UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA

Efeitos do treinamento combinado em *screening* global epigenético em mulheres
de 50 a 70 anos

Guilherme da Silva Rodrigues

Ribeirão Preto – SP

2021

Guilherme da Silva Rodrigues

Efeitos do treinamento combinado em *screening* global epigenético em mulheres
de 50 a 70 anos

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina
de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Investigação Biomédica.

Ribeirão Preto – SP

2021

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Rodrigues, Guilherme da Silva

**Efeitos do treinamento combinado em *screening* global epigenético
em mulheres de 50 a 70 anos**

62f.:il.: 30cm

Dissertação de mestrado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão
Preto da Universidade de São Paulo – Área de concentração: Investigação Biomédica.

Orientador: Bueno Jr., Carlos Roberto

1. Bioinformática. 2. Exercício físico. 3. *Array*.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: RODRIGUES, Guilherme da Silva

Título: Efeitos do treinamento combinado em *screening* global epigenético em mulheres de 50 a 70 anos

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de mestre em ciências.

Aprovado em: ____/____/____

Banca examinadora

Prof. (a) Dr. (a): _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof. (a) Dr. (a): _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof. (a) Dr. (a): _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof. (a) Dr. (a): _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

"Pensando bem: quem não é um acaso na vida?"
(Clarice Lispector)

Dedico esse trabalho a todos que de alguma forma estiveram presentes nessa jornada da pós-graduação. Também dedico esse trabalho a mim, que por mais espinhos que tenha encontrado no caminho do conhecimento, consegui caminhar com calma, vencê-los e hoje estar aqui.

Agradecimentos

São inúmeras as pessoas que preciso agradecer pelo fato de ter chegado até aqui. Agradeço a minha avó, que não se encontra entre nós, por ter se dedicado e sempre me orientado ao caminho dos estudos; a minha tia, que após o falecimento da minha avó, deu continuidade ao trabalho dela, me oferecendo educação, carinho e tudo o que fosse preciso para me tornar a pessoa que sou hoje.

Agradeço aos meus professores, do Centro Universitário Claretiano, que no segundo ano do curso de Educação Física me convidaram para desenvolver uma iniciação científica. Muito obrigado por terem me mostrado o caminho da pesquisa, pelos congressos e eventos a que fomos; isso contribuiu enormemente para que me tornasse o pesquisador que sou hoje.

Dando continuidade aos agradecimentos aos professores, agradeço ao professor Carlos, que respondeu meu e-mail de uma forma tão receptiva e calorosa, me convidando para frequentar o seu grupo de pesquisa - obrigado pela iniciação científica que me orientou e mostrou que eu estava no caminho certo. Obrigado ao meu coorientador Christiano, que não mediu esforços para o projeto desenvolvido no mestrado terminar com uma ótima qualidade.

Graças à iniciação científica na USP conheci Andressa, minha amiga e irmã, que sempre esteve ao meu lado nos altos e baixos das coletas intermináveis que realizamos, muito obrigado por ter feito o caminho em aprender novas técnicas e tecnologias mais leve e tranquilo; agradeço também Mariana, outra grande amiga que a pós-graduação colocou no meu caminho, obrigado por ter me coorientado na iniciação científica, por ter me ensinado várias coisas. Se hoje estou aqui é porque você possui uma grande parte nisso, não tenho palavras para expressar o quão grato sou por ter você como amiga.

Agradeço a Sabrina, outra amiga da minha cidade, que entrou na pós-graduação ao mesmo tempo. Enfrentamos a estrada juntos todos os dias durante esse processo, muito obrigado por sempre estar dentro do ônibus às 4h da manhã com um sorriso no rosto, muito obrigado, do fundo do meu coração.

Muito obrigado à minha amiga Natalia, outra amiga que a pós-graduação me apresentou em um momento que necessitava de uma total ajuda para entender as análises de bioinformática do meu mestrado, muito obrigado por ter me guiado e ensinando tantas coisas, sou eternamente grato, já que nos momentos em que pensei em desistir você

segurou a minha mão e me mostrou a luz no fim do túnel. Agradeço também a Marcela e Professora Carla por terem sido luz em um experimento do qual eu não tinha domínio, muito obrigado pela paciência em ensinar e me receber no laboratório de vocês.

Agradeço aos meus amigos fora da academia, Renato que sempre esteve comigo, dando inúmeros conselhos, inúmeras dicas e me mostrando que sou capaz de muitas coisas, muito obrigado por ter sido luz em muitos momentos de escuridão; agradeço ao Marlon, meu irmão, a minha mais longa amizade, quantos sonhos compartilhamos? Obrigado pelas caminhadas e conversas no nosso cantinho, você não sabe como foi extremamente significativo para esse momento; agradeço também a Bruna, uma amiga que me ensinou o quão importante é fazer cronogramas de tarefas às sextas à tarde! Bruna, obrigado por ter chegado na minha vida em um momento tão crucial.

E, não menos importante, agradeço a técnica do laboratório, Simone, que me ensinou inúmeras atividades na bancada; agradeço a Camila e o Igor Massari, alunos que me deram a oportunidade em auxiliar em seus projetos, muito obrigado por terem me ajudado a entender os dados e obrigado por terem sido mais uma luz no meu caminho.

Agradeço as idosas que fizeram parte desta pesquisa, cada turma foi capaz de me marcar de uma forma diferente. Muito obrigado por sempre me mostrarem o melhor. A alegria em ver nos olhos de vocês as melhoras que essa intervenção proporcionou é algo que ficará marcado eternamente.

Agradeço aos porteiros, funcionários administrativos, funcionários da limpeza da Escola de Educação Física e Esporte de Ribeirão Preto, por sempre estarem presentes em momentos de coletas e não medir esforços para que tudo corra bem.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 88882.180033/2018-01.

Meu sincero agradecimento a todos.

RESUMO

RODRIGUES, G. S. **Efeitos do treinamento combinado em *screening* global epigenético em mulheres de 50 a 70 anos.** Dissertação de mestrado – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2021.

Introdução: a literatura apresenta as diversas mudanças que o treino aeróbio ou de força pode proporcionar no perfil de metilação de humanos, mas ainda não apresenta junção de ambos os treinamentos, sua influência na epigenética e em associação às variáveis avaliativas que analisem de uma forma completa os participantes. **Objetivos:** este estudo apresenta dois objetivos. O primeiro é investigar os benefícios do treinamento combinado nas variáveis antropométricas, pressão arterial, bioquímicos, motores, sintomas de depressão, ansiedade, marcadores de consumo alimentar, qualidade de vida e nível de atividade física. O segundo objetivo é avaliar as modificações no perfil de metilação em mulheres entre idade de 50 e 70 anos. **Métodos:** foi utilizado o treinamento combinado. As avaliações foram realizadas no momento inicial, após sete semanas de treinamento (*post 7*) e após 14 semanas de treinamento (*post 14*), e foram subdivididas em cinco blocos avaliativos: avaliações bioquímicas, avaliações motoras, avaliação global de saúde, antropometria e pressão arterial. Para avaliarmos o perfil de metilação das participantes, utilizamos o *Illumina 850k Infinium MethylationEPIC BeadChip* e, posteriormente, análises de bioinformática foram realizadas utilizando o *RStudio* para processamento dos dados epigenéticos. Os dados que se enquadraram dentro dos cinco blocos avaliativos foram analisados por meio do *Graph Prism*. **Resultados:** o treinamento combinado apresentou diferenças significativas positivas para triglicérides, pressão arterial sistólica e diastólica e todos testes que estavam no bloco das avaliações motoras. Para o bloco de avaliação global de saúde observamos melhoras significativas na comparação inicial com o *post 14* para os instrumentos MoCA, GDS, QBMI, marcadores de consumo alimentar e SF-36, domínio mental. Também foi possível observarmos diferenças no perfil de metilação das participantes nas comparações dos três momentos. **Conclusão:** o treinamento combinado é eficaz para apresentar benefícios às mulheres de 50 a 70 anos, tanto no perfil epigenético quanto em variáveis de saúde.

Palavras-chave: Bioinformática; Exercício físico; *Array*.

ABSTRACT

RODRIGUES, G. S. Effects of combined training on global epigenetic screening in women aged 50 to 70 years. Dissertação de mestrado – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2021.

Introduction: the literature presents the several changes that aerobic or strength training can provide in the methylation profile of humans, but it still doesn't present a combination of both training, its influence on epigenetics and the association with the evaluation variables that analyze the participants in a complete way. Objectives: this study has two objectives. The first is to investigate the benefits of combined training in anthropometric variables, blood pressure, biochemicals, motor, depression symptoms, anxiety, food consumption markers, life quality and the level of physical activity. The second objective is to assess changes in the methylation profile in women between the ages of 50 and 70 years. Methods: combined training was used. The assessments were carried out at the initial moment, after seven weeks of training (post 7) and after 14 weeks of training (post 14), and were subdivided into five evaluation blocks: biochemical assessments, motor assessments, global health assessment, anthropometry and pressure arterial. To assess the methylation profile of the participants, we used Illumina 850k Infinium MethylationEPIC BeadChip and, subsequently, bioinformatics analyzes were performed using RStudio for processing epigenetic data. The data that fell within the five evaluation blocks were analyzed using the Graph Prism. Results: the combined training showed significant positive differences for triglycerides, systolic and diastolic blood pressure in all tests that were in the motor assessment block. For the global health assessment, we observed significant improvements comparing the initial evaluation with the post 14 for the instruments MoCA, GDS, QBMI, food consumption markers and SF-36, mental domain. It was also possible to observe differences in the methylation profile of the participants in the comparisons of the three moments. Conclusion: combined training is effective to provide benefits to women aged 50 to 70, both in the epigenetic profile and in health variables.

Keywords: Bioinformatics; Physical exercise; Array.

Lista de figuras

Figura 1 – Diferença entre pirâmide etária Brasileira	14
Figura 3 – Fita de DNA e fatores epigenéticos	17
Figura 4 – Exercícios de força utilizados durante as 14 semanas de intervenção	25
Figura 5 – Eletroforese do DNA genômico.....	26
Figura 6 – Variáveis selecionadas para demonstrar as melhoras das participantes em forma de gráficos (n=45).....	32
Figura 7 - Diagrama de Venn e sítios diferencialmente metilados nos diferentes momentos de treinamento (n=45).	33
Figura 8 – Distribuição dos sítios pelos lugares identificados e quais as metilações apresentadas (n:45).....	36
Figura 9 – Enriquecimento KEEG dos genes dos sítios que se encontravam nas áreas TSS1500 e TSS200.....	39

Lista de tabelas

Tabela 1 - Média $\pm$ desvio padrão (variação) dos valores antropométricos, pressão arterial e análise bioquímica antes e após sete e 14 semanas de treinamento combinado (n=45).	29
Tabela 2 - Média $\pm$ desvio padrão (variação) dos valores de aptidão física antes e após sete e 14 semanas de treinamento combinado (n=45).	30
Tabela 3 – Valores de avaliação de saúde global média $\pm$ desvio padrão (intervalo) antes e 14 semanas de treinamento combinado (n=45).	31
Tabela 4 – Os 10 principais locais diferencialmente metilados entre os valores pre e após sete e 14 semanas de treinamento combinado (n=45).	36
Tabela 5 - <i>Motifs</i> dos genes nos sites logFC positivos pre vs. post 14 nas áreas TSS1500 e TSS200.	39
Tabela 6 - <i>Motifs</i> dos genes nos sites logFC negativo post 7 vs. post 14 nas áreas TSS1500 e TSS200.	40
Tabela 7 - <i>Motifs</i> dos genes nos locais logFC positivos post 7 vs. post 14 nas áreas TSS1500 e TSS200.....	41

Lista de abreviaturas

1RM	Uma Repetição Máxima
BAI	Escala de Ansiedade de Beck
CAAE	Certificado de Apresentação de Apreciação Ética
CC	Circunferência de Cintura
Cg	Citosina que precede uma guanina
CH3	Grupamento metil
CHR	Número do cromossomo
Cm	Centímetros
CpG	Citosinas seguidas por resíduos de guanina
CQ	Circunferência de Quadril
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EEFERP	Escola de Educação Física e Esporte de Ribeirão Preto
FCFRP	Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto
FDR	Taxa de Descoberta Falsa
FEC	Flexão e Extensão de Cotovelo
GDS	Escala de Depressão Geriátrica
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IMC	Índice de Massa Corporal
KEEG	<i>Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes</i>
Kg	Quilograma
Kg/m ²	Quilograma por Metro Quadrado
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade
M	Metros
mg/dL	Miligramas por Litro
mmHg	Milímetros de Mercúrio
MMII	Membros Inferiores
MMSS	Membros Superiores
MoCA	<i>Montreal Cognitive Assessment</i>
Post 14	Coletas após 14 semanas de treinamento físico
Post 7	Coletas após sete semanas de treinamento físico

Pre	Coletas iniciais
QBMI	Questionário de Baecke Modificado para Idosos
Rep	Repetição
RNA	Ácido ribonucleico
Sec	Segundos
SEL	Sentar e Levantar da Cadeira
SF-36	<i>Medical Outcomes Short-Form Health Survey</i> (SF-36)
TC6	Teste de Caminhada de 6 minutos
TF	<i>Transcription Factor</i>
UI/mL	Unidade por Mililitro
USP	Universidade de São Paulo
Val	Valor

Sumário

1. INTRODUÇÃO	14
1.1. Envelhecimento populacional	14
1.2. Epigenética e exercício físico	16
2. OBJETIVOS	18
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1. Critérios de inclusão e exclusão.....	19
3.2. Fluxograma	20
3.3. Desenho do estudo	21
3.4. Avaliações.....	21
3.4.1. Avaliações bioquímicas.....	21
3.4.2. Avaliação global de saúde.....	21
3.4.3. Avaliações motoras	22
3.4.4. Avaliações antropométricas	24
3.4.5. Pressão arterial	24
3.5. Treinamento combinado	24
3.6. Ensaio de metilação de DNA.....	25
3.7. Análise de bioinformática	26
3.8. Análise estatística	27
4. RESULTADOS	28
5. DISCUSSÃO	42
6. CONCLUSÃO.....	44
7. REFERÊNCIAS	45
8. ANEXOS	49
9. APÊNDICES	61
9.1. Apêndice A – Produções durante o mestrado.....	61
9.1.1. Artigos completos publicados em periódicos	61
9.1.2. Capítulos de livros publicados	62
9.1.3. Resumos publicados em anais de congressos	62
9.1.4. Artigos aceitos para publicação	62

1. INTRODUÇÃO

1.1. Envelhecimento populacional

Dados levantados pela Organização Mundial de Saúde (2015) apontam que o Brasil deve se tornar um dos países com a maior população de idosos até o ano de 2050, triplicando a população idosa atual (Figura 1). Segundo dados levantados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) em 2015, o grupo de pessoas com 60 anos ou mais foi maior que o grupo de crianças com idade até 14 anos, e em 2030 e 2055 a participação de idosos na população total deve ser maior que a de crianças e jovens com até 29 anos.

Figura 1 – Diferença entre pirâmide etária Brasileira (IBGE, 2015).

O envelhecimento se destaca por ser um processo inevitável e gradual (DE LIMA; DELGADOS, 2017), sendo muito comum nessa faixa etária a diminuição do nível de atividade física devido a diferentes fatores de ordem biopsicossocial, que levam os idosos a serem menos ativos fisicamente (PEREIRA, 2016).

Um estudo realizado pela Sociedade Brasileira de Cardiologia (2007) com 2012 pessoas entre os 18 e 70 anos apresentou que o índice de inatividade física cresce conforme a pessoa envelhece, sendo que dos 18 aos 24 anos 39% dos brasileiros não praticam exercício físico; na faixa etária de 25 a 44 anos 50%; entre 45 aos 59 anos 53% dos participantes e os idosos de 60 a 70 anos com um total de 57% (Figura 2).

Figura 2 – Porcentagem de pessoas fisicamente inativas em diferentes faixas etárias (Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2007).

A Pesquisa Nacional de Saúde de 2015 demonstrou que 62,7% dos idosos brasileiros não praticam alguma atividade física regular, sendo que estes são os que mais apresentam prevalências de inatividade física. A pesquisa também apontou que 32,4% dos idosos assistem mais que três horas por dia de televisão, indicando que estes são os que mais despendem tempo em comportamento sedentário (MALTA et al., 2015). O conjunto das 27 cidades avaliadas pelo levantamento da Vigilância de Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (2018) demonstrou que o equivalente a pelo menos 150 minutos de atividades moderada entre adultos durante a semana foi de 38,1%, sendo maior entre os homens (45,4%) do que entre mulheres (31,8%). A pesquisa ressaltou que em ambos os sexos a frequência da condição dos níveis de pelo menos 150 minutos tendeu a diminuir com a idade e aumentar fortemente com o nível de escolaridade (VIGITEL, 2018).

As alterações decorrentes do processo de envelhecimento, em conjunto com a inatividade física, proporcionam ao idoso uma diminuição na capacidade funcional (VAGETTI et al., 2015), que é definida pela capacidade do indivíduo em realizar suas atividades de vida diárias independentemente, com segurança e sem qualquer gasto

excessivo de energia (RIKLI; JONES, 1999), sendo interessante estudar formas de intervenções que retardem o declínio da capacidade funcional de quem envelhece.

1.2. Epigenética e exercício físico

Vale ressaltar também a importância em compreender as alterações biomoleculares que o exercício promove em pessoas no processo de envelhecimento, já que as complexidades das alterações advindas do processo de envelhecimento não podem ser explicadas tendo em vista apenas os fatores físicos ou genéticos. Uma série de fatores do estilo de vida comportamental tem sido relacionada à saúde, incluindo alimentação, consumo de álcool e atividade física (KHERA et al., 2016). A influência desses fatores de estilo de vida no genoma, área do conhecimento chamada de epigenética, exerce papel importante no entendimento das inúmeras alterações decorrentes nesta fase da vida (KHERA et al., 2016).

Além de variações na sequência do DNA, a metilação do DNA é uma importante modificação epigenética que classicamente suprime a expressão gênica (CEDAR et al., 2009; ANDERSON et al., 2012). Já foi demonstrado que exercício físico aeróbico, por exemplo, é um estímulo que afeta a metilação do DNA no tecido muscular e que resulta em mudanças na expressão de genes, evidenciando o papel dinâmico da metilação do DNA na regulação da expressão gênica (BARRÈ et al., 2012). Além disso, foram observadas mudanças na metilação de leucócitos e os efeitos de genes relacionados à saúde cardiovascular após exercício físico com aumento na aptidão cardiorrespiratória, economia de corrida e diminuição das concentrações de LDL-colesterol. A metilação do DNA é afetada por fatores ambientais que modulam a expressão gênica e que, portanto, medeiam os benefícios à saúde oriundos do treinamento físico (DENHAM et al., 2015).

A metilação é um tipo de modificação química que ocorre no DNA sem alterar a sequência original da molécula, podendo ocorrer devido a fatores externos, como o exercício físico (RONN et al., 2013), por meio de uma variedade de mecanismos como a metilação do DNA, modificações das histonas e RNA não-codificantes, causando supressão ou ativação da transcrição, dependendo da localização dentro do gene. As alterações epigenéticas ocorrem principalmente por meio do processo de metilação (FANTAPPIÉ et al., 2013).

A metilação consiste em uma modificação covalente do DNA, na qual um grupamento metil (CH_3) é transferido da S-adenosilmetionina para o carbono 5 de uma citosina (5-MeC), que geralmente precede uma guanina (dinucleotídeo CpG), pela ação de uma família de enzimas que recebe o nome de DNA metiltransferase (RONN et al, 2013) (Figura 3). O processo de metilação faz com que vias moleculares tornem-se mais ativos ou inativos como resposta à atividade física, destacando-se a necessidade de estudos mais aprofundados da epigenética para melhor compreensão desse fator (BRYAN et al., 2012).

Figura 3 – Fita de DNA e fatores epigenéticos Fonte: autoria própria.

Em um estudo realizado por Zeng et al. (2012), a partir de um ensaio clínico e análise genômica em larga escala (*micrarray*) envolvendo pacientes diagnosticados com câncer de mama em conjunto com a prática de atividade física moderada com duração de seis meses, foi possível identificar mudanças nos perfis de metilação do DNA de 43 genes. Dentre essas alterações havia três genes que foram correlacionados de uma forma

positiva com a sobrevida dos pacientes, entre eles um gene de conhecida função de supressão tumoral, o L3MBTL1 (ZENG et al., 2012).

A literatura apresenta que trabalhar somente com alguns genes para identificar os benefícios e as diferenças entre exercícios físicos não é interessante (ZENG et al., 2012), já que, para as pesquisas atuais, mostra-se necessário observar milhares de regiões do DNA, argumentando sobre as funcionalidades das diferentes sequências associadas ao treinamento físico (BOUCHARD et al., 2015).

Portanto, apesar de ser consenso que o treinamento físico aeróbio e de força muscular resultem em benefícios para indivíduos no processo de envelhecimento, estudos que apresentem que a junção do treinamento aeróbio e de força muscular ainda se fazem necessários para apresentar sua magnitude de benefícios para adultos e idosos. Apesar de haver estudos mostrando a relação de polimorfismos genéticos com parâmetros de saúde, os efeitos do treinamento combinado na metilação do DNA não são conhecidos e esta informação é importante porque a resposta de muitos parâmetros de saúde e de aptidão física a este tipo de treinamento tende a ser altamente variável de um indivíduo para o outro e dependente de fatores epigenéticos. Estudos desta natureza são fundamentais para a busca de biomarcadores, de metilação neste caso, capazes de prever as respostas ao treinamento físico de cada indivíduo, favorecendo o surgimento de treinamentos físicos epigeneticamente personalizados – é conhecido que, quando se submetem diferentes indivíduos a um mesmo programa de exercício físico, as respostas são altamente variáveis (BRAY et al., 2009).

Esta pesquisa mostra-se interessante por investigarmos a relação entre os diferentes perfis de metilação em milhares de regiões do DNA associados ao exercício físico, já que o que se sabe até o momento é que o exercício físico é um estímulo que afeta a metilação do DNA e que resulta em mudanças na expressão de genes, evidenciando ainda mais o papel da metilação do DNA na regulação da expressão gênica (BARRÈ et al., 2012; DENHAM et al., 2015).

2. OBJETIVOS

1. Comparar, por meio de avaliações realizadas no início do treino, após sete semanas e após 14 semanas, o efeito do treinamento combinado e sua influência em parâmetros

antropométricos, bioquímicos, motores, sintomas de depressão e de ansiedade, qualidade de vida e da alimentação, e pressão arterial em mulheres entre 50 e 70 anos.

2. Analisar a influência do treinamento combinado no perfil de metilação do DNA sanguíneo de mulheres com idade entre 50 e 70 anos em três momentos avaliativos distintos – início, após sete semanas de treinamento e após 14 semanas de treinamento.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Escola de Educação Física e Esporte de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (EEFERP – USP), com número de registro CAAE: 79582817.0.0000.5656. Este estudo teve como base a Resolução 466/12 do Ministério da Saúde, regulamentada pelo Conselho de Saúde. O estudo está registrado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos com o código RBR-3g38dx.

Foram participantes desta pesquisa mulheres com idade de 50 a 70 anos ingressantes do Programa de Educação Física para Idosos da EEFERP-USP.

3.1. Critérios de inclusão e exclusão

Os critérios de inclusão adotados para esse trabalho foram: ser mulher, ter idade entre 50 e 70 anos, apresentar atestado de liberação médica para realização de exercício físico e estar há, no mínimo, seis meses sem realizar algum exercício físico. Os critérios de exclusão foram: ser diagnosticada com alguma limitação que impossibilite realizar treinamentos físicos, ser fumante atualmente e/ou nos últimos seis meses, consumir cafeína nas últimas 24h que antecedem alguma colheita de sangue, faltar em algum dos três momentos de avaliações, amostra de DNA degradada e apresentar mais que 25% de falta no treinamento combinado.

3.2. Fluxograma

3.3. Desenho do estudo

Este estudo dividiu as avaliações em três momentos distintos, sendo: (1) o início da coleta (pré); (2) após sete semanas de treinamento (*post* 7) (3) e após o total de 14 semanas de treinamento (*post* 14). As únicas avaliações que não foram reproduzidas nas avaliações *post* 7 foram as que se encontram no bloco de avaliação global de saúde. Após as coletas finais foi realizado o *BeadChip* de metilação e, posteriormente, as outras análises necessárias, utilizando ferramentas de bioinformática. Os detalhes são apresentados a seguir.

3.4. Avaliações

As avaliações foram divididas em cinco blocos, sendo elas: avaliações bioquímicas, avaliação global de saúde, avaliação motora, antropometria e pressão arterial. Os testes que fizeram parte de cada bloco são listados a seguir.

3.4.1. Avaliações bioquímicas

Realizamos a análise do perfil bioquímico no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP). As análises foram realizadas por um profissional qualificado por meio do aparelho autoanalisador *BT 3000 plus* da marca *Wiener Lab*. Os reagentes utilizados para as análises descritas nesse tópico foram do mesmo lote (LABORLAB) e os métodos para análise adotados foram os métodos enzimático para glicemia, triglicérides, insulina e ácido úrico.

3.4.2. Avaliação global de saúde

Adotamos o *Montreal Cognitive Assessment (MoCA)* para rastrear o desempenho cognitivo. Esta forma de rastreio se destaca por buscar acessar diferentes domínios relacionados à cognição, tais como: funções executivas, linguagem, memória, atenção e concentração, cálculo, linguagem e orientação. A pontuação total é de 30 pontos, sendo que o indivíduo que atingir uma pontuação de 26 ou mais é considerado sem deficiência cognitiva leve (MEMÓRIA et al., 2012).

A qualidade de vida das participantes foi analisada por meio do Instrumento Genérico da Avaliação da Saúde de 36 itens/*Medical Outcomes Study 36-item Health Survey* (SF-36). O SF-36 inclui oito itens de avaliação: saúde geral, funcionamento físico,

aspectos físicos, dor corporal, vitalidade, funcionamento social, saúde mental e aspectos emocionais. A pontuação pode sofrer uma variação de 0 a 100 pontos dependendo das respostas dos participantes e está relacionada com os domínios propostos pelos instrumentos, que são domínio físico e domínio mental - quanto maior a pontuação, melhor a qualidade de vida do avaliado (CICONELLI, 1999).

O nível de atividade física foi investigado por meio do Questionário de Baecke Modificado para Idosos (QBMI), que avalia o nível de atividade física utilizando questões relacionadas às atividades domésticas, esportivas e de lazer da vida diária. O instrumento foi desenvolvido por Voorrips e colaboradores (1991) e teve sua validação para o português realizado por Ueno (2013).

A avaliação do consumo alimentar foi realizada por meio do Formulário de Marcadores do Consumo Alimentar do Ministério da Saúde, do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional. Adotamos esse instrumento com o objetivo de identificar a frequência com que as avaliadas consumiram bebidas e alimentos pré-determinados pelo instrumento nos sete dias anteriores à avaliação (BRASIL, 2008).

Os sintomas de depressão e ansiedade foram avaliados pela escala de depressão geriátrica (GDS); a participante respondeu sim ou não levando em consideração perguntas relacionadas ao humor e, posteriormente, o avaliador realizou a soma dos pontos. Para avaliar os sintomas de ansiedade, adotamos a escala de ansiedade de Beck (BAI). Esse questionário contém vinte e uma questões de múltipla-escolha e é utilizado para avaliar a severidade de ansiedade de um indivíduo.

3.4.3. Avaliações motoras

Selecionamos alguns testes de aptidão física para adultas e idosas da bateria de Fullerton, desenvolvida por Rikli e Jones (1999). A bateria de Rikli e Jones é conhecida por avaliar componentes associados à independência funcional: agilidade, equilíbrio dinâmico, resistência de força para membros superiores e inferiores e aptidão aeróbia.

Avaliamos a força de membro inferior por meio do teste de sentar e levantar da cadeira (SEL). A participante inicia sentada no meio da cadeira, com as costas alinhadas, com os pés afastados à largura dos ombros e totalmente apoiados no solo. Ao sinal de “partida”, a participante eleva-se até à extensão máxima (posição vertical) e regressa à

posição inicial sentada. A participante foi encorajada a completar o máximo de repetições em um intervalo de tempo de 30'' (RIKLI; JONES, 1999, OSNESS et al., 1990).

Para avaliar a agilidade e equilíbrio dinâmico, as participantes permaneceram sentadas e, ao comando do avaliador, levantaram-se de uma cadeira e realizaram uma volta em um cone localizado à direita, a 1,5 m para trás e 1,8 m para o lado da cadeira, tendo que retornar o mais rápido possível à posição inicial (sentada na cadeira). Imediatamente, a participante levanta os pés do chão (para garantir a finalização do movimento) e inicia o mesmo movimento para o lado oposto, completando um ciclo. Uma tentativa equivale a dois ciclos. É necessário realizar duas tentativas, sendo que o resultado é o menor tempo na realização entre as duas tentativas (OSNESS et al., 1990)

A força do membro superior foi avaliada por meio da flexão de cotovelo (FEC); a participante fica sentada em uma cadeira, com as costas alinhadas, com os pés totalmente assentes no solo e com o tronco totalmente encostado. Utilizamos um halter de 2,26 kg na mão dominante. O teste começa com o antebraço em posição inferior, ao lado da cadeira, perpendicular ao solo. Ao sinal de “iniciar” a participante roda gradualmente a palma da mão para cima, enquanto faz a flexão do antebraço, no sentido completo do movimento e depois regressa à posição inicial de extensão do antebraço. A participante foi encorajada a completar o máximo de repetições em um intervalo de tempo de 30'' (RIKLI; JONES, 1999).

Utilizamos o teste de carga máxima dinâmica para avaliar a força muscular dos membros superiores e inferiores, pela segurança das articulações da participante e por ter uma base sólida (KRAEMER; FRY, 1995) para ser utilizada para calcular os valores de uma repetição máxima das participantes por meio da fórmula proposta por O'Conner e colaboradores (1989). A participante foi familiarizada para os testes de carga máxima dinâmica no supino e *leg press* duas vezes em dois dias antes de realizar o teste final, respeitando um período de descanso de 48 horas. A familiarização se constituiu na realização de 20 repetições no supino apenas com a barra (10kg) e 20 repetições no *leg press* (35kg) para aprendizagem do movimento. A caminhada de 6 minutos (TC6) foi mensurada pelo teste proposto por Rikli e Jones (1999) e avaliou a aptidão aeróbia das participantes.

3.4.4. Avaliações antropométricas

A estatura das participantes foi mensurada utilizando o Estadiômetro Vertical - Balmak - EST-223 e a massa corporal foi avaliada por meio da Balança Digital G-Tech - Balgl200, G-Tech. Em seguida, avaliamos o índice de massa corporal utilizando a fórmula $\text{massa corporal}/(\text{altura}^2)$ (MALACHIAS et al., 2016), verificamos a circunferência da cintura e quadril utilizando uma fita métrica, seguindo as recomendações propostas por Malachias e colaboradores (2016).

3.4.5. Pressão arterial

A pressão arterial sistólica e diastólica foi mensurada utilizando um medidor digital automático de braço, com a participante em repouso por pelo menos cinco minutos (SBH, 2010 - OMRON®, modelo HEM- 7113) (MALACHIAS et al., 2016).

3.5. Treinamento combinado

As sessões do treino combinado foram realizadas três vezes por semana, com duração de cada sessão em 60 minutos. O treino foi dividido em treinamento cardiorrespiratório (esteira ou bicicleta, com duração de 30 minutos) e exercícios de força muscular (30 minutos) (LIXANDRÃO et al., 2012) durante 14 semanas.

Nas duas primeiras semanas, as participantes realizaram duas séries de 15 a 17 repetições máximas para os exercícios de força e 30 minutos em esteira ou bicicleta ergométrica a 50% da frequência cardíaca de reserva. Nas semanas seguintes as participantes realizaram duas séries de 10 a 12 repetições máximas com 30 minutos em esteira ou bicicleta ergométrica a 70% da frequência cardíaca de reserva (COLQUHOUN et al., 2017), com valores entre três e seis em uma escala subjetiva de esforço com pontuação de zero a 10, representando uma intensidade moderada de exercício físico (BOMPA et al., 2015).

Para seleção dos exercícios para o treino de força considerou-se a necessidade em treinar os músculos principais, totalizando cinco exercícios para musculatura dos membros superiores e três exercícios para musculatura dos membros inferiores (Figura

4). Além disso, utilizamos o sistema para análise de frequência cardíaca (*Polar Team2*, Finlândia) para garantir a utilização fidedigna da escala de Borg (DUNBAR et al., 2004).

Figura 4 – Exercícios de força utilizados durante as 14 semanas de intervenção. Fonte: autoria própria.

3.6. Ensaio de metilação de DNA

Realizamos três colheitas de sangue para análise da metilação do DNA sanguíneo: na primeira semana do estudo, após as participantes concluírem sete semanas de treino e após a décima quarta semana de treino. De modo a controlar o *status* nutricional, as mulheres preencheram o registro alimentar nas 24h anteriores ao experimento e seguiram exatamente a mesma ingestão alimentar antes das outras duas colheitas de sangue.

Extraímos o DNA dos leucócitos usando a técnica de *salting out* (CABO et al., 2015). A concentração e a qualidade do DNA foram avaliadas por espectrofotometria a

260 e 280 nm (A260 e A280) com *Biodrop*. Realizamos a verificação da integridade do DNA genômico em gel de agarose 1%, com tempo de corrida de 90 minutos a 80W (Figura 5) (DE SANCTIS et al., 2017). Em seguida as amostras de DNA foram armazenadas em freezer a -20°C.

Figura 5 – Eletroforese do DNA genômico. Fonte: autoria própria.

O DNA genômico antes do experimento foi tratado pelo método do bissulfito usando o kit DNA EZ metilação (Zymo Research, CA, EUA) - as recomendações do fabricante para conversão foram seguidas. O ensaio de metilação do DNA foi realizado pela técnica de *array* com o *chip EPIC Infinium Methylation BeadChip 850k* da *Illumina*, seguindo as recomendações estipuladas pelo protocolo de análise *Infinium® HD Assay Methylation Protocol Guide* (LI et al., 2018). A fluorescência do *Infinium BeadChip* é detectada pelo sistema *Illumina iScan* e as intensidades são convertidas em valores de metilação beta e exportadas como dados brutos.

Adotamos posicionar as amostras dos três momentos diferentes no mesmo *BeadChip*, sempre organizando uma pre, uma post 7 e uma post 14, sucessivamente, para evitar viés na leitura do *BeadChip* pelo *iScan*.

3.7. Análise de bioinformática

Após os arquivos de dados brutos serem exportados, demos continuidade no processamento das informações. Um arquivo *Sample sheet* foi criado para associar as informações coletadas com os dados *raw data* (MASSER et al., 2015). Utilizou-se o *software RStudio* (versão 4.0.2) para o processamento dos dados de metilação. As informações organizadas na *sample sheet* foram os códigos das participantes, idade, informações antropométricas e físicas. Na coluna *Sentrix Position* informamos em qual linha e coluna cada amostra se encontrava, enquanto na coluna *Sentrix_ID* fornecemos o código correspondente do *BeadChip* (MASSER et al., 2015). Utilizamos o pacote de dados *ChAMP* do *Bioconductor* para normalização dos dados por meio da função *MyNorm*, que possui o intuito de remover as sondas por meio de um controle de qualidade (TIAN et al., 2017).

Dando continuidade no processamento dos dados de metilação adotamos o valor *M* para análise, que é estimado tomando $\log_2(B / (1-B))$, onde *B* é o valor normalizado de metilação (DU et al., 2010). Definimos o valor *p* crítico da seleção do local de metilação de interesse como 0,005 e o valor da Taxa de descoberta falsa (FDR) como 0,10.

Utilizamos o *Venny 2.1.0 - BioinfoGP* para posicionamentos dos sítios diferencialmente metilados após análise dos valores *M* (LIU et al., 2019). Em seguida, o *Manifest* da *Illumina* foi utilizado para coleta das informações dos tipos de metilação, regiões nas quais essas metilações foram identificadas e de quais genes esses sítios faziam parte (MCCARTNEY et al., 2016). Gráficos com essas informações foram plotados utilizando o *Graph Prism 9.1.0*. Os genes dos sítios que se encontravam nos TSS1500 e TSS200 foram enriquecidos utilizando o *ShinyGo v0.61* (FUJISAWA et al., 2020) e foram plotados *motifs* em algumas situações das comparações. Para identificarmos quais *motifs* se encontram apresentados ao leitor, adotamos os que foram mais expressos no sangue obtido por meio do *Genotype - Tissue Expression* (GTEx) (TIAN et al., 2020).

3.8. Análise estatística

Após os dados serem coletados, digitados por dois pesquisadores e cruzados para eliminar erros de digitação, iniciamos a análise das variáveis que se enquadravam nos cinco blocos de avaliação. Adotamos a versão do *software GraphPad Prism 9.1.0* para

análise estatística. O teste de normalidade adotado foi o teste de Shapiro-Wilk. Para as variáveis consideradas paramétricas avaliadas nos três momentos, foi adotada a ANOVA, enquanto para os testes considerados não paramétricos pelo teste de normalidade, o teste de Friedman. Para as variáveis não paramétricas avaliadas em dois momentos, adotamos o teste de Wilcoxon. Para todas as variáveis analisadas consideramos $p < 0.05\%$.

4. RESULTADOS

A média e desvio padrão de idade das participantes foi 60.7 ± 4.2 anos. Os valores antropométricos não apresentaram diferença estatisticamente significativa nos momentos avaliados. Observamos diminuição dos valores médios da pressão arterial sistólica nas comparações *pre vs. post 7* e *pre vs. post 14* (Tabela 1 e Figura 6A). Não encontramos as mesmas mudanças para a pressão arterial diastólica, já que houve redução na média dos valores apenas do *post 7* para o *post 14*. Para a variável bioquímica triglicérides houve redução nos valores médios nas comparações *pre vs post 7* e *pre vs. post 14* (Tabela 1 e Figura 6B).

Tabela 1 - Média $\pm$ desvio padrão (variação) dos valores antropométricos, pressão arterial e análise bioquímica antes e após sete e 14 semanas de treinamento combinado (n=45).

Variáveis	PRE	POST 7	POST 14	ANOVA (p-valor)	PRE vs. POST 7 (p-valor)	PRE vs. POST 14 (p-valor)	POST 7 vs. POST 14 (p-valor)
Antropométricos							
Peso (kg)	74.0 $\pm$ 9.8 (56.2 - 97.1)	73.5 $\pm$ 8.9 (54.6 - 96.7)	74.0 $\pm$ 8.7 (55.8 - 91.7)	0.560	0.862	0.769	0.768
Altura (m)	1.6 $\pm$ 0.1 (1.4 - 1.7)	1.6 $\pm$ 0.1 (1.4 - 1.7)	1.6 $\pm$ 0.1 (1.4 - 1.7)	0.312	0.860	0.696	0.141
IMC (kg/m ²)	29.7 $\pm$ 3.4 (21.8 - 37.9)	29.3 $\pm$ 3.2 (21.5 - 37.7)	29.6 $\pm$ 2.9 (23.6 - 37.9)	0.268	0.497	0.368	0.998
CC (cm)	94.8 $\pm$ 8.1 (74.0 - 117.0)	95.4 $\pm$ 8.7 (77.0 - 114.0)	96.2 $\pm$ 9.1 (77.0 - 122.0)	0.675	0.822	0.848	0.993
CQ (cm)	106.6 $\pm$ 7.6 (93.0 - 123.0)	106.2 $\pm$ 7.6 (91.0 - 123.0)	105.9 $\pm$ 6.9 (91.0 - 125.0)	0.302	0.616	0.438	0.65
Pressão arterial							
Pressão sistólica (mmHg)	133.9 $\pm$ 13.9 (101.0 - 172.0)	127.2 $\pm$ 15.3 (101.0 - 174.0)	122.7 $\pm$ 10.4 (99.0 - 149.0)	<0.001*	0.008*	<0.001*	0.080
Pressão diastólica (mmHg)	79.2 $\pm$ 8.4 (64.0 - 108.0)	79.1 $\pm$ 7.9 (63.0 - 108.0)	75.7 $\pm$ 6.2 (63.0 - 102.0)	0.016*	0.996	0.054	0.009*
Bioquímicas							
Glicose (mg/dL)	106.2 $\pm$ 12.0 (84.0 - 155.0)	103.4 $\pm$ 10.6 (89.0 - 132.0)	101.4 $\pm$ 8.6 (86.0 - 121.0)	0.790	>0.999	>0.999	>0.999
Insulina (UI/mL)	12.7 $\pm$ 6.7 (2.9 - 40.8)	13.0 $\pm$ 5.7 (5.0 - 26.3)	13.9 $\pm$ 6.6 (4.6 - 38.9)	0.113	0.366	0.145	>0.999
Triglicérides (mg/dL)	142.6 $\pm$ 39.9 (72.0 - 230.0)	128.2 $\pm$ 37.9 (69.0 - 239.0)	122.2 $\pm$ 30.5 (65.0 - 200.0)	0.001*	0.040*	0.001*	0.607
Ácido úrico (mg/dL)	4.1 $\pm$ 0.9 (2.2 - 6.9)	4.1 $\pm$ 0.7 (2.4 - 5.3)	4.3 $\pm$ 0.9 (2.7 - 7.5)	0.204	0.945	0.225	0.376

Nota: IMC: índice de massa corporal; CC: circunferência da cintura; CQ: circunferência do quadril; Teste de normalidade usado Shapiro-Wilk. Variáveis que foram adotadas teste de normalidade e teste não paramétrico; teste de normalidade: massa corporal; CQ; CC; IMC; ácido úrico; triglicérides; Pressão sistólica e diastólica. Teste não paramétrico: glicose; Teste ANOVA de medidas paramétricas; Teste de Friedman não paramétrico * p <5%.

As participantes apresentaram uma melhora nos valores médios subsequentes entre os três momentos na maioria dos testes (Tabela 2). Os testes 1RM para o membro superior e inferior são reapresentados nas Figuras 6C e 6D, respectivamente.

Tabela 2 - Média $\pm$ desvio padrão (variação) dos valores de aptidão física antes e após sete e 14 semanas de treinamento combinado (n=45).

Variáveis	PRE	POST 7	POST 14	ANOVA p-valor	PRE vs. POST 7 p-valor	PRE vs. POST 14 p-valor	POST 7 vs. POST 14 p-valor
Testes físicos							
1RM MMSS (kg)	23.1 $\pm$ 3.0 (14.9 - 30.8)	25.1 $\pm$ 4.0 (16.7 - 34.7)	34.6 $\pm$ 4.4 (22.3 - 46.4)	<0.001*	0.044*	<0.001*	<0.001*
1RM MMII (kg)	130.1 $\pm$ 27.6 (74.5 - 185.8)	173.6 $\pm$ 30.3 (87.1 - 242.1)	209.0 $\pm$ 32.9 (117.9 - 273.1)	<0.001*	<0.001*	<0.001*	<0.001*
TC6 (m)	535 $\pm$ 52 (416 - 639)	558 $\pm$ 38 (481 - 630)	574 $\pm$ 45 (475 - 665)	<0.001*	0.040*	<0.001*	0.018*
Agilidade (sec)	26.3 $\pm$ 3.0 (17.9 - 31.9)	24.4 $\pm$ 2.3 (19.6 - 30.2)	22.8 $\pm$ 2.6 (17.5 - 31.0)	<0.001*	0.001*	<0.001*	0.032*
FEC (rep)	18.6 $\pm$ 3.0 (12.0 - 27.0)	21.2 $\pm$ 2.2 (16.0 - 26.0)	21.5 $\pm$ 3.0 (15.0 - 29.0)	<0.001*	<0.001*	<0.001*	0.705
SEL (rep)	14.1 $\pm$ 3.0 (9.0 - 23.0)	17.3 $\pm$ 3.3 (10.0 - 30.0)	17.5 $\pm$ 4.1 (11.0 - 29.0)	<0.001*	<0.001*	<0.001*	>0.999

Nota: 1RM: uma repetição máxima; MMSS: membro superior; MMII: membro inferior; TC6: teste de caminhada de seis minutos; FEC: flexão e extensão de cotovelo; SEL: sentar e levantar da cadeira; Teste de normalidade usado Shapiro-Wilk. Variáveis que foram adotadas teste de normalidade e teste não paramétrico; teste de normalidade: FEC, SEL, Agilidade; TC6; 1RM MMSS, 1RM MMII. Teste ANOVA de medidas paramétricas * p <5%.

Para os instrumentos aplicados no bloco de saúde global, o treinamento combinado proporcionou melhora na cognição das participantes (MoCA) (Tabela 3 e Figura 6E), diminuição dos sintomas depressivos (GDS) (Tabela 3 e Figura 6F), aumento do nível de atividade física (QBMI), melhora no consumo de alimentos considerados saudáveis pelo instrumento de marcadores de consumo alimentar e melhora do domínio mental do SF-36. Essas mudanças foram identificadas na comparação pre vs. post 14 (Tabela 3).

Tabela 3 – Valores de avaliação de saúde global média $\pm$ desvio padrão (intervalo) antes e 14 semanas de treinamento combinado (n=45).

Variável	PRE	POST 14	PRE vs. POST 14 p valor
Avaliação global de saúde			
MoCA (score)	22.4 $\pm$ 3.2 (15 - 29)	25.5 $\pm$ 2.5 (21 - 30)	<0.001*
GDS (score)	3.0 $\pm$ 2.8 (0 - 14)	2.3 $\pm$ 2.4 (0 - 14)	0.010*
BAI (score)	5.7 $\pm$ 5.0 (0 - 22)	5.1 $\pm$ 4.6 (0 - 22)	0.799
QBMI (score)	4.3 $\pm$ 2.8 (1.2 - 15.6)	5.6 $\pm$ 2.5 (1.8 - 14.3)	0.035*
Marcadores consumo alimentar (score)	17.3 $\pm$ 8.2 (-4 - 35)	21.5 $\pm$ 8.0 (4 - 35)	0.001*
SF-36 domínio mental (score)	56.6 $\pm$ 7.6 (31.0 - 66.0)	58.4 $\pm$ 7.8 (28.0 - 70.0)	0.027*
SF-36 domínio físico (score)	66.2 $\pm$ 5.2 (50.5 - 74.4)	64.8 $\pm$ 6.3 (47.5 - 74.4)	0.959

Nota: MoCa: Avaliação cognitiva de Montreal; GDS: escala de depressão geriátrica; BAI: inventário de ansiedade de Beck; QBMI: questionário de Baecke modificado para idosos; SF-36: formulário abreviado de pesquisa de saúde; Teste de normalidade usado Shapiro-Wilk; a análise estatística utilizada foi o teste de Wilcoxon, * p <5%.

Figura 6 – Variáveis selecionadas para demonstrar as melhoras das participantes em forma de gráficos (n=45).

Após função *MyNorm* do *ChAMP*, obtivemos dos 850k, 740k sítios CpG. Na Figura 7 são apresentados os sítios diferencialmente metilados nas três comparações utilizadas no estudo. Os sítios que continuaram diferencialmente metilados em mais de uma comparação encontram-se na intersecção do diagrama de Venn e são expandidos para conhecimento do leitor. Vale ressaltar que os LodFC positivos são os sítios hipermetilados, enquanto os LogFC negativos são os sítios hipometilados.

Figura 7 - Diagrama de Venn e sítios diferencialmente metilados nos diferentes momentos de treinamento (n=45).

Nota: LodFC positive: sítios hipermetilados; LogFC negativos: sítios hipometilados.

Dos sítios que foram diferencialmente metilados e são apresentados na Figura 7, realizamos a distribuição por regiões dos genes separados pelos sítios que se encontravam hipometilados (logFC negative) e hipermetilados (logFC positive) (Figuras 8A, 8C e 8E). Em outro momento realizamos uma divisão dos sítios diferencialmente metilados pelos tipos de metilação identificados (Figuras 8B, 8D e 8F). Vale ressaltar o padrão observado nos momentos post 7 vs. post 14 e pre vs. post 14 (Figuras 8D e 8F, respectivamente) em todos os tipos de metilação (Figura 8).

A **B** **C** **D** **E** **F**

Figura 8 – Distribuição dos sítios pelos lugares identificados e quais as metilações apresentadas (n:45).

Nota: *pre vs post 7* (A - B); *post 7 vs post 14* (C - D); *pre vs post 14* (E - F).

Observando de maneira mais focada os resultados dos sítios metilados, apresentamos os *top 10* sítios; utilizamos o Adj. P – Valor para eleger os mais significativos. A maioria dos tipos de metilação foram *Island* na comparação *pre vs. post 7*. Uma cg na comparação *pre vs. post 7* foi do *type N_Shore* e, se encontra na zona promotora: a cg18021902. Nas outras comparações entre momentos de avaliação, todos os tipos foram *Island*. Vale ressaltar que os valores de LogFC são os valores de beta (Tabela 4).

Tabela 4 – Os 10 principais locais diferencialmente metilados entre os valores *pre* e após sete e 14 semanas de treinamento combinado (n=45).

CpG	LogFC	p-valor	Adj.-p-valor	CHR	Gene	Gene região	Tipo
PRE vs. POST 7							
cg12559474	0.945	<0.001	0.005	5	CDH10	5'UTR	Island
cg11326968	0.638	<0.001	0.027	10	FAM13C	TSS200	Island
cg18243003	0.868	<0.001	0.027	7	CCL26	Body	Island
cg22950670	0.293	<0.001	0.032	2	TTN	Body	Island
cg18021902	0.552	<0.001	0.032	1	WDR8	TSS1500	N_Shore
cg23362997	-0.865	<0.001	0.032	19	INSR	TSS1500	Island
cg19048327	-0.930	<0.001	0.058	2	ACOXL	3'UTR	Island
cg00303293	0.702	<0.001	0.058	11	MAML2	Body	Island
cg06390146	-0.803	<0.001	0.066	1	TMCC2	TSS1500	Island
cg21942218	-0.434	<0.001	0.066	1	CAMTA1	Body	Island
POST 7 vs. POST 14							
cg02336175	0.754	<0.001	0.002	8	ZNF704	5'UTR	Island
cg05795554	0.995	<0.001	0.002	16	FANCA	TSS200	Island
cg17229496	0.415	<0.001	0.002	11	TMEM109	5'UTR	Island

cg04521697	-0.692	<0.001	0.004	3	MIR3921	TSS1500	Island
cg19778737	-0.143	<0.001	0.004	11	ST5	5'UTR	Island
cg10502904	-0.100	<0.001	0.004	10	MGMT	3'UTR	Island
cg04534276	0.904	<0.001	0.004	10	PPP3CB	TSS200	Island
cg02796278	-0.567	<0.001	0.005	19	MED16	Body	Island
cg16176247	0.653	<0.001	0.005	4	C4orf10	TSS1500	Island
cg04310006	0.869	<0.001	0.008	14	SLC39A9	TSS200	Island
PRE vs. POST 14							
cg06921666	-0.101	<0.001	<0.001	12	TEAD4	Body	Island
cg02944007	-0.951	<0.001	<0.001	17	TSPAN10	Body	Island
cg26550851	-0.103	<0.001	<0.001	1	LRRC47	Body	Island
cg02796278	-0.655	<0.001	0.001	19	MED16	Body	Island
cg13494126	-0.804	<0.001	0.001	7	MAD1L1	Body	Island
cg05678191	-0.817	<0.001	0.001	18	SALL3	Body	Island
cg12854762	-0.779	<0.001	0.001	7	KIAA1549	Body	Island
cg00828709	-0.930	<0.001	0.001	10	C10orf71	TSS200	Island
cg03725283	0.100	<0.001	0.001	7	NRF1	TSS1500	Island
cg17778888	-0.808	<0.001	0.001	5	SLC9A3	Body	Island

Para os gráficos do enriquecimento KEEG, utilizamos os genes vinculados aos sítios diferencialmente metilados que foram identificados nos TSS1500 e TSS200. Observamos que foi apresentado enriquecimento apenas nas situações de LogFC positivas (hipermetilados) - suas vias e números de genes são apresentados nas Figuras 9A e 9B. Vale ressaltar que não foi apresentado enriquecimento na situação *pre vs. post* 7 positivo devido à quantidade de genes não ter sido significativa para o *ShinyGo* v0.61.

A

Pathways (genes)

B

Pathways (genes)

Figura 9 – Enriquecimento KEEG dos genes dos sítios que se encontravam nas áreas TSS1500 e TSS200.

Nota: *pre vs post 14* (A); *post 7 vs post 14* (B).

Os *motifs* apresentados foram os apresentados pelo *ShinyGo v0.61* após a lista de genes dos sítios que se encontravam nas zonas TSS1500 e TSS200 terem sido enriquecidos. Vale ressaltar o destaque da *TF Family C2H2 ZF* por seus membros terem aparecido em um maior número de vezes (Tabela 5). Também ocorre esse fato na situação *post 7 vs. post 14* positive (Tabela 7) - em ambas as situações os sítios se encontravam hipermetilados.

Tabela 5 - *Motifs* dos genes nos sites logFC positivos *pre vs. post 14* nas áreas TSS1500 e TSS200.

Enriched motif in promoter	TF	TF family	P val.	FDR
ACGT	GMEB1	SAND	4.5E-08	4.7E-06
TACG	NAIF1	MADF	4.6E-07	2.7E-05
GCGCAGGCGC	NRF1	Unknown	1.2E-06	6.1E-05
GCGGACGTT	HINFP	C2H2 ZF	1.7E-06	7.0E-05
CCGGAAG	ELK1	Ets	5.3E-06	2.0E-04
CCGGAAGT	ELK1	Ets	1.6E-05	4.7E-04
GGCGCC	E2F2	E2F	2.6E-05	7.1E-04
TGCGGG	ZBTB1	C2H2 ZF	5.0E-05	1.3E-03
GGGCGGGAG	E2F1	E2F	1.8E-04	4.3E-03
GGGGGCGGGGC	SP2	C2H2 ZF	2.8E-04	5.8E-03
GGCGGGAA	E2F4	E2F	1.1E-03	1.9E-02
TTTGCGCC	MYPOP	Myb/SANT	2.0E-03	3.0E-02
GGGGGCGGGG	SP1	C2H2 ZF	2.4E-03	3.5E-02
GGGCGTG	KLF7	C2H2 ZF	6.5E-03	9.3E-02
TCGCGCCAAA	E2F1	E2F	8.0E-03	1.1E-01

Nota: TF: transcription-factor; FDR: false discovery rate; P val.: valor de p.

Não foi apresentado enriquecimento da lista de genes enriquecida no *ShinyGo v0.61* na situação post 7 vs. post 14 negative, mas os genes que se encontravam nos sítios nas áreas TS1500 e TSS200 apresentaram os *Motifs* demonstrados na Tabela 6. Observamos a *TF Family C2H2 ZF* em menor ocorrência na situação post 7 vs. post 14, a *TF Family* de maior frequência é a *Forkhead*. Vale ressaltar que nessa situação os sítios se encontravam hipometilados.

Tabela 6 - *Motifs* dos genes nos sites logFC negativo post 7 vs. post 14 nas áreas TSS1500 e TSS200.

Enriched motif in promoter	TF	TF family	P val.	FDR
AAAGTGAAAGTGAAAGT	IRF1	IRF	3.2E-05	4.4E-03
TTGTT	ZNF35	C2H2 ZF	7.1E-05	4.9E-03
CATAATTACAT	POU2F1	Homeodomain,POU	9.0E-05	4.9E-03
AAATAAACA	FOXJ2	Forkhead	9.5E-05	4.9E-03
TTGTGCAAT	CEBPB	bZIP	1.8E-04	6.7E-03
GAAAAGTGAAACC	IRF1	IRF	2.2E-04	7.2E-03
TTTGAAT	LIN54	CxC	3.6E-04	8.2E-03
TGACACCTAGGTGTGAAATT	T	T-box	3.8E-04	8.2E-03
AAGTAAACAAA	FOXP1	Forkhead	5.1E-04	9.5E-03
GAAAAGTGAAACC	IRF2	IRF	6.1E-04	9.8E-03
TTGCGCAA	CEBPB	bZIP	7.7E-04	1.1E-02
ATCATAATATTT	FOXJ2	Forkhead	8.3E-04	1.2E-02

Nota: TF: transcription-factor; FDR: false discovery rate; P val.: valor de p.

Tabela 7 - *Motifs* dos genes nos locais logFC positivos post 7 vs. post 14 nas áreas TSS1500 e TSS200.

Enriched motif in promoter	TF	TF family	P val.	FDR
GCGGACGTT	HINFP	C2H2 ZF	6.2E-07	7.8E-05
ACGT	GMEB1	SAND	7.5E-07	7.8E-05
GGCGCC	E2F2	E2F	1.9E-06	1.3E-04
GCGCAGGCGC	NRF1	Unknown	4.9E-05	1.8E-03
TGCGGG	ZBTB1	C2H2 ZF	6.5E-05	2.2E-03
CCGGAAG	ELK1	Ets	9.6E-05	2.8E-03
CCGGAAGTG	ELK4	Ets	1.0E-04	2.8E-03
GGCGGGAA	E2F4	E2F	3.8E-04	8.7E-03
GGGCGGGAG	E2F1	E2F	5.0E-04	1.1E-02
CGCAGCTGCG	NHLH1	bHLH	6.7E-04	1.3E-02
CCGGAAGT	ELK1	Ets	7.0E-04	1.3E-02
GGGCGTG	KLF7	C2H2 ZF	7.0E-04	1.3E-02
GGCGCTGTCCGTGGTGCTGAA	REST	C2H2 ZF	8.0E-04	1.4E-02
GGGGGCGGGGC	SP2	C2H2 ZF	9.1E-04	1.5E-02
TGCGGG	GCM1	GCM	1.4E-03	2.2E-02
TCGCGCCAAA	E2F1	E2F	1.6E-03	2.3E-02
GGGGGCGGGG	SP1	C2H2 ZF	1.6E-03	2.3E-02
GGAGGAGGAGGGGGAGGAGG	ZNF263	C2H2 ZF	1.9E-03	2.6E-02

Nota: TF: *transcription-factor*; FDR: *false discovery rate*; P val.: valor de p.

5. DISCUSSÃO

Este trabalho apresentou dois objetivos – o primeiro era avaliar os benefícios do treinamento combinado em variáveis antropométricas, físicas, instrumentos de avaliação global de saúde, bioquímicas e pressão arterial. O treinamento combinado demonstrou ser benéfico para, pelo menos, uma variável de cada bloco de avaliações, exceto para os antropométricos. O segundo objetivo do trabalho era avaliar a influência do treinamento combinado sobre o perfil de metilação nestas mulheres de 50 a 70 anos. Foi possível observar diferenças mesmo com o critério tão rigoroso adotado na análise, já que adotamos os valores limiares de 0.005) para p e 0.10 para FDR.

O nosso estudo não corroborou com a literatura quando analisadas as variáveis antropométricas, já que um estudo realizado por Rahnema (2010) durante 15 semanas, com 29 mulheres, apresentou melhoras significativas (ao realizar 60 minutos de treinamento de força e 45 minutos de caminhada, ambos os treinamentos realizados duas vezes na semana) em relação ao grupo controle para variáveis de massa corporal, IMC e circunferência de cintura. Outro estudo realizado por Said e colaboradores (2017) avaliou o treinamento aeróbico de alto impacto em relação ao um treino aeróbico de baixo impacto associado ao treinamento de força durante 24 semanas, cada grupo com 16 participantes, e apresentou diminuição na massa corporal, IMC e aumento de massa magra para o grupo que realizou treinamento de força associado ao treino aeróbico de baixo impacto, mas não apresentou diferenças para pressão arterial sistólica nem a diastólica. O volume de treinamento utilizado no nosso projeto com duração de 14 semanas e 60 minutos, distribuídos em treino de força e aeróbico, é inferior ao apresentado por Said e colaboradores (2017). Esse fato pode ter influenciado nossos dados a não ter apresentado resultados significativos nas variáveis antropométricas, mas em contrapartida nossos dados apresentaram diferenças nas comparações da pressão arterial sistólica e diastólica quando comparados com o estudo de Said e colaboradores (2017). Isso provavelmente se deve ao fato do nosso treinamento aeróbico ser superior em intensidade do que o treino apresentado pelo pesquisador.

Para variáveis bioquímicas, nossos dados apresentaram melhoras significativas das participantes para triglicérides. Isso é possível porque durante o exercício físico a circulação sanguínea é ativada, gerando uma maior circulação nas artérias e veias, evitando que gorduras acumulem nas paredes das artérias (BRANCO et al., 2019). Um estudo realizado por Branco e colaboradores (2019), utilizando o treinamento combinado durante 12 semanas em 33 adolescentes do sexo feminino, apresentou redução nos valores dos triglicerídeos. Os benefícios

da atividade física para as triglicérides também são apresentados para adultos e idosos (WHEELER et al., 2020). Um estudo realizado por Raso e colaboradores (2010) utilizou 34 mulheres idosas distribuídas de forma aleatória em dois grupos, treinamento de força e grupo controle. O protocolo de treinamento consistia em três séries de 12 repetições em cinco exercícios. O protocolo foi realizado três vezes na semana durante seis meses (60 min/dia por 72 sessões), e apresentou como resultado diminuição dos triglicérides, além de apresentar que os percentuais de aumento de força muscular correlacionaram com as mudanças no nível de triglicérides do grupo que realizou o treinamento.

O treinamento combinado para o nosso público-alvo apresentou ser benéfico para as variáveis utilizadas dentro do bloco de avaliações físicas, já que as únicas variáveis que não demonstraram resultados significativos na comparação post 7 vs. post 14 foram os testes de força funcional FEC e SEL. De Oliveira Silva e colaboradores (2018) realizaram um estudo durante 16 semanas de treinamento de resistência com duração entre 40 a 50 minutos por sessão, com duas sessões por semana e com 49 mulheres com idade ≥ 60 anos, e apresentaram aumento de força muscular das participantes no aparelho supino, flexão, extensão de cotovelo avaliada pela rosca bíceps e aumento de força no membro inferior mensurado pelo aparelho *leg press* 45°, demonstrando que o treinamento de resistência proporciona aumento de força após 16 semanas de treinamento. O nosso estudo se destaca na comparação dos outros apresentados na literatura por termos a avaliação intermediária, conseguindo demonstrar o aumento de força máxima das participantes de forma progressiva na comparação entre os três momentos avaliados, mesmo com a duração do protocolo de treinamento em 14 semanas.

Outro estudo (SMOLAREK et al., 2016) utilizou 29 idosas fisicamente inativas para avaliar os efeitos do treinamento de força sobre a cognição e força. As participantes foram divididas em dois grupos, sendo o grupo de controle e o grupo de intervenção. As participantes que foram direcionadas ao treinamento realizaram 12 semanas de treinamento de força e, como resultado, também apresentaram aumento significativo na força funcional e máxima, além do aumento no desempenho cognitivo avaliado pelo MoCA. Os autores justificam que treinamentos de força regulares podem proporcionar aumento de força e melhoras na cognição de idosas (SMOLAREK et al., 2016, enquanto no post 14 em relação ao post 7 houve predomínio de hipometilação. Interessantemente, as primeiras sete semanas de treinamento não foram suficientes para induzir mudanças na metilação em número considerável de sítios. Quando realizamos análises computacionais ainda mais complexas de enriquecimento, cujo objetivo principal é entender que vias de sinalização molecular e processos celulares estão mais ou menos ativos em cada um dos momentos, observamos a via mais significativa no momento *post*

7 vs. *post* 14 sendo a de Micro RNAs em câncer, e quando a observamos durante as 14 semanas e treinamento na comparação *pre vs. post* 14, ela passa a ser terceira mais significativa, dando destaque para via *Metabolic pathways*. O exercício físico induz adaptações fisiológicas em marcadores relacionados com o câncer (ZHOU et al., 2020). No nosso estudo, foi visto a hipermetilação de sítios relacionados ao câncer, sugerindo que o exercício físico é o fator protetor para o mesmo. Outra observação foram os sítios relacionadas a via *Metabolic pathways*, que também se encontravam hipermetilados, e isso é possível já que vias metabólicas são reguladas com o exercício físico (HARGREAVES; SPRIET, 2020).

Esses achados apenas foram possíveis por termos analisado 850 mil sítios de metilação do DNA em três momentos do tempo em associação ao treinamento físico. De acordo com nosso conhecimento, é a primeira vez na literatura que tais estratégias são adotadas (três momentos no tempo e 850 mil sítios de metilação). Como limitação do nosso estudo apresento a falta de ajustes para análises de metilação, como a idade dos participantes dos estudos, etnia, nível de aptidão física e prática de atividade física ao longo da vida, já que adotamos o M valor para as análises de metilação.

6. CONCLUSÃO

O treinamento combinado demonstrou ser benéfico para mulheres entre 50 e 70 anos para triglicérides, instrumentos avaliativos de saúde, testes físicos e pressão arterial.

O treinamento combinado utilizando a periodização adotada nesse trabalho não apresentou melhoras para as variáveis antropométricas adotadas em nenhum dos três momentos analisados. O treinamento combinado resultou em alterações epigenéticas nas participantes.

7. REFERÊNCIAS

- ABEP. Critério de Classificação Econômica Brasil. 2015. Disponível em: <www.abep.org>. Acessado em: Ago. de 2020.
- ALONSO, P. et al. Extensive genotyping of the BDNF and NTRK2 genes define protective haplotypes against obsessive-compulsive disorder. *Biological Psychiatry*, v. 63, n. 6, p. 619-628, 2008.
- ANDREOTTI, R. A.; OKUMA, Silene Sumire. Validação de uma bateria de testes de atividades da vida diária para idosos fisicamente independentes. *Revista Paulista de Educação Física*, v. 13, n. 1, p. 46-66, 1999.
- BARROSO, W. K. S. et al. Influência Da atividade física programada na pressão arterial de idosos hipertensos sob tratamento Não-Farmacológico. *Revista Associação Medica Brasileira*, v. 54, n. 4, p. 328-33, 2008.
- BOMPA, T.; DI PASQUALE, M.; CORNACCHIA, L. Treinamento de força levado a sério. São Paulo: 5 Manole. 2015; 3ed.
- BONVICINE, C.; GONÇALVES, C.; BATIGÁLIA, F. Comparação do ganho de flexibilidade isquiotibial com diferentes técnicas de alongamento passivo. *Acta Fisiátrica*, v. 12, n. 2, p. 43-47, 2016.
- BOUAZIZ, W. et al. Health benefits of multicomponent training programmes in seniors: a systematic review. *International journal of clinical practice*, v. 70, n. 7, p. 520-536, 2016.
- BRANCO, B. H. M. et al. Effects of the order of physical exercises on body composition, physical fitness, and cardiometabolic risk in adolescents participating in an interdisciplinary program focusing on the treatment of obesity. *Frontiers in Physiology*, v. 10, p. 1013-1025, 2019.
- CARVALHO, M. J.; MARQUES, E.; MOTA, J. Training and detraining effects on functional fitness after a multicomponent training in older women. *Gerontology*, v. 55, n. 1, p. 41-48, 2009.
- CICONELLI, R. M. et al. Tradução para Língua Portuguesa e validação do questionário genérico de avaliação de qualidade de vida SF-36. *Revista Brasileira Reumatologia*, v. 39, n. 3, p. 143-150, 1999.
- DA SILVA SÁ, E. et al. Força de preensão palmar através da dinamometria em indivíduos hemiparéticos pós acidente vascular encefálico. *RBPFE-Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício*, v. 11, n. 65, p. 180-186, 2017.
- DE CAMARGO SMOLAREK, A. et al. The effects of strength training on cognitive performance in elderly women. *Clinical interventions in aging*, v. 11, p. 749, 2016.
- DE LIMA, A. P.; DELGADO, E. I. A melhor idade do Brasil: aspectos biopsicossociais decorrentes do processo de envelhecimento. *ACTA Brasileira do Movimento Humano*, v. 1, n. 2, p. 76-91, 2017.

DE OLIVEIRA SILVA, Alessandro et al. Resistance training-induced gains in muscle strength, body composition, and functional capacity are attenuated in elderly women with sarcopenic obesity. *Clinical interventions in aging*, v. 13, p. 411-417, 2018.

ELLIS, L. et al. Is AGT The New Gene For Muscle Performance? An Analysis of AGT, ACTN3, PPARA and IGF2 on Athletic Performance, Muscle Size and Body Fat Percentage in Caucasian Resistance Training Males. *Journal of Athletic Enhancement*, v. 6, n. 4, p. 80-96, 2017.

FERNANDES, A. M. B. L. et al. Efeitos da prática de exercício físico sobre o desempenho da marcha e da mobilidade funcional em idosos. *Fisioterapia em Movimento*, v. 25, n. 4, p. 821-830, 2017.

FREITAS, C. V. et al. Avaliação de fragilidade, capacidade funcional e qualidade de vida dos idosos atendidos no ambulatório de geriatria de um hospital universitário. *Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia*, v. 19, n. 1, p. 119-128, 2016.

FRATTINI, I. R. et al. Association Of Ace And Actn3 Genetics Polymorphisms With Functional Capacity And Prevalence Of Falls Among Women In Late Adulthood And Early Old Age. *Journal of Physical Education*, v. 27, p. 1-12, 2016.

FREITAS, S. et al. Estudos de adaptação do Montreal Cognitive Assessment (MoCA) para a população portuguesa. *Avaliação Psicológica*, v. 9, n. 3, p. 345-357, 2010.

GILL, K. et al. Repeatability of four clinical methods for assessment of lumbar spinal motion. *Spine*, v. 13, n. 1, p. 50-53, 1988.

HARGREAVES, M.; SPRIET, L. L. Skeletal muscle energy metabolism during exercise. *Nature Metabolism*, v. 2, n. 9, p. 817-828, 2020.

KING, A. C. et al. Comparative effects of two physical activity programs on measured and perceived physical functioning and other health-related quality of life outcomes in older adults. *Journals of Gerontology Series A: Biological and Medical Sciences*, v. 55, n. 2, p. 74-83, 2000.

KISNER C., COLBY L. A. Exercícios terapêuticos: fundamentos e técnicas. São Paulo: Manole; p.142-177, 1998.

LEITÃO, L. F. et al. Retenção da capacidade funcional em mulheres idosas após a cessação de um programa de treino multicomponente: estudo longitudinal de 3 anos. *Motricidade*, v. 11, n. 3, p. 81-91, 2015.

MALTA, D. C. et al. Brazilian lifestyles: National Health Survey results, 2013. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, v. 24, p. 217-226, 2015.

MENDES TOZIM, B. et al. Efeito do método Pilates na flexibilidade, qualidade de vida e nível de dor em idosos. *ConScientiae Saúde*, v. 13, n. 4, p. 563-570, 2014.

MORCELLI, M. H.; NAVEGA, F. R. F.; NAVEGA, M. T. Avaliação da flexibilidade e dor de idosos fisicamente ativos e sedentários. *Terapia Manual*, p. 298-304, 2010.

NELSON, A.; KOKKONEN, Jouko. Anatomia do alongamento. Editora Manoele, 2007

NODA, D. K. G. et al. Fadiga neuromuscular, eletromiografia, mecanomiografia e produção de força em um protocolo submáximo. Centro de Pesquisa Avançada em Qualidade de Vida, v. 8, n. 2, p. 1- 10, 2016

NORKIN C. C., WHITE D. J. Medida da amplitude de movimento articular: um guia para goniometria. Philadelphia: FA Davis Co; 1995.

OSNESS, Wayne H. et al. Functional Fitness Assessment for Adults Over 60 Years (A Field Based Assessment). AAHPERD Publication Sales Office, 1900 Association Drive, Reston, VA 22091., 1990.

Organização Mundial de Saúde. Relatório mundial sobre envelhecimento e saúde: resumo; 2015. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/186468/6/WHO_FWC_ALC_15.01_por.pdf> Acesso em: 23 Maio 2021.

PEREIRA, R. P. Nível de atividade física, qualidade de vida e aptidão física de usuários idosos do distrito de Glória/Cruzeiro/Cristal em Porto Alegre. 2016.

PITTA, F. et al. Quantifying physical activity in daily life with questionnaires and motion sensors in COPD. European Respiratory Journal, v. 27, n. 5, p. 1040-1055, 2006.

RAHNAMA, N. et al. The effects of exercise training on maximum aerobic capacity, resting heart rate, blood pressure and anthropometric variables of postmenopausal women with breast cancer. Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences, v. 15, n. 2, p. 78-83, 2010.

RASO, V. et al. Moderate resistance training program can reduce triglycerides in elderly women: a randomized controlled trial. Journal of the American Geriatrics Society, v. 58, n. 10, p. 2041-2043, 2010.

REBELATTO, Jr. et al. Influência de um programa de atividade física de longa duração sobre a força muscular manual e a flexibilidade corporal de mulheres idosas. Revista Brasileira Fisioterapia, v. 10, n. 1, p. 127-132, 2006.

RIKLI, R. E.; JONES, C. J. Development and validation of a functional fitness test for community-residing older adults. Journal of Aging and Physical Activity, v. 7, n. 2, p. 129-161, 1999.

ROGERS, Michael E. et al. Methods to assess and improve the physical parameters associated with fall risk in older adults. Preventive Medicine, v. 36, n. 3, p. 255-264, 2003.

ROWLANDS, A. V. Accelerometer assessment of physical activity in children: an update. Pediatric Exercise Science, v. 19, n. 3, p. 252-266, 2007.

TARAZONA-SANTABALBINA, F. J. et al. A multicomponent exercise intervention that reverses frailty and improves cognition, emotion, and social networking in the community-

dwelling frail elderly: a randomized clinical trial. *Journal of the American Medical Directors Association*, v. 17, n. 5, p. 426-433, 2016.

SAID, M. et al. Effects of high-impact aerobics vs. low-impact aerobics and strength training in overweight and obese women. *J Sports Med Phys Fitness*, v. 57, n. 3, p. 278-288, 2017.

STEFFEN, T. M.; HACKER, T. A.; MOLLINGER, L. Age-and gender-related test performance in community-dwelling elderly people: Six-Minute Walk Test, Berg Balance Scale, Timed Up & Go Test, and gait speeds. *Physical Therapy*, v. 82, n. 2, p. 128-137, 2002.

THACKER, Stephen B. et al. The impact of stretching on sports injury risk: a systematic review of the literature. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, v. 36, n. 3, p. 371-378, 2004.

UENO, D. T. Validação do questionário Baecke modificado para idosos e proposta de valores normativos. Dissertação (mestrado). Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro. 2013.

VAGETTI, G. C. et al. Functional fitness in older women from southern brazil: normative scores and comparison with different countries. *Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano*, v. 17, n. 4, p. 472-484, 2015.

VENEZIA, A. C.; ROTH, S. M. Recent Research in the Genetics of Exercise Training Adaptation. In: *Genetics and Sports*. Karger Publishers, v. 61, p. 29-40, 2016.

VIGITEL. Vigilância de Fatores de Risco de Proteção Para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico. Disponível em: <
http://www.ans.gov.br/images/stories/Materiais_para_pesquisa/Perfil_setor/Dados_e_indicadores_do_setor/vigitel_brasil_2018_saude_suplementar.pdf>. Acessado em: Maio de 2021

VILA, C. P. et al. Aptidão física funcional e nível de atenção em idosas praticantes de exercício físico. *Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia*, v. 16, n. 2, p. 355-364, 2013.

WHEELER, M. J. et al. Combined effects of continuous exercise and intermittent active interruptions to prolonged sitting on postprandial glucose, insulin, and triglycerides in adults with obesity: a randomized crossover trial. *International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity*, v. 17, n. 1, p. 1-11, 2020.

Zhou, Q. et al. Circulating microRNAs in Response to Exercise Training in Healthy Adults. *Frontiers in genetics*, vol. 11, p 256-266, 2020

8. ANEXOS

ANEXO A
MONTREAL COGNITIVE ASSESSMENT

TESTE COGNITIVO DE MONTREAL (MOCA) Versão
7.1 original (Tradução de VEJA.COM)

NOME :

NÍVEL EDUCACIONAL:

Sexo:

Data de nascimento:

DATA:

VISUALESAPACIAL / EXECUTIVO																								
<p>Fim (E)</p> <p>Início (1)</p>		Copie o cubo	Desenhe um RELÓGIO (Onze e dez) (3 pontos)				Pontos ___/5																	
DÊ OS NOMES		<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: flex-end;"> <div style="text-align: center;"> <p>[]</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>[]</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>[]</p> </div> </div>						___/3																
MEMÓRIA	Leia a lista de palavras, a pessoa deve repetí-las. Faça o exercício 2 vezes mesmo se houver acerto total na primeira vez. Repita após 5 minutos.	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th></th> <th>FACE</th> <th>VELUDO</th> <th>IGREJA</th> <th>MARGARIDA</th> <th>VERMELHO</th> </tr> <tr> <td>1ª tentativa</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>2ª tentativa</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>		FACE	VELUDO	IGREJA	MARGARIDA	VERMELHO	1ª tentativa						2ª tentativa									Sem pontos
	FACE	VELUDO	IGREJA	MARGARIDA	VERMELHO																			
1ª tentativa																								
2ª tentativa																								
ATENÇÃO	Leia lista de dígitos (1 dígito por segundo) Repetir em ordem os números [] 2 1 8 5 4 Repetir números de trás para frente [] 7 4 2					___/2																		
Ler lista de letras. Pessoa deve bater mão cada vez que ouvir a letra A. Não recebe pontos se fizer 2 ou mais erros [] FBACMNAAJ KLBFAKDEAAA JAMOF AAB						___/1																		
Subtração em série de 7 começando em 100 [] 93 [] 86 [] 79 [] 72 [] 65 4 ou 5 subtrações corretas: 3pts ; 2 ou 3 corretas: 2pts ; 1 correta: 1pt ; 0 correta: 0pt						___/3																		
LINGUAGEM	Repita: Eu só sei que é o João que ajudará hoje. [] O gato sempre se escondeu embaixo do sofá quando cães estavam na sala. []					___/2																		
Fluência / Diga o maior número de palavras que começam com a letra "F" em 1 minuto [] ____ (N ≥ 11 palavras)						___/1																		
ABSTRAÇÃO	Similaridade entre ex. banana – laranja = fruta [] trem – bicicleta [] relógio – régua					___/2																		
Lembrança com atraso	Precisa lembrar palavras	FACE	VELUDO	IGREJA	MARGARIDA	VERMELHO	Pontos por memória sem DICAS somente	___/5																
	SEM DICAS	[]	[]	[]	[]	[]																		
Opcional	Dica de categoria																							
	Dicas múltiplas escolhas																							
ORIENTAÇÃO	[] Data	[] Mês	[] Ano	[] Dia	[] Local	[] Cidade	___/6																	

© Z.Nasreddine MD

www.mocatest.org

Normal ≥ 26 / 30

TOTAL

Adicionar 1 ponto se menos de 12 anos de estudo ___/30

Teste realizado por: _____

ANEXO B
ESCALA DE DEPRESSÃO GIRIÁTRICA

QUESTÕES		Pontos	
		Sim	Não
1	Você está satisfeito com sua vida?	0	1
2	Você deixou muitos dos seus interesses e atividades?	1	0
3	Você sente que sua vida está vazia?	1	0
4	Você se aborrece com frequência?	1	0
5	Você se sente de bom humor a maior parte do tempo?	0	1
6	Você tem medo de que algum mal vá lhe acontecer?	1	0
7	Você se sente feliz a maior parte do tempo?	0	1
8	Você sente que sua situação não tem saída?	1	0
9	Você prefere ficar em casa ao invés de sair e fazer coisas novas?	1	0
10	Você se sente com mais problemas de memória do que a maioria?	1	0
11	Você acha maravilhoso estar vivo?	0	1
12	Você se sente um inútil nas atuais circunstâncias?	1	0
13	Você se sente cheio de energia?	0	1
14	Você acha que sua situação é sem esperanças?	1	0
15	Você sente que a maioria das pessoas está melhor que você?	1	0

Avaliação dos resultados:

0 a 5: normal

6 a 10: depressão leve

11 a 15: depressão severa

ANEXO C

INVENTÁRIO DE ANSIEDADE DE BECK

Abaixo está uma lista de sintomas comuns de ansiedade. Por favor, leia cuidadosamente cada item da lista. Identifique o quanto você tem sido incomodado por cada sintoma durante a **última semana, incluindo hoje**, colocando um “x” no espaço correspondente, na mesma linha de cada sintoma.

	Absolutamente não (0)	Levemente (1) Não me incomodou muito	Moderadamente (2) Foi muito desagradável, mas pude suportar	Gravemente (3) Difícilmente pude suportar
1. Dormência ou formigamento				
2. Sensação de calor				
3. Tremores nas pernas				
4. Incapaz de relaxar				
5. Medo que aconteça o pior				
6. Atordoado ou tonto				
7. Palpitação ou aceleração do coração				
8. Sem equilíbrio				
9. Aterrorizado				
10. Nervoso				
11. Sensação de sufocação				
12. Tremores nas mãos				
13. Trêmulo				
14. Medo de perder o controle				
15. Dificuldade de respirar				
16. Medo de morrer				
17. Assustado				
18. Indigestão ou desconforto no abdômen				
19. Sensação de desmaio				
20. Rosto afogueado				
21. Suor (não devido ao calor)				

0-7: grau mínimo de ansiedade; 8-15: ansiedade leve; 16-25: ansiedade moderada; 26-63: ansiedade severa.

ANEXO D
ANÁLISE DO NÍVEL DE ATIVIDADE FÍSICA

QUESTIONÁRIO BAECKE MODIFICADO PARA IDOSOS (QBMI)

Domínio 1 – ATIVIDADE DE VIDA DIÁRIA

- 1. Você realiza algum trabalho doméstico em sua casa? (lavar louças, tirar o pó, consertar roupas, etc.).**
 - 0- Nunca (menos de uma vez por mês)
 - 1- Às vezes (somente quando o parceiro ou ajuda não está disponível)
 - 2- Quase sempre (às vez com ajuda)
 - 3- Sempre (Sozinho ou com ajuda)

- 2. Você realiza algum trabalho doméstico pesado? (lavar pisos e janelas, carregar lixo, varrer a casa e etc.).**
 - 1- Nunca (menos que uma vez por mês)
 - 2- Às vezes (somente quando um ajudante não está disponível)
 - 3- Quase sempre (às vezes com ajuda)
 - 4- Sempre (sozinho ou com ajuda)

- 3. Para quantas pessoas você faz tarefas domésticas na sua casa? (incluindo você mesmo, preencher 0 se você respondeu nunca nas questões 1 e 2).**

- 4. Quantos cômodos você tem que limpar, incluindo cozinha, quarto, garagem, porão, banheiro, sótão, etc? (preencher 0 se respondeu nunca nas questões 1 e 2).**
 - 1- Nunca faz trabalhos domésticos
 - 2- Um a seis cômodos
 - 3- Sete a nove cômodos
 - 4- Dez ou mais cômodos

- 5. Se limpa algum cômodo, em quantos andares? (Preencher 0 se respondeu nunca na questão 4).**

- 6. Você prepara refeições quentes para si mesmo, ou você ajuda a preparar?**
 - 1- Nunca
 - 2- Às vezes (uma ou duas vezes por semana)
 - 3- Quase sempre (três a cinco vezes por semana)
 - 4- Sempre (mais de cinco vezes por semana)

- 7. Quantos lances de escada você sobe por dia? (um lance de escada tem dez degraus)**
 - 1- Eu nunca subo lances
 - 2- Um a cinco lances
 - 3- Seis a dez lances
 - 4- Mais de dez lances

- 8. Se você vai a algum lugar em sua cidade, que tipo de transporte você utiliza?**
 - 1- Eu nunca saio

- 2- Carro
- 3- Transporte público
- 4- Bicicleta
- 5- Caminhando

9. Com que frequência você faz compras?

- 1- Nunca ou menos de uma vez por semana
- 2- Uma vez por semana
- 3- Duas a quatro vezes por semana
- 4- Todos os dias

10. Se você faz compras, que tipo de transporte você utiliza?

- 1- Eu nunca faço compras
- 2- Carro
- 3- Transporte público
- 4- Bicicleta
- 5- Caminho

Domínio 2 - Atividades Esportivas

Você pratica algum esporte?

Exemplos: Caminhar, correr, nadar, esportes coletivos, lutas, xadrez.

Esporte 1

Nome/ tipo _____

Intensidade (código) (1a) _____

Horas por semana (código) (1b) _____

Quantos meses por ano (código) (1c) _____

Esporte 2

Nome/ tipo _____

Intensidade (código) (2a) _____

Horas por semana (código) (2b) _____

Quantos meses por ano (código) (2c) _____

Esporte 3

Nome/ tipo _____

Intensidade (código) (3a) _____

Horas por semana (código) (3b) _____

Quantos meses por ano (código) (3c) _____

Domínio 3 - ATIVIDADES DE LAZER**Você faz alguma atividade de lazer?****Atividade 1**

Nome/ tipo _____

Intensidade (código) (1a) _____

Horas por semana (código) (1b) _____

Quantos meses por ano (código) (1c) _____

Atividade 2

Nome/ tipo _____

Intensidade (código) (a) _____

Horas por semana (código) (b) _____

Quantos meses por ano (código) (c) _____

Atividade 3

Nome/ tipo _____

Intensidade (código) (a) _____

Horas por semana (código) (b) _____

Quantos meses por ano (código) (c) _____

Atividade 4

Nome/ tipo _____

Intensidade (código) (a) _____

Horas por semana(código) (b) _____

Quantos meses por ano(código) (c) _____

Códigos de Intensidades

1- Deitado, sem movimento 0,028
2- Sentado, sem movimento 0,146
3- Sentado, movimentos de mãos e braços 0,297
4- Sentado, movimentos do corpo 0,703
5- Em pé, sem movimento 0,174
6- Em pé, movimentos de mãos e braços 0,397
7- Em pé, movimentos do corpo, caminhando 0,890
8- Caminhando, movimentos de mãos e braços 1,368
9- Caminhando, movimentos do corpo, nadando, pedalando 1,890

Códigos de horas por semana

1- Menos que 1 hora por semana 0,5
2- 1 a menos que 2 horas por semana 1,5
3- 2 a menos que 3 horas por semana 2,5
4- 3 a menos que 4 horas por semana 3,5
5- 4 a menos que 5 horas por semana 4,5
6- 5 a menos que 6 horas por semana 5,5
7- 6 a menos que 7 horas por semana 6,5
8- 7 a menos que 8 horas por semana 7,5
9- Mais que 8 horas por semana 8,5

Códigos de meses por ano

1- Menos que 1 mês por ano 0,04
2- De 1 a 3 meses por ano 0,17
3- De 4 a 6 meses por ano 0,42
4- De 7 a 9 meses por ano 0,67
5- Mais que 9 meses por ano 0,92

ANEXO E
FORMULÁRIO DE MARCADORES DO CONSUMO ALIMENTAR

Nos últimos **7 dias**, em quantos dias você comeu os seguintes alimentos ou bebidas?
Assinale em quantos dias comeu os alimentos descritos em cada item.

1.) Salada crua (alface, tomate, cenoura, pepino, repolho, etc.)

Não comi	1 dia	2 dias	3 dias	4 dias	5 dias	6 dias	Todos os dias

2.) Legumes e verduras cozidos (couve, abóbora, chuchu, brócolis, espinafre, etc.) Não considerar batata e mandioca

Não comi	1 dia	2 dias	3 dias	4 dias	5 dias	6 dias	Todos os dias

3.) Frutas frescas ou salada de frutas

Não comi	1 dia	2 dias	3 dias	4 dias	5 dias	6 dias	Todos os dias

4.) Feijão

Não comi	1 dia	2 dias	3 dias	4 dias	5 dias	6 dias	Todos os dias

5.) Leite ou iogurte

Não comi	1 dia	2 dias	3 dias	4 dias	5 dias	6 dias	Todos os dias

6.) Batata frita, batata de pacote e salgados fritos (coxinha, quibe, pastel, etc.)

Não comi	1 dia	2 dias	3 dias	4 dias	5 dias	6 dias	Todos os dias

7.) Hambúrguer e embutidos (salsicha, mortadela, salame, presunto, linguiça, etc.)

Não comi	1 dia	2 dias	3 dias	4 dias	5 dias	6 dias	Todos os dias

8.) Bolachas/biscoitos salgados ou salgadinhos de pacote

Não comi	1 dia	2 dias	3 dias	4 dias	5 dias	6 dias	Todos os dias

9.) Bolachas/biscoitos doces ou recheados, doces, balas, chocolates (em barras ou bombom)

Não comi	1 dia	2 dias	3 dias	4 dias	5 dias	6 dias	Todos os dias

10.) Refrigerante (não considerar os diet ou light)

Não comi	1 dia	2 dias	3 dias	4 dias	5 dias	6 dias	Todos os dias

ANEXO F
MEDICAL OUTCOMES SHORT-FORM HEALTH SURVEY (SF-36)

Instruções: Esta pesquisa questiona você sobre sua saúde. Estas informações nos manterão informados de como você se sente e quão bem você é capaz de fazer suas atividades de vida diária. Responda cada questão marcando a resposta como indicado. Caso você esteja inseguro em como responder, por favor, tente responder o melhor que puder.

1.) Em geral, você diria que sua saúde é: (circule uma)

EXCELENTE	MUITO BOA	BOA	RUIM	MUITO RUIM
1	2	3	4	5

2.) Comparada a um ano atrás, como você classificaria sua **saúde** em geral, agora? (circule uma)

Muito melhor	Um pouco melhor	Quase a mesma coisa	Um pouco pior	Muito pior
1	2	3	4	5

3.) Os seguintes itens são sobre atividades que você poderia fazer atualmente **durante um dia** comum. **Devido a sua saúde**, você tem dificuldade para fazer essas atividades? Neste caso, quanto? (circule um número em cada linha)

ATIVIDADES Sempre iniciar a pergunta com “Devido a sua saúde, você tem dificuldade para fazer...?”	SIM, DIFICULT A MUITO	SIM, DIFICULT A UM POUCO	NÃO, NÃO DIFICULT A DE MODO ALGUM
a) Atividades vigorosas, que exigem muito esforço, tais como correr, levantar objetos pesados, participar de esportes árduos.	1	2	3
b) Atividades moderadas, tais como mover uma mesa, passar aspirador de pó, jogar bola, varrer a casa.	1	2	3
c) Levantar ou carregar mantimentos.	1	2	3
d) Subir vários lances de escada.	1	2	3
e) Subir um lance de escada.	1	2	3
f) Curvar-se, ajoelhar-se ou dobrar-se.	1	2	3
g) Andar mais de um quilômetro.	1	2	3
h) Andar vários quarteirões.	1	2	3
i) Andar um quarteirão.	1	2	3
j) Tomar banho e vestir-se.	1	2	3

- 4.) Durante **as últimas 4 semanas**, você teve algum dos seguintes problemas com o seu **trabalho** ou com alguma **atividade diária regular**, como **consequência da sua saúde física**? (circule uma em cada linha)

	SIM	NÃO
a) Você diminuiu a quantidade de tempo que se dedicava ao seu trabalho ou a outras atividades?	1	2
b) Realizou menos tarefas do que você gostaria?	1	2
c) Esteve limitado no seu tipo de trabalho ou em outras atividades?	1	2
d) Teve dificuldades de fazer seu trabalho ou outras atividades (ex.: necessitou de um esforço extra)?	1	2

- 5.) Durante **as últimas 4 semanas**, você teve algum dos seguintes problemas com o seu trabalho ou com alguma atividade diária regular, **como consequência de algum problema emocional** (como sentir-se deprimido ou ansioso)? (circule uma em cada linha)

	SIM	NÃO
a) Você diminuiu a quantidade de tempo que se dedicava ao seu trabalho ou a outras atividades?	1	2
b) Realizou menos tarefas do que você gostaria?	1	2
c) Não trabalhou ou não fez qualquer das atividades com tanto cuidado como geralmente faz?	1	2

- 6.) Durante **as últimas 4 semanas**, de que maneira **a sua saúde física ou os problemas emocionais** interferiram nas suas atividades sociais normais, em relação a família, vizinhos, amigos ou em grupo? (circule uma)

De forma nenhuma	Ligeiramente	Moderadamente	Bastante	Extremamente
1	2	3	4	5

- 7.) Quanta dor no corpo você teve durante **as últimas 4 semanas**? (circule uma)

Nenhuma	Muito leve	Leve	Moderada	Grave	Muito grave
1	2	3	4	5	6

- 8.) Durante **as últimas 4 semanas**, quanto a dor interferiu com o seu trabalho normal (incluindo tanto o trabalho fora de casa e dentro de casa)? (circule uma)

De forma nenhuma	Um pouco	Moderadamente	Bastante	Extremamente
1	2	3	4	5

- 9.) Estas questões são sobre como você se sente e como tudo tem acontecido com você durante as últimas 4 semanas. Para cada questão, por favor, dê uma resposta que mais se aproxima da maneira como você se sente. Em relação **às últimas 4 semanas**: (circule um número em cada linha)

Todo tempo	A maior parte do tempo	Uma boa parte do tempo	Alguma parte do tempo	Uma pequena parte do tempo	Nunca
------------	------------------------	------------------------	-----------------------	----------------------------	-------

a) Quanto tempo você tem se sentido cheio de vontade, cheio de força?	1	2	3	4	5	6
b) Quanto tempo você tem se sentido uma pessoa muito nervosa?	1	2	3	4	5	6
c) Quanto tempo você tem se sentido tão deprimido que nada pode animá-lo (a)?	1	2	3	4	5	6
d) Quanto tempo você tem se sentido calmo ou tranquilo?	1	2	3	4	5	6
e) Quanto tempo você tem se sentido com muita energia?	1	2	3	4	5	6
f) Quanto tempo você tem se sentido desanimado e abatido?	1	2	3	4	5	6
g) Quanto tempo você tem se sentido esgotado?	1	2	3	4	5	6
h) Quanto tempo você tem se sentido uma pessoa feliz?	1	2	3	4	5	6
i) Quanto tempo você tem se sentido cansado?	1	2	3	4	5	6

10.) Durante as últimas 4 semanas, quanto do seu tempo a sua saúde física ou problemas emocionais interferiram com as suas atividades sociais (como visitar amigos, parentes, etc.)? (circule uma)

Todo tempo	A maior parte do tempo	Alguma parte do tempo	Uma pequena parte do tempo	Nenhuma parte do tempo
1	2	3	4	5

11.) O quanto verdadeiro ou falso é cada uma das afirmações para você? (circule uma para cada linha)

	Definitivamente verdadeiro	A maioria das vezes verdadeiro	Não sei	A maioria das vezes falsa	Definitivamente falsa
a) Eu costumo adoecer um pouco mais facilmente que as outras pessoas	1	2	3	4	5
b) Eu sou tão saudável quanto qualquer pessoa que eu conheço	1	2	3	4	5
c) Eu acho que minha saúde vai piorar	1	2	3	4	5
d) Minha saúde é excelente	1	2	3	4	5

9. APÊNDICES

9.1. Apêndice A – Produções durante o mestrado

9.1.1. Artigos completos publicados em periódicos

SILVA SOBRINHO, A. C.; ALMEIDA, M. L. ; RODRIGUES SILVA, VAGNER RAMON ; **RODRIGUES, G. S.** ; RODRIGUES, K. P. ; MONTEIRO, C. P. ; BUENO JR, C. R. . Quality of movement is associated with cognitive function in physically inactive older women. *Journal Of Aging And Physical Activity*, 2020.

RODRIGUES, J. A. L. ; STENSVOLD, D. ; ALMEIDA, M. L. ; SILVA SOBRINHO, A. C. ; **RODRIGUES, G. S.** ; BUENO JR, C. R. . Cardiometabolic risk factors associated with educational level in older people: comparison between Norway and Brazil. *Journal Of Public Health*, v. 1, p. 1-9, 2020.

ALMEIDA, MARIANA LUCIANO ; GLYMOUR, M MARIA ; **DA SILVA RODRIGUES, GUILHERME** ; SOBRINHO, ANDRESSA CRYSTINE DA SILVA ; JÚNIOR, CARLOS ROBERTO BUENO . Effects of 12-week combined cognitive training and physical activity intervention on cognitive and psychosocial outcomes of Brazilian older adults. *Alzheimers & Dementia*, v. 16, p. 1-2, 2020.

SILVA SOBRINHO, ANDRESSA CRYSTINE DA ; ALMEIDA, MARIANA LUCIANO DE ; **RODRIGUES, GUILHERME DA SILVA** ; BUENO JÚNIOR, CARLOS ROBERTO . Associação de dor crônica com força, níveis de estresse, sono e qualidade de vida em mulheres acima de 50 anos. *Fisioterapia e Pesquisa*, v. 26, p. 170-177, 2019.

CRYSTINE DA SILVA SOBRINHO, ANDRESSA ; ALMEIDA, MARIANA LUCIANO ; RODRIGUES SILVA, VAGNER RAMON ; **DA SILVA RODRIGUES, GUILHERME** ; WIGGERS, ESTER ; BUENO JÚNIOR, CARLOS ROBERTO . Relationship Between Cognitive Performance, Sedentary Behavior And Physical Activity Level Of Brazilian Elderly Women. *Alzheimers & Dementia*, v. 15, p. P847-847, 2019.

WIGGERS, ESTER ; RODRIGUES SILVA, VAGNER RAMON ; YAMADA, ANDRÉ KATAYAMA ; CRYSTINE DA SILVA SOBRINHO, ANDRESSA ; ALMEIDA, MARIANA LUCIANO ; PRADO, LAIS SOUZA ; RODRIGUES, KARINE PEREIRA ; **DA SILVA RODRIGUES, GUILHERME** ; BUENO JÚNIOR, CARLOS ROBERTO ; SCORSOLIN, VICTOR CÉSAR . Effects Of Twelve Weeks Of Multicomponent And Agility Exercises Into The Cognitive Abilities In Elderly Individuals. *Alzheimers & Dementia*, v. 15, p. P509, 2019.

RODRIGUES, G. S.; VERRI, E. D. ; FABRIN, S. ; PISA, M. F. ; FIOCO, E. M. . Diferentes ativações musculares em distintas intensidades de treino no aparelho leg press. *Brazilian Journal of Development*, v. 5, p. 31752-31760, 2019.

ALMEIDA, MARIANA LUCIANO ; CRYSTINE DA SILVA SOBRINHO, ANDRESSA ; **DA SILVA RODRIGUES, GUILHERME** ; PRADO, LAIS SOUZA ;

RODRIGUES, KARINE PEREIRA ; WIGGERS, ESTER ; BUENO JÚNIOR, CARLOS ROBERTO . Association Of Bdnf And Apoe Polymorphisms In Practitioners Of Cognitive Training Allied To Physical Activity In An Inland Town Of Brazil. *Alzheimers & Dementia*, v. 15, p. P1204, 2019.

9.1.2. Capítulos de livros publicados

SILVA SOBRINHO, A. C. ; **RODRIGUES, G. S.** ; ALMEIDA, M. L. ; LIMA, J. G. R. ; SILVA, S. ; BUENO JR, C. R. . Saúde do Idoso. Obesidade: Guia Prático do Diagnóstico a prescrição de exercício físico. 1ed.São Paulo: Clube de Autores, 2020, v. 2, p. 1-383.

9.1.3. Resumos publicados em anais de congressos

ALMEIDA, M. L. ; PRADO, L. S. ; RODRIGUES, K. P. ; SILVA SOBRINHO, A. C. ; **RODRIGUES, G. S.** ; WIGGERS, E. ; BUENO JR, C. R. . Relationship between Metabolic Syndrome, Cognitive Performance, and Apoe and BDNF Polymorphisms in Old Brazilian People. In: AAIC Satellite Symposium, 2019, São Paulo. AAIC Satellite Symposium. São Paulo: Atlantic Fellows, 2019. v. 1. p. 34-34.

WIGGERS, E. ; RODRIGUES, K. P. ; SILVA SOBRINHO, A. C. ; ALMEIDA, M. L. ; **RODRIGUES, G. S.** ; BUENO JR, C. R. . Efeito De 12 Semanas De Treino Multicomponente Com Ênfase Em Exercícios De Agilidade Em Indivíduos De 50 A 69 Anos. In: 31º Congresso Brasileiro De Medicina Do Exercício E Do Esporte, 2019, Foz do Iguaçu. Revista Brasileira de Medicina do Esporte - RBME, 2019. v. 25. p. 77-77.

RODRIGUES, G. S.; ALMEIDA, M. L. ; FERREZIN, L. P. ; SILVA SOBRINHO, A. C. ; BUENO JR, C. R. Associação Do Polimorfismo Rs6265 Do Bdnf Com Capacidades Motoras E Sintomas Depressivos E De Ansiedade Em Adultos E Idosos. In: Congresso Brasileiro de Metabolismo, Nutrição e Exercício, 2018, Londrina - PR. Congresso Brasileiro de Metabolismo, Nutrição e Exercício Anais, 2018. v. 1. p. 176-176.

9.1.4. Artigos aceitos para publicação

RODRIGUES, G.S.; BEDO, B.L.S.; DE ALMEIDA, M.L.; SOBRINHO, A.C.S.;
YAMADA, A.K.; BUENO JÚNIOR, C.R.B. Effect of Combined Training on Muscle Co-Activation and Functional Capacity in Older Women: a Pilot Study. *Journal of Health Sciences*. 2021