Agreement to be accountable for all aspects of the work

All persons designated as authors should qualify for authorship, and all those who qualify should be listed. Each author must have participated sufficiently in the work to take public responsibility for appropriate portions of the content. Those who contributed to the work but do not qualify for authorship should be listed in the acknowledgments.

When a large group or center has conducted the work, the author list should include the individuals whose contributions meet the criteria defined above, as well as the group name.

All authors must approve the final manuscript before submission. PLOS ONE will contact all authors by email at submission to ensure that they are aware of the submission of the manuscript.

One author should be designated as the corresponding author, and his or her email address or other contact information should be included on the manuscript cover page. This information will be published with the article if accepted.

See the [PLOS Editorial and Publishing Policies](#) for more information.

[Back to top](#)

Abstract

The abstract should:

- Describe the main objective(s) of the study
- Explain how the study was done, including any model organisms used, without methodological detail

- Summarize the most important results and their significance
- Not exceed 300 words
Abstracts should **not** include:

- Citations
- Abbreviations, if possible
[Back to top](#)

Introduction

The introduction should:

- Provide background that puts the manuscript into context and allows readers outside the field to understand the purpose and significance of the study
- Define the problem addressed and why it is important
- Include a brief review of the key literature
- Note any relevant controversies or disagreements in the field
- Conclude with a brief statement of the overall aim of the work and a comment about whether that aim was achieved
[Back to top](#)

Materials and Methods

This section should provide enough detail to allow suitably skilled investigators to fully replicate your study. Specific information and/or protocols for new methods should be included in detail. If materials, methods, and protocols are well established, authors may cite articles where those protocols are described in detail, but the submission should include sufficient information to be understood independent of these references.

We encourage authors to submit detailed protocols for newer or less well-established methods as Supporting Information. Further information about formatting Supporting Information files, can be found [here](#).

Methods sections of papers on research using **human or animal subjects and/or tissue or field sampling** must include required ethics statements. See the [Reporting Guidelines for human research](#), [clinical trials](#), [animal research](#), and [observational and field studies](#) for more information.

Methods sections of papers with **data that should be deposited in a publicly available database** should specify where the data have been deposited and provide the relevant accession numbers and version numbers, if appropriate. Accession numbers should be provided in parentheses after the entity on first use. If the accession numbers have not yet been obtained at the time of submission, please state that they will be provided during review. They must be provided prior to publication. A list of recommended repositories for different types of data can be found [here](#).

Methods sections of papers using **cell lines** must state the origin of the cell lines used. See the [Reporting Guidelines for cell line research](#) for more information.

Methods sections of papers adding **new taxon names** to the literature must follow the Reporting Guidelines below for a new [zoological taxon](#), [botanical taxon](#), or [fungal taxon](#).

[Back to top](#)

Results, Discussion, and Conclusions

These sections may all be separate, or may be combined to create a mixed Results/Discussion section (commonly labeled "Results and Discussion") or a mixed Discussion/Conclusions section (commonly labeled "Discussion"). These sections may be further divided into subsections, each with a concise subheading, as appropriate. These sections have no word limit, but the language should be clear and concise.

Together, these sections should describe the results of the experiments, the interpretation of these results, and the conclusions that can be drawn. Authors should explain how the results relate to the hypothesis presented as the basis of the study and provide a succinct explanation of the implications of the findings, particularly in relation to previous related studies and potential future directions for research.

PLOS ONE editorial decisions do not rely on perceived significance or impact, so authors should avoid overstating their conclusions. See the *PLOS ONE* [Publication Criteria](#) for more information.

[Back to top](#)

Acknowledgments

People who contributed to the work but do not fit the [PLOS ONE authorship criteria](#) should be listed in the acknowledgments, along with their contributions. You must ensure that anyone named in the acknowledgments agrees to being so named.

Funding sources should **not** be included in the acknowledgments, or anywhere in the manuscript file. You will provide this information during the manuscript submission process.

[Back to top](#)

References

General guidelines

- PLOS uses the reference style as outlined in the [ICMJE sample references](#), also referred to as the "Vancouver" style.
- References must be listed at the end of the manuscript and numbered in the order that they appear in the text.
- In the text, citations should be indicated by the reference number in brackets.
- Authors may cite any and all available works in the reference list.
- Authors may not cite unavailable and unpublished work, including manuscripts that have been submitted but not yet accepted (e.g., "unpublished work," "data not shown").

- If an article is submitted to a journal and also publicly available as a pre-print, the pre-print may be cited.
 - If [related work](#) has been submitted to PLOS ONE or elsewhere, authors should include a copy with the submitted article as confidential supplementary information, for review purposes only.
 - Authors should not state 'unpublished work' or 'data not shown,' but instead include those data as supplementary material or deposit the data in a publicly available database.
 - Journal name abbreviations should be those found in the [NCBI databases](#).
- Reference formatting

Because all references will be linked electronically as much as possible to the papers they cite, proper formatting of the references is crucial. References should be formatted as follows:

Published papers

1. Hou WR, Hou YL, Wu GF, Song Y, Su XL, Sun, B, et al. cDNA, genomic sequence cloning and overexpression of ribosomal protein gene L9 (rpL9) of the giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*). Genet Mol Res. 2011;10: 1576-1588.

Note: Use of a DOI number for the full-text article is acceptable as an alternative to or in addition to traditional volume and page numbers:

Devaraju P, Gulati R, Antony PT, Mithun CB, Negi VS. Susceptibility to SLE in South Indian Tamils may be influenced by genetic selection pressure on TLR2 and TLR9 genes. Mol Immunol. 2014 Nov 22. pii: S0161-5890(14)00313-7. doi: 10.1016/j.molimm.2014.11.005

Accepted, unpublished papers

Same as above, but “In press” appears instead of the page numbers or DOI.

Websites or online articles

1. Huynen MMTE, Martens P, Hilderlink HBM. The health impacts of globalisation: a conceptual framework. Global Health. 2005;1: 14. Available: <http://www.globalizationandhealth.com/content/1/1/14>.

Books

1. Bates B. Bargaining for life: A social history of tuberculosis. 1st ed. Philadelphia: University of Pennsylvania Press; 1992.

Book chapters

1. Hansen B. New York City epidemics and history for the public. In: Harden VA, Risse GB, editors. AIDS and the historian. Bethesda: National Institutes of Health; 1991. pp. 21-28.

Deposited articles (preprints, e-prints, or arXiv)

1. Krick T, Shub DA, Verstraete N, Ferreiro DU, Alonso LG, Shub M, et al. Amino acid metabolism conflicts with protein diversity; 1991. Preprint. Available: arXiv:1403.3301v1. Accessed 17 March 2014.

Published media (print or online newspapers and magazine articles)

1. Fountain H. For Already Vulnerable Penguins, Study Finds Climate Change Is Another Danger. The New York Times. 29 Jan 2014. Available: <http://www.nytimes.com/2014/01/30/science/earth/climate-change-taking-toll-on-penguins-study-finds.html>. Accessed 17 March 2014.

New media (blogs, websites, or other written works)

1. Allen L. Announcing PLOS Blogs. 2010 Sep 1 [cited 17 March 2014]. In: PLOS Blogs [Internet]. San Francisco: PLOS 2006 - . [about 2 screens]. Available: <http://blogs.plos.org/plos/2010/09/announcing-plos-blogs/>.

Masters' theses or doctoral dissertations

1. Wells A. Exploring the development of the independent, electronic, scholarly journal. M.Sc. Thesis, The University of Sheffield. 1999. Available: <http://cuminad.scix.net/cgi-bin/works/Show?2e09>.

Databases and repositories (Figshare, arXiv)

1. Roberts SB. QPX Genome Browser Feature Tracks; 2013. Database: figshare [Internet]. Accessed: http://figshare.com/articles/QPX_Genome_Browser_Feature_Tracks/701214.

Multimedia (videos, movies, or TV shows)

1. Hitchcock A, producer and director. Rear Window [Film]; 1954. Los Angeles: MGM.

[Back to top](#)

Figure Legends

Figures should **not** be included in the manuscript file, but figure legends should be. Guidelines for preparing figures can be found [here](#).

Figure legends should describe the key messages of a figure. Legends should have a short title of 15 words or less. The full legend should have a description of the figure and allow readers to understand the figure without referring to the text. The legend itself should be succinct, avoid lengthy descriptions of methods, and define all non-standard symbols and abbreviations.

Figures should be cited in ascending numeric order upon first appearance. Each figure caption should be inserted immediately after the first paragraph in which they are cited in the article file. Further information about figure captions can be found in the [Figure Guidelines](#).

[Back to top](#)

Supporting Information Captions

Because Supporting Information is accessed via a hyperlink attached to its captions, captions must be listed in the article file. Do not submit a separate caption file. It is acceptable to have them in the file itself in addition, but they must be in the article file for access to be possible in the published version.

The file category name and number is required, and a one-line title is highly recommended. A legend can also be included but is not required. Supporting Information captions should be formatted as follows.

S1 Text. Title is strongly recommended. Legend is optional.

Please see our [Supporting Information guidelines](#) for more details.

[Back to top](#)

Data Reporting Guidelines

All data and related metadata underlying the findings reported in a submitted manuscript should be deposited in an appropriate public repository, unless already provided as part of the submitted article. Repositories may be either subject-specific (where these exist) and accept specific types of structured data, or generalist repositories that accept multiple data types. We recommend that authors select repositories appropriate to their field. Repositories may be subject-specific (eg, GenBank for sequences and PDB for structures), general, or institutional, as long as DOIs or accession numbers are provided and the data are at least as open as CCBY. Authors are encouraged to select repositories that meet accepted criteria as trustworthy digital repositories, such as criteria of the Centre for Research Libraries or Data Seal of Approval. Large, international databases are more likely to persist than small, local ones.

To support data sharing and author compliance of the PLOS data policy, we have integrated our submission process with a select set of data repositories. The list is neither representative nor exhaustive of the suitable repositories available to authors. Current repository integration partners include: Dryad and figshare. Please contact data@plos.org to make recommendations for further partnerships.

Instructions for PLOS submissions with data deposited in an integration partner repository:

Deposit data in the integrated repository of choice. Once deposition is final and complete, the repository will provide the author with a dataset DOI (provisional) and private URL for reviewers to gain access to the data. Enter the given data DOI into the full Data Availability Statement, which is requested in the Additional Information section of the PLOS Submission form. Then provide the URL passcode in the Attach Files section. If you have any questions, please contact us at plosone@plos.org

[Back to top](#)

Accession Numbers

All appropriate datasets, images, and information should be deposited in public resources. Please provide the relevant accession numbers (and version numbers, if appropriate). Accession numbers should be provided in parentheses after the entity on first use. Suggested databases include, but are not limited to:

- [ArrayExpress](#)
- [BioModels Database](#)
- [Database of Interacting Proteins](#)
- [DNA Data Bank of Japan \[DDBJ\]](#)
- [DRYAD](#)
- [EMBL Nucleotide Sequence Database](#)
- [GenBank](#)
- [Gene Expression Omnibus \[GEO\]](#)
- [Protein Data Bank](#)
- [UniProtKB/Swiss-Prot](#)
- [ClinicalTrials.gov](#)

In addition, as much as possible, please provide accession numbers or identifiers for all entities such as genes, proteins, mutants, diseases, etc., for which there is an entry in a public database, for example:

- [Ensembl](#)
- [Entrez Gene](#)
- [FlyBase](#)
- [InterPro](#)
- [Mouse Genome Database \(MGD\)](#)
- [Online Mendelian Inheritance in Man \(OMIM\)](#)
- [PubChem](#)

Providing accession numbers allows linking to and from established databases and integrates your article with a broader collection of scientific information.

[Back to top](#)

Striking Images

Authors are encouraged to upload a "striking image" that may be used to represent their paper online in places like the journal homepage or in search results. The striking image must be derived from a figure or supporting information file from the paper, ie. a cropped portion of an image or the entire image. Striking images should ideally be high resolution, eye-catching, single panel images, and should ideally avoid containing added details such as text, scale bars, and arrows. If no striking image is uploaded, a figure from the paper will be designated as the striking image.

Please keep in mind that PLOS's [Creative Commons Attribution License](#) applies to striking images. As such, do not submit any figures or photos that have been previously copyrighted unless you have express written permission from the copyright holder to publish under the CCAL license. Note that all published materials in PLOS ONE are freely available online, and any third party is permitted to read, download, copy, distribute, and use these materials in any way, even commercially, with proper attribution.

Care should be taken with the following image types in particular:

1. PLOS ONE is unable to publish any images generated by Google software (Google Maps, Street View, and Earth)
2. Maps in general are usually copyrighted, especially satellite maps
3. Photographs
4. Commercial or government images, slogans, or logos
5. Images from Facebook or Twitter

Authors must also take special care when submitting manuscripts that contain potentially identifying images of people. Identifying information should not be included in the manuscript unless the information is crucial and the individual has provided written consent by completing the [Consent Form for Publication in a PLOS Journal](#) (PDF).

For license inquiries, e-mail [license \[at\] plos.org](mailto:license[at]plos.org).

[Back to top](#)

Tables

Tables should be cited in ascending numeric order upon first appearance. Each table should be inserted immediately after the first paragraph in which it is cited in the article file. All tables should have a concise title. Footnotes can be used to explain abbreviations. Citations should be indicated using the same style as outlined [above](#). Tables occupying more than one printed page should be avoided, if possible. Larger tables can be published as [Supporting Information](#). Please ensure that table formatting conforms to our [Guidelines for table preparation](#).

[Back to top](#)

3. Specific Reporting Guidelines

Human Subject Research

Methods sections of papers on research using human subject or samples must include ethics statements that specify:

- The name of the approving institutional review board or equivalent committee(s). If approval was not obtained, the authors must provide a detailed statement explaining why it was not needed
 - Whether informed consent was written or oral. If informed consent was oral, it must be stated in the manuscript:
 - Why written consent could not be obtained
 - That the Institutional Review Board (IRB) approved use of oral consent
 - How oral consent was documented

For studies involving humans categorized by race/ethnicity, age, disease/disabilities, religion, sex/gender, sexual orientation, or other socially constructed groupings, authors should:
 - Explicitly describe their methods of categorizing human populations
 - Define categories in as much detail as the study protocol allows
 - Justify their choices of definitions and categories, including for example whether any rules of human categorization were required by their funding agency
 - Explain whether (and if so, how) they controlled for confounding variables such as socioeconomic status, nutrition, environmental exposures, or similar factors in their analysis
- In addition, outmoded terms and potentially stigmatizing labels should be changed to more current, acceptable terminology. Examples: "Caucasian" should be changed to "white" or "of [Western] European descent" (as appropriate); "cancer victims" should be changed to "patients with cancer."

For papers that include identifying, or potentially identifying, information, authors must download the [Consent Form for Publication in a PLOS Journal](#) (PDF), which the individual, parent, or guardian must sign once they have read the paper and been informed about the

terms of PLOS open-access license. The signed consent form should not be submitted with the manuscript, but authors should securely file it in the individual's case notes and the methods section of the manuscript should explicitly state that consent authorization for publication is on file, using wording like:

The individual in this manuscript has given written informed consent (as outlined in PLOS consent form) to publish these case details.

For more information about *PLOS ONE* policies regarding human subject research, see the [Publication Criteria](#) and [Editorial Policies](#).

[Back to top](#)

Clinical Trials

Authors of manuscripts describing the results of clinical trials must adhere to the [CONSORT](#) reporting guidelines appropriate to their trial design, available on the [CONSORT Statement website](#). Before the paper can enter peer review, authors must:

1. Provide the registry name and number in the methods section of the manuscript
2. Provide a copy of the trial protocol as approved by the ethics committee and a completed [CONSORT checklist](#) as Supporting Information (which will be published alongside the paper, if accepted). This should be named S1 CONSORT Checklist.
3. Include the [CONSORT flow diagram](#) as the manuscript's "Fig. 1"
Any deviation from the trial protocol must be explained in the paper. Authors must explicitly discuss informed consent in their paper, and we reserve the right to ask for a copy of the patient consent form.

The methods section must include the name of the registry, the registry number, and the URL of your trial in the registry database for each location in which the trial is registered.

For more information about *PLOS ONE* policies regarding clinical trials, see the [Editorial Policies](#).

[Back to top](#)

Animal Research

Methods sections of manuscripts reporting results of animal research must include required ethics statements that specify:

- The full name of the relevant ethics committee that approved the work, and the associated permit number(s) (where ethical approval is not required, the manuscript should include a clear statement of this and the reason why)
- Relevant details for efforts taken to ameliorate animal suffering
For example:

This study was carried out in strict accordance with the recommendations in the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals of the National Institutes of Health. The

protocol was approved by the Committee on the Ethics of Animal Experiments of the University of Minnesota (Permit Number: 27-2956). All surgery was performed under sodium pentobarbital anesthesia, and all efforts were made to minimize suffering.

The organism(s) studied should always be stated in the abstract. Where research may be confused as pertaining to clinical research, the animal model should also be stated in the title.

We ask authors to follow the [ARRIVE \(Animal Research: Reporting of *In Vivo* Experiments\) guidelines](#) for all submissions describing laboratory-based animal research and to upload a completed [ARRIVE Guidelines Checklist](#) to be published as supporting information. Please note that inclusion of a completed ARRIVE Checklist will be a formal requirement for publication at a later date.

For more information about *PLOS ONE* policies regarding animal research, see the [Publication Criteria](#) and [Editorial Policies](#).

[Back to top](#)

Observational and Field Studies

Methods sections for submissions reporting on any type of field study must include ethics statements that specify:

- Permits and approvals obtained for the work, including the full name of the authority that approved the study; if none were required, authors should explain why
 - Whether the land accessed is privately owned or protected
 - Whether any protected species were sampled
 - Full details of animal husbandry, experimentation, and care/welfare, where relevant
- For more information about *PLOS ONE* policies regarding observational and field studies, see the [Publication Criteria](#) and [Editorial Policies](#).

[Back to top](#)

Cell Line Research

Authors reporting research using cell lines should state when and where they obtained the cells, giving the date and the name of the researcher, cell line repository, or commercial source (company) who provided the cells, as appropriate. Authors must also include the following information for each cell line:

For *de novo* (new) cell lines, including those given to the researchers a gift, authors must follow our policies for [human subject research](#) or [animal research](#), as appropriate. The ethics statement must include:

- Details of institutional review board or ethics committee approval; AND
- For human cells, confirmation of written informed consent from the donor, guardian, or next of kin

For established cell lines, the Methods section should include:

- A reference to the published article that first described the cell line; AND/OR
- The cell line repository or company the cell line was obtained from, the catalogue number, and whether the cell line was obtained directly from the repository/company or from another laboratory

Authors should check established cell lines using the [ICLAC Database of Cross-contaminated or Misidentified Cell Lines](#) to confirm they are not misidentified or contaminated. Cell line authentication is recommended - e.g. by karyotyping, isozyme analysis, or short tandem repeats (STR) analysis - and may be required during peer review or after publication.

[Back to top](#)

Blots and Gels

Authors of manuscripts reporting results from blots (including Western blots) and electrophoretic gels should follow these guidelines:

- In accordance with [PLOS ONE's policy on image manipulation](#), the image should not be adjusted in any way that could affect the scientific information displayed, e.g. by modifying the background or contrast
- All blots and gels that support results reported in the manuscript should be provided
- Original uncropped and unadjusted blots and gels, including molecular size markers, should be provided in either the figures or the supplementary files
- Lanes should not be overcropped around the bands; the image should show most or all of the blot or gel. Any non-specific bands should be shown and an explanation of their nature should be given
- The image should include all relevant controls, and controls should be run on the same blot or gel as the samples
- A figure panel should not include composite images of bands originating from different blots or gels. If the figure shows non-adjacent bands from the same blot or gel, this should be clearly denoted by vertical black lines and the figure legend should provide details of how the figure was made

[Back to top](#)

Antibodies

Manuscripts reporting experiments using antibodies should include the following information:

- The name of each antibody, a description of whether it is monoclonal or polyclonal, and the host species
- The commercial supplier or source laboratory
- The catalogue or clone number and, if known, the batch number

- The antigen(s) used to raise the antibody
- For established antibodies, authors are encouraged to supply a stable public identifier from the Antibody Registry (www.antibodyregistry.org).
Authors should also report the following experimental details:

- The final antibody concentration or dilution
- A reference to the validation study if the antibody was previously validated, and if not, details of how the authors validated the antibody for the applications and species used. Authors should consider adding information on new validations to a publicly available database such as [Antibodypedia](#) or [CiteAb](#).

[Back to top](#)

Systematic Review/Meta-Analysis

A systematic review paper, as defined by [The Cochrane Collaboration](#), is a review of a clearly formulated question that uses explicit, systematic methods to identify, select, and critically appraise relevant research, and to collect and analyze data from the studies that are included in the review. These reviews differ substantially from narrative-based reviews or synthesis articles. Statistical methods (meta-analysis) may or may not be used to analyze and summarize the results of the included studies.

Reports of systematic reviews and meta-analyses must include a completed [PRISMA \(Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses\) checklist and flow diagram](#) to accompany the main text. Blank templates are available here:

- Checklist: [PDF](#) or [Word document](#)
- Flow diagram: [PDF](#) or [Word document](#)
Authors must also state in their "Methods" section whether a protocol exists for their systematic review, and if so, provide a copy of the protocol as Supporting Information and provide the registry number in the abstract.

If your article is a Systematic Review or a Meta-Analysis you should:

- State this in your cover letter
- Select "Research Article" as your article type when submitting
- Include the PRISMA flowchart as Fig. 1 (required where applicable)
- Include the PRISMA checklist as Supporting Information
Meta-Analysis of Genetic Association Studies

Manuscripts reporting a meta-analysis of genetic association studies must report results of value to the field and should be reported according to the guidelines presented in "[Systematic Reviews of Genetic Association Studies](#)" by Sagoo *et al.*

On submission, authors will be asked to justify the rationale for the meta-analysis and how it contributes to the base of scientific knowledge in the light of previously published results.

Authors will also be asked to complete a [checklist](#) outlining information about the justification for the study and the methodology employed. Meta-analyses that replicate published studies will be rejected if the authors do not provide adequate justification.

[Back to top](#)

Paleontology and Archaeology Research

Manuscripts reporting paleontology and archaeology research must include descriptions of methods and specimens in sufficient detail to allow the work to be reproduced. Data sets supporting statistical and phylogenetic analyses should be provided, preferably in a format that allows easy re-use.

Specimen numbers and complete repository information, including museum name and geographic location, are required for publication. Locality information should be provided in the manuscript as legally allowable, or a statement should be included giving details of the availability of such information to qualified researchers.

If permits were required for any aspect of the work, details should be given of all permits that were obtained, including the full name of the issuing authority. This should be accompanied by the following statement:

All necessary permits were obtained for the described study, which complied with all relevant regulations.

If no permits were required, please include the following statement:

No permits were required for the described study, which complied with all relevant regulations.

See the [PLOS ONE Editorial Policies](#) for more information regarding manuscripts describing paleontology and archaeology research.

[Back to top](#)

Software Papers

Manuscripts describing software should provide full details of the algorithms designed. Describe any dependencies on commercial products or operating system. Include details of the supplied test data and explain how to install and run the software. A brief description of enhancements made in the major releases of the software may also be given. Authors should provide a direct link to the deposited software from within the paper.

See the [PLOS ONE Editorial Policies](#) for more information about submitting manuscripts.

[Back to top](#)

Database Papers

For descriptions of databases, provide details about how the data were curated, as well as plans for long-term database maintenance, growth, and stability. Authors should provide a direct link to the database hosting site from within the paper.

See the [PLOS ONE Editorial Policies](#) for more information about submitting manuscripts describing databases.

[Back to top](#)

New Zoological Taxon

For proper registration of a new zoological taxon, we require two specific statements to be included in your manuscript.

In the **Results** section, the globally unique identifier (GUID), currently in the form of a Life Science Identifier (LSID), should be listed under the new species name, for example:

***Anochetus boltoni* Fisher *sp. nov.* urn:lsid:zoobank.org:act:B6C072CF-1CA6-40C7-8396-534E91EF7FBB**

You will need to contact [Zoobank](#) to obtain a GUID (LSID). Please do this as early as possible to avoid delay of publication upon acceptance of your manuscript. It is your responsibility to provide us with this information so we can include it in the final published paper.

Please also insert the following text into the **Methods** section, in a sub-section to be called "Nomenclatural Acts":

The electronic edition of this article conforms to the requirements of the amended International Code of Zoological Nomenclature, and hence the new names contained herein are available under that Code from the electronic edition of this article. This published work and the nomenclatural acts it contains have been registered in ZooBank, the online registration system for the ICZN. The ZooBank LSIDs (Life Science Identifiers) can be resolved and the associated information viewed through any standard web browser by appending the LSID to the prefix "http://zoobank.org/". The LSID for this publication is: urn:lsid:zoobank.org:pub: XXXXXXXX. The electronic edition of this work was published in a journal with an ISSN, and has been archived and is available from the following digital repositories: PubMed Central, LOCKSS [author to insert any additional repositories].

All PLOS ONE articles are deposited in [PubMed Central](#) and [LOCKSS](#). If your institute, or those of your co-authors, has its own repository, we recommend that you also deposit the published online article there and include the name in your article.

[Back to top](#)

New Botanical Taxon

When publishing papers that describe a new botanical taxon, PLOS aims to comply with the requirements of the International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (ICN). In association with the [International Plant Names Index](#) (IPNI), the following guidelines for publication in an online-only journal have been agreed such that any scientific botanical name published by us is considered effectively published under the rules of the Code. Please note that these guidelines differ from those for zoological nomenclature, and apply only to seed plants, ferns, and lycophytes.

Effective January 2012, "the description or diagnosis required for valid publication of the name of a new taxon" can be in either Latin or English. This does not affect the requirements for scientific names, which are still to be Latin.

Also effective January 2012, the electronic PDF represents a published work according to the ICN for algae, fungi, and plants. Therefore the new names contained in the electronic publication of a *PLOS ONE* article are effectively published under that Code from the electronic edition alone, so there is no longer any need to provide printed copies.

Additional information describing recent changes to the Code can be found [here](#).

For proper registration of the new taxon, we require two specific statements to be included in your manuscript.

In the **Results** section, the globally unique identifier (GUID), currently in the form of a Life Science Identifier (LSID), should be listed under the new species name, for example:

Solanum aspersum S.Knapp, sp. nov. [urn:lsid:ipni.org:names:77103633-1] Type: Colombia. Putumayo: vertiente oriental de la Cordillera, entre Sachamates y San Francisco de Sibundoy, 1600-1750 m, 30 Dec 1940, J. Cuatrecasas 11471 (holotype, COL; isotypes, F [F-1335119], US [US-1799731]).

PLOS ONE staff will contact IPNI to obtain the GUID (LSID) after your manuscript is accepted for publication, and this information will then be added to the manuscript during the production phase

In the **Methods** section, include a sub-section called "Nomenclature" using the following wording:

The electronic version of this article in Portable Document Format (PDF) in a work with an ISSN or ISBN will represent a published work according to the International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants, and hence the new names contained in the electronic publication of a PLOS ONE article are effectively published under that Code from the electronic edition alone, so there is no longer any need to provide printed copies.

In addition, new names contained in this work have been submitted to IPNI, from where they will be made available to the Global Names Index. The IPNI LSIDs can be resolved and the associated information viewed through any standard web browser by appending the LSID contained in this publication to the prefix <http://ipni.org/>. The online version of this work is archived and available from the following digital repositories: [INSERT NAMES OF DIGITAL REPOSITORIES WHERE ACCEPTED MANUSCRIPT WILL BE SUBMITTED (PubMed Central, LOCKSS etc)].

All *PLOS ONE* articles are deposited in [PubMed Central](#) and [LOCKSS](#). If your institute, or those of your co-authors, has its own repository, we recommend that you also deposit the published online article there and include the name in your article.

[Back to top](#)

New Fungal Taxon

When publishing papers that describe a new fungal taxon name, *PLOS* aims to comply with the requirements of the International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (ICN). The

following guidelines for publication in an online-only journal have been agreed such that any scientific fungal name published by us is considered effectively published under the rules of the Code. Please note that these guidelines differ from those for zoological nomenclature.

Effective January 2012, "the description or diagnosis required for valid publication of the name of a new taxon" can be in either Latin or English. This does not affect the requirements for scientific names, which are still to be Latin.

Also effective January 2012, the electronic PDF represents a published work according to the ICN for algae, fungi, and plants. Therefore the new names contained in the electronic publication of a *PLOS ONE* article are effectively published under that Code from the electronic edition alone, so there is no longer any need to provide printed copies.

Additional information describing recent changes to the Code can be found [here](#).

For proper registration of the new taxon, we require two specific statements to be included in your manuscript.

In the **Results** section, the globally unique identifier (GUID), currently in the form of a Life Science Identifier (LSID), should be listed under the new species name, for example:

Hymenogaster huthii. Stielow et al. 2010, sp. nov. [urn:lsid:indexfungorum.org:names:518624]

You will need to contact either [Mycobank](#) or [Index Fungorum](#) to obtain the GUID (LSID). Please do this as early as possible to avoid delay of publication upon acceptance of your manuscript. It is your responsibility to provide us with this information so we can include it in the final published paper. Effective January 2013, all papers describing new fungal species must reference the identifier issued by a recognized repository in the protologue in order to be considered effectively published.

In the **Methods** section, include a sub-section called "Nomenclature" using the following wording (this example is for taxon names submitted to MycoBank; please substitute appropriately if you have submitted to Index Fungorum):

The electronic version of this article in Portable Document Format (PDF) in a work with an ISSN or ISBN will represent a published work according to the International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants, and hence the new names contained in the electronic publication of a PLOS ONE article are effectively published under that Code from the electronic edition alone, so there is no longer any need to provide printed copies.

In addition, new names contained in this work have been submitted to MycoBank from where they will be made available to the Global Names Index. The unique MycoBank number can be resolved and the associated information viewed through any standard web browser by appending the MycoBank number contained in this publication to the prefix <http://www.mycobank.org/MB/>. The online version of this work is archived and available from the following digital repositories: [INSERT NAMES OF DIGITAL REPOSITORIES WHERE ACCEPTED MANUSCRIPT WILL BE SUBMITTED (PubMed Central, LOCKSS etc)].

All *PLOS ONE* articles are deposited in [PubMed Central](#) and [LOCKSS](#). If your institute, or those of your co-authors, has its own repository, we recommend that you also deposit the published online article there and include the name in your article.

[Back to top](#)

Qualitative Research

Qualitative research studies use non-quantitative methods to address a defined research question that may not be accessible by quantitative methods, such as people's interpretations, experiences, and perspectives. The analysis methods are explicit, systematic, and reproducible, but the results do not involve numerical values or use statistics. Examples of qualitative data sources include, but are not limited to, interviews, text documents, audio/video recordings, and free-form answers to questionnaires and surveys.

Qualitative research studies should be reported in accordance to the [Consolidated criteria for reporting qualitative research \(COREQ\) checklist](#). Further reporting guidelines can be found in the Equator Network's [Guidelines for reporting qualitative research](#).

Anexo 3. Documento de aprovação do estudo no comitê de ética em pesquisa com seres humanos

ESCOLA SUPERIOR DE
EDUCAÇÃO FÍSICA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito dose-resposta de diferentes volumes de exercício estruturado na atividade da adenosina deaminase, proteína-C-reativa e sobre parâmetros de estresse oxidativo em mulheres menopausadas.

Pesquisador: Ailton José Rombaldi

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 27371214.4.0000.5313

Instituição Proponente: Escola Superior de Educação Física da Universidade Federal de Pelotas

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 523.388

Data da Relatoria: 05/02/2014

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo com delineamento experimental com mulheres menopausadas. As mulheres serão submetidas a diferentes doses de exercícios físicos estruturados por três meses e os efeitos desta exposição sobre marcadores fisiológicos de inflamação, como proteína C-reativa e de imunidade serão avaliados. A hipótese é que haverá efeito dose-resposta na modulação da atividade da enzima adenosina deaminase e de inflamação ao longo da intervenção.

Objetivo da Pesquisa:

Verificar o efeito dose-resposta de diferentes volumes de um programa de exercícios físicos estruturado (composto com exercícios contínuo e resistido) na atividade da adenosina deaminase (ADA), proteína-C-reativa e sobre parâmetros de estresse oxidativo em mulheres menopausadas ao longo de 12 semanas.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos e benefícios estão bem descritos no projeto. Os riscos são aqueles associados à prática de exercícios físicos, mas haverá uma triagem para identificação de riscos. Aquelas com risco aumentado serão excluídas do estudo e encaminhadas para o serviço de saúde competente. Os benefícios estão bem descritos e caracterizam-se principalmente pelo oferecimento de exercícios

Endereço: Luis de Camões, 525

Bairro: Tablada

UF: RS

Município: PELOTAS

Telefone: (53)3273-2752

CEP: 96.055-630

E-mail: schivi@tema.com.br

ESCOLA SUPERIOR DE
EDUCAÇÃO FÍSICA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE



Continuação do Parecer: 523.360

físicos supervisionados.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa está bem apresentada e justificada. O delineamento é apropriado e são claramente apresentados os riscos e benefícios aos participantes.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos são apresentados de maneira satisfatória.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Recomenda-se aprovação do projeto em seu estado atual.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

PELOTAS, 06 de Fevereiro de 2014

Assinador por:
Suzete Chiviacowsky
(Coordenador)

Endereço: Luís de Camões, 525

Bairro: Tebélida

CEP: 96.055-830

UF: RS

Município: PELOTAS

Telefone: (53)3273-2752

E-mail: schivi@terra.com.br

Anexo 4. Registro no ClinicalTrials.gov

ClinicalTrials.gov PRS

Protocol Registration and Results System



ClinicalTrials.gov PRS DRAFT Receipt (Working Version)
Last Update: 01/02/2016 22:48

The Effect of Different Volumes of Physical Exercise on the Immune System (ProAFIM)

This study has been completed.

Sponsor:	Federal University of Pelotas
Collaborators:	
Information provided by (Responsible Party):	Matheus Pintanel Silva de Freitas, Federal University of Pelotas
ClinicalTrials.gov Identifier:	NCT02331446

► Purpose

The investigators will do an intervention on four groups of previously sedentary post-menopausal women which consists: group 1 - 30 minutes per day of physical protocol; group 2 - 50 minutes per day of physical protocol; group 3 - 70 minutes per day of physical protocol; group 4 - sedentary control women. The protocol consists of three sessions per week of concurrent training (half session with aerobic training and the other part with weight training). Inflammatory and oxidative parameters will be analyzed and the investigators hypothesized that 90 minutes per week of concurrent training (group 1) will reduce the inflammatory parameters and the oxidative stress, and this improvements will be greater so much as the longer the sessions (a dose-response effect). The physical activity practiced out of the intervention will be controlled by a questionnaire (the commuting and leisure sections of the International Physical Activity Questionnaire) and the food intake by a 24-hour food recall.

Condition	Intervention	Phase
Immune System Diseases Oxidative Stress	Behavioral: Physical exercise intervention	N/A

Study Type: Interventional

Study Design: Prevention, Factorial Assignment, Double Blind (Investigator, Outcomes Assessor), Randomized, Safety/Efficacy Study

Official Title: Dose-response Effects of Different Volumes of Structured Exercise in the Inflammatory and Oxidative Stress Parameters in Postmenopausal Women: a Randomized Clinical Trial

Further study details as provided by Matheus Pintanel Silva de Freitas, Federal University of Pelotas:

Primary Outcome Measure:

- Change in Interleukin-6 [Time Frame: Weeks 0, 6 and 12] [Designated as safety issue: Yes]
- Change in adenosine deaminase activity [Time Frame: Weeks 0, 6 and 12] [Designated as safety issue: Yes]
- Change in thiobarbituric acid reactive substances [Time Frame: Weeks 0, 6 and 12] [Designated as safety issue: Yes]
- Change in total thiol content [Time Frame: Weeks 0, 6 and 12] [Designated as safety issue: Yes]
- Change in Catalase activity [Time Frame: Weeks 0, 6 and 12] [Designated as safety issue: Yes]

- Change in superoxide dismutase activity [Time Frame: Weeks 0, 6 and 12] [Designated as safety issue: Yes]

Secondary Outcome Measures:

- Change in performance in the six-minute walk test [Time Frame: Weeks 0, 6 and 12] [Designated as safety issue: Yes]
- Change in handgrip strength [Time Frame: Weeks 0, 6 and 12] [Designated as safety issue: Yes]
Measured using a handgrip dynamometer and quantified in kilogram-force

Other Pre-specified Outcome Measures:

- Change in Body Mass Index [Time Frame: Weeks 0 and 12] [Designated as safety issue: Yes]
- Change in kilocalories intake [Time Frame: Weeks 0, 6 and 12] [Designated as safety issue: Yes]
Measured by a 24-hour food recall and quantified in kilocalories
- Educational level [Time Frame: Week 0] [Designated as safety issue: Yes]
Measured by a questionnaire and quantified in complete years of study
- Family income [Time Frame: Week 0] [Designated as safety issue: Yes]
Measured by a questionnaire and quantified by the salary of all persons in the study participant's home
- Age [Time Frame: Week 0] [Designated as safety issue: Yes]
- Change in minutes per week of physical activity out of intervention [Time Frame: Week 0, 6 and 12] [Designated as safety issue: Yes]
Measured by the commuting and leisure sections of the International Physical Activity Questionnaire
- Continuous use of drugs [Time Frame: Week 0] [Designated as safety issue: Yes]
Measured by a questionnaire and quantified by the name of the medicines people use

Enrollment: 27

Study Start Date: March 2014

Primary Completion Date: September 2014

Study Completion Date: September 2014

Arms	Assigned Interventions
No Intervention: Control The control group will be oriented to maintain their normal activity and habits and will not receive the intervention.	
Experimental: 90 minutes per week The group of 90 minutes per week will do three sessions of 30 minutes per week of concurrent training, which consists on 15 minutes of aerobic exercise and 15 minutes of strength training.	Behavioral: Physical exercise intervention
Experimental: 150 minutes per week The group of 150 minutes will do three sessions of 50 minutes per week, which consists on 25 minutes of aerobic exercise and 25 minutes of strength training.	Behavioral: Physical exercise intervention
Experimental: 210 minutes per week The group of 210 minutes per week will do three sessions of 70 minutes per week, which consists on 35 minutes of aerobic exercise and 35 minutes of strength training.	Behavioral: Physical exercise intervention

Detailed Description:

The protocol will consist of an intervention based on concurrent training, for previously sedentary postmenopausal women divided on four groups: 1) control group; 2) 90 minutes of physical training per week; 3) 150 minutes of training per week; 4) 210 minutes of training per week.

The control group will be oriented to maintain their normal activity and habits and will not receive the intervention. The group of 90 minutes per week will do three sessions of 30 minutes per week of concurrent training, which consists on 15 minutes of aerobic exercise and 15 minutes of strength training. The group of 150 minutes will do three sessions of 50 minutes per week, which consists on 25 minutes of aerobic exercise and 25 minutes of strength training. The group of 210 minutes per week will do three sessions of 70 minutes per week, which consists on 35 minutes of aerobic exercise and 35 minutes of strength training.

The aerobic exercise will be performed on cycle-ergometers and the subjects will exercise between the levels 14 and 16 of Borg's scale of perceived exertion. The strength training will be performed on weight machines by a linear periodization, which will consist on a week of adaptation (series of 10 to 12 submaximal repetitions), next three weeks with series of 12 to 14 maximal repetitions, weeks five to eight with series of 10 to 12 maximal repetitions, weeks nine to twelve with series of eight to 10 maximal repetitions. All participants will do the maximum number of series of strength training that the time permits.

The blood samples will be collected at the beginning of the study (week zero), at the middle (week six) and at the end (week 12). The subjects will fill a 24-hour food recall (to control the food intake) and the commuting and leisure sections of the International Physical Activity Questionnaire (to control the physical activity practiced out of the intervention).

► Eligibility

Genders Eligible for Study: Female
Accepts Healthy Volunteers: No

Criteria

Inclusion Criteria:

- Women have to be in the postmenopausal period, without physical disorders.

Exclusion Criteria:

- Women who answer positively to, at least, one of the issues of the PAR-Q instrument;
- Women with diabetes and/or cancer history;
- Women who underwent oophorectomy.

► Contacts and Locations

Investigators

Principal Investigator: Matheus P Freitas Federal University of Pelotas

► More Information

Responsible Party: Matheus Pintanel Silva de Freitas, Masters course student, Federal University of Pelotas
Study ID Numbers: 27371214.4.0000.6313
Health Authority: Brazil: Ministry of Health