UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTE

Exercício físico atenua redução da massa livre de gordura e reverte a perda
de força muscular decorrente da cirurgia bariátrica: um ensaio clínico
controlado e randomizado

Saulo dos Santos Gil

São Paulo

2020

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTE

Exercício físico atenua redução da massa livre de gordura e reverte a perda
de força muscular decorrente da cirurgia bariátrica: um ensaio clínico
controlado e randomizado

Saulo dos Santos Gil

São Paulo

2020

SAULO DOS SANTOS GIL

Exercício físico atenua redução da massa livre de gordura e reverte a perda
de força muscular decorrente da cirurgia bariátrica: um ensaio clínico
controlado e randomizado

Tese apresentada à Escola de Educação
Física e Esporte da Universidade de São
Paulo, como requisito parcial para a
obtenção do título de Doutor em Ciências

Área de concentração: Estudos
Biodinâmicos da Educação Física e
Esporte.

Orientador: Prof. Dr. Hamilton Roschel

SÃO PAULO

2020

Catálogo da Publicação
Serviço de Biblioteca
Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo

Gil, Saulo dos Santos

Exercício físico atenua redução da massa livre de gordura e
reverte a perda de força muscular decorrente da cirurgia bariátrica :
um ensaio clínico controlado e randomizado / Saulo dos Santos

Gil. – São Paulo : [s.n.], 2020.

118p.

Tese (Doutorado) --Escola de Educação Física e Esporte da
Universidade de São Paulo.

Orientador Prof. Dr. Hamilton Augusto Roschel da Silva

1. Obesidade 2. Cirurgia bariátrica 3. Exercício físico 4. Atrofia
muscular I. Título.

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: Gil, Saulo dos Santos

Título: Exercício físico atenua redução da massa livre de gordura e reverte a perda de força muscular decorrente da cirurgia bariátrica: um ensaio clínico controlado e randomizado.

Tese apresentada à Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Prof. Dr. Hamilton Roschel, meu orientador, que incansavelmente trabalhou junto comigo para que este trabalho chegasse até esta ocasião e por todas sábias palavras que tive a oportunidade de ouvir ao longo deste processo. Também agradeço ao Prof. Dr. Bruno Gualano que contribuiu de maneira inestimável para este trabalho.

Agradeço aos Prof. Dr. Marco Aurélio Santo e Prof. Dr. Roberto Cleva, responsáveis pela cirurgia bariátrica das pacientes, pela participação e contribuição fundamental, pois sem o empenho deles este trabalho não seria possível.

Agradeço aos “Bariátricos”, nome dado ao grupo de alunos envolvidos no projeto, Wagner Dantas, Igor Murai e Carlos Merege pela imensurável contribuição e amizade ao longo desse processo que, sem dúvida, foi fator decisivo para o sucesso deste trabalho. Também agradeço a Sheylla Felau que mesmo morando nos EUA fez o duro trabalho de quantificar todos os recordatórios alimentares, ao Willian das Neves que me ensinou a fazer minhas primeiras imunofluorescências e a todos os colegas do Grupo de Pesquisa em Fisiologia Aplicada & Nutrição, Laboratório de Condicionamento Físico em Reumatologia (LACRE), Laboratório de Miopatias, Laboratório de Emergências Clínicas e Laboratório de Matriz extracelular que de alguma forma contribuíram para este trabalho. Agradeço também aos “antigos” meus amigos do Laboratório de treinamento de força.

Agradeço aos colaboradores da Faculdade de Medicina e Hospital das Clínicas Prof. Dr. Rosa Maria Rodrigues Pereira, Prof. Dr. Samuel Shinjo, Prof. Dr. Walcy Paganelli Rosolia Teodoro, Prof. Dr. Ana Lucia de Sá Pinto e Prof. Dr. Fernanda Rodrigues. Também agradeço a Prof. Dr^a. Vanessa Olzon Zambelli do Laboratório Especial de Dor e Sinalização (LEDS) do Instituto Butantan por ceder seu equipamento laboratório pelo simples interesse em ajudar na conclusão do estudo.

Agradeço à FAPESP, CNPq e CAPES que deram suporte financeiro para a realização do estudo.

Agradeço aos meus irmãos Silvano (*in memorian*), Suzeli e Silvandro que sempre me apoiaram e estão comigo em todos os momentos. Por fim, agradeço a minha esposa Adriana por todo apoio e companheirismo diário e por me dar o maior presente, minha filha Alice. Enfim, dedico esse trabalho a meus irmãos, minha mãe Sueli (*in memorian*), minha esposa e minha filha. Vocês são tudo para mim!!!

RESUMO

GIL, S. S. **Exercício físico atenua redução da massa livre de gordura e reverte a perda de força muscular decorrente da cirurgia bariátrica:** um ensaio clínico controlado e randomizado. 2020. 119f. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2020.

A redução da força muscular oriunda da cirurgia bariátrica pode aumentar a morbidade e o risco de mortalidade independente da melhora nos fatores de risco para doenças cardiovasculares. É sabido que a intervenção cirúrgica reduz a massa muscular o que pode explicar, ao menos em parte, a perda de força. A massa muscular é regulada por um balanço entre síntese e degradação de proteínas (balanço proteico). Indivíduos com obesidade apresentam uma resistência anabólica que pode ser parcialmente atribuída à uma atenuada ativação da via da *mTOR*, aumentada atividade do proteassoma e conteúdo de células satélites e capilares reduzidos. O exercício físico é uma potencial estratégia para contrapor os efeitos adversos inerentes à cirurgia, porém as adaptações musculares nesta população ainda não estão elucidadas. O objetivo deste estudo foi investigar os efeitos do exercício físico na massa muscular, força e funcionalidade de pacientes submetidas à cirurgia bariátrica. Ademais, foi examinado os impactos da cirurgia e do exercício em mecanismos reguladores da massa muscular. Oitenta mulheres candidatas à cirurgia bariátrica foram alocadas aleatoriamente em 2 grupos: cirurgia bariátrica (RYGB) e cirurgia bariátrica mais treinamento físico (RYGB+TF). Antes (PRE), 3 (3MESES) e 9 meses (9MESES) após a cirurgia foram avaliados a força absoluta e relativa dos membros superiores e inferiores, funcionalidade (teste de “levantar e ir” e “sentar e levantar”), composição corporal (massa gorda, massa livre de gordura total e dos membros superiores e inferiores), área de secção transversa das fibras musculares tipo I e II (ASTf), conteúdo de mionúcleos, domínio mionuclear, conteúdo de capilares (CC), número de capilares por fibra (C/Fi), número de capilares por perímetro da fibra (CFPE), conteúdo de células satélites (SC), sequenciamento do RNA mensageiro (RNA-seq) e expressão de genes e proteínas relacionadas às vias de síntese e degradação de proteínas. Ademais, um grupo controle (CTRL) composto por 20 mulheres eutróficas realizou todas as avaliações a fim de gerar valores comparativos para as possíveis modificações observadas nos grupos experimentais após o período experimental. O RYGB+TF foi submetido a um programa de exercícios físicos (aeróbio e força) durante 6 meses (iniciado 3 meses após a cirurgia), enquanto o RYGB realizou apenas o tratamento médico padrão. Os dados foram analisados por intenção de tratamento utilizando uma análise de modelos mistos para medidas repetidas. Em caso de F significativo, um *post hoc* de *Tukey* foi utilizado para comparações múltiplas. Para identificar potenciais efeitos da intervenção nos parâmetros de composição corporal, a diferença absoluta entre os tempos 9MESES e PRE foi calculada em cada um dos grupos experimentais e, assim, os grupos foram comparados por um teste t de *Student*. Para comparar os grupos experimentais no momento 9MESES com o CTRL, os valores de ASTf, capilarização, SC, força muscular e funcionalidade de cada paciente no momento 9MESES foram transformados em escores padronizados (*i.e.*, escore Z) com os valores de média e desvio padrão do grupo CTRL como referência. Em seguida, os valores foram comparados por meio de uma análise de variância de uma via e, em caso de F significativo, um *post hoc* de *Dunnnett* foi realizado para comparações múltiplas. O nível de significância adotado foi de $P \leq 0,05$. Uma redução significativa da força absoluta e relativa dos membros superiores e inferiores foi observada

3 meses após a cirurgia em ambos os grupos (efeito principal de tempo: $P < 0,05$). Em contrapartida, o grupo treinado mostrou um aumento da força muscular em ambos os segmentos corporais no 9MESES em comparação ao 3MESES (todos $P < 0,05$), enquanto o grupo não treinado não apresentou nenhuma mudança significativa nesta mesma comparação (todos $P < 0,05$). Quando comparado os grupos após à intervenção, o grupo RYGB+TF exibiu valores maiores de força absoluta em ambos os segmentos que o RYGB (todos $P < 0,05$). O desempenho nos testes “levantar e ir” e “sentar e levantar” foi melhorado ao final do período experimental (9MESES vs. PRE) em ambos os grupos (todos $P < 0,05$). Importaneamente, o grupo treinado apresentou melhor desempenho da funcionalidade em ambos os testes que o não treinado após à intervenção (ambos $P < 0,05$). A massa corporal, índice de massa corporal, massa gorda e massa livre de gordura diminuíram no 3MESES e 9MESES em comparação ao PRE (efeito principal de tempo: todos $P < 0,05$). A análise dos deltas revelou que o grupo treinado atenuou a perda de massa livre de gordura total e dos membros inferiores em comparação ao grupo não treinado (ambos $P < 0,05$). Três meses após a cirurgia bariátrica (3MESES vs. PRE) houve uma redução significativa na ASTf tipo I e II em ambos os grupos (efeito principal de tempo: $P < 0,05$). Em contrapartida, o grupo treinado mostrou incrementos na ASTf tipo I e II no 9MESES em relação ao PRE e 3MESES (todos $P < 0,05$). Quando comparado os grupos no momento 9MESES, o grupo treinado apresentou maior ASTf tipo I e II que suas contrapartes não treinadas (ambos $P < 0,05$). O grupo treinado aumentou o CC, C/Fi, CFPE e SC no 9MESES em comparação ao PRE e 3MESES (todos $P < 0,05$), enquanto nenhuma mudança significativa foi observada no grupo não treinado (todos $P > 0,05$). O RNA-seq revelou que a via *ubiquitin mediated proteolysis* estava suprimida no grupo treinado no 9MESES em comparação ao PRE ($P < 0,05$). Em concordância, o grupo treinado mostrou uma redução na expressão do gene *Atrogin-1* (marcador de degradação proteica mediada pelo sistema ubiquitina-proteassoma) no 9MESES em comparação ao PRE e 3MESES (ambos $P < 0,05$). Já o grupo não treinado não apresentou alterações significantes nestas mesmas análises. Ambos os grupos apresentaram redução na expressão dos genes *BNIP3* e *CTSL1* (ambos marcadores do sistema autofágico) e da proteína *p-4E-BP1/4E-BP1* no momento 9MESES em comparação ao PRE e 3MESES (efeito principal de tempo: todos $P < 0,05$). Por fim, o grupo treinado mostrou um perfil de expressão gênica e características musculares (*i.e.*, diâmetro da fibra muscular, capilarização, força e funcionalidade) comparáveis ao grupo de mulheres eutróficas (CTRL) ao final do período de intervenção, enquanto o grupo não treinado ainda apresentava valores inferiores aos observados no grupo CTRL. Nossos resultados indicam que um programa de exercícios físicos atenua a redução da massa livre de gordura, reverte a perda de força muscular e promove pronunciado aumento da funcionalidade de mulheres submetidas à cirurgia bariátrica. Desta maneira, é possível sugerir que o treinamento físico sistemático deve ser inserido no tratamento pós-operatório desta população a fim de conter os efeitos adversos da cirurgia no músculo esquelético.

Palavras-chave: obesidade, cirurgia bariátrica, atrofia muscular, exercício.

ABSTRACT

GIL, S. S. **Exercise mitigates fat-free mass and strength loss of women with obesity undergoing bariatric surgery:** a randomized controlled trial. 2020. 119f. Thesis (Thesis in Science) –School of Physical Education and Sport, Universidade de Sao Paulo, Sao Paulo. 2020.

Strength loss reported in individuals undergoing bariatric surgery may increase morbidity and, thus, risk of mortality. This occurs despite the benefits to cardiovascular risk factors that bariatric surgery may convey. It is known that bariatric surgery causes muscle mass loss, which may be related to strength loss. Muscle mass maintenance is regulated by muscle protein synthesis and breakdown (protein turnover). Individuals with obesity show anabolic resistance, which may be explained, at least in part, by decreased activation of the *mTOR* pathway, increased activity of the proteasome, reduced satellite cell content and capillary rarefaction. These alterations may be exacerbated by calorie restriction induced by bariatric surgery. Exercise training is a potential strategy to counteract the adverse effects of the surgery, but its effects are not clear. Thus, this study investigated the effects of exercise training on muscle mass, strength and functionality of women undergoing bariatric surgery. In addition, cellular and molecular mechanisms related to muscle plasticity were examined. Eighty female bariatric surgery candidates were randomly allocated to either the bariatric surgery group (RYGB) or to bariatric surgery plus exercise (RYGB+TF). Relative and absolute lower- and upper-limb strength, functionality (time up-and-go and timed stands), body composition, muscle fiber cross-sectional area (ASTf), myonuclei content, myonuclear domain, capillary contacts (CC), capillary-to-fibre ratio (C/Fi) e capillary-to-fibre perimeter exchange index (CFPE), satellite cell content (SC), messenger RNA sequencing and expression of genes and proteins related to muscle protein synthesis and breakdown pathways were measured at baseline (PRE), 3 (3MESES) and 9 months (9MESES) post-surgery. RYGB+TF performed a supervised, one-on-one, six-month, three-times-a-week, combined aerobic and resistance training program, which started at 3MESES, while RYGB received standard care. Data were analyzed using the intention-to-treat-principle. Dependent variables were tested by mixed-model with repeated measures. *Tukey post-hoc* tests was used for multiple comparisons. For body composition data, absolute delta scores were calculated (9MESES-PRE) for each experimental group and compared using an Unpaired *t*-test. To compare the experimental groups at 9MESES with a normal-weight control group (CTRL), the ASTf, capillarization, SC, strength and functionality were transformed into standardized scores (*i.e.*, Z-score) with the means and standard deviation values of CTRL used as a reference. The groups were then compared using one-way analysis of variance and, in the case of a significant *F*-value, a *Dunnnett post-hoc* test was utilized for multiple comparisons. The significance level was set at $P \leq 0,05$. Both groups showed reduced absolute and relative lower- and upper-limb strength at 3MESES in comparison to PRE (main effect of time: $P < 0,05$). In contrast, the group who underwent exercise training showed increased lower- and upper-limb strength at 9MESES in comparison to 3MESES (all $P < 0,05$), while the non-exercised group did not show strength gains during this time (all $P > 0,05$). Most importantly, the exercised group exhibited higher values of lower- and upper-limb strength than the non-exercised group at 9MESES ($P < 0,05$). Both groups improved functionality in both tests conducted at 9MESES when compared to PRE (all $P < 0,05$). Most importantly, RYGB+TF presented improved functionality scores

than RYGB at 9MESES (all $P<0,05$). Weight, body mass index, fat mass and fat-free mass decreased at 3MESES and 9MESES in comparison to PRE, and these changes were comparable between the groups (main effect of time: all $P<0,05$). Delta change analysis revealed that exercise training mitigated total and lower-limb fat-free mass loss when compared with the non-exercised group (all $P<0,05$). Type I and II ASTf similarly decreased in both RYGB and RYGB+TF after surgery (3MESES vs. PRE) (main effect of time: both $P<0,05$). In contrast, the exercised group increased type I and II ASTf at 9MESES in comparison to PRE and 3MESES (all $P<0,05$), whereas no changes were observed in their non-exercised counterparts ($P>0,05$). When comparing the groups at 9MESES, type I and II ASTf were significantly greater in the exercised group (both $P<0,05$). RYGB+TF had higher CC, C/Fi, CFPE and SC at 9MESES when compared with PRE and 3MESES (all $P<0,05$), whereas no significant change was observed in RYGB at any timepoint. Values of CC, C/Fi, CFPE and SC were higher in RYGB+TF when compared with RYGB at 9MESES (all $P<0,05$). RNA-seq revealed that *ubiquitin mediated proteolysis pathway* was suppressed in the exercised group at 9MESES when compared to PRE ($P<0,05$), indicating that exercise attenuated muscle protein breakdown and that this was mediated by the ubiquitin-proteasome system. Additionally, the exercised group showed a suppressed expression of gene *Atrogin-1* at 9MESES in comparison to 3MESES and PRE (both $P<0,05$). No significant changes were observed in the RYGB group for this analysis. Both groups showed reduced expression of genes *BNIP3* e *CTSL1* (markers of autophagy) and protein *p-4E-BP1/4E-BP1* at 9MESES in comparison to PRE and 3MESES (all $P<0,05$). Finally, the exercised group exhibited a gene expression profile and muscular characteristics comparable to CTRL at 9MESES, whereas the values observed in the non-exercised group remained substantially different from that observed in normal-weight women. Our findings indicate that exercise training mitigates fat-free mass loss, reverses muscular strength loss and provides important functional improvements to women with obesity who undergo bariatric surgery. Thus, we recommend that exercise training routines should be incorporated in the management of post-bariatric surgery patients in order to counteract the adverse effects of the surgery on muscle mass and function.

Key word: obesity, bariatric surgery, atrophy, muscle wasting, exercise.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	13
OBJETIVOS.....	15
3.1 Objetivo Geral	15
3.2 Objetivos específicos.....	15
REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Aspectos epidemiológicos e prejuízos da obesidade.....	16
2.2 Cirurgia bariátrica no manejo da obesidade	17
2.3 Efeitos adversos da cirurgia bariátrica no músculo esquelético.....	19
2.4 Exercício físico como estratégia para contrapor a perda de massa muscular decorrente da cirurgia bariátrica.....	23
4.1 Delineamento Experimental	26
4.2 Treinamento físico.....	27
4.3 Teste de força dinâmica máxima – 1RM.....	28
4.4 Avaliação da funcionalidade	28
4.5 Avaliação do nível de atividade física.....	29
4.6 Antropometria e composição corporal	30
4.7 Avaliação Nutricional.....	30
4.8 Avaliação da aptidão aeróbia.....	30
4.9 Biópsia muscular por agulha de sucção.....	31
4.10 Avaliação da área de secção transversa, quantidade de mionúcleos, domínio mionuclear, capilarização e conteúdo de células satélites.....	32
4.11 Sequenciamento gênico em larga escala do músculo esquelético (RNA-seq) e tratamento estatístico	33
4.12 Avaliação da Expressão Gênica do Músculo Esquelético.....	34
4.13 Avaliação da Expressão Proteica do Músculo Esquelético	35
4.14 Tratamento estatístico.....	36
RESULTADOS	38
5.1 Recrutamento e características basais.....	38
5.2 Força muscular, funcionalidade, nível de atividade física e aptidão aeróbia	40
5.3 Composição corporal.....	42
5.4 Consumo alimentar.....	46

5.5 Área de secção transversa da fibra muscular, conteúdo de mionúcleos, domínio mionuclear, capilarização e conteúdo de células satélites	46
DISCUSSÃO	62
CONCLUSÃO	68
REFERÊNCIAS	69
APÊNDICES	80
Apêndice 1 – Artigo em produção com os resultados obtidos no teste de esforço máximo.	80
Apêndice 2 – Informações detalhadas sobre anticorpos e diluições usadas na técnica de imunofluorescência.....	107
Apêndice 3 – Sequência de oligonucleotídeos iniciadores utilizados para avaliação da expressão de RNA mensageiro.....	108
Apêndice 4 – Informações detalhadas sobre anticorpos e diluições utilizadas na técnica de <i>Western Blotting</i>	109
Apêndice 5 – Análise da expressão gênica e proteica de marcadores de angiogênese ao longo do estudo.....	110
ANEXOS	111
Anexo 1. Termo de consentimento livre e esclarecido.....	111
Anexo 2. Aprovação dos procedimentos do estudo pelo comitê de ética local.....	116
Anexo 3. <i>Check-list</i> de informações a serem inseridas em estudos randomizados...	118

INTRODUÇÃO

A cirurgia bariátrica é considerada a mais efetiva estratégia de tratamento da obesidade por reduzir drasticamente a massa corporal e os fatores de risco para doenças cardiovasculares (SCHAUER *et al.*, 2017; SCHIAVON *et al.*, 2017). No entanto, este procedimento não é isento de efeitos adversos dentre os quais podemos destacar a deficiência nutricional (XANTHAKOS, 2009), redução da massa óssea e massa livre de gordura (COATES *et al.*, 2004; MAGHRABI *et al.*, 2015; MURAI *et al.*, 2019), prejuízos na força muscular e funcionalidade (HUE *et al.*, 2008; LYYTINEN *et al.*, 2013).

Importantemente, a redução da força muscular proveniente da intervenção cirúrgica (HUE *et al.*, 2008) pode aumentar a morbidade desses indivíduos e, consequentemente, o risco de mortalidade independente da melhora nos fatores de risco para doenças cardiovasculares.

A força muscular é determinada por fatores neurais (*e.g.*, aumento da frequência de disparo e melhora na sincronização das unidades motoras) e morfológicos (*e.g.*, aumento no tamanho e número de miofibrilas, aumento no tamanho das fibras musculares e alteração na arquitetura muscular) (MORITANI e DEVRIES, 1979). Embora os efeitos da cirurgia bariátrica sobre os fatores neurais ainda não sejam bem conhecidos, é bem estabelecido que a cirurgia promove redução da massa muscular (PEREIRA *et al.*, 2012; LYYTINEN *et al.*, 2013; MAGHRABI *et al.*, 2015).

A manutenção da massa muscular é regulada por meio de um balanço entre degradação e síntese de proteínas, denominado como balanço proteico (PHILLIPS, 2014). Indivíduos com obesidade apresentam um quadro denominado de resistência anabólica, este é caracterizado por uma resposta anabólica subótima, ou seja, uma menor elevação da taxa de síntese proteica mediante a um estímulo anabólico (*e.g.*, exercício e/ou ingestão de proteína) (BEALS *et al.*, 2016; BEALS *et al.*, 2018). Essa resistência anabólica pode ser explicada, parcialmente, por algumas alterações típicas da obesidade como, por exemplo, a reduzida fosforilação da proteína *P70S6K*, um *downstream* da via de sinalização intracelular *mTOR/P70S6K* (CHEVALIER *et al.*, 2015; BEALS *et al.*, 2018), reduzida capacidade miogênica (FU *et al.*, 2016), alterada atividade das principais vias de degradação proteica (*i.e.*, sistema ubiquitina-proteassoma e sistema autofágico) (BOLLINGER *et al.*, 2015) e rarefação capilar (FRISBEE, 2003). Além disso, a restrição calórica e o baixo consumo de proteínas característicos do período pós-operatório podem

agravar ainda mais a resistência anabólica destes indivíduos (HECTOR *et al.*, 2018; CHEN *et al.*, 2019).

O exercício físico é um reconhecido estímulo anabólico capaz de promover adaptações musculares como, por exemplo, aumento da força, hipertrofia da fibra muscular, adição de mionúcleos, células satélites e capilares (BODINE, 2006; SANDRI, 2008; BODINE e BAEHR, 2014; DAMAS *et al.*, 2015; JOANISSE *et al.*, 2017; BAMMAN, ROBERTS e ADAMS, 2018), constituindo uma potencial estratégia terapêutica para contrapor os efeitos deletérios da cirurgia. Nosso grupo, e outros, mostraram que o exercício físico é uma estratégia eficaz para atenuar alguns efeitos adversos decorrentes da cirurgia bariátrica (COEN *et al.*, 2015a; COEN *et al.*, 2015b; DANTAS *et al.*, 2018; MURAI *et al.*, 2019). Por exemplo, nós demonstramos que um programa de treinamento físico (*i.e.*, exercícios de força e aeróbio) realizado 3 vezes por semana durante 6 meses reduz a perda de massa óssea (MURAI *et al.*, 2019) e promove um efeito aditivo na melhora de parâmetros inflamatórios (*e.g.*, TNF- α), resistência insulina e função endotelial (DANTAS *et al.*, 2018) de mulheres obesas submetidas à intervenção cirúrgica. Esses resultados reforçam o potencial terapêutico do exercício em contrapor os efeitos negativos da cirurgia bariátrica.

As adaptações musculares provenientes do exercício físico em indivíduos submetidos à cirurgia bariátrica ainda não estão bem definidos (STEGEN *et al.*, 2011; CAMPANHA-VERSIANI *et al.*, 2017; HERRING *et al.*, 2017; DANIELS *et al.*, 2018). Enquanto algumas evidências suportam a assunção de que o exercício físico exerce um papel protetor na massa muscular, força e funcionalidade de indivíduos submetidos à cirurgia bariátrica (STEGEN *et al.*, 2011; CAMPANHA-VERSIANI *et al.*, 2017; HERRING *et al.*, 2017), outras evidências não sustentam esta hipótese (DANIELS *et al.*, 2018). Além disso, para o nosso conhecimento, até o momento nenhum estudo examinou os efeitos do exercício físico nos mecanismos envolvidos na regulação da massa muscular nesta população. Neste cenário, o objetivo do presente estudo foi investigar os efeitos do exercício físico sobre as adaptações musculares de mulheres com obesidade submetidas à cirurgia bariátrica.

OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

O objetivo primário do presente estudo foi investigar os efeitos do exercício físico sobre a massa muscular, força e funcionalidade de mulheres com obesidade submetidas à cirurgia bariátrica. Adicionalmente, como objetivo secundário, foi examinado os efeitos da cirurgia e do exercício em potenciais mecanismos reguladores da massa muscular.

3.2 Objetivos específicos

Verificar em mulheres com obesidade submetidas à cirurgia bariátrica os efeitos do exercício físico sobre:

- **Desfechos primários:**

- A composição corporal (*i.e.*, massa de gordura, massa livre de gordura, massa livre de gordura dos membros superiores e inferiores);
- A força dinâmica máxima dos membros superiores e inferiores;
- A funcionalidade;

- **Desfechos secundários:**

- A área de secção transversa, conteúdo de mionúcleos e domínio mionuclear por tipo de fibra (*i.e.*; tipo I e tipo II);
- A capilarização e conteúdo de células satélites das fibras musculares;
- O enriquecimento de vias relacionadas a plasticidade muscular por meio da análise do sequenciamento gênico em larga escala do músculo esquelético (RNA-seq);
- A expressão gênica e proteica (*i.e.*, *Atrogin-1* e *MuRF-1*) de marcadores de degradação proteica mediados pelo sistema ubiquitina-proteassoma;
- A expressão gênica (*i.e.*, *BNIP3*, *BECN1* e *CTSL1*) e proteica (*i.e.*, *Beclin-1* e *LC-3*) de marcadores de degradação proteica mediados pelo sistema autofágico;
- A expressão das proteínas *mTOR*, *p70S6K* e *4E-BP1*.

REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos epidemiológicos e prejuízos da obesidade

A obesidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal e é classificada através do índice de massa corporal (*i.e.*; $IMC = \text{peso}/\text{estatura}^2$), sendo considerado obeso indivíduos que apresentam IMC igual ou maior a 30 kg/m² (Gastrointestinal surgery for severe obesity: National Institutes of Health Consensus Development Conference, 1991).

A prevalência mundial da obesidade aumentou nas últimas décadas e, atualmente, apresenta valores alarmantes (Figura 1). Em 2016, a Organização Mundial de Saúde estimou que 13% da população mundial apresentava IMC igual ou superior a 30 kg/m². Os países Irlanda, Malta e Inglaterra lideram a lista de países europeus com maior frequência relativa de obesos com 27,8, 27,8 e 27,4%, respectivamente. Já nas Américas, o Estados Unidos lidera a lista com 33% da sua população obesa. Em segundo lugar está o Canadá com 26,8 e, em terceiro lugar, a Argentina com 26,7%. O Brasil, com 22% da população obesa, ocupa a 131ª posição quando considerados todos os países do mundo e a 24ª considerando somente os países da América (WHO, 2014). Dentre as capitais brasileiras, Florianópolis apresenta a menor prevalência (14%) e Campo Grande a maior (21%) (BRASIL, 2015). É importante destacar a elevada prevalência de obesidade gera um custo para o Sistema Único de Saúde (SUS) de aproximadamente R\$ 2,1 bilhões (BAHIA *et al.*, 2012).

Figura 1. Prevalência da obesidade no Brasil (linha pontilhada) e no Mundo (linha contínua) (adaptado de (WHO, 2014)).

A massa corporal e, conseqüentemente, a obesidade é determinada por fatores genéticos, ambientais e psicossociais que, através de alguns mediadores fisiológicos, interagem entre si para regular o consumo e gasto energético afetando assim o acúmulo de gordura corporal (GONZALEZ-MUNIESA *et al.*, 2017). Apesar da complexidade, o fator ambiental, mais especificamente o balanço entre consumo e gasto energético, é considerado fator decisivo para o aumento ou redução da massa corporal (ROSENBAUM, LEIBEL e HIRSCH, 1997). Por exemplo, um indivíduo com elevado consumo energético e comportamento sedentário (*i.e.*, tempo gasto na posição sentada e/ou inclinada) durante determinado período terá um acúmulo de energia superior ao gasto e, portanto, um aumento da massa corporal (balanço calórico positivo). Por outro lado, o baixo consumo energético associado a um elevado nível de atividade física pode induzir um maior gasto energético em comparação ao consumo de energia, o que teoricamente, promoverá uma redução da massa corporal (balanço calórico negativo). Apesar desta válida premissa para o aumento/redução da massa corporal é sabido que este processo depende de outros fatores como, por exemplo, maior capacidade do indivíduo em sintetizar (KERN *et al.*, 1990) e/ou oxidar gorduras (ZURLO *et al.*, 1990).

A obesidade está associada a presença de uma série de comorbidades tais como hipertensão arterial sistêmica, diabetes tipo II, câncer, doença hepática gordurosa não alcoólica e doença cardiovascular (MAGLIO *et al.*, 2013; LAVIE *et al.*, 2014; NGUYEN *et al.*, 2014; RODRIGUEZ-GALLEGO *et al.*, 2014; YOUNG *et al.*, 2014). Uma vez que a presença de comorbidades associadas a obesidade é considerada um fator determinante na redução da expectativa de vida (FONTAINE *et al.*, 2003), estratégias que proporcionem redução da massa corporal e, conseqüentemente, a presença de comorbidades são fundamentais no manejo da obesidade.

2.2 Cirurgia bariátrica no manejo da obesidade

Atualmente, a cirurgia bariátrica é considerada a principal estratégia de manejo da obesidade mórbida por reduzir a massa corporal e a presença de comorbidades associadas (BUCHWALD *et al.*, 2004; BUCHWALD *et al.*, 2009; SJOSTROM *et al.*, 2012; ADAMS *et al.*, 2017). Este tipo de intervenção ganhou destaque nas últimas décadas devido a sua maior efetividade em comparação a outras estratégias e a baixa frequência de complicações (SAMUEL *et al.*, 2006; BUCHWALD e OIEN, 2009). Estima-se que em 2013 foram realizadas 468 mil cirurgias bariátricas em todo o mundo (ANGRISANI

et al., 2015). No Brasil, o número de cirurgias bariátricas também vem aumentando anualmente. Em 2016 foram realizadas mais de 100 mil cirurgias, número que corresponde a um aumento de 7,5% comparado ao ano anterior. Vale destacar que o Brasil é o segundo país do mundo que mais realiza procedimentos cirúrgicos anualmente (SBCBM, 2017).

Os critérios de elegibilidade para cirurgia bariátrica foram descritos em 1991 pelo Instituto Nacional de Saúde Americano (NIH – do inglês *National Institutes of Health*) durante a conferência de reconhecimento da cirurgia gastrointestinal como tratamento da obesidade mórbida. Esses critérios consistem em IMC igual ou superior a 40 kg/m² ou maior que 35 kg/m² associado a comorbidades tais como apneia do sono severa, diabetes descontrolada, síndrome de *Pickwick* e cardiomiopatia grave) (NIH conference. Gastrointestinal surgery for severe obesity. Consensus Development Conference Panel, 1991).

No Brasil, o Conselho Federal de Medicina estabeleceu através da resolução nº 1.942/2010 publicada em 12 de fevereiro de 2010 que, além dos critérios definidos pelo NIH, os indivíduos elegíveis para a cirurgia não podem fazer o uso de drogas ilícitas nem apresentar histórico de alcoolismo, quadros psicóticos ou demências graves ou moderadas (CFM, 2010). Em adição, o Conselho Federal de Medicina recentemente ampliou, através da Resolução nº 2.172/2017, o uso da cirurgia bariátrica como opção terapêutica para pacientes diabéticos tipo 2 que tenham IMC entre 30 kg/m² e 34,9 kg/m², desde que o paciente apresente idade entre 30 e 70 anos, resistência ao tratamento clínico com antidiabéticos orais e/ou injetáveis, mudanças no estilo de vida e comprove que compareceu ao endocrinologista por no mínimo 2 anos (CFM, 2017). Cabe ressaltar que o Conselho Federal de Medicina e o NIH consideram fundamental que tanto o indivíduo que será submetido a cirurgia assim como a sua família tenham plena compreensão dos benefícios e riscos atribuídos a intervenção cirúrgica.

A cirúrgica bariátrica pode ser classificada como restritiva, malabsortiva ou combinada. Resumidamente, a técnica restritiva reduz o tamanho do estômago e, conseqüentemente, a quantidade de alimento ingerido pelo indivíduo. Já a técnica malabsortiva, o trajeto do alimento é alterado induzindo um menor tráfego do alimento no intestino e, assim, uma menor absorção dos nutrientes. Evidentemente, a técnica combinada associa a redução do estômago e a alteração do tráfego do alimento no intestino (BUCHWALD *et al.*, 2004). No Brasil, as técnicas cirúrgicas disponíveis são:

banda gástrica ajustável, gastrectomia vertical, derivação biliopancreática com *duodenal switch* e a gastroplastia com derivação em Y de Roux (SBCBM, 2017).

A gastroplastia com derivação em Y de Roux (RYGB – do inglês *Roux-em-Y Gastric Bypass*) é a técnica cirúrgica mais utilizada (YIP, PLANK e MURPHY, 2013) por promover maior redução da massa corporal e rápida melhora no metabolismo da glicose em comparação a outras técnicas cirúrgicas (RYDEN e TORGERSON, 2006). Nesta técnica cirúrgica, uma pequena bolsa gástrica de 30-40 mililitros é criada (componente restritivo) e reconstruída em forma de Y através de uma anastomose entre a nova porção gástrica criada e o jejuno (componente malabsortivo) (YIP, PLANK e MURPHY, 2013). Como desvantagem, essa técnica requer o uso de suplementos vitamínicos por toda a vida e, assim como as outras técnicas cirúrgicas, a possibilidade de reganho de massa corporal (YIP, PLANK e MURPHY, 2013).

A cirurgia bariátrica atenua a gravidade de uma série de comorbidades associadas à obesidade (MINGRONE *et al.*, 2015; CUMMINGS *et al.*, 2016; COHEN *et al.*, 2017; SCHAUER *et al.*, 2017; SCHIAVON *et al.*, 2017). Por exemplo, quando comparado ao tratamento médico padrão (*i.e.*, aconselhamento nutricional e atividades física, monitoramento dos níveis de glicose e uso de medicamentos para controle do peso), a intervenção cirúrgica promove uma maior redução do valores de IMC, hemoglobina glicada, glicemia em jejum, resistência à ação da insulina e o uso de medicamentos em indivíduos com obesidade diabéticos e não diabéticos (SCHAUER *et al.*, 2012; SCHAUER *et al.*, 2014; MINGRONE *et al.*, 2015; CUMMINGS *et al.*, 2016; SCHAUER *et al.*, 2017). Em indivíduos com obesidade hipertensos, a cirurgia bariátrica proporcionou uma melhora mais pronunciada nos valores de pressão arterial e redução do uso de medicamentos anti-hipertensivos em comparação ao tratamento médico padrão (SCHIAVON *et al.*, 2017). Esses achados ilustram a superioridade da intervenção cirúrgica no tratamento de comorbidades associadas à obesidade mórbida quando comparado com estratégias conservadoras.

2.3 Efeitos adversos da cirurgia bariátrica no músculo esquelético

Embora a cirurgia bariátrica proporcione uma série de benefícios no estado geral de saúde do indivíduo com obesidade, este procedimento não é isento de efeitos adversos, no qual podemos destacar a importante redução na força muscular. Hue *et al.*, (2008) verificaram uma significativa redução da força muscular tanto dos membros superiores

(~13%) quanto dos membros inferiores (~33%) após à cirurgia bariátrica. Similarmente, um outro grupo de pesquisadores demonstrou uma diminuição da força do quadríceps femoral, tríceps e bíceps braquial 4 meses após indivíduos com obesidade terem sido submetidos à intervenção cirúrgica (STEGEN *et al.*, 2011). Além disso, a literatura também mostra que o baixo nível de atividade física observado em indivíduos com obesidade é conservado mesmo após drástica redução da massa corporal induzida pela cirurgia (STEGEN *et al.*, 2011; BERGLIND *et al.*, 2015; COEN *et al.*, 2015a; BOND *et al.*, 2017; ONOFRE *et al.*, 2017). Esses resultados confirmam o efeito deletério da cirurgia na força muscular o que pode aumentar a morbidade e, consequentemente, o risco de mortalidade.

Assim como a massa corporal, a massa livre de gordura também é reduzida após à cirurgia (GIUSTI *et al.*, 2004; CAREY, PLIEGO e RAYMOND, 2006; ZALESIN *et al.*, 2010; MAGHRABI *et al.*, 2015). Sendo assim, considerando que o componente mais abundante da massa livre de gordura é o tecido muscular, a diminuição da força muscular decorrente da intervenção cirúrgica pode ser explicada, parcialmente, pela redução da massa muscular. Pereira *et al.*, (2012) avaliaram, por meio de um exame de ultrassonografia, a espessura (*i.e.*, distância entre a pele e a fáscia do músculo) do quadríceps femoral e bíceps braquial de indivíduos antes da cirurgia e após 30, 90 e 120 dias. Os autores observaram uma significativa e progressiva redução da espessura em ambos os músculos avaliados. Em consonância, um outro estudo também verificou uma redução na área de secção transversa e espessura do reto femoral, vasto medial e lateral 8 meses após à intervenção cirúrgica (LYYTINEN *et al.*, 2013). Esses resultados sugerem que a redução da massa muscular pode ser, de fato, o fator determinante para a perda de força muscular decorrente da cirurgia bariátrica. Desta maneira, entender os mecanismos envolvidos na regulação da massa muscular nesta condição se torna fundamental.

A manutenção da massa muscular é regulada por meio de um coordenado balanço entre a taxa de síntese e degradação de proteínas (PHILLIPS, 2014). Especificamente, o aumento da massa muscular, também referido como hipertrofia muscular, depende de períodos acumulados de balanço proteico positivo, ou seja, períodos em que a taxa de síntese proteica excede a taxa de degradação de proteína (BURD *et al.*, 2009). Em contrapartida, a perda da massa muscular, denominada como atrofia muscular, está associada à uma maior taxa de degradação de proteínas e suprimida taxa de síntese proteica (*i.e.*, balanço proteico negativo) (SANDRI, 2008). Com relação aos mecanismos

moleculares, a expressão das proteínas da via da *mTOR* são consideradas reguladores chave da massa muscular (BODINE, 2006). Em resumo, a ativação da proteína *mTOR* promove fosforilação da proteína *P70S6K* (regulador positivo) e inibição da proteína *4E-BP1* (regulador negativo) (BOLSTER, KIMBALL e JEFFERSON, 2003). Enquanto a ativação da *P70S6K* por meio da *mTOR* promove a tradução do RNA mensageiro, a inibição da proteína *4E-BP1* contém sua ação inibidora no fator de iniciação *eIF-4E*, permitindo a ação deste último no processo de iniciação da tradução (SANDRI, 2008).

Além do balanço entre síntese e degradação de proteínas, é bem aceito na literatura que as células satélites, um grupo de células tronco específicas do tecido muscular, não diferenciadas, localizadas entre o sarcolema e a membrana basal (MAURO, 1961), exercem papel fundamental no reparo e remodelamento da fibra muscular e, desta maneira, contribuem para a manutenção da massa muscular (JOANISSE *et al.*, 2017; SNIJDERS e PARISE, 2017). Rosenblatt *et al.*, (1992) investigaram o efeito da ablação das células satélites induzida pela exposição à radiação gama no aumento da massa muscular em um modelo animal de hipertrofia muscular compensatória (*i.e.*, remoção do músculo contralateral). Os autores verificaram que a depleção das células satélites prevenia à hipertrofia muscular. Em humanos, estudos mostram que o conteúdo de células satélites acompanha as adaptações morfológicas da fibra muscular. Por exemplo, em condições onde a massa muscular é reduzida (*e.g.*, desuso e envelhecimento) a população de células satélites também é diminuída (ROSENBLATT e PARRY, 1992; SCHULTZ, DARR e MACIUS, 1994; BEN-DOV *et al.*, 1999; ARENTSON-LANTZ *et al.*, 2016), enquanto o aumento da massa muscular induzido pelo treinamento físico está associado a um aumento na quantidade de células satélites (KADI e THORNELL, 2000; KADI *et al.*, 2004; MACKEY *et al.*, 2007; PETRELLA *et al.*, 2008), sugerindo um papel decisivo da célula satélite na plasticidade da fibra muscular.

A chegada de sinais sistêmicos tais como oxigênio, nutrientes e fatores de crescimento (*e.g.*, IGF-1, HGF, IL-6) na fibra muscular por meio da microvascularização também é considerado fundamental para a adaptabilidade do tecido muscular (KADI *et al.*, 2005; MCKAY *et al.*, 2008; MCKAY *et al.*, 2009; MCKAY *et al.*, 2012; MCKAY *et al.*, 2013). Neste cenário, um recente corpo de evidência sugere uma comunicação entre microvascularização e células satélites que depende, ao menos parcialmente, da relação espacial entre célula satélite e capilares (CHRISTOV *et al.*, 2007; NEDERVEEN *et al.*, 2016; JOANISSE *et al.*, 2017). Christov *et al.*, (CHRISTOV *et al.*, 2007) demonstraram

que a célula satélite ativada ($\text{Pax7}^+/\text{MyoD}^+$) está situada mais próxima do capilar quando comparado com a célula satélite quiescente ($\text{Pax7}^+/\text{MyoD}^-$). Um outro estudo constatou que um menor conteúdo de células satélites e capilares, como no músculo esquelético de indivíduos com obesidade (FRISBEE, 2003; FU *et al.*, 2016), está associado à uma maior distância entre célula satélite e capilar (NEDERVEEN *et al.*, 2016). Essa maior distância entre célula satélite e capilar, em teoria, pode afetar a entrega de oxigênio, nutrientes e fatores de crescimento para a fibra muscular e, por fim, alterar a capacidade de reparo e/ou remodelamento da fibra muscular.

Os efeitos da obesidade nos mecanismos de regulação da massa muscular ainda não estão claramente elucidados (CHEVALIER *et al.*, 2015; HULSTON *et al.*, 2018). Algumas evidências sugerem que indivíduos com obesidade apresentam uma taxa de síntese proteica atenuada quando expostos a um estímulo anabólico (*e.g.*, exercício ou nutrição) (GUILLET *et al.*, 2009; MURTON *et al.*, 2015; BEALS *et al.*, 2016). Essa resposta anabólica suprimida decorrente da elevada adiposidade pode ser explicada, ao menos parcialmente, por uma alterada sinalização intracelular de vias que regulam o balanço proteico assim como a diminuição de fatores determinantes para a manutenção da massa muscular tais como conteúdo de capilares e células satélites (FRISBEE, 2003; CHEVALIER *et al.*, 2015; BEALS *et al.*, 2016; FU *et al.*, 2016; BEALS *et al.*, 2018; BEALS *et al.*, 2019).

No que se refere as vias de sinalização intracelular, Beals *et al.*, (2018) observaram concomitantemente uma reduzida fosforilação da proteína *P70S6K* e taxa de síntese proteica em indivíduos com obesidade após estímulo anabólico (*i.e.*, exercício de força e ingestão de proteína) em comparação a um grupo de indivíduos com $\text{IMC} < 25 \text{ kg/m}^2$. Similarmente, um outro grupo de pesquisadores observaram uma expressão da proteína *P70S6K* fosforilada diminuída em indivíduos com obesidade em estado pós-absortivo quando comparado com indivíduos eutróficos (CHEVALIER *et al.*, 2015). Um estudo experimental demonstrou que células musculares de indivíduos com obesidade apresentam uma maior atividade do proteassoma em comparação com células musculares de indivíduos eutróficos, indicando uma elevada degradação proteica mediada pelo sistema ubiquitina-proteassoma (BOLLINGER *et al.*, 2015). Além disso, indivíduos com obesidade apresentam uma capacidade miogênica reduzida, o que pode ser atribuído a uma diminuição no conteúdo de células satélites, expressão de fatores regulatórios miogênicos (*i.e.*, Myf5, MyoD e Miogênina) (FU *et al.*, 2016) e rarefação capilar

(FRISBEE, 2003), todos fatores fundamentais para a manutenção da massa muscular (PETRELLA *et al.*, 2008; JOANISSE *et al.*, 2017; SNIJDERS e PARISE, 2017).

Os efeitos da cirurgia bariátrica nas vias de sinalização intracelular associadas à síntese e/ou degradação de proteínas e fatores miogênicos determinantes para a manutenção da massa muscular ainda estão para ser elucidados. No entanto, é razoável assumir que a cirurgia promova pequena, ou até mesmo nenhuma, melhora nestes mecanismos visto que indivíduos submetidos à intervenção cirúrgica são acometidos por uma atrofia muscular. Além disso, a restrição calórica, malabsorção dos nutrientes e o baixo consumo de proteínas característicos do período pós-operatório podem agravar ainda mais a resistência anabólica destes indivíduos (CHEN *et al.*, 2019).

2.4 Exercício físico como estratégia para contrapor a perda de massa muscular decorrente da cirurgia bariátrica.

O exercício físico, em particular o exercício de força, é um reconhecido estímulo anabólico capaz de promover distintas adaptações musculares como, por exemplo, ganhos de força e hipertrofia muscular, adição de mionúcleos, células satélites, capilares entre outros. (BODINE, 2006; SANDRI, 2008; BODINE e BAEHR, 2014; DAMAS *et al.*, 2015; JOANISSE *et al.*, 2017; BAMMAN, ROBERTS e ADAMS, 2018). Apesar da incontestável eficácia do treinamento de força em promover adaptações musculares em diversas populações (MORITANI e DEVRIES, 1979; HAKKINEN *et al.*, 1998; HAKKINEN *et al.*, 2001; CAMPOS *et al.*, 2002; NEWTON *et al.*, 2002; AHTIAINEN *et al.*, 2005; HOLVIALA *et al.*, 2006), os efeitos do exercício físico na massa muscular e mecanismos associados de indivíduos submetidos à cirurgia bariátrica ainda são escassos (STEGEN *et al.*, 2011; CAMPANHA-VERSIANI *et al.*, 2017; HERRING *et al.*, 2017; DANIELS *et al.*, 2018).

Grande parte dos estudos investigando os efeitos do exercício físico no músculo esquelético de indivíduos submetidos à cirurgia bariátrica utilizaram a medida da massa livre de gordura, por meio do exame de densitometria ou bioimpedância elétrica, para fazer inferência sobre a massa muscular (STEGEN *et al.*, 2011; COEN *et al.*, 2015a; CAMPANHA-VERSIANI *et al.*, 2017; HERRING *et al.*, 2017). Enquanto alguns estudos verificaram uma preservação da massa livre de gordura no grupo de indivíduos operados e treinados em comparação as suas contrapartes que não realizaram treinamento físico (CAMPANHA-VERSIANI *et al.*, 2017; HERRING *et al.*, 2017), outros estudos não

verificaram esse efeito protetor do exercício na massa livre de gordura (STEGEN *et al.*, 2011; COEN *et al.*, 2015a). Embora a densitometria e a bioimpedância elétrica sejam métodos não invasivos e amplamente utilizados na prática clínica, estas técnicas foram desenvolvidas essencialmente para distinguir massa de gordura, massa livre de gordura e massa óssea e, como consequência, não permitem uma precisa avaliação do tecido muscular (HAUN *et al.*, 2019).

Para o nosso conhecimento, apenas um estudo examinou os efeitos do exercício físico na massa muscular de indivíduos submetidos à cirurgia bariátrica utilizando uma medida direta (*i.e.*, área de secção transversa do músculo por meio da imagem de ressonância magnética). Neste estudo, os autores randomizaram pacientes após a cirurgia bariátrica em 2 grupos: um grupo realizou um programa de treinamento de força por 12 semanas e o outro grupo realizou apenas o tratamento médico padrão. Após o período de intervenção, os autores observaram uma redução equivalente na área de secção transversa dos músculos da coxa em ambos os grupos (DANIELS *et al.*, 2018). Esses resultados contestam a sugestão de que o exercício físico pode atenuar a perda de massa muscular proveniente da intervenção cirúrgica. No entanto, o curto período de intervenção utilizado no estudo (*i.e.*, 12 semanas) pode não ter sido o suficiente para detectar uma possível diferença entre os grupos. Vale destacar que para estes pacientes talvez seja necessário maiores períodos de treinamento físico visto que a atenuada resposta anabólica decorrente da obesidade (BEALS *et al.*, 2016; BEALS *et al.*, 2018) associada a drástica restrição calórica e o baixo consumo de proteína típicos do período pós-operatório podem retardar as possíveis adaptações do exercício físico na massa e função muscular. Desta maneira, estudos com maior tempo de duração, melhor controle nas variáveis do treinamento físico (*e.g.*, frequência, volume e intensidade) e avaliações do tecido muscular em nível microscópico e molecular ainda são necessários.

No que se refere aos efeitos do exercício físico nas adaptações microscópicas e moleculares do tecido muscular de indivíduos submetidos à cirurgia bariátrica a literatura científica é limitada. No entanto, alguns estudos com essa população nos permitem elucubrar algumas adaptações microscópicas e moleculares decorrentes do exercício físico. Por exemplo, Coen *et al.*, (2015) demonstraram que um programa de treinamento físico semi-supervisionado realizado por 6 meses diminuiu o conteúdo de ceramidas e a resistência à ação da insulina no músculo esquelético de mulheres com obesidade submetidas à intervenção cirúrgica. Considerando que a lipotoxidade oriunda do elevado

conteúdo de lipídio intramuscular e a resistência à ação da insulina influencia negativamente a massa muscular (TURPIN *et al.*, 2006; DE LARICHAUDY *et al.*, 2012), é razoável sugerir que mecanismos que regulam tanto a síntese (*e.g.*, via da *mTOR*) quanto a degradação de proteínas (*e.g.*, sistema ubiquitina-proteassoma e autofágico) tenham sido positivamente alterados.

Em uma outra perspectiva, uma sub-análise deste ensaio clínico demonstrou que o exercício físico aumentou os benefícios da cirurgia na resistência à ação da insulina, função endotelial e inflamação sistêmica de mulheres com obesidade mórbida. Em particular, o grupo treinado apresentou uma menor concentração de *TNF- α* após a intervenção ao passo que o grupo que não treinou teve um aumento nas concentrações de *TNF- α* (DANTAS *et al.*, 2018). O *TNF- α* é uma citocina pró-inflamatória amplamente reconhecida por ativar reguladores de degradação proteica no músculo esquelético (GARCIA-MARTINEZ *et al.*, 1993; GARCIA-MARTINEZ *et al.*, 1994). Além disso, uma vez que a inflamação sistêmica também tem mostrado afetar negativamente o remodelamento muscular por meio da supressão do programa miogênico (GUTTRIDGE *et al.*, 2000; BAKKAR *et al.*, 2008; TRENDLENBURG *et al.*, 2012), é sugestivo especular que a redução da inflamação proveniente do treinamento físico possa ter suprimido a degradação proteica e alterado o programa miogênico, favorecendo um ambiente anabólico no tecido muscular desses indivíduos.

Embora os estudos supramencionados possibilitem pressupor algumas adaptações nos mecanismos que regulam a massa muscular de indivíduos com obesidade submetidos à cirurgia bariátrica, até o momento, nenhum estudo clínico randomizado e controlado investigando os efeitos do exercício físico na massa muscular em diferentes níveis e mecanismos associados nesta condição foi realizado.

MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Delineamento Experimental

O presente estudo é um ensaio clínico controlado e randomizado. Esse estudo está registrado no portal norte-americano de ensaios aleatorizados *ClinicalTrials* (<http://www.clinicaltrials.gov>) com o número NCT02441361, conforme solicitado pelos jornais de grande impacto na área de saúde.

Os dados foram coletados entre março de 2015 e setembro de 2019 no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo sob o certificado de apresentação para apreciação ética (CAAE) 21056813.3.0000.0068 e número do parecer 470085 (Anexo 2).

Os pacientes foram recrutados no Centro de referência em Cirurgia Bariátrica e Metabólica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Os critérios de inclusão foram os seguintes: mulheres candidatas a cirurgia bariátrica ($\text{IMC} > 40$ ou $\geq 35 \text{ kg/m}^2$ com comorbidades associadas; 30-55 anos de idade; não estar engajado em programa de treinamento físico nos últimos 12 meses. Já os critérios de exclusão consistiram em: histórico de câncer nos últimos 5 anos e/ou; doença cardiovascular, desordem musculoesquelética ou neurológica que impossibilite a realização de um programa de treinamento físico.

Após a triagem inicial, os pacientes que aceitaram participar do estudo foram randomicamente alocados (1:1) no grupo cirurgia bariátrica (RYGB) ou cirurgia bariátrica mais treinamento físico (RYGB+TF) com o auxílio de um *software online* (<http://www.randomization.com>). Importaneamente, todos os pacientes receberam o tratamento pós-cirúrgico padrão. Antes da cirurgia (PRE), 3 (3MESES) e 9 (9MESES) meses após a intervenção cirúrgica foram avaliadas a força muscular, funcionalidade, nível de atividade física, composição corporal e a aptidão aeróbia. Além disso, amostras de tecido muscular foram coletadas em todos os tempos. Adicionalmente, um grupo controle (CTRL) composto por mulheres eutróficas realizaram todas as avaliações propostas a fim de gerar valores comparativos para as possíveis modificações observadas nos indivíduos com obesidade após o período experimental. A Figura 3 ilustra o desenho experimental.

Figura 3. Representação esquemática do desenho experimental. 3MESES: 3 meses após a cirurgia; 9MESES: 9 meses após a cirurgia; CTRL: grupo controle de mulheres eutróficas.

4.2 Treinamento físico

O grupo RYGB+TF realizou um programa de treinamento físico supervisionado 3 vezes por semana por 6 meses (iniciado 3 meses após a cirurgia bariátrica). Já o grupo RYGB recebeu apenas o atendimento pós-cirúrgico padrão.

A sessão de treinamento físico consistiu em 5 minutos de aquecimento em esteira rolante seguido por exercícios de força (*leg-press* 45°, supino horizontal, agachamento, puxada frontal, cadeira extensora, remada sentada, flexão plantar bilateral) e exercício aeróbio em esteira rolante. O protocolo de exercícios de força consistiu em 3 séries de 8-12 repetições máximas em todos os exercícios com um intervalo de 60 segundos entre as séries. A carga dos exercícios de força foi aumentada (5%) a partir do momento em que o indivíduo realizava um número de repetições maior que 12. O treinamento aeróbio consistiu de 30 a 60 minutos (progressão de 10 minutos a cada 4 semanas) de caminhada em esteira rolante com intensidade correspondente a 50% da diferença entre o entre limiar aeróbio ventilatório e o ponto de compensação respiratório, que corresponde a uma intensidade moderada (LANSLEY *et al.*, 2011). A frequência cardíaca (Polar® S810i, Kempele, Finlândia) foi monitorada em todas as sessões de treinamento aeróbio a fim a garantir a intensidade apropriada (BORG, LJUNGGREN e CECI, 1985). A sessão de treinamento teve uma duração de 60-90 minutos. Quaisquer eventos adversos, sinais ou sintomas tais como sensação de fadiga geral, dor nos tecidos moles ou lesões deveriam ser relatados. Em todas as sessões um registro de presença foi assinado a fim de monitorar a adesão ao protocolo de intervenção.

4.3 Teste de força dinâmica máxima – 1RM

A força dinâmica máxima dos membros inferiores e superiores foi avaliada no exercício *leg-press* 45° e supino horizontal (Nakagym, modelo NK5970, SP, Brasil), respectivamente. Os testes de 1RM seguiram os procedimentos propostos pela Sociedade Americana de Fisiologistas do Exercício (BROWN; WEIR, 2001). Resumidamente, os pacientes realizaram um aquecimento geral em esteira rolante a 9 Km/h durante 5 minutos seguido por leves exercícios de alongamento. Em seguida, foi realizado um aquecimento específico composto de uma série de 8 repetições com aproximadamente 50% 1RM (estimado na sessão de familiarização) e uma série de 3 repetições com aproximadamente 70% 1RM, com dois minutos de intervalo entre as séries. Três minutos após o término do aquecimento, foi iniciado o teste de 1RM. A força dinâmica máxima foi determinada no máximo em cinco tentativas com três minutos de intervalo entre elas.

O exercício *leg-press* 45° foi iniciado com a extensão total dos joelhos. A partir dessa posição, os participantes flexionaram os joelhos e o quadril, até atingirem a posição de 90° de flexão. Para que os pacientes identifiquem a amplitude correta do movimento durante o teste, uma marcação foi colocada ao longo do trilho onde a plataforma de apoio dos pés desliza. Ao atingirem essa marcação, os pacientes deveriam estender os joelhos até a posição inicial, finalizando o ciclo do movimento. O exercício supino horizontal foi realizado em um *Smith machine*. A distância entre as mãos na pegada da barra foi determinada pelo próprio voluntário e reproduzida em todas avaliações. A amplitude do movimento na fase excêntrica foi limitada ao toque da barra ao tronco do indivíduo que, em seguida, deveria levantar a barra verticalmente até a extensão completa dos cotovelos. Os indivíduos foram encorajados verbalmente durante a realização de todas as tentativas.

O coeficiente de variação das medidas do teste de força para os membros inferiores e superiores foi 2,80 e 1,12%, respectivamente.

4.4 Avaliação da funcionalidade

A funcionalidade dos indivíduos foi avaliada por meio dos testes de “sentar e levantar” (*i.e.*; *timed-stands test*) (NEWCOMER, KRUG e MAHOWALD, 1993) e “levantar e ir” (*i.e.*; *timed-up-and-go*) (PODSIADLO e RICHARDSON, 1991). Todos os pacientes realizaram 2 sessões de familiarização antes da realização dos testes.

Para o teste de “sentar e levantar”, a paciente iniciou o teste na posição sentada em uma cadeira com os braços cruzados a frente do tronco. Em seguida, a paciente foi

instruída a levantar e sentar na cadeira, sem o auxílio das mãos, o maior número de vezes ao longo de 30 segundos. As pacientes realizaram 2 tentativas e o maior número de repetições realizado foi utilizado para análise. Um intervalo de 60 segundos foi dado entre as tentativas.

No teste de “levantar e ir” foi mensurado o tempo necessário para que o paciente se levante de uma cadeira (~ 45 cm de altura) sem auxílio das mãos, ande 3 metros e retorne para a cadeira. A paciente foi orientada a realizar o percurso no menor tempo possível. Três tentativas foram realizadas e a tentativa executada no menor tempo foi utilizada para análise. Um intervalo de 60 segundos foi respeitado entre as tentativas. Os indivíduos foram encorajados verbalmente durante a realização de todas as tentativas em ambos os testes.

O coeficiente de variação para o teste de “sentar e levantar” e “levantar e ir” foi 2,16 e 3,53%, respectivamente.

4.5 Avaliação do nível de atividade física

O nível de atividade física foi avaliado por meio do uso de um acelerômetro triaxial (Actigraph wGT3X-BT, Pensacola, Florida, USA). Este equipamento consiste de um dispositivo pequeno, colocado na altura da crista ilíaca direita do indivíduo por meio de uma fita de encaixe presa a cintura pélvica, capaz de coletar informações nos planos médio-lateral (X), ântero-posterior (Y) e vertical (Z), bem como a composição (vetor resultante) desses três planos e, a partir disso, estima o nível de atividade física. As pacientes foram instruídas a utilizar o equipamento por 7 dias, sendo necessário o mínimo de 5 dias válidos (*i.e.*, tempo válido de registro maior do que 10 horas por dia), durante todo o tempo em que os pacientes estiveram acordados, exceto durante o banho e em atividades aquáticas. Adicionalmente, um diário de uso do aparelho com horário de colocação e de possíveis retiradas foi preenchido pela própria paciente.

Os dados coletados foram descarregados em um computador através do *software* ActiLife versão 6.6.2. Os sinais coletados pelo aparelho foram convertidos para “*counts*” de atividade, os quais foram registrados a cada 15 segundos, e posteriormente agrupados a cada 60 segundos para facilitar a descrição e análise. Foram analisados o tempo gasto por dia (*i.e.*, razão entre o tempo total pelo número de dias em que o aparelho foi utilizado) e a porcentagem do tempo gasto por dia (*i.e.*, razão entre o tempo gasto em cada atividade pelo tempo total de uso do aparelho por dia, multiplicado por 100) em

atividades sedentárias, leves e moderadas à vigorosas. Para isso, os pontos de cortes do próprio *software* foram utilizados, sendo eles: 0 a 99 *counts* – atividade sedentária; 100 a 1951 *counts* – atividade leve; 1952 a 5724 *counts* – atividade moderada. 5725 a 9498 *counts* – atividade vigorosa e; valores maiores do que 9499 *counts* – atividade muito vigorosa (FREEDSON, MELANSON e SIRARD, 1998). Um maior valor representa um maior nível de atividade física, ou seja, maior tempo gasto em atividades moderadas à vigorosas, enquanto um elevado tempo gasto em atividades sedentárias indicam um menor nível de atividade física.

4.6 Antropometria e composição corporal

A massa corporal foi obtida com o auxílio de uma balança digital (*i.e.*, Filizola, PL 200 kg) e, nesta mesma balança, a estatura foi determinada na posição em pé, com auxílio de um estadiômetro. A partir dessas medidas foi calculado o IMC (*i.e.*; peso/estatura²). A composição corporal (*i.e.*; massa de gordura e massa livre de gordura) foi avaliada por meio da densitometria de dupla emissão com fonte de raio-X (Lunar iDXA densitometer, GE Healthcare, Madison, WI, USA).

4.7 Avaliação Nutricional

A avaliação nutricional foi realizada por meio de recordatório alimentar em três dias não consecutivos, sendo um deles no fim de semana (BASIoTIS *et al.*, 1987; BEATON, 1994; MA *et al.*, 2009). Para auxiliar na quantificação das porções alimentares nos recordatórios, foram utilizados desenhos da cartilha desenvolvida e validada por nosso grupo e um livro contendo fotos de 100 porções alimentares (POLACOW, SCAGLIUSI e LANCHÁ JUNIOR, 2003). Os recordatórios foram aplicados por uma nutricionista experiente e treinada. Os dados foram tabulados por um único avaliador, com o auxílio do programa Avanutri em sua versão *online*. Foram avaliadas as ingestões de energia (em Kcal) e macronutrientes (em gramas e porcentagem total).

4.8 Avaliação da aptidão aeróbia

A aptidão aeróbia foi determinada através do teste ergoespirométrico em esteira rolante (Centurion 200, Micromed), seguindo um protocolo de rampa com aumento a cada minuto na carga de trabalho (velocidade e/ou inclinação) até a exaustão. Durante o teste de esforço, o comportamento cardiovascular foi continuamente avaliado através de

um eletrocardiógrafo, com as 12 derivações simultâneas. A frequência cardíaca (FC) e pressão arterial (PA) foram registradas continuamente ao longo de todo o teste de esforço e nos 2 primeiros minutos de recuperação. A potência aeróbia máxima ($\text{VO}_{2\text{pico}}$), limiar anaeróbio ventilatório (LAV) e ponto de compensação respiratória (PCR) foram avaliados através da medida direta do consumo de oxigênio através de um sistema de sensor que permite a mensuração da ventilação pulmonar (VE) a cada expiração (*Metalyzer modelo III b/ breath-by-breath*).

O $\text{VO}_{2\text{pico}}$ foi considerado como a média dos valores nos últimos 30 segundos de esforço. O término do esforço ocorreu quando a paciente não conseguiu manter a velocidade imposta pelo ergômetro e sinalizou para que o teste fosse interrompido. Para confirmar a ocorrência do $\text{VO}_{2\text{pico}}$, ao menos 2 dos 3 critérios a seguir deveriam ser atingidos: 1) incidência de um platô no VO_2 (*i.e.*, aumento menor que 150 mL/min); 2) razão de trocas respiratórias acima de 1,1; e/ou 3) atingir uma FC de pelo menos 10 batimentos abaixo da FC máxima predita pela idade (POOLE, WILKERSON e JONES, 2008). Os critérios para determinação do LAV foram: 1) aumento do equivalente ventilatório de oxigênio (VE/VO_2) sem aumento no equivalente ventilatório de dióxido de carbono (VE/VCO_2) e; 2) aumento na pressão parcial de oxigênio (PetO_2). Para determinação do PCR foram considerados os seguintes critérios: 1) aumento concomitante no VE/VO_2 e VE/VCO_2 e; 2) redução na pressão parcial de dióxido de carbono (PetCO_2) (WASSERMAN *et al.*, 1973).

Todos os testes foram determinados por 2 avaliadores experientes e, em caso de divergência, foi solicitado a determinação por um outro avaliador. Todos os testes foram conduzidos sob a supervisão de um médico.

4.9 Biópsia muscular por agulha de sucção

As pacientes foram submetidas à biópsia muscular por agulha de sucção da porção média do músculo vasto lateral. Esse procedimento foi realizado pela manhã após 8 horas de jejum e 72 – 96 horas após a última sessão de exercício físico ou teste de esforço.

Antes da extração do tecido, a área foi limpa com antisséptico e, em seguida, a região selecionada foi anestesiada com 3 mL de xilocaína a 2%, injetada subcutaneamente. Após anestesia, uma pequena incisão (~5cm) foi feita até a fáscia do músculo utilizando um bisturi cirúrgico. Então, a agulha de biópsia (modelo Bergström) foi introduzida na porção lateral do vasto lateral em uma profundidade de ~4cm (variando

conforme a espessura da gordura subcutânea) e após a sucção, aplicada na extremidade superior externa da agulha por uma seringa de 120 mL, uma pequena amostra de tecido muscular foi cortada pela lâmina interna da agulha. Após a retirada da agulha, foi aplicada pressão sobre o ponto de incisão para prevenir sangramento e a incisão foi fechada e coberta com bandagens (TARNOPOLSKY *et al.*, 2011).

Imediatamente após a retirada do fragmento (~150 mg), as amostras visíveis de tecido adiposo ou conectivo foram retiradas usando um microscópio de dissecação padrão (Quimis Q7740SZ, Quimis Equipamentos Científicos, Brasil) e alíquotas foram separadas para análises futuras. Após a separação das alíquotas, as amostras foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e conservadas em -80 °C até o momento das análises. Especificamente para a realização do ensaio de imunofluorescência, um fragmento de músculo esquelético (~ 20 mg) foi colocada em meio de incorporação para temperatura ótima de corte (OCT) (*Tissue-Tek, Sakura Finetek Europe B.V., Zoeterwoude, Holanda*) com as fibras musculares orientadas transversalmente e rapidamente congeladas, primeiro em isopentano resfriado por nitrogênio líquido e, depois, em nitrogênio líquido.

4.10 Avaliação da área de secção transversa, quantidade de mionúcleos, domínio mionuclear, capilarização e conteúdo de células satélites

Para análise da área de secção transversa da fibra muscular, quantidade de mionúcleos, células satélites, capilares e domínio mionuclear foi utilizada a técnica de imunofluorescência. Para isso foram utilizadas secções transversais de 7 µm, preparadas a partir de amostras montadas com OCT e trazidas à temperatura ambiente e fixadas em metanol resfriado por 10 minutos, lavadas e em seguida bloqueadas por 60 minutos em tampão fosfato-salino (contendo 5% de *goat serum* e 0,3% de Triton X-100). Para quantificação da área de secção transversa da fibra muscular por tipo de fibra, mionúcleos, células satélites e capilares, as lâminas foram incubadas com anticorpos primários contra MHCI, Laminina, Pax7 e CD31 e anticorpos secundários apropriados. Os núcleos foram visualizados com a colocação de meio de montagem fluorescente contendo 40,6-diamino-2 fenilindole (Abcam, *Mounting Medium With DAPI - Aqueous, Fluoroshield*, ab104139) antes das lâminas serem cobertas com lamínula. A descrição detalhada dos anticorpos é apresentada no Apêndice 2.

As imagens foram observadas e obtidas em um microscópio acoplado e um sistema fluorescente com ampliação de 20x. (Leica Qwin, Leica Microsystems, Alemanha). Para a quantificação da área de secção transversa da fibra muscular, quantidade de mionúcleos, domínio mionuclear e células satélites um mínimo de 120 fibras foram analisadas conforme previamente sugerido (MACKEY *et al.*, 2009). A quantificação da capilarização da fibra muscular foi realizada em um mínimo de 50 fibras conforme previamente descrito (HEPPLE *et al.*, 1997). Os parâmetros analisados foram: número de capilares (CC, número de capilares ao redor da fibra); a razão entre o número de capilares por fibra (C/Fi); e o índice capilar por perímetro da fibra (CFPE, do inglês *capillary-to-fibre perimeter exchange index*, variável que estima possíveis alterações no fluxo de oxigênio da fibra muscular). A montagem das imagens obtidas e determinação da área de secção transversa, quantidade de células satélites, mionúcleos e capilares foi realizada por um pesquisador cego utilizando o programa ImageJ v. 1.8.0_24. O coeficiente de variação entre as medidas foi: área de secção transversa da fibra muscular das fibras tipo I e II: 3,7 e 3,5%, respectivamente; quantidade de mionúcleo das fibras tipo I e II: 3,7 e 3,3%, respectivamente; CC: 3,3%; C/Fi: 4,4%; CFPE: 2,6%; e células satélite: 3,4%.

4.11 Sequenciamento gênico em larga escala do músculo esquelético (RNA-seq) e tratamento estatístico

Para o sequenciamento de RNA mensageiro (RNA-seq), o RNA do tecido muscular foi extraído (6 pacientes por grupo nos períodos PRE e POST9) utilizando o *Mini Kit RNeasy Fibrous Tissue Tissue* (Qiagen®). A concentração total de RNA foi avaliada por espectrofotometria à 260 nm (GE Healthcare®) e o número de integridade do RNA ($RIN \geq 7$) foi verificado por eletroforese capilar usando o *Bioanalyzer 2100* (Agilent®). A construção e o sequenciamento da biblioteca de RNA foram realizadas no Centro de Pesquisa Biomédica e Genômica de Pennington (*Genomics Pennington Biomedical Research Center Core*). A concentração da amostra foi normalizada e os *pools* de cDNA foram criados para cada amostra e subsequentemente marcados com um adaptador oligo com um código de barras para permitir a resolução específica da amostra utilizando o *Quant-seq® 3 'mRNA-Seq Library Prep Kit* (Lexogen®). O sequenciamento foi realizado usando uma plataforma *Illumina Seq 2500* (Illumina®) com leituras de extremidade única de 75 pb. As leituras foram alinhadas ao genoma de referência humana

(GRCh38.77). A anotação e a preparação dos dados do sequenciamento para as seguintes análises foram realizadas pelo script R personalizado (TEAM, 2010) com anotações baixadas do *BioMart* (R.V3.4.3, Rstudio V1.1.423 e *biomaRt* V2.24.1).

Os dados brutos foram normalizados (via normalização TMM) no *edgeR* (ROBINSON, MCCARTHY e SMYTH, 2010) e ajustados para efeitos de variação média via função *voom no limma* (LAW *et al.*, 2014). A análise da expressão gênica diferencial foi realizada via *limma empirical Bayes analysis pipeline* com o ajuste da matriz para os modelos de análise pareada ou não-pareada, dependendo dos contrastes específicos. Os genes/vias foram considerados diferencialmente expressos com base em uma taxa de descoberta falsa (FDR, do inglês false discovery rate) $\leq 10\%$ e na mudança absoluta ($\log_2$ fold-change) $> 1,5$. A análise de enriquecimento das vias foi realizada pelo método pré-marcado com o auxílio do *software* online GSEA (SUBRAMANIAN *et al.*, 2005), consultando um banco de dados “personalizado”, composto por um conjunto de genes retirados da plataforma online PathCards: *Pathway Unification Database* (<https://pathcards.genecards.org/>). Os enriquecimentos com $FDR \leq 10\%$ e mudança absoluta $> 1,5$ foram considerados significativos. Os dados brutos do *Quant-Seq* foram depositados no banco de dados NCBI GEO (acesso GSE 137631).

4.12 Avaliação da Expressão Gênica do Músculo Esquelético

Foram homogeneizados ~20 mg de tecido muscular em 1 mL de Trizol (Invitrogen) conforme instruções do fabricante. O RNA precipitado foi lavado com etanol 75% para eliminação de resíduos de fenol e sal, e solubilizado em água tratada com DEPC. A concentração das amostras foi quantificada por meio do espectrofotômetro *NanoDrop* (NanoDrop Technologies, USA). Além disso, a integridade e pureza do RNA mensageiro foi verificada através do *Agilent 2100 Bioanalyzer* (Agilent Technologies, CA, USA). O RNA isolado foi armazenado em -80°C até sua utilização.

Para tanto, a transcrição reversa foi realizada utilizando o *SuperScript™ III Platinum™ One-Step qRT-PCR Kit®* (ThermoFisher Scientific, MA, USA) de acordo com orientações do fabricante. A expressão do RNA mensageiro (mRNA) foi avaliada por meio da reação em cadeia de polimerase em tempo real (RT-PCR) dos genes *HIF-1 α* (do inglês *hypoxia-inducible factor 1-alpha*), *ANGPT1* (do inglês *angiopoietin-1*), *ANGPT2* (do inglês *Angiopoietin-2*), *MDM2* (do inglês *murine double minute 2*), *TEK* (do inglês *receptor tyrosine kinase*), *THBS1* (do inglês *thrombospondin-1*), *VEGF* do

inglês *vascular endothelial growth factor*), *MuRF-1* (do inglês *Muscle RING finger 1*), *Atrogin-1*, *BNIP3* (do inglês *BCL2/adenovirus E1B interacting protein 3*), *BECN1* (do inglês *beclin 1*), *LAMP2* (do inglês *lysosome-associated membrane protein 2*), *CTSL1* (do inglês *Cathepsin 1*) e $\beta 2M$ (do inglês $\beta 2$ microglobulin) utilizando primers específicos conforme descrição no apêndice 3. As sequências foram adquiridas pelo site www.ncbi.nih.gov/nucleotide e para montagem do mapa gênico da sequência escolhida foi utilizado o *software online Primer 3 Input* (<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0>).

A quantificação da fluorescência foi feita pelo sistema de detecção de sequências *ABI Prism 7500* (Applied Biosystems, USA). Os resultados foram expressos utilizando o método de limiar comparativo dos ciclos (Ct) conforme descrito pelo produtor do sistema. Os valores de delta Ct (DCt) foram calculados para cada amostra e para cada gene de interesse, exceto o Ct do gene normalizador ($\beta 2M$) (LIVAK e SCHMITTGEN, 2001). Os resultados foram expressos em % do PRE do respectivo grupo experimental.

4.13 Avaliação da Expressão Proteica do Músculo Esquelético

Aproximadamente 40 mg de tecido muscular foi pesado e homogeneizado em tampão de lise contendo 20 mM Tris-HCl (pH 7.5), 150 mM NaCl, 1 mM Na₂EDTA, 1 mM EGTA, 1% NP-40, 1% deoxicolato de sódio, 2.5 mM pirofosfato de sódio, 1 mM beta-glicerofosfato, 1 mM ortovanadato de sódio, 1µg/mL leupeptina, 1 mM PMSF e inibidores de protease e fosfatase (1:300, Sigma-Aldrich, USA). O homogenato foi centrifugado à 14000 g, 10 minutos à 4°C. O sobrenadante foi transferido para tubos *epENDORF* de 1.5 mL e a concentração de proteínas foram analisadas por meio do *Pierce™ BCA Protein Assay Kit* (ThermoFisher Scientific, MA, USA) de acordo com orientações do fabricante. Quarenta microgramas de proteína foram diluídos em tampão de amostra (240 mM Tris-HCl pH 6.8, 0.8% SDS, 200 mM β -mercaptoetanol, 40% glicerol e 0.02% azul de bromofenol), aquecidas a 100°C por 5 minutos, distribuídas em alíquotas e armazenadas em -80°C.

A análise da expressão de proteínas foi realizada pela técnica de *Western Blotting*. Para tanto, foi utilizada a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida (Mini-Protean®TGX™ Precast protein Gel, Bio-rad, USA) em um aparato para minigel (Mini-Protean® Tetra Cell System, Bio-rad, USA) a 110 V. A transferência das proteínas separadas no gel de poliacrilamida para membrana de nitrocelulose foi feita realizada a 70-100 V com duração de 1 hora e 30-50 minutos. Posteriormente, a ligação inespecífica

de proteínas na membrana de nitrocelulose foi minimizada pela incubação com 10 mL de solução bloqueadora (5% *non-fat milk* em solução tampão Tris com Tween [TBS-T]) por 1 hora em temperatura ambiente. Em seguida, as membranas foram lavadas com solução TBS-T (5 x de 5 minutos) e solução TBS (1 x de 10 minutos). A membrana de nitrocelulose foi incubada *overnight* com o anticorpo primário que se liga a proteína de interesse, formando um complexo anticorpo-proteína. A descrição detalhada dos anticorpos é apresentada no apêndice 4.

No dia seguinte, a membrana de nitrocelulose foi novamente lavada com TBS-T (5 x de 5 minutos) e solução TBS (1 x de 10 minutos) e, incubada com anticorpo secundário conjugado a *horseadish peroxidase* (HRP), direcionando a porções espécies-específicas do anticorpo primário. A imunodeteção foi realizada utilizando um aumentador de sinal de quimioluminescência (SuperSignal™ West Femto Substrate, ThermoFisher Scientific), posteriormente, visualizadas através do fotodocumentador ImageQuant LAS 4000 (GE® Healthcare, USA) e quantificadas pelo programa ImageJ v. 1.8.0_24. A variação de gel para gel e a carga de proteína foram controladas usando uma amostra padronizada em cada gel. Como normalizador foi utilizada a quantificação do rastro de proteínas por meio da coloração das membranas com s-Ponceau conforme previamente sugerido (ROMERO-CALVO *et al.*, 2010).

4.14 Tratamento estatístico

O tamanho da amostra foi calculado com auxílio do software G-Power (Versão 3.1.9.2, Universidade de Kiel, Alemanha). O tamanho da amostra foi determinado *a priori* assumindo um poder ($1 - \text{erro } \beta$) de 0,99 e erro α de 0,01. O cálculo foi baseado em uma análise de variância (teste F) para medidas repetidas com interações intra e intergrupos. O tamanho do efeito utilizado [*i.e.*, 0,8, menor valor considerado como tamanho do efeito grande segundo COHEN (1988) foi baseado no estudo de STEGEN *et al.* (2011)] que observou um tamanho do efeito de 1,9 para o aumento da força muscular dos membros inferiores de pacientes submetidos à cirurgia bariátrica e a um programa de treinamento físico. O número amostral total retornado pelo software foi de 20 sujeitos. A fim de minimizar efeitos de uma possível perda amostral e aumentar o poder dos nossos resultados foi recrutado o maior número de pacientes possíveis entre março de 2015 e setembro de 2019 (*i.e.*, 80 pacientes).

Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão e, sempre que foi encontrado diferença estatística entre os grupos, também apresentamos a diferença média estimada entre os grupos e o intervalo de confiança (IC95%). Todas as variáveis dependentes deste estudo foram analisadas por intenção de tratamento. Antes da análise inferencial, a presença de *outliers* e a normalidade dos dados (através do teste de *Shapiro-Wilk*) foi verificada conforme previamente recomendado (GHASEMI e ZAHEDIASL, 2012; VETTER, 2017). Tendo garantido os pressupostos fundamentais para a análise da variância, uma análise de modelos mistos para medidas repetidas assumindo grupo (dois níveis [RYGB e RYGB+TF]) e tempo (três níveis [PRE, 3MESES e 9MESES]) como fatores fixos e os sujeitos como fatores aleatórios será realizada para cada variável dependente. Em caso de F significativo, um *post hoc* de *Tukey* foi aplicado para comparações múltiplas. As variáveis de composição corporal e aptidão aeróbia também foram analisadas utilizando apenas os casos completos a fim de verificar a eficácia da intervenção. Para isso, a diferença absoluta entre os tempos 9MESES e PRE foi calculada em cada um dos grupos experimentais e, em seguida, os grupos foram comparados por meio de um teste t de *Student* para amostras independentes. A fim de verificar se os grupos experimentais (RYGB e RYGB+TF) ao final do período experimental adquiriam características musculares comparáveis ao grupo controle de mulheres eutróficas, os valores brutos das variáveis de área de secção transversa das fibras musculares, capilarização, conteúdo de células satélites, força muscular e funcionalidade de cada paciente no momento 9MESES foram transformados em escores padronizados (*i.e.*, escore Z) com os valores de média e desvio padrão do grupo controle de mulheres eutróficas como referência. Essa análise propõe que quanto mais próximo de zero, mais comparável ao grupo controle de mulheres eutróficas. Além disso, a fim de comparar estatisticamente o escore Z de cada variável e de cada grupo experimental com o grupo controle de mulheres eutróficas, uma análise de variância de uma via foi realizada e, em caso de F significativo, um *post hoc* de *Dunnnett* foi aplicado para comparações múltiplas. O nível de significância adotado foi de $P \leq 0,05$. Todas as análises foram realizadas no *software* SAS®, versão 9.3, (SAS Intitute INC., Cary, NC, USA)

RESULTADOS

5.1 Recrutamento e características basais

A Figura 2 e a Tabela 1 apresentam o fluxograma e as características basais dos pacientes, respectivamente. Um total de 338 pacientes elegíveis para cirurgia bariátrica foram triados, 80 pacientes atenderam os critérios de inclusão e aceitaram a participar do estudo. Em seguida, as pacientes foram randomicamente alocadas no grupo RYGB (n = 40) ou RYGB+TF (n = 40). Oito pacientes do grupo RYGB e 7 do grupo RYGB+TF desistiram da cirurgia. Ao longo do seguimento, 6 pacientes (3 em cada grupo) abandonaram o estudo por motivos pessoais. Os pacientes alocados no grupo RYGB+TF compareceram em $83,4 \pm 11,6\%$ das sessões de treinamento planejadas. Nenhum evento adverso relacionado a intervenção foi reportado ao longo do seguimento. No que se refere as características basais dos grupos, nenhuma diferença estatisticamente significativa entre os grupos RYGB e RYGB+TF foi observada (todos $P > 0,05$). Em relação ao grupo controle de mulheres eutróficas (CTRL), um total de 52 mulheres foram triadas. Trinta e duas mulheres foram excluídas por não atenderem os critérios de inclusão e, portanto, 20 mulheres eutróficas foram utilizadas para análise.

Tabela 1 – Características basais dos grupos.

Variáveis	RYGB (n = 40)	RYGB+TF (n = 40)	Valor de P	CTRL (n = 20)
Idade, anos	42 $\pm$ 8	38 $\pm$ 7	0,0719	38 $\pm$ 6
. Composição corporal				
Massa corporal, kg	124,6 $\pm$ 21,4	127,0 $\pm$ 22,0	0,6159	63,1 $\pm$ 5,5
IMC, kg/m ²	47,4 $\pm$ 7,6	48,9 $\pm$ 6,5	0,3533	21,8 $\pm$ 1,4
Massa de gordura, kg	62,9 $\pm$ 14,9	65,5 $\pm$ 14,2	0,4314	15,6 $\pm$ 3,0
Massa livre de gordura, kg	56,6 $\pm$ 6,9	56,2 $\pm$ 7,2	0,8504	41,4 $\pm$ 6,5
Massa livre de gordura dos MMII, kg	20,9 $\pm$ 3,8	21,5 $\pm$ 3,5	0,5237	14,0 $\pm$ 1,6
Massa livre de gordura dos MMSS, kg	6,4 $\pm$ 0,8	6,1 $\pm$ 1,1	0,2396	4,3 $\pm$ 0,9
. Medicação				
β -bloqueadores, n (%)	5 (12,5)	4 (10,0)	>0,9999	-
Metformina, n (%)	5 (12,5)	6 (15,0)	>0,9999	-
Insulina, n (%)	5 (12,5)	2 (5,0)	0,4315	-
Inibidores da ECA, n (%)	5 (12,5)	7 (17,5)	0,7555	-

Tabela 1 – Continuação.

Variáveis	RYGB (n = 40)	RYGB+TF (n = 40)	Valor de P	CTRL (n = 20)
Inibidores dos canais de cálcio, n (%)	1 (2,5)	2 (5,0)	>0,9999	-
Antagonista do receptor ANG II, n (%)	9 (22,5)	8 (20,0)	>0,9999	-
Diuréticos, n (%)	10 (25,0)	11 (27,5)	>0,9999	-
. Força muscular e funcionalidade				
1RM <i>leg-press</i> , kg	190 ± 60	201 ± 56	0,4337	177 ± 37
1RM <i>leg-press</i> , kg/MC	1,5 ± 0,49	1,6 ± 0,5	0,6283	2,9 ± 0,5
1RM supino, kg	36 ± 8	38 ± 8	0,4198	33 ± 12
1RM supino, kg/MC	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,7625	0,5 ± 0,2
Teste de “levantar e ir”, s	7,6 ± 1,1	7,4 ± 1,0	0,6339	4,7 ± 0,4
Teste de “sentar e levantar”, reps	13 ± 2	14 ± 2	0,0820	22 ± 2
. Nível de atividade física				
Tempo sedentário, min/dia	538 ± 110	588 ± 162	0,3006	587 ± 82
Tempo sedentário, %/dia	65 ± 10	67 ± 10	0,5560	67 ± 5
Atividade física leve, min/dia	271 ± 97	234 ± 94	0,2675	222 ± 55
Atividade física leve, %/dia	32 ± 10	27 ± 11	0,1590	25 ± 5
MVPA, min/dia	26 ± 13	37 ± 28	0,1745	57 ± 22
MVPA, %/dia	3 ± 2	4 ± 3	0,2170	6 ± 2
. Aptidão aeróbia				
LAV, mL/kg/min	8,6 ± 1,72	9,6 ± 2,4	0,2020	16,5 ± 5,2
PCR, mL/kg/min	13,8 ± 2,21	14,0 ± 2,4	0,6839	27,5 ± 6,6
VO ₂ pico, mL/kg/min	15,5 ± 2,7	15,8 ± 2,3	0,5453	33,2 ± 6,8

Dados são expressos em média ± desvio padrão ou nº de pacientes (%). RYGB: Grupo cirurgia bariátrica; RYGB+TF: Grupo cirurgia bariátrica mais treinamento físico; CTRL: Grupo controle de mulheres eutróficas; 1RM: força máxima dinâmica; MMII: membros inferiores; MMSS: membros superiores; ECA: enzima conversora de angiotensina; ANG: angiotensina; MC: massa corporal; MVPA: atividade física moderada-vigorosa; LAV: Limiar anaeróbio ventilatório; PCR: ponto de compensação respiratório. VO₂: Consumo de oxigênio.

Figura 2 – Fluxograma do estudo. RYGB: Grupo cirurgia bariátrica; RYGB+TF: Grupo cirurgia bariátrica mais treinamento físico; CTRL: Grupo controle de mulheres eutróficas; ITT: intenção de tratamento.

5.2 Força muscular, funcionalidade, nível de atividade física e aptidão aeróbia

Ambos os grupos apresentaram redução significativa da força muscular absoluta dos MMII no momento 3MESES em comparação ao PRE (efeito principal de tempo: $P < 0,0001$). O grupo treinado apresentou um aumento da força muscular absoluta dos MMII no momento 9MESES em relação ao 3MESES ($P < 0,001$), enquanto o grupo não treinado não apresentou mudança significativa na força absoluta dos MMII na mesma comparação ($P < 0,001$). Quando comparado os grupos após o período de intervenção (*i.e.*, 9MESES), o grupo RYGB+TF demonstrou valores superiores de força absoluta dos MMII em comparação ao grupo RYGB (diferença média ajustada: -83, 22 kg, IC95%: -122,8 a -43,2; $P < 0,0001$).

Uma redução significativa na força relativa dos MMII foi observada após a cirurgia em ambos os grupos (efeito principal de tempo: $P < 0,0001$, para a comparação 3MESES vs. PRE). Enquanto o grupo treinado apresentou maiores valores de força relativa dos

MMII no momento 9MESES em comparação ao 3MESES e PRE ($P < 0,001$), o grupo não treinado mostrou aumento significativo da força relativa dos MMII apenas quando comparado o momento 9MESES com o PRE ($P = 0,0038$). Quando os grupos foram comparados no momento 9MESES, o grupo treinado exibiu valores maiores de força relativa dos MMII que o grupo não treinado (diferença média ajustada: -0,91 kg/massa corporal, IC95%: -1,32 a -0,49; $P < 0,0001$).

Ao comparar o momento 3MESES com o PRE (efeito da cirurgia), os grupos experimentais apresentaram uma redução significativa na força absoluta dos MMSS (efeito principal de tempo: $P < 0,0001$). O grupo RYGB+TF aumentou de maneira significativa a força absoluta dos MMSS após a intervenção (9MESES) em relação ao PRE e 3MESES (ambos $P < 0,0001$). Já o grupo RYGB mostrou aumento significativo da força relativa dos MMSS apenas na comparação do momento 9MESES com o PRE ($P < 0,0001$). Ao comparar os grupos no momento 9MESES, o grupo treinado mostrou valores maiores de força absoluta dos MMSS que o grupo RYGB (diferença média ajustada: -5,47 kg; IC95% -10,9 a -0,03, $P = 0,0529$).

Os grupos experimentais apresentaram diminuição significativa da força relativa dos MMSS após a cirurgia (efeito principal de tempo: $P < 0,0001$ para a comparação 3MESES vs. PRE). Enquanto o grupo treinado apresentou aumento significativo na força relativa dos MMSS no momento 9MESES em comparação ao PRE e 3MESES (ambos $P < 0,0001$), o grupo não treinado apresentou ganhos de força relativa dos MMSS apenas quando comparado o momento 9MESES com o 3MESES ($P = 0,0049$). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos após o período de intervenção ($P = 0,6004$).

No que se refere ao desempenho da funcionalidade, não houve melhorias significantes da funcionalidade nos testes “levantar e ir” e “sentar e levantar” 3 meses após a cirurgia em ambos os grupos (todos $P > 0,05$ para a comparação 3MESES vs. PRE). Enquanto o grupo RYGB+TF apresentou melhora significativa da funcionalidade em ambos os testes propostos (*i.e.*, “levantar e ir” e “sentar e levantar”) no momento 9MESES em comparação ao PRE e 3MESES (todos $P < 0,0001$), o grupo RYGB mostrou melhora significativa nos testes “levantar e ir” e “sentar e levantar” apenas quando comparado o momento 9MESES com o PRE ($P = 0,0008$ e $P = 0,0124$, respectivamente). Após o período de intervenção (*i.e.*, 9MESES), o grupo RYGB+TF exibiu escores de funcionalidade melhores que o grupo RYGB (levantar e caminhar - diferença média

ajustada: 0,24 segundos, IC95%: -0,01 a 1,40, $P = 0,0566$; sentar e levantar - diferença média ajustada: -3,58 repetições, IC95%: -5,37 a -1,79, $P < 0,0001$). A Figura 3 ilustra os resultados de força muscular e funcionalidade.

Quanto aos parâmetros de nível de atividade física, nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada no tempo sedentário, atividade física leve e atividade física moderada-vigorosa ao longo do estudo (todos $P > 0,05$). Os parâmetros de nível de atividade física são apresentados na Figura 4.

Em relação aos parâmetros da aptidão aeróbia, ambos os grupos apresentaram valores significativamente maiores de LAV, PCR e $VO_{2\text{pico}}$ no momento 3MESES e 9MESES em comparação ao PRE (efeito principal de tempo: todos $P < 0,0001$). A análise dos deltas dos valores absolutos (*i.e.*, 9MESES-PRE) revelou uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos para o LAV (delta absoluto: -1,89 ml/kg/min; IC95%: -3,11 a -0,67; $P < 0,0199$) e $VO_{2\text{pico}}$ (delta absoluto: -2,17 ml/kg/min; IC95%: -3,76 a -0,58; $P < 0,0400$), indicando que o grupo treinado teve incrementos maiores no LAV e $VO_{2\text{pico}}$ que as suas contrapartes não treinadas. Embora o grupo RYGB+TF apresentou valores superiores de delta para o PCR em comparação ao grupo RYGB, essa diferença não alcançou significância estatística (delta absoluto: -1,86 ml/kg/min; IC95%: -1,36 a -0,36; $P < 0,0800$). A Figura 5 apresenta detalhadamente os resultados referente aos parâmetros de aptidão aeróbia.

5.3 Composição corporal

Os valores de massa corporal, IMC, massa de gordura, massa livre de gordura, massa livre de gordura dos MMII e MMSS reduziram significativamente no 3MESES e 9MESES em comparação ao PRE (efeito principal de tempo: todos $P < 0,0001$). A análise dos deltas dos valores absolutos (*i.e.*, 9MESES-PRE) revelou uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos para as variáveis massa livre de gordura (delta absoluto: 3,07 kg; IC95%: -4,54 a -1,60; $P < 0,0058$) e massa livre de gordura dos MMII (delta absoluto: -1,11 kg; IC95%: -1,77 a -0,47; $P < 0,0268$), indicando que o grupo treinado atenuou a perda de massa livre de gordura decorrente da cirurgia bariátrica. Nenhuma diferença entre os grupos foi observada para as variáveis de massa corporal, IMC, massa de gordura e massa livre de gordura dos MMSS (todos $P > 0,05$). A Figura 6 apresenta detalhadamente os resultados de massa corporal, IMC, massa de gordura, massa livre de gordura, massa livre de gordura dos MMII e MMSS.

Figura 3 – Desempenho da força muscular de membros inferiores (painéis A e D), superiores (painéis B e E) e funcionalidade (painéis C e F) ao longo do estudo. RYGB (n=29): Grupo cirurgia bariátrica; RYGB+TF (n=30): Grupo cirurgia bariátrica mais treinamento físico; 1-RM: força dinâmica máxima; PRE: antes da cirurgia; 3MESES: 3 meses após a cirurgia; 9MESES: 9 meses após a cirurgia. ^ indica efeito principal de tempo; * indica diferença significativa comparado ao PRE; # indica diferença significativa comparado ao 3MESES; \$ indica diferença significativa comparado ao 9MESES.

Figura 4 – Tempo sedentário (painéis A e D), atividade física leve (painéis B e E) e atividade física moderada-vigorosa (painéis C e F) ao longo do estudo. RYGB: RYGB (n=20): Grupo cirurgia bariátrica; RYGB+TF (n=21): Grupo cirurgia bariátrica mais treinamento físico; PRE: antes da cirurgia; 3MESES: 3 meses após a cirurgia; 9MESES: 9 meses após a cirurgia.

Figura 5¹ - Limiar anaeróbio ventilatório (LAV, painéis A e B), ponto de compensação respiratório (PCR, painéis C e D) e consumo de oxigênio pico (VO₂ pico, painéis E e F) ao longo do estudo. RYGB (n=29): Grupo cirurgia bariátrica; RYGB+TF (n=30): Grupo cirurgia bariátrica mais treinamento físico; PRE: antes da cirurgia; 3MESES: 3 meses após a cirurgia; 9MESES: 9 meses após a cirurgia. ^ indica efeito principal de tempo;

¹ Os resultados do teste de esforço máximo estão sendo utilizados na produção de um artigo que pode ser visualizado na íntegra no Apêndice 1.

5.4 Consumo alimentar

Nenhuma diferença estatisticamente significativa entre os grupos foi observada em todas as variáveis do consumo alimentar (todos $P > 0,05$). Sendo assim, os grupos foram analisados em conjunto (*i.e.*, efeito principal de tempo) e o consumo absoluto de energia e lipídeos se mostrou reduzido no momento 3MESES e 9MESES em comparação ao PRE (ambos $P < 0,0001$). Quando comparado os valores obtidos no momento 9MESES com o 3MESES, um aumento no consumo de energia e lipídeos foi verificado ($P < 0,0200$ e $P < 0,0277$, respectivamente). O consumo absoluto de carboidrato e proteína reduziu no momento 3MESES e 9MESES em relação ao PRE (todos $P < 0,0001$).

Uma redução no consumo de proteína relativo à massa corporal foi observada no momento 3MESES em comparação ao PRE ($P = 0,0028$). Entretanto, o consumo de proteína relativo à massa corporal aumentou no final do período de intervenção (*i.e.*, 9MESES) em comparação ao 3MESES ($P = 0,0042$), alcançando valores equivalentes aos observados no momento PRE ($P = 1,0000$). Os resultados do consumo alimentar ao longo do estudo estão apresentados na Tabela 2.

5.5 Área de secção transversa da fibra muscular, conteúdo de mionúcleos, domínio mionuclear, capilarização e conteúdo de células satélites

Os grupos RYGB+TF e RYGB, quando comparados no momento inicial do estudo (PRE), não apresentaram diferenças estatisticamente significantes para os valores de ASTf das fibras tipo I ($P = 0,9883$) e II ($P = 0,6937$). Na comparação do momento 3MESES com o PRE (efeito da cirurgia), ambos os grupos apresentaram uma redução significativa na ASTf das fibras tipo I e II (efeito principal de tempo: ambos $P < 0,0001$). Enquanto o grupo treinado demonstrou valores significativamente maiores de ASTf das fibras tipo I e II no momento 9MESES em relação ao 3MESES ($P = 0,0031$ e $P = 0,0013$, respectivamente), o grupo não treinado não apresentou mudança estatisticamente significativa na ASTf das fibras tipo I e II na mesma comparação ($P = 0,9897$ e $P = 0,7497$, respectivamente). Quando comparado os grupos no momento 9MESES, o grupo treinado demonstrou maior ASTf das fibras tipo I (diferença média ajustada: $-1289,2 \mu\text{m}^2$, IC95%: $-2222,6$ a $-355,7$, $P = 0,0025$) e II (diferença média ajustada: $-1600,1 \mu\text{m}^2$, IC95%: $-2731,8$ a $-468,4$, $P = 0,0019$) que o grupo não treinado.

Figura 6 – Análise da massa corporal (painel A), índice de massa corporal (painel B), massa gorda (painel C), massa livre de gordura (painel D), massa livre de gordura dos MMSS e MMII (painéis E e F, respectivamente) ao longo do estudo. RYGB (n=29): Grupo cirurgia bariátrica; RYGB+TF (n=30): Grupo cirurgia bariátrica mais treinamento físico; IMC: índice de massa corporal; MMII: membros inferiores; MMSS: membros superiores; PRE: antes da cirurgia; 3MESES: 3 meses após a cirurgia; 9MESES: 9 meses após a cirurgia. ^ indica efeito principal de tempo.

Tabela 2 – Consumo energético ao longo do estudo.

	RYGB (n = 40)			RYGB + TF (n = 40)			Diferença média ajustada entre grupos (IC95%) no 9MESES	valor de <i>P</i> (Grupo*Tempo)
	PRE	3MESES	9MESES	PRE	3MESES	9MESES		
Energia, Kcal^{*#}	1524,2 ± 408,0	650,8 ± 197,4	881,5 ± 262,3	1797,6 ± 593,0	788,6 ± 297,1	1122,3 ± 412,9	243,9 (-645,6 a 157,8)	0,7911
Proteína, g/kg^{*\$}	0,67 ± 0,16	0,43 ± 0,19	0,67 ± 0,35	0,62 ± 0,19	0,47 ± 0,27	0,61 ± 0,21	0,51 (-21,6 a 22,6)	0,5095
Proteína, g^{*#}	80,7 ± 16,6	41,1 ± 18,0	54,3 ± 25,7	77,5 ± 22,4	50,1 ± 28,8	53,9 ± 19,4	0,06 (-1,17 a 0,29)	0,6601
Carboidrato, g^{*#}	199,7 ± 57,0	80,6 ± 25,8	107,1 ± 42,6	247,2 ± 89,7	102,7 ± 45,1	145,3 ± 63,5	-39,3 (-99,5 a 20,7)	0,7272
Lípido, g^{*#\$}	46,63 ± 21,0	18,1 ± 7,6	24,6 ± 9,1	57,1 ± 23,9	19,6 ± 11,0	35,9 ± 18,8	-11,0 (-28,4 a 6,4)	0,4289

Os resultados são expressados como média ± DP, diferença média ajustada entre os grupos [intervalo de confiança de 95% (IC95%)] e valor de *P* para a interação grupo*tempo (*mixed model for repeated measures*). RYGB: Grupo cirurgia bariátrica; RYGB+TF: Grupo cirurgia bariátrica mais treinamento físico; Kcal: quilocalorias; PRE: antes da cirurgia; 3MESES: 3 meses após a cirurgia; 9MESES: 9 meses após a cirurgia. * indica $P < 0,05$ quando comparado PRE com 3MESES (efeito principal de tempo); # indica $P < 0,05$ quando comparado PRE com 9MESES (efeito principal de tempo); \$ indica $P < 0,05$ quando comparado 3MESES com 9MESES (efeito principal de tempo).

Em relação ao conteúdo de mionúcleos, nenhuma diferença estatisticamente significativa entre os grupos foi observada (todos $P > 0,05$). Quando os grupos foram analisados em conjunto (*i.e.*, efeito principal de tempo) foi verificado uma redução significativa no conteúdo de mionúcleos nas fibras tipo I no momento 3MESES e 9MESES em comparação ao PRE ($P < 0,0001$ e $P = 0,0308$, respectivamente). Não houve diferença estatisticamente significativa em nenhum tempo analisado para o conteúdo de mionúcleos das fibras tipo II (todos $P > 0,05$).

Os grupos experimentais exibiram valores basais (PRE) equivalentes de domínio mionuclear nas fibras tipo I ($P = 0,9897$) e II ($P = 0,9991$). Ambos os grupos apresentaram uma redução significativa no domínio mionuclear das fibras tipo II no momento 3MESES em comparação ao PRE (efeito principal de tempo: $P = 0,0195$). O grupo RYGB apresentou uma redução significativa no domínio mionuclear das fibras tipo I e II no momento 9MESES em comparação ao PRE ($P = 0,0598$ e $P = 0,0150$, respectivamente). Por outro lado, o grupo RYGB+TF não mostrou nenhuma diferença estatisticamente significativa no domínio mionuclear das fibras tipo I e II ao longo do estudo (todos $P > 0,05$). O grupo RYGB+TF exibiu maior domínio mionuclear nas fibras tipo I (diferença média ajustada: $-1030,6$ núcleo/ μm^2 ; IC95%: $-1726,2$ a $-334,9$; $P = 0,0011$) e II que o grupo RYGB no momento 9MESES (diferença média ajustada: $-544,9$ núcleo/ μm^2 ; IC95%: $-1059,7$ a $-30,2$; $P = 0,0328$).

Em relação aos parâmetros de capilarização (*i.e.*, CC, C/Fi e CFPE) e conteúdo de SC, a comparação entre os grupos no momento PRE não revelou nenhuma diferença significativa (CC: $P = 0,2500$; C/Fi: $P = 0,2046$; CFPE: $P = 0,9123$; e SC ($P = 0,7654$). O grupo treinado apresentou aumento significativo nos parâmetros CC, C/Fi, CFPE e SC no momento 9MESES em comparação PRE (CC: $P < 0,0001$; C/Fi: $P = 0,0004$; CFPE: $P = 0,0003$; SC: $P < 0,0001$) e 3MESES (CC: $P < 0,0001$; C/Fi: $P = 0,0001$; CFPE: $P = 0,0011$; SC: $P < 0,0001$). Nenhuma mudança estatisticamente significativa foi verificada no grupo não treinado em nenhum dos momentos analisados (todos $P > 0,05$). Quando comparado dos grupos no momento 9MESES, o grupo treinado apresentou valores superiores de CC (diferença média ajustada: $-1,54$ conteúdo de capilares; IC95%: $-2,01$ a $-1,07$; $P < 0,0001$), C/Fi (diferença média ajustada: $-0,53$ capilares por fibra; IC95%: $-0,72$ a $-0,34$; $P < 0,0001$), CFPE (diferença média ajustada: $-1,43$ capilares por perímetro da fibra; IC95%: $-2,20$ a $-0,65$; $P < 0,0001$) e conteúdo de SC (diferença média ajustada: $-0,04$ SC/fibra; IC95%: $-0,06$ a $-0,01$; $P < 0,0001$) que o grupo não treinado. A Figura 7

e 8 ilustram a montagem da imagem a partir da técnica de imunofluorescência e os resultados de ASTf, conteúdo de mionúcleos, domínio mionuclear, capilarização e conteúdo de SC.

Figura 7 – Imagens representativas da análise de imunofluorescência (painel A), avaliação da área de secção transversa (ASTf, painéis B e C), conteúdo de mionúcleos (painéis D e E) e domínio mionuclear (painéis F e G) por tipo de fibra. RYGB (n=11): Grupo cirurgia bariátrica; RYGB+TF (n=12): Grupo cirurgia bariátrica mais treinamento físico; PRE: antes da cirurgia; 3MESES: 3 meses após a cirurgia; 9MESES: 9 meses após a cirurgia. ^ indica efeito principal de tempo; * indica diferença significativa comparado ao PRE; # indica diferença significativa comparado ao 3MESES; \$ indica diferença significativa comparado ao 9MESES.

Figura 8 – Imagens representativas da análise de imunofluorescência (painel A e E), número de capilares (painel B), razão entre o número de capilares por fibra (C/Fi, painel C), índice capilar por perímetro da fibra (CFPE, painel D) e conteúdo de células satélite (painel F). RYGB (n=11): Grupo cirurgia bariátrica; RYGB+TF (n=12): Grupo cirurgia bariátrica mais treinamento físico; PRE: antes da cirurgia; 3MESES: 3 meses após a cirurgia; 9MESES: 9 meses após a cirurgia. * indica diferença significativa comparado ao PRE; # indica diferença significativa comparado ao 3MESES; \$ indica diferença significativa comparado ao 9MESES.

A fim de confirmar a indicação do RNA-seq, nós analisamos a expressão gênica e proteica de 2 marcadores de degradação relacionados ao sistema ubiquitina-proteassoma (*i.e.*, *Atrogin-1* e *MuRF-1*). Enquanto o grupo treinado apresentou uma redução significativa na expressão gênica da *Atrogin-1* no momento 9MESES em comparação ao PRE e 3MESES (ambos $P < 0,0001$), o grupo não treinado não mostrou nenhuma mudança estatisticamente significativa em nenhuma das comparações analisadas ($P = 0,7638$ e $P = 0,7660$, respectivamente). Importaneamente, ao comparar os grupos no momento 9MESES, a expressão gênica da *Atrogin-1* estava suprimida no grupo treinado em comparação as suas contrapartes não treinadas (diferença média ajustada: $-1,97$ fold change; IC95%: $-3,0$ a $-0,8$; $P < 0,0001$). No que se refere a expressão gênica do *MuRF-1*, nenhuma diferença entre os grupos foi observada independente do tempo analisado (todos $P > 0,05$). Ao analisar os grupos em conjunto (*i.e.*, efeito principal e tempo), a expressão gênica do *MuRF-1* se mostrou reduzida no momento 9MESES em comparação ao PRE e 3MESES (ambos $P < 0,0001$). Em relação a expressão proteica desses marcadores (*i.e.*, *Atrogin-1* e *MuRF-1*), nenhuma diferença intra ou intergrupos foi observada (todos $P > 0,05$).

Quanto aos marcadores de degradação proteica mediada pelo sistema autofágico, nenhuma diferença estatisticamente significativa entre os grupos foi observada para a expressão dos genes *BNIP3*, *BECN1* e *CTSL1* (todos $P > 0,05$). Ao analisar os grupos em conjunto (*i.e.*, efeito principal de tempo) foi verificado uma redução na expressão do gene *BNIP3* e *CTSL1* no momento 9MESES em comparação ao PRE e 3MESES (ambos $P < 0,0001$). No que diz respeito a expressão das proteínas *Beclin-1* e *LC-3*, nenhuma alteração significativa intra ou intergrupos foi verificada em nenhum dos momentos analisados (todos $P > 0,05$).

A análise da expressão das proteínas *mTOR* (total, fosforilada e fosforilada/total), *P70S6K* (total, fosforilada e fosforilada/total) e *4E-BP1* (total e fosforilada) não revelou nenhuma diferença estatisticamente significativa ao longo do estudo (todos $P > 0,05$). Quanto à razão fosforilada/total da proteína *4E-BP1* (*i.e.*, $p\text{-}4E\text{-}BP1/4E\text{-}BP1$), os valores se mostram reduzidos no momento 9MESES em comparação ao PRE e 3MESES (efeito principal de tempo: $P = 0,0125$ e $P = 0,0412$, respectivamente). A Figura 9, 10 e 11 apresentam em detalhes a expressão gênica e/ou proteica dos marcadores de degradação

proteica mediada pelo sistema ubiquitina-proteassoma, autofágico e síntese proteica, respectivamente.

Figura 9 – Expressão gênica (painéis A e B, n=15 por grupo) e proteica (painéis C, D e E, n=8 por grupo) da *Atrogin-1* e *MuRF-1* ao longo do estudo. RYGB: Grupo cirurgia bariátrica; RYGB+TF: Grupo cirurgia bariátrica mais treinamento físico; PRE: antes da cirurgia; 3MESES: 3 meses após a cirurgia; 9MESES: 9 meses após a cirurgia. ^ indica efeito principal de tempo; * indica diferença significativa comparado ao PRE; # indica diferença significativa comparado ao 3MESES; \$ indica diferença significativa comparado ao 9MESES.

Figura 10 – Expressão gênica (painéis A, B e C, n=15 por grupo), proteica (painéis D e E, n=8 por grupo) e bandas representativas (painel F) de marcadores de autofagia ao longo do estudo. RYGB: Grupo cirurgia bariátrica; RYGB+TF: Grupo cirurgia bariátrica mais treinamento físico; PRE: antes da cirurgia; 3MESES: 3 meses após a cirurgia; 9MESES: 9 meses após a cirurgia. ^ indica efeito principal de tempo.

Figura 11 – Análise da expressão de proteínas (fosforiladas [painéis A, D e G], totais [painéis B, E e H] e razão fosforilada/total [painéis C, F e I]) e bandas representativas (painel J) relacionadas a via da mTOR ao longo do estudo. RYGB (n=8): Grupo cirurgia bariátrica; RYGB+TF (n=8): Grupo cirurgia bariátrica mais treinamento físico; PRE: antes da cirurgia; 3MESES: 3 meses após a cirurgia; 9MESES: 9 meses após a cirurgia. ^ indica efeito principal de tempo.

5.7 Comparação dos grupos experimentais (RYGB+TF e RYGB) ao final do período de intervenção (9MESES) com um grupo de mulheres eutróficas (CTRL).

A fim de verificar se os grupos experimentais ao final do período de intervenção apresentavam um perfil de expressão gênica comparável a mulheres eutróficas, os dados do sequenciamento do RNA mensageiro foram reanalisados e, assim, foi comparado o número total de genes diferencialmente expressos dos grupos experimentais no momento 9MESES com o grupo CTRL. Essa análise revelou um número de genes diferencialmente expressos menor no grupo treinado (276 genes) do que no grupo não treinado (544 genes) quando ambos foram comparados com o grupo CTRL, indicando que o grupo treinado apresentava um perfil de expressão gênica mais próximo daquele observado em mulheres eutróficas. Ademais, a análise do enriquecimento de vias de sinalização envolvidas na regulação da massa muscular demonstrou que 2 vias de degradação de proteínas relacionadas ao sistema ubiquitina-proteassoma (*i.e.*, *FOXO signaling pathway* e *ubiquitin mediated proteolysis*) estavam *upregulated* no grupo RYGB em comparação ao grupo CTRL (*FOXO signaling pathway*: NES: 1.68, FDR: 0,2117, $P = 0,0316$; *ubiquitin proteolysis pathway*: NES: 2.34, FDR: 0,0545, $P = 0,0020$). Já o grupo RYGB+TF não apresentou nenhuma diferença estatisticamente significativa no enriquecimento das vias de sinalização em comparação ao grupo CTRL (todos $P > 0,05$).

Com relação aos parâmetros de força muscular, funcionalidade, ASTf, capilarização e conteúdo de SC, os valores brutos obtidos após o período de intervenção (*i.e.*, 9MESES) foram convertidos em escores padronizados (*i.e.*, escore Z) e os grupos experimentais foram comparados com o grupo CTRL. Os grupos RYGB+TF e CTRL apresentaram valores comparáveis de força absoluta e relativa dos MMII e força absoluta dos MMSS ($P = 0,0531$, $P = 0,0620$, $P = 0,9996$, respectivamente). Já o grupo RYGB exibiu valores reduzidos de força absoluta e relativa dos MMII e força absoluta dos MMSS que o grupo CTRL ($P = 0,0002$, $P < 0,0001$, $P = 0,0171$, respectivamente). Ambos os grupos experimentais apresentaram escores inferiores de força relativa dos MMSS e funcionalidade no teste de “levantar e ir” em comparação ao grupo CTRL (RYGB+TF: $P = 0,0004$ e $P < 0,0001$, respectivamente; RYGB: ambos $P < 0,0001$). Quanto aos valores obtidos no teste de “sentar e levantar”, o grupo RYGB+TF demonstrou valores maiores que o grupo CTRL ($P < 0,0025$), ao passo que o grupo RYGB exibiu valores inferiores em comparação ao grupo CTRL ($P < 0,0001$).

No que se refere ao ASTf, o grupo treinado demonstrou maior ASTf nas fibras tipo I e II em comparação ao grupo CTRL ($P = 0,0229$ e $P = 0,0038$, respectivamente). Já o grupo não treinado mostrou valores de ASTf nas fibras tipo I e II equivalentes ao grupo CTRL ($P = 0,3341$ e $P = 0,2975$, respectivamente). Quanto aos parâmetros de capilarização, o grupo RYGB+TF mostrou maior número de capilares (CC) e capilares por fibra (C/Fi) que o grupo CTRL ($P = 0,0080$ e $P = 0,0143$, respectivamente). O índice capilar por perímetro da fibra (CFPE) mostrou valores equivalentes entre os grupos RYGB+TF e CTRL ($P = 0,9871$). O grupo RYGB demonstrou valores menores de CC, C/Fi e CFPE que o grupo CTRL ($P < 0,0001$, $P = 0,0004$ e $P < 0,0001$, respectivamente). Por fim, os grupos RYGB+TF e RYGB apresentaram menor conteúdo de SC em comparação ao grupo CTRL ($P = 0,0035$ e $P < 0,0001$, respectivamente). As Figuras 12, 13 e 14 ilustram os resultados das comparações entre grupos experimentais e o grupo de mulheres eutróficas.

Figura 11 – Comparação do perfil de expressão gênica (painel A) e enriquecimento de vias relacionadas a plasticidade muscular (painel B) entre os grupos experimentais (RYGB+TF [n=6] e RYGB [n=6]) com o grupo controle de mulheres eutróficas (n=6) ao final do período de intervenção (9MESES).

← indica diferença significante; RYGB: Grupo cirurgia bariátrica; RYGB+TF: Grupo cirurgia bariátrica mais treinamento físico

Figura 12 – Comparação dos grupos experimentais (RYGB [n=29] e RYGB+TF [n=30]) após período de intervenção (9MESES) com o grupo de mulheres eutróficas (linha pontilhada, [n=20]) através de valores normativos (escore Z) para as variáveis de força muscular absoluta e relativa dos membros inferiores (painéis A e D, respectivamente), superiores (painéis B e E, respectivamente) e funcionalidade (painéis C e F, respectivamente). * indica diferença significativa comparado ao grupo de mulheres eutróficas; RYGB: Grupo cirurgia bariátrica; RYGB+TF: Grupo cirurgia bariátrica mais treinamento físico

ASTf, capilarização e conteúdo de células satélites

Figura 13 – Comparação dos grupos experimentais (RYGB [n=11] e RYGB+TF [n=12]) após período de intervenção (9MESES) com o grupo de mulheres eutróficas (linha pontilhada, [n=12]) através de valores normativos (escore Z) para as variáveis de área de secção transversa da fibra muscular (ASTf, painéis A e D), capilarização (painéis B, C e E) e conteúdo de células satélites (painel F). * indica diferença significativa comparado ao grupo de mulheres eutróficas; RYGB: Grupo cirurgia bariátrica; RYGB+TF: Grupo cirurgia bariátrica mais treinamento físico

DISCUSSÃO

O presente estudo investigou os efeitos do exercício físico sobre a massa muscular, força e funcionalidade de mulheres com obesidade submetidas à cirurgia bariátrica. Os principais resultados mostraram que um programa de exercícios físicos realizado por 6 meses atenua a redução da massa livre de gordura, reverte a perda de força muscular dos membros superiores e inferiores e promove uma pronunciada melhora da funcionalidade de mulheres submetidas à cirurgia bariátrica. Adicionalmente, o grupo de mulheres treinadas apresentou aumento na área de secção transversa das fibras musculares (tipo I e II), capilarização, conteúdo de células satélites e redução na expressão do gene *Atrogin-1*, indicando um aumento na capacidade de remodelamento da fibra muscular e diminuição na degradação de proteína mediada pelo sistema ubiquitina-proteassoma, respectivamente. Por fim, o grupo treinado apresentou um perfil de expressão gênica e valores de área de secção transversa da fibra muscular, capilarização e força muscular comparáveis aos valores observados em mulheres eutróficas.

A cirurgia bariátrica é a estratégia de primeira escolha em indivíduos com obesidade mórbida por promover drástica perda de peso e reduzir a presença dos fatores de risco para doença cardiovascular tais como hipertensão arterial e diabetes tipo 2 (SCHAUER *et al.*, 2017; SCHIAVON *et al.*, 2017). Apesar dos benefícios da intervenção cirúrgica, este procedimento não é livre de efeitos adversos dentre os quais podemos destacar a perda de força muscular (HUE *et al.*, 2008), que pode aumentar a morbidade e, consequentemente, o risco de mortalidade. Em consonância com os achados da literatura (HUE *et al.*, 2008; PEREIRA *et al.*, 2012; DAVIDSON *et al.*, 2018), o presente estudo observou redução da massa livre de gordura, força absoluta e relativa dos membros superiores e inferiores 3 meses após a cirurgia, ausência de mudanças na funcionalidade e no nível de atividade física. Importantemente, esses efeitos adversos provenientes da cirurgia foram sustentados (*i.e.*, redução da força muscular) ou acentuados (*i.e.*, redução da massa livre de gordura) no final do período de intervenção naquelas pacientes que foram submetidas à cirurgia e receberam apenas o tratamento médico padrão (*i.e.*, RYGB).

Devidos seus conhecidos efeitos na massa muscular, força e funcionalidade em diferentes populações clínicas (HAKKINEN *et al.*, 2001; PHILLIPS *et al.*, 2002; KADI

et al., 2004; FOLLAND e WILLIAMS, 2007; DAMAS *et al.*, 2015; LIXANDRAO *et al.*, 2016; SNIJDERS *et al.*, 2017), o exercício físico consiste em uma potencial estratégia para contrapor os efeitos adversos da cirurgia bariátrica. Nossos resultados confirmam essa premissa mostrando que um programa de exercícios físicos suprime a perda de massa livre de gordura e reverte a perda de força muscular provenientes da intervenção cirúrgica. Esses resultados associados aos achados de outros autores (CAMPANHA-VERSIANI *et al.*, 2017; HERRING *et al.*, 2017) reforçam o papel terapêutico do exercício físico. Além disso, o presente estudo amplia os benefícios do exercício físico também para a funcionalidade visto que o grupo treinado mostrou melhor desempenho da funcionalidade em comparação ao grupo de pacientes que realizaram apenas o tratamento médico padrão.

Nossos resultados mostraram que o treinamento físico atenua a redução da massa livre de gordura, mas não evita a perda completamente, colocando em questão se os ganhos de força observados foram decorrentes de adaptações morfológicas no músculo esquelético. De fato, a medida da massa livre de gordura por meio da absorptometria de raio X de dupla energia não é uma medida específica do tecido muscular e, desta maneira, não permite uma avaliação minuciosa das adaptações morfológicas no tecido muscular. Assim, nós também quantificamos a área de secção transversa das fibras musculares a partir de amostras de tecido muscular e observamos redução na área de secção transversa das fibras musculares (tipo I e II) após a cirurgia. Em contrapartida, o grupo de pacientes treinadas apresentou aumento na área de secção transversa das fibras musculares após o período de intervenção, indicando uma reversão da atrofia muscular induzida pela cirurgia. Esse aumento na área de secção transversa das fibras musculares pode explicar, ao menos parcialmente, a preservação da massa livre de gordura e os ganhos de força muscular observados no grupo treinado.

É bem aceito na literatura que o conteúdo de células satélites exerce papel determinante na plasticidade da fibra muscular e, consequentemente, na manutenção da massa muscular (JOANISSE *et al.*, 2017; SNIJDERS e PARISE, 2017). Outro fator decisivo para manutenção da massa muscular é a capilarização, que é responsável por ofertar oxigênio, nutrientes e fatores de crescimento (*e.g.*, IGF-1, HGF, IL-6) para a fibra muscular (KADI *et al.*, 2005; MCKAY *et al.*, 2008; MCKAY *et al.*, 2009; MCKAY *et al.*, 2012; MCKAY *et al.*, 2013). Além disso, um recente corpo de conhecimento sugere uma comunicação entre capilares e células satélites que depende, ao menos parcialmente, da relação espacial entre célula satélite e capilar (CHRISTOV *et al.*, 2007; NEDERVEEN

et al., 2016; JOANISSE *et al.*, 2017). O presente estudo verificou um aumento na capilarização e conteúdo de células satélites no grupo treinado após o período de intervenção ao passo que nenhuma mudança significativa foi observada em suas contrapartes não treinadas. Vale destacar que o aumento em todos os parâmetros de capilarização foram acompanhados por um aumento na expressão de marcadores de angiogênese (*i.e.*, ANGPT1, ANGPT2 e VEGF) (Apêndice 5). Analisados em conjunto, esses resultados indicam que o exercício físico é uma eficaz estratégia para reverter a reduzida capacidade miogênica (FU *et al.*, 2016) e a rarefação capilar (FRISBEE, 2003), ambos fatores fundamentais para manutenção da massa muscular. Além disso, considerando que o presente estudo verificou aumento no conteúdo tanto de células satélites quanto de capilares é possível sugerir que a distância entre ambos foi reduzida o que, em teoria, aumentaria a comunicação entre capilares e células satélites e, consequentemente, na resposta miogênica destes indivíduos.

A massa muscular é regulada por um coordenado balanço entre taxa de síntese e degradação de proteínas (PHILLIPS, 2014). Em particular, a degradação proteica de indivíduos com obesidade parece estar alterada de modo que células musculares de indivíduos com obesidade apresentam uma maior atividade do proteassoma em comparação as suas contrapartes eutróficas, indicando uma elevada degradação proteica mediada pelo sistema ubiquitina-proteassoma (BOLLINGER *et al.*, 2015). Por meio da análise do sequenciamento gênico em larga escala de amostras de tecido muscular, o presente estudo verificou uma atenuada expressão na via de degradação *ubiquitin mediated proteolysis* no grupo de pacientes treinadas ao final do período de intervenção. Adicionalmente, a expressão do gene *Atrogin-1*, por meio da análise de RT-PCR, também estava suprimida no grupo treinado ao passo que nenhuma diferença significativa foi observada no grupo de pacientes submetidas apenas ao tratamento médico padrão. Estes resultados destacam, pela primeira vez na literatura, o papel do exercício como supressor de genes envolvidos na degradação proteica mediada pelo sistema ubiquitina-proteassoma de mulheres com obesidade expostas a drástica restrição energética proveniente da cirurgia bariátrica. Sendo assim, é possível sugerir que a preservação da massa muscular observada no grupo de pacientes treinadas possa estar associada uma atenuada degradação de proteína mediada pelo sistema ubiquitina-proteassoma.

Com relação aos efeitos da cirurgia e exercício nos marcadores de degradação proteica via sistema autofágico a literatura é escassa. Resumidamente, a autofagia é um

processo de degradação e reciclagem de proteínas em massa em que os componentes citoplasmáticos da célula são envoltos por uma membrana de dupla camada e entregues para degradação nos lisossomos ou vacúolos (MIZUSHIMA *et al.*, 1998). O presente estudo verificou uma redução na expressão de genes reguladores do sistema autofágico (*i.e.*, *BNIP3* e *CTSL1*) após a cirurgia independentemente da realização de um programa de treinamento físico. Embora os efeitos do exercício físico em marcadores de autofagia ainda seja questionável (WOHLGEMUTH *et al.*, 2010; GRUMATI *et al.*, 2011; JAMART *et al.*, 2012a; JAMART *et al.*, 2012b; SMILES *et al.*, 2015; CAMPOS *et al.*, 2018; MARTIN-RINCON *et al.*, 2019), a drástica redução na expressão dos genes *BNIP3* e *CTSL1* observada em ambos os grupos foi surpreendente visto que em condições de restrição energética em que o massa muscular é reduzida, como no presente estudo, os marcadores de autofagia estão aumentados (MIZUSHIMA *et al.*, 2004).

Um estudo utilizando animais *knockout* do gene *Autophagy-related 7 (Atg7)*, um regulador chave do sistema autofágico, demonstrou uma acentuada atrofia muscular induzida por desnervação ou restrição calórica. Adicionalmente, os autores observaram um aumento na expressão de marcadores de estresse no retículo endoplasmático e fosforilação da proteína *eIF2 α* , sugerindo prejuízos na qualidade da proteína sintetizada (*i.e.*, *unfolded protein*) (MASIERO *et al.*, 2009). Neste sentido, uma possível explicação para os resultados do presente estudo nos marcadores de autofagia é que a drástica redução na expressão dos genes *BNIP3* e *CTSL1* não estejam associadas a uma atenuada degradação mediada pelo sistema autofágico, mas sim a uma disfunção do sistema autofágico e, consequentemente, nas funções homeostáticas do músculo esquelético.

A via da *mTOR/P70S6K* é reconhecida como um regulador chave da síntese proteica e, consequentemente, da massa muscular (BODINE *et al.*, 2001). Há evidências na literatura indicando que em condições de restrição calórica a expressão das proteínas desta via está suprimida (CHEN *et al.*, 2019). Neste sentido, é razoável assumir que a restrição calórica proveniente da cirurgia bariátrica seja acompanhada por uma diminuição na expressão de proteínas da via da *mTOR/P70S6K*. Apesar da drástica redução no consumo energético e atrofia muscular observada no presente estudo, nenhuma alteração significativa foi verificada na fosforilação das proteínas *mTOR*, *P70S6K* e *4E-BP1*. Esses resultados podem ter sido influenciados pelo momento em que a biopsia muscular foi realizada (repouso). Realmente, estudos mostram que a ativação dessas proteínas é dependente de um estímulo anabólico agudo (*e.g.*, exercício)

(HERNANDEZ, FEDELE e FARRELL, 2000; BOLSTER, JEFFERSON e KIMBALL, 2004). Entretanto, a avaliação dessas proteínas após um estímulo anabólico, no mínimo, dobraria a quantidade de biópsias necessárias se comparado ao número de biópsias realizadas no presente estudo, o que poderia limitar a participação das pacientes e reduzir o tamanho da amostra.

Por fim, o presente estudo comparou os grupos experimentais (*i.e.*, RYGB e RYGB+TF) ao final do período experimental (*i.e.*, POST9) com um grupo de mulheres eutróficas (*i.e.*, CTRL). Quando comparado com o grupo CTRL, o grupo de pacientes treinadas mostrou um menor número de genes diferencialmente expressos que o grupo de pacientes não treinadas. No mesmo sentido, a análise do enriquecimento de vias relacionadas a manutenção da massa muscular indicou valores comparáveis entre os grupos RYGB+TF e CTRL para todas as vias analisadas. Já o grupo RYGB apresentou uma maior expressão de vias de degradação proteica em comparação ao grupo CTRL. Além disso, o grupo de pacientes treinadas apresentou valores equivalentes de força muscular, funcionalidade, diâmetro da fibra muscular e capilarização que o grupo CTRL, ao passo que o grupo de pacientes não treinadas ainda mostravam valores reduzidos de força muscular, funcionalidade, capilarização e células satélites. Esses resultados mostram, em diferentes níveis de análise, que um programa de exercícios físicos é capaz de reverter total (*i.e.*, força muscular dos membros inferiores e rarefação capilar) ou parcialmente (*i.e.*, funcionalidade) alguns dos efeitos adversos típicos da obesidade.

O presente estudo apresenta algumas limitações. Primeiro, a duração do estudo foi relativamente curta, impedindo conclusões sobre a eficácia e viabilidade deste tipo de intervenção a longo prazo. Segundo, os resultados são limitados a população com características similares a dos pacientes do presente estudo (*e.g.*, mulheres com idade entre 30-52 anos, obesidade grau III, baixo nível de escolaridade e status econômico). Terceiro, não foi possível analisar a área de secção transversa do músculo esquelético utilizando um método de avaliação localizado como, por exemplo, ressonância magnética, tomografia computadorizada ou ultrassonografia (HAUN *et al.*, 2019). Vale ressaltar que todas as pacientes realizaram um exame de ultrassonografia para análise dos músculos da coxa no momento PRE, porém o equipamento disponível não alcançava a profundidade necessária na maioria das pacientes e, desta maneira, impossibilitou a realização da medida. Quarto, as análises histológicas (*i.e.*, área de secção transversa das fibras musculares, células satélites e capilarização) e moleculares (*i.e.*, RNA-seq,

expressão proteína e gênica) foram realizadas em uma subamostra de pacientes, o que pode ter diminuído a chance de detectar mudanças estatisticamente significantes.

CONCLUSÃO

Em conclusão, os resultados do presente estudo demonstraram que um programa de exercícios físicos realizado 3 vezes por semana com duração de 6 meses atenua a redução da massa livre de gordura e reverte a perda de força muscular nos membros superiores e inferiores. Além disso, o programa de exercícios físicos mostrou reverter a atrofia muscular das fibras musculares tipo I e II oriunda da cirurgia bariátrica e aumentar a capilarização e o conteúdo de células satélites, sendo estes fatores determinantes na plasticidade da fibra muscular. Adicionalmente, as análises moleculares (*i.e.*, RNA-seq e RT-PCR) mostraram que o exercício físico reduz a expressão da via de degradação *ubiquitin mediated proteolysis* e do marcador de degradação proteica *Atrogin-1* o que pode explicar, pelo menos em parte, a preservação da massa muscular observada nas pacientes treinadas.

Finalmente, nossos resultados mostram que mulheres obesas submetidas à intervenção cirúrgica e a um programa de treinamento físico adquirem um perfil de expressão gênica e características musculares (*i.e.*, área de secção transversa da fibra muscular, capilarização, força e funcionalidade) comparáveis a um grupo controle de mulheres eutróficas. Esses resultados, analisados em conjunto, nos permite recomendar a inserção de programas de treinamento físico sistemático no tratamento pós-operatório de mulheres submetidas à cirurgia bariátrica a fim de contrapor os efeitos adversos da perda de massa muscular.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, T. D. *et al.* . Weight and Metabolic Outcomes 12 Years after Gastric Bypass. **New England Journal of Medicine**, v. 377, n. 12, p. 1143-1155, set. 2017.
- AHTIAINEN, J. P. *et al.* . Short vs. long rest period between the sets in hypertrophic resistance training: influence on muscle strength, size, and hormonal adaptations in trained men. **Journal Strength and Conditioning Research**, v. 19, n. 3, p. 572-582, ago. 2005.
- ANGRISANI, L. *et al.* . Bariatric Surgery Worldwide 2013. **Obesity Surgery**, v. 25, n. 10, p. 1822-1832, out. 2015.
- ARENTSON-LANTZ, E. J. *et al.* . Fourteen days of bed rest induces a decline in satellite cell content and robust atrophy of skeletal muscle fibers in middle-aged adults. **Journal Applied Physiology (1985)**, v. 120, n. 8, p. 965-975, abr. 2016.
- BAHIA, L. *et al.* The costs of overweight and obesity-related diseases in the Brazilian public health system: cross-sectional study. **BioMed Central Public Health**, v. 12, n. 440, p. 1-7, jun. 2012.
- BAKKAR, N. *et al.* . IKK/NF-kappaB regulates skeletal myogenesis via a signaling switch to inhibit differentiation and promote mitochondrial biogenesis. **Journal of Cell Biology**, v. 180, n. 4, p. 787-802, fev. 2008.
- BAMMAN, M. M.; ROBERTS, B. M.; ADAMS, G. R. Molecular Regulation of Exercise-Induced Muscle Fiber Hypertrophy. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 8, n. 6, p. 1-19, jun. 2018.
- BEALS, J. W. *et al.* . Obesity Alters the Muscle Protein Synthetic Response to Nutrition and Exercise. **Frontiers in Nutrition**, v. 6, n. 87, p. 1-14, jun. 2019.
- BEALS, J. W. *et al.* Altered anabolic signalling and reduced stimulation of myofibrillar protein synthesis after feeding and resistance exercise in people with obesity. **Journal of Physiology**, v. 596, n. 21, p. 5119-5133, nov. 2018.
- BEALS, J. W. *et al.* Anabolic sensitivity of postprandial muscle protein synthesis to the ingestion of a protein-dense food is reduced in overweight and obese young adults. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 104, n. 4, p. 1014-1022, out. 2016.
- BEN-DOV, N. *et al.* Low-energy laser irradiation affects satellite cell proliferation and differentiation in vitro. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1448, n. 3, p. 372-380, mai. 1999.
- BERGLIND, D. *et al.* Longitudinal assessment of physical activity in women undergoing Roux-en-Y gastric bypass. **Obesity Surgery**, v. 25, n. 1, p. 119-25, jan. 2015.
- BODINE, S. C. mTOR signaling and the molecular adaptation to resistance exercise. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 38, n. 11, p. 1950-1957, nov. 2006.

BODINE, S. C.; BAEHR, L. M. Skeletal muscle atrophy and the E3 ubiquitin ligases MuRF1 and MAFbx/atrogen-1. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 307, n. 6, p. E469-484, set. 2014.

BODINE, S. C. *et al.* Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo. **Nature Cell Biology**, v. 3, n. 11, p. 1014-1019, nov. 2001.

BOLLINGER, L. M. *et al.* . Skeletal muscle myotubes in severe obesity exhibit altered ubiquitin-proteasome and autophagic/lysosomal proteolytic flux. **Obesity**, v. 23, n. 6, p. 1185-1193, jun. 2015.

BOLSTER, D. R.; JEFFERSON, L. S.; KIMBALL, S. R. Regulation of protein synthesis associated with skeletal muscle hypertrophy by insulin-, amino acid- and exercise-induced signalling. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 63, n. 2, p. 351-356, mai. 2004.

BOLSTER, D. R.; KIMBALL, S. R.; JEFFERSON, L. S. Translational control mechanisms modulate skeletal muscle gene expression during hypertrophy. **Exercise and Sport Sciences Reviews**, v. 31, n. 3, p. 111-116, jul. 2003.

BOND, D. S. *et al.* . Intervention-related increases in preoperative physical activity are maintained 6-months after Bariatric surgery: results from the bari-active trial. **International Journal of Obesity**, v. 41, n. 3, p. 467-470, mar. 2017.

BORG, G.; LJUNGGREN, G.; CECI, R. The increase of perceived exertion, aches and pain in the legs, heart rate and blood lactate during exercise on a bicycle ergometer. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**, v. 54, n. 4, p. 343-349, mar. 1985.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos não Transmissíveis e Promoção da Saúde. Vigitel Brasil 2014: . **vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico**, 2015.

BUCHWALD, H. *et al.* Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. **JAMA**, v. 292, n. 14, p. 1724-1737, out. 2004.

BUCHWALD, H. *et al.* Weight and type 2 diabetes after bariatric surgery: systematic review and meta-analysis. **American Journal of Medicine**, v. 122, n. 3, p. 248-256 e5, mar. 2009.

BUCHWALD, H.; OIEN, D. M. Metabolic/bariatric surgery Worldwide 2008. **Obesity Surgery**, v. 19, n. 12, p. 1605-1611, dez. 2009.

BURD, N. A. *et al.* Exercise training and protein metabolism: influences of contraction, protein intake, and sex-based differences. **Journal of Applied Physiology**, v. 106, n. 5, p. 1692-701, mai. 2009.

CAMPANHA-VERSIANI, L. *et al.* The Effect of a Muscle Weight-Bearing and Aerobic Exercise Program on the Body Composition, Muscular Strength, Biochemical Markers, and Bone Mass of Obese Patients Who Have Undergone Gastric Bypass Surgery. **Obesity Surgery**, v. 27, n. 8, p. 2129-2137, ago. 2017.

CAMPOS, G. E. *et al.* Muscular adaptations in response to three different resistance-training regimens: specificity of repetition maximum training zones. **European Journal of Applied Physiology**, v. 88, n. 1-2, p. 50-60, nov. 2002.

CAMPOS, J. C. *et al.* Exercise prevents impaired autophagy and proteostasis in a model of neurogenic myopathy. **Science Reports**, v. 8, n. 11818, p. 1-14, ago. 2018.

CAREY, D. G.; PLIEGO, G. J.; RAYMOND, R. L. Body composition and metabolic changes following bariatric surgery: effects on fat mass, lean mass and basal metabolic rate: six months to one-year follow-up. **Obesity Surgery**, v. 16, n. 12, p. 1602-1608, dez. 2006.

CFM, C. F. D. M.-. **Alteração na Resolução CFM nº 1.766, de 13 de maio de 2005, publicada no Diário Oficial da União em 11 de julho de 2005, Seção I, página 114, que estabelece normas seguras para o tratamento cirúrgico da obesidade mórbida, definindo indicações, procedimentos e equipe.** MEDICINA, C. F. D. Resolução CFM nº 1.942/2010. 2010.

_____. **Ementa de Reconhecimento da cirurgia metabólica como opção de tratamento de pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 2, com IMC entre 30 kg/m² e 34,9 kg/m², sem resposta ao tratamento clínico convencional, como técnica não experimental de alto risco e complexidade.** MEDICINA, C. F. D. Resolução CFM nº 2.172/2017 2017.

CHEN, C. N. *et al.* Age-dependent effects of caloric restriction on mTOR and ubiquitin-proteasome pathways in skeletal muscles. **Geroscience**, v. 41, n.6, p. 871-880, dez. 2019.

CHEVALIER, S. *et al.* Protein and glucose metabolic responses to hyperinsulinemia, hyperglycemia, and hyperaminoacidemia in obese men. **Obesity**, v. 23, n. 2, p. 351-358, fev. 2015.

CHRISTOV, C. *et al.* Muscle satellite cells and endothelial cells: close neighbors and privileged partners. **Molecular Biology of the Cell**, v. 18, n. 4, p. 1397-1409, abr. 2007.

COATES, P. S. *et al.* Gastric bypass surgery for morbid obesity leads to an increase in bone turnover and a decrease in bone mass. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 89, n. 3, p. 1061-1065, mar. 2004.

COEN, P. M. *et al.* Exercise and Weight Loss Improve Muscle Mitochondrial Respiration, Lipid Partitioning, and Insulin Sensitivity After Gastric Bypass Surgery. **Diabetes**, v. 64, n. 11, p. 3737-3750, nov. 2015a.

COEN, P. M. *et al.* Clinical trial demonstrates exercise following bariatric surgery improves insulin sensitivity. **Journal of Clinical Investigation**, v. 125, n. 1, p. 248-257, jan. 2015b.

COHEN, R. V. *et al.* Microvascular Outcomes after Metabolic Surgery (MOMS) in patients with type 2 diabetes mellitus and class I obesity: rationale and design for a randomised controlled trial. **BioMed Journal Open**, v. 7, n. 1, p. e013574, jan. 2017.

CUMMINGS, D. E. *et al.* Gastric bypass surgery vs intensive lifestyle and medical intervention for type 2 diabetes: the CROSSROADS randomised controlled trial. **Diabetologia**, v. 59, n. 5, p. 945-953, mai. 2016.

DAMAS, F. *et al.* A review of resistance training-induced changes in skeletal muscle protein synthesis and their contribution to hypertrophy. **Sports Medicine**, v. 45, n. 6, p. 801-807, jun. 2015.

DANIELS, P. *et al.* Effect of a randomised 12-week resistance training programme on muscular strength, cross-sectional area and muscle quality in women having undergone Roux-en-Y gastric bypass. **Journal of Sports Sciences**, v. 36, n. 5, p. 529-535, mar. 2018.

DANTAS, W. S. *et al.* Reversal of Improved Endothelial Function After Bariatric Surgery Is Mitigated by Exercise Training. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 72, n. 18, p. 2278-2279, out. 2018.

DAVIDSON, L. E. *et al.* Fat-Free Mass and Skeletal Muscle Mass Five Years After Bariatric Surgery. **Obesity**, v. 26, n. 7, p. 1130-1136, jul. 2018.

DE LARICHAUDY, J. *et al.* TNF-alpha- and tumor-induced skeletal muscle atrophy involves sphingolipid metabolism. **Skelet Muscle**, v. 18, n. 1, p. 2-19, jan. 2012.

FOLLAND, J. P.; WILLIAMS, A. G. The adaptations to strength training : morphological and neurological contributions to increased strength. **Sports Medicine**, v. 37, n. 2, p. 145-168, jan. 2007.

FONTAINE, K. R. *et al.* Years of life lost due to obesity. **JAMA**, v. 289, n. 2, p. 187-193, jan. 2003.

FRISBEE, J. C. Remodeling of the skeletal muscle microcirculation increases resistance to perfusion in obese Zucker rats. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 285, n. 1, p. H104-111, jul. 2003.

FU, X. *et al.* Obesity Impairs Skeletal Muscle Regeneration Through Inhibition of AMPK. **Diabetes**, v. 65, n. 1, p. 188-200, jan. 2016.

GARCIA-MARTINEZ, C. *et al.* Tumour necrosis factor-alpha increases the ubiquitination of rat skeletal muscle proteins. **FEBS Letters**, v. 323, n. 3, p. 211-214, jun. 1993.

GARCIA-MARTINEZ, C. *et al.* Ubiquitin gene expression in skeletal muscle is increased by tumour necrosis factor-alpha. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 201, n. 2, p. 682-686, jun. 1994.

Gastrointestinal surgery for severe obesity: National Institutes of Health Consensus Development Conference. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 55, n. 2, p. 615S-619S, mar. 1991.

GIUSTI, V. *et al.* Effects of laparoscopic gastric banding on body composition, metabolic profile and nutritional status of obese women: 12-months follow-up. **Obesity Surgery**, v. 14, n. 2, p. 239-45, fev. 2004.

GONZALEZ-MUNIESA, P. *et al.* Obesity. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, n. 17034, p. 1-18, jun. 2017.

GRUMATI, P. *et al.* Physical exercise stimulates autophagy in normal skeletal muscles but is detrimental for collagen VI-deficient muscles. **Autophagy**, v. 7, n. 12, p. 1415-23, 2011.

GUILLET, C. *et al.* . Changes in basal and insulin and amino acid response of whole body and skeletal muscle proteins in obese men. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 94, n. 8, p. 3044-3050, dez. 2009.

GUTTRIDGE, D. C. *et al.* NF-kappaB-induced loss of MyoD messenger RNA: possible role in muscle decay and cachexia. **Science**, v. 289, n. 5488, p. 2363-2366, set. 2000.

HAKKINEN, K. *et al.* Changes in electromyographic activity, muscle fibre and force production characteristics during heavy resistance/power strength training in middle-aged and older men and women. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 171, n. 1, p. 51-62, jan. 2001.

HAKKINEN, K. *et al.* Changes in muscle morphology, electromyographic activity, and force production characteristics during progressive strength training in young and older men. **Journals of Gerontology Series A Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 53, n. 6, p. B415-423, nov. 1998.

HAUN, C. T. *et al.* A Critical Evaluation of the Biological Construct Skeletal Muscle Hypertrophy: Size Matters but So Does the Measurement. **Frontiers in Physiology**, v. 10, n. 247, p. 1-23, mar. 2019.

HEPPLE, R. T. A new measurement of tissue capillarity: the capillary-to-fibre perimeter exchange index. **Canadian Journal of Applied Physiology**, v. 22, n. 1, p. 11-22, nov. 1997.

HEPPLE, R. T. *et al.* Quantitating the capillary supply and the response to resistance training in older men. **Pflugers Arch**, v. 433, n. 3, p. 238-244, jan. 1997.

HERNANDEZ, J. M.; FEDELE, M. J.; FARRELL, P. A. Time course evaluation of protein synthesis and glucose uptake after acute resistance exercise in rats. **Journal of Applied Physiology (1985)**, v. 88, n. 3, p. 1142-1149, mar. 2000.

HERRING, L. Y. *et al.* The effects of supervised exercise training 12-24 months after bariatric surgery on physical function and body composition: a randomised controlled trial. **International Journal of Obesity**, v. 41, n. 6, p. 909-916, jun. 2017.

HOLVIALA, J. H. *et al.* Effects of strength training on muscle strength characteristics, functional capabilities, and balance in middle-aged and older women. **Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 20, n. 2, p. 336-344, mai. 2006.

HUE, O. *et al.* Muscle force and force control after weight loss in obese and morbidly obese men. **Obesity Surgery**, v. 18, n. 9, p. 1112-1118, set. 2008.

HULSTON, C. J. *et al.* Resistance exercise stimulates mixed muscle protein synthesis in lean and obese young adults. **Physiological Reports**, v. 6, n. 14, p. 1-11, jun. 2018.

JAMART, C. *et al.* Autophagy-related and autophagy-regulatory genes are induced in human muscle after ultraendurance exercise. **European Journal of Applied Physiology** v. 112, n. 8, p. 3173-3177, ago. 2012a.

JAMART, C. *et al.* Modulation of autophagy and ubiquitin-proteasome pathways during ultra-endurance running. **Journal of Applied Physiology**, v. 112, n. 9, p. 1529-1537, mai. 2012b.

JOANISSE, S. *et al.* Skeletal Muscle Regeneration, Repair and Remodelling in Aging: The Importance of Muscle Stem Cells and Vascularization. **Gerontology**, v. 63, n. 1, p. 91-100, out. 2017.

KADI, F. *et al.* The behaviour of satellite cells in response to exercise: what have we learned from human studies? **Pflugers Arch**, v. 451, n. 2, p. 319-327, ago. 2005.

KADI, F. *et al.* The effects of heavy resistance training and detraining on satellite cells in human skeletal muscles. **Journal of Physiology**, v. 558, n. Pt 3, p. 1005-1012, jun. 2004.

KADI, F.; THORNELL, L. E. Concomitant increases in myonuclear and satellite cell content in female trapezius muscle following strength training. **Histochemistry and Cell Biology**, v. 113, n. 2, p. 99-103, fev. 2000.

KERN, P. A. *et al.* The effects of weight loss on the activity and expression of adipose-tissue lipoprotein lipase in very obese humans. **New England Journal of Medicine**, v. 322, n. 15, p. 1053-1059, abr. 1990.

LAVIE, C. J. *et al.* Obesity and cardiovascular diseases: implications regarding fitness, fatness, and severity in the obesity paradox. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 63, n. 14, p. 1345-1354, abr. 2014.

LAW, C. W. *et al.* . voom: Precision weights unlock linear model analysis tools for RNA-seq read counts. **Genome Biology**, v. 15, n. 2, p. 1-17, fev. 2014.

LIXANDRAO, M. E. *et al.* Time Course of Resistance Training-Induced Muscle Hypertrophy in the Elderly. **Journal of Strength & Conditioning Research** v. 30, n. 1, p. 159-163, jan. 2016.

LYYTINEN, T. *et al.* Physical function and properties of quadriceps femoris muscle after bariatric surgery and subsequent weight loss. **Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions**, v. 13, n. 3, p. 329-338, set. 2013.

MACKEY, A. L. *et al.* Enhanced satellite cell proliferation with resistance training in elderly men and women. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 17, n. 1, p. 34-42, fev. 2007.

MAGHRABI, A. H. *et al.* Two-year outcomes on bone density and fracture incidence in patients with T2DM randomized to bariatric surgery versus intensive medical therapy. **Obesity**, v. 23, n. 12, p. 2344-2348, dez. 2015.

MAGLIO, C. *et al.* The IRS1 rs2943641 variant and risk of future cancer among morbidly obese individuals. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 98, n. 4, p. E785-789, fev. 2013.

MARTIN-RINCON, M. *et al.* Exercise Mitigates the Loss of Muscle Mass by Attenuating the Activation of Autophagy during Severe Energy Deficit. **Nutrients**, v. 11, n. 11, p. 1-26, nov. 2019.

MASIERO, E. *et al.* Autophagy is required to maintain muscle mass. **Cell Metabolism**, v. 10, n. 6, p. 507-515, dez. 2009.

MAURO, A. Satellite cell of skeletal muscle fibers. **Journal of Biophysical and Biochemical Cytology**, v. 9, n. 1, p. 493-495, fev. 1961.

MCKAY, B. R. *et al.* Association of interleukin-6 signalling with the muscle stem cell response following muscle-lengthening contractions in humans. **PLoS One**, v. 4, n. 6, p. 1-13, jun. 2009.

MCKAY, B. R. *et al.* Co-expression of IGF-1 family members with myogenic regulatory factors following acute damaging muscle-lengthening contractions in humans. **Journal of Physiology**, v. 586, n. 22, p. 5549-5560, nov. 2008.

MCKAY, B. R. *et al.* Elevated SOCS3 and altered IL-6 signaling is associated with age-related human muscle stem cell dysfunction. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 304, n. 8, p. C717-728, abr. 2013.

MCKAY, B. R. *et al.* Myostatin is associated with age-related human muscle stem cell dysfunction. **FASEB Journal**, v. 26, n. 6, p. 2509-2521, jun. 2012.

MINGRONE, G. *et al.* Bariatric-metabolic surgery versus conventional medical treatment in obese patients with type 2 diabetes: 5 year follow-up of an open-label, single-centre, randomised controlled trial. **Lancet**, v. 386, n. 9997, p. 964-973, set. 2015.

MIZUSHIMA, N. *et al.* A protein conjugation system essential for autophagy. **Nature**, v. 395, n. 6700, p. 395-398, set. 1998.

MIZUSHIMA, N. *et al.* In vivo analysis of autophagy in response to nutrient starvation using transgenic mice expressing a fluorescent autophagosome marker. **Molecular Biology of the Cell**, v. 15, n. 3, p. 1101-1111, mar. 2004.

MORITANI, T.; DEVRIES, H. A. Neural factors versus hypertrophy in the time course of muscle strength gain. **American Journal of Physical Medicine**, v. 58, n. 3, p. 115-130, jun. 1979.

MURAI, I. H. *et al.* Exercise Mitigates Bone Loss in Women With Severe Obesity After Roux-en-Y Gastric Bypass: A Randomized Controlled Trial. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 104, n. 10, p. 4639-4650, out. 2019.

MURTON, A. J. *et al.* Obesity Appears to Be Associated With Altered Muscle Protein Synthetic and Breakdown Responses to Increased Nutrient Delivery in Older Men, but Not Reduced Muscle Mass or Contractile Function. **Diabetes**, v. 64, n. 9, p. 3160-3171, set. 2015.

NEDERVEEN, J. P. *et al.* Skeletal muscle satellite cells are located at a closer proximity to capillaries in healthy young compared with older men. **Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle**, v. 7, n. 5, p. 547-554, dez. 2016.

NEWCOMER, K. L.; KRUG, H. E.; MAHOWALD, M. L. Validity and reliability of the timed-stands test for patients with rheumatoid arthritis and other chronic diseases. **Journal of Rheumatology**, v. 20, n. 1, p. 21-27, jan. 1993.

NEWTON, R. U. *et al.* Mixed-methods resistance training increases power and strength of young and older men. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 34, n. 8, p. 1367-1375, ago. 2002.

NGUYEN, N. Q. *et al.* Accelerated intestinal glucose absorption in morbidly obese humans - relationship to glucose transporters, incretin hormones and glycaemia. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.100, n. 3, p. 968-976, mar. 2014.

NIH conference. Gastrointestinal surgery for severe obesity. Consensus Development Conference Panel. **Annals of Internal Medicine**, v. 115, n. 12, p. 956-61, dez. 1991.

ONOFRE, T. *et al.* Effects of a Physical Activity Program on Cardiorespiratory Fitness and Pulmonary Function in Obese Women after Bariatric Surgery: a Pilot Study. **Obesity Surgery**, v. 27, v. 8, p. 2026-2033, ago. 2017.

PEREIRA, A. Z. *et al.* Lean and fat mass loss in obese patients before and after Roux-en-Y gastric bypass: a new application for ultrasound technique. **Obesity Surgery**, v. 22, n. 4, p. 597-601, abr. 2012.

PETRELLA, J. K. *et al.* Potent myofiber hypertrophy during resistance training in humans is associated with satellite cell-mediated myonuclear addition: a cluster analysis. **Journal of Applied Physiology**, v. 104, n. 6, p. 1736-1742, jun. 2008.

PHILLIPS, S. M. A brief review of critical processes in exercise-induced muscular hypertrophy. **Sports Medicine**, v. 44 , n. Suppl 1, p. S71-77, mai. 2014.

PHILLIPS, S. M. *et al.* Resistance-training-induced adaptations in skeletal muscle protein turnover in the fed state. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 80, n. 11, p. 1045-1053, nov. 2002.

PODSIADLO, D.; RICHARDSON, S. The timed "Up & Go": a test of basic functional mobility for frail elderly persons. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 39, n. 2, p. 142-148, fev. 1991.

ROBINSON, M. D.; MCCARTHY, D. J.; SMYTH, G. K. edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. **Bioinformatics**, v. 26, n. 1, p. 139-140, jan. 2010.

RODRIGUEZ-GALLEGO, E. *et al.* Mapping of the circulating metabolome reveals alpha-ketoglutarate as a predictor of morbid obesity-associated non-alcoholic fatty liver disease. **International Journal of Obesity**, v. 39, n. 2, p. 279-287, fev. 2014.

ROMERO-CALVO, I. *et al.* Reversible Ponceau staining as a loading control alternative to actin in Western blots. **Analytical Biochemistry**, v. 401, n. 2, p. 318-320, jun. 2010.

ROSENBAUM, M.; LEIBEL, R. L.; HIRSCH, J. Obesity. **New England Journal of Medicine**, v. 337, n. 6, p. 396-407, ago. 1997.

ROSENBLATT, J. D.; PARRY, D. J. Gamma irradiation prevents compensatory hypertrophy of overloaded mouse extensor digitorum longus muscle. **Journal of Applied Physiology**, v. 73, n. 6, p. 2538-2543, dez. 1992.

RYDEN, A.; TORGERSON, J. S. The Swedish Obese Subjects Study--what has been accomplished to date? **Surgery for Obesity and Related Diseases**, v. 2, n. 5, p. 549-560, set. 2006.

SAMUEL, I. *et al.* Bariatric surgery trends: an 18-year report from the International Bariatric Surgery Registry. **American Journal of Surgery**, v. 192, n. 5, p. 657-662, nov. 2006.

SANDRI, M. Signaling in muscle atrophy and hypertrophy. **Physiology**, v. 23, n. 1, p. 160-170, jun. 2008.

SBCBM. Sociedade Brasileira de Cirurgia Bariátrica e Metabólica - Número de cirurgias bariátricas no brasil cresce 7,5% em 2016., 2017. Disponível em: <www.sbcbm.org.br/numero-de-cirurgias/bariatricas-no-brasil-cresce-75-em-2016>.

SCHAUER, P. R. *et al.* Bariatric Surgery versus Intensive Medical Therapy for Diabetes - 5-Year Outcomes. **New England Journal of Medicine**, v. 376, n. 7, p. 641-651, fev. 2017.

SCHAUER, P. R. *et al.* Bariatric surgery versus intensive medical therapy for diabetes-3-year outcomes. **New England Journal of Medicine**, v. 370, n. 21, p. 2002-2013, mai. 2014.

SCHAUER, P. R. *et al.* Bariatric surgery versus intensive medical therapy in obese patients with diabetes. **New England Journal of Medicine**, v. 366, n. 17, p. 1567-1576, abr. 2012.

SCHIAVON, C. A. *et al.* Effects of Bariatric Surgery in Obese Patients With Hypertension: The GATEWAY Randomized Trial (Gastric Bypass to Treat Obese Patients With Steady Hypertension). **Circulation**, v. 13, n. 137, p. 1132-1142, mar. 2018.

SCHULTZ, E.; DARR, K. C.; MACIUS, A. Acute effects of hindlimb unweighting on satellite cells of growing skeletal muscle. **Journal of Applied Physiology**, v. 76, n. 1, p. 266-270, jan. 1994.

SJOSTROM, L. *et al.* Bariatric surgery and long-term cardiovascular events. **JAMA**, v. 307, n. 1, p. 56-65, jan. 2012.

SMILES, W. J. *et al.* Modulation of autophagy signaling with resistance exercise and protein ingestion following short-term energy deficit. **American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 309, n. 5, p. R603-R612, set. 2015.

SNIJDERS, T. *et al.* Muscle fibre capillarization is a critical factor in muscle fibre hypertrophy during resistance exercise training in older men. **Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle**, v. 8, n. 2, p. 267-276, abr. 2017.

SNIJDERS, T.; PARISE, G. Role of muscle stem cells in sarcopenia. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v. 20, n. 3, p. 186-190, mai. 2017.

STEGEN, S. *et al.* Physical fitness in morbidly obese patients: effect of gastric bypass surgery and exercise training. **Obesity Surgery**, v. 21, n. 1, p. 61-70, jan. 2011.

SUBRAMANIAN, A. *et al.* Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 43, p. 15545-15550, out. 2005.

TEAM, R. D. C. A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical computing., 2010. Disponível em: <www.R-project.org>.

TRENDELENBURG, A. U. *et al.* TAK-1/p38/nNFKappaB signaling inhibits myoblast differentiation by increasing levels of Activin A. **Skelet Muscle**, v. 2, n. 3, p. 2-14, fev. 2012.

TURPIN, S. M. *et al.* Apoptosis in skeletal muscle myotubes is induced by ceramides and is positively related to insulin resistance. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 291, n. 6, p. E1341-1350, dez. 2006.

WHO. World Health Organization - WHO. Prevalence of obesity, 18+, 1975 - 2014 2014.

WOHLGEMUTH, S. E. *et al.* Skeletal muscle autophagy and apoptosis during aging: effects of calorie restriction and life-long exercise. **Experimental Gerontology**, v. 45, n. 2, p. 138-148, fev. 2010.

YIP, S.; PLANK, L. D.; MURPHY, R. Gastric bypass and sleeve gastrectomy for type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of outcomes. **Obesity Surgery**, v. 23, n. 12, p. 1994-2003, dez. 2013.

YOUNG, M. T. *et al.* One-year outcomes of laparoscopic sleeve gastrectomy versus laparoscopic adjustable gastric banding for the treatment of morbid obesity. **American Journal of Surgery**, v. 80, n. 10, p. 1049-1053, out. 2014.

ZALESIN, K. C. *et al.* Differential loss of fat and lean mass in the morbidly obese after bariatric surgery. **Metabolic Syndrome and Related Disorders**, v. 8, n. 1, p. 15-20, fev. 2010.

ZURLO, F. *et al.* Low ratio of fat to carbohydrate oxidation as predictor of weight gain: study of 24-h RQ. **American Journal of Physiology**, v. 259, n. 5 Pt 1, p. E650-657, nov. 1990.

APÊNDICES

Apêndice 1 – Artigo em produção com os resultados obtidos no teste de esforço máximo.

EXERCISE TRAINING IMPROVES THE HEART RATE RESPONSE TO MAXIMAL EFFORT OF OBESE WOMEN UNDERGOING BARIATRIC SURGERY: A RANDOMIZED CONTROLLED TRIAL

Saulo Gil^A, Tiago Peçanha^A, Wagner Silva Dantas^A, Igor Hisashi Murai^A, Carlos Alberto Abujabra Merege-Filho^A, Ana Lúcia de Sá-Pinto^B, Roberto de Cleva^C, Marco Aurélio Santo^C, Diego Augusto Nunes Rezende^A, John Patrick Kirwan^D, Bruno Gualano^{AB}, Hamilton Roschel^{AB}

Manuscript word count: 1697

^A Applied Physiology and Nutrition Research Group, School of Physical Education and Sport; Faculdade de Medicina FMUSP, Universidade de Sao Paulo, Sao Paulo, SP, BR, University of São Paulo, SP, BR.

^B Rheumatology Division, Hospital das Clinicas HCFMUSP, Faculdade de Medicina, Universidade de Sao Paulo;

^C Department of Digestive Surgery, School of Medicine, University of Sao Paulo;

^D Integrated Physiology and Molecular Medicine Laboratory, Pennington Biomedical Research Center, Louisiana State University, Baton Rouge, LA, USA

Hamilton Roschel, PhD

Faculdade de Medicina FMUSP, Universidade de Sao Paulo, Sao Paulo, SP, BR.

Av. Dr. Arnaldo, 455 – Pacaembu - São Paulo, SP – Brasil

Postal code: 01246-903

Phone: + 55 11 3091.3096

e-mail: hars@usp.br

ABBREVIATIONS

HR = heart rate

HRR = heart rate recovery

VO_{2peak} = maximal oxygen uptake

BMI = body mass index

RYGB = standard care non-exercise group

RYGB+ET = exercised group

PRE = before surgery

POST3 = three months after surgery

POST9 = nine months after surgery

CR% = chronotropic response to exercise

CI95% = 95% confident interval

ABSTRACT

Bariatric surgery has been linked with improvements in cardiovascular health, which might be partly ascribed to beneficial alterations in the autonomic nervous system. However, it is currently unknown if benefits from surgery on cardiac autonomic regulation in post-bariatric patients can be further improved by adjuvant therapies. We investigated the effects of a 6-month exercise program on cardiac autonomic responses in women undergoing bariatric surgery. Sixty-two obese women were randomly allocated to either standard of care (RYGB) or exercise (RYGB+ET). At baseline (PRE), and 3 (POST3) and 9 (POST9) months after surgery, we assessed chronotropic response to exercise (CR%) and heart rate recovery (HRR_{30s}, HRR_{60s} and HRR_{120s}; *i.e.*, decay of heart rate after 30, 60 and 120s after exercise) after a maximal exercise test. PRE to POST9 changes in scores revealed higher CR% ($\Delta\text{change}=8.56\%$, CI95% 0.22-19.90, $P=0.0445$), HRR_{30s} ($\Delta\text{change}=12.98$ beat/min, CI95% 4.29-21.67, $P=0.01$), HRR_{60s} ($\Delta\text{change}=22.95$ beat/min, CI95% 11.72-34.18, $P=0.01$) and HRR_{120s} ($\Delta\text{change}=34.54$ beat/min, CI95% 19.91-49.17, $P<0.01$) in the exercised group. In conclusion, our findings demonstrated that a 6-month exercise training program added to the benefits of bariatric surgery on cardiac autonomic regulation. These results reinforce previous findings about the relevance of exercise training as a post-bariatric surgery intervention.

Individuals with obesity present cardiovascular autonomic dysfunction, characterized by increased sympathetic activity to the heart and peripheral circulation (GRASSI *et al.*, 1995) and decrease in cardiac parasympathetic activity (KARASON *et al.*, 1999). These maladaptive responses are associated with metabolic dysfunction (SCHERRER *et al.*, 1994; ARONE *et al.*, 1995), and with functional (*i.e.*, increases in heart rate and blood pressure) and structural (*i.e.*, cardiac and vascular remodeling) alterations in the cardiovascular system (SCHERRER *et al.*, 1994; DINENNO *et al.*, 2000; SAKATA *et al.*, 2000; KAI *et al.*, 2009). Importantly, disturbances in autonomic regulation is not only evident in resting conditions, but also in response to physiological stimuli such as an exercise effort. For instance, chronotropic response (CR%) to exercise and post-exercise heart rate recovery (HRR) are blunted in obese individuals, which are both indicative of impairment in parasympathetic/sympathetic reactivity (ROCHE *et al.*, 2001; PECANHA *et al.*, 2017) and independent predictors of adverse cardiovascular events (COLE *et al.*, 1999; LAUER *et al.*, 1999).

Bariatric surgery represents an effective approach in the management of morbid obesity, with significant beneficial effects on body weight and cardiovascular risk factors (BUCHWALD *et al.*, 2004). Unsurprisingly, bariatric surgery also improves heart rate reactivity to exercise, which is indicative of improved cardiac autonomic function and overall health (WASMUND *et al.*, 2011). However, surgical intervention alone might not be able to fully restore autonomic regulation in bariatric patients (8, 9). Additionally, sustainability of the effects of surgery alone is both debatable and confounded by lifestyle changes, with some studies showing weight regain and reversal of the improvements in metabolic health within months/years following bariatric surgery (10, 11), which might negatively affect CR% and HRR (KIZILBASH *et al.*, 2006).

In this scenario, exercise emerges as an advisable non-pharmacological strategy to sustain/improve the benefits of bariatric surgery in cardiac autonomic function. Indeed, exercise training has been proved an effective strategy to increase CR% and HRR in non-bariatric obese subjects (TROMBETTA *et al.*, 2003; SJOSTROM *et al.*, 2007), but it is still unknown if these effects hold true in post-bariatric patients.

Here we investigated the effects of exercise training on cardiac autonomic responses to maximal exercise in women undergoing bariatric surgery. Our hypothesis was that the post-surgery exercise training would elicit greater benefits on cardiovascular autonomic function, as measured by CR% and HRR, when comparison with standard of care.

Data reported herein are part of a large parallel group, randomized controlled trial aimed to examine the effects of exercise training on overall cardiometabolic risk factors in morbidly obese individuals undergoing bariatric surgery (NCT02441361). This dataset was collected between March 2015 and June 2018 and pertains information on the influence of the intervention on cardiovascular autonomic function and its mediators. The study was approved by the local ethical committee and all patients provided written informed consent.

Patients were recruited from the Unit of Metabolic and Bariatric Surgery of the Clinics Hospital of the University of Sao Paulo. Inclusion criteria were the following: women eligible for bariatric surgery (BMI $>40 \text{ kg/m}^2$ or $\geq 35 \text{ kg/m}^2$ with associated comorbidities), 18-60 years of age, and not engaged in an exercise training program for at least one year prior to the study. Exclusion criteria involved cancer in the past 5 years, and any cardiovascular, neurological or musculoskeletal disorders that would contraindicate exercise practice.

Before surgery, patients were randomly assigned (1:1) into either standard of care (RYGB) or exercise (RYGB+ET) using a computer-generated randomization code. A 6-month, supervised exercise training program started 3 months after surgery. Before (PRE), 3 (POST3), and 9 (POST9) months after surgery, participants performed a maximal exercise test on a treadmill (Centurion200, Micromed, Brazil) with analysis of expired gases using indirect calorimetry (Cortex-Metalyzer IIIB, Leipzig, Germany). Maximal oxygen uptake ($\text{VO}_{2\text{peak}}$) was determined according to established criteria (POOLE, WILKERSON e JONES, 2008) and calculated as the average value during the final 30 seconds of the test.

Heart rate (HR) was continuously recorded at rest (HR_{rest}), during exercise and recovery using a 12-lead ECG (ErgoPC Elite, Micromed, Brazil). Resting HR (HR_{rest}) was measured immediately before the test, with the subjects standing on the treadmill. HR ($\text{HR}_{\text{reserve}}$) was calculated as the difference between maximum and resting HR (HR_{peak} and HR_{rest} , respectively). CR% was calculated through the following formula: $[(\text{HR}_{\text{peak}} - \text{HR}_{\text{rest}}) / (220 - \text{age} - \text{HR}_{\text{rest}})] \times 100$ (AZARBAL *et al.*, 2004). A blunted CR% was defined as a failure to reach 80% of chronotropic response (BRUBAKER e KITZMAN, 2011). HR recovery was calculated as the difference in HR after 30, 60, and 120 seconds of recovery in relation to HR_{peak} ($\text{HRR}_{30\text{s}}$, $\text{HRR}_{60\text{s}}$ and $\text{HRR}_{120\text{s}}$, respectively). A blunted HRR after exercise was defined as a $\text{HRR}_{60\text{s}} \leq 12$ bpm (COLE *et al.*, 1999).

RYGB+ET underwent a 6-month, three-times-a-week, supervised exercise training program, whereas RYGB received standard post-surgery care. Exercise training sessions consisted of 5-min light warm-up followed by strengthening exercises for the major muscle groups (leg-press 45° , leg extension, half-squat, bench press, lat pulldown, seated row and calf raise exercises) and aerobic exercise on a treadmill. Resistance exercise training comprised 3 sets of 8-12 repetition maximum with a 60-second rest

interval between sets and exercises. Load progression (5%) was employed as soon as patients were able to perform two or more repetitions than previously determined. Aerobic training consisted of 30-60 min (10-min progression every 4 weeks) of treadmill walking at an intensity corresponding to 50% of difference between the ventilatory threshold and respiratory compensation point (LANSLEY *et al.*, 2011). HR was monitored throughout every session to ensure proper exercise intensity (Polar®). Any adverse events or signs and symptoms were documented, and a record of attendance was kept to ensure adherence to the protocol.

Data were primarily analyzed using the intention-to-treat-principle. Dependent variables were tested by mixed-model with repeated measures using SAS® version 9.3. Tukey *post-hoc* tests was used for multiple comparisons purpose. Additionally, a secondary per protocol analysis was conducted with completers using delta scores (Δ) to assess the effects of exercise after surgery (*i.e.*, changes from POST9 to PRE) and possible between-group differences were tested using Unpaired T-test. Chi-square test was used to compare the proportion of blunted CR% and HRR between groups. Significance level was set at $P \leq 0.05$. Data are presented as mean $\pm$ standard deviation.

Two-hundred and eleven RYGB-eligible patients were screened for participation; 62 patients met the inclusion criteria (age=40.6 $\pm$ 8.1 years; BMI=48.3 $\pm$ 7.7 Kg/m²; VO_{2peak}=15.6 $\pm$ 2.6 ml/kg/min⁻¹) and were randomly assigned to either a standard of care non-exercised (RYGB: n=31) or exercised group (RYGB+ET: n=31). Ten patients from the RYGB (did not perform surgery: n=1; personal reasons: n=9) and nine from the RYGB+ET (personal reasons: n=9) withdrew from the study due to non-protocol-related reason. Adherence to the exercise program was 80 $\pm$ 13%. No adverse events were reported. Use of β -Blockers was limited to 6.4% in both groups (n = 2) and did not affect the results.

$\text{VO}_{2\text{peak}}$ improved after surgery at POST3 (main effect of time: $P=0.0028$) and continued to improve at POST9 (main effect of time: both $P<0.0001$), regardless of the exercise program. Delta analysis revealed higher $\text{VO}_{2\text{peak}}$ for the exercised group indicating the effectiveness of the exercise training program ($\Delta=2.27$ ml/kg/min $P=0.04$; CI95% -4.37 to -0.17).

HR_{peak} and CR% were significantly improved after surgery at POST3 (main effect of time: $P=0.0413$ and $P<0.0498$, respectively) and continued to improve by the end of the intervention (*i.e.*, POST9) (main effect of time: $P=0.0001$ and $P<0.0001$, respectively). HR_{rest} and $\text{HR}_{\text{reserve}}$ were not influenced by surgery (at POST3), but HR_{rest} decreased and $\text{HR}_{\text{reserve}}$ increased at POST9 (main effect of time: both $P<0.0001$). Importantly, delta analysis revealed significantly higher HR_{peak} ($\Delta\text{change}=11.47$ beat/min, CI95% 2.97-19.97, $P=0.0098$), $\text{HR}_{\text{reserve}}$ ($\Delta\text{change}=12.13$ beat/min, CI95% 3.24-21.02, $P=0.0091$), and CR% ($\Delta\text{change}=8.56\%$, CI95% 0.22-19.90, $P=0.0445$) in the exercised group than in the non-exercised counterpart (Figure 1D, 1F and 1H). Both groups demonstrated a reduction in the frequency of blunted %CR at POST3 and POST9. Although not statistically significant, RYGB+ET showed lower frequency of blunted %CR as compared with RYGB after the intervention (15% vs. 29%, $P=0.33$, respectively).

As expected, bariatric surgery improved all indices of HRR (all $P<0.0001$) (Figure 2). Notably, $\text{HRR}_{60\text{s}}$ and $\text{HRR}_{120\text{s}}$ were significantly higher in the exercised than in the non-exercised group at POST9 ($\Delta\text{change}=16.48$ beat/min, CI95% -29.06 to -3.89, $P=0.0036$ and $\Delta\text{change}=-23.57$ beat/min, CI95% -38.94 to -8.20, $P=0.0004$, respectively). In addition, delta analysis from PRE to POST9 revealed higher $\text{HRR}_{30\text{s}}$ ($\Delta\text{change}=12.98$ beat/min, CI95% 4.29 to 21.67, $P=0.01$), $\text{HRR}_{60\text{s}}$ ($\Delta\text{change}=22.95$ beat/min, CI95% 11.72 to 34.18, $P=0.01$) and $\text{HRR}_{120\text{s}}$ ($\Delta\text{change}=34.54$ beat/min, CI95%

19.91 to 49.17, $P<0.01$) in the exercised group when compared with their non-exercised counterparts (Figure 2B, 2D and 2F). Then proportion of participants presenting blunted HRR decreased at POST3 in both groups, indicating an effect of surgery; however, only the exercised group further decreased this parameter at POST9 (*i.e.*, from 56% to 5%), showing a significantly reduced proportion in comparison with the non-exercised group at the end of the intervention (5% vs. 31%, $P=0.045$, respectively).

Our results suggest an additive effect of exercise training to bariatric surgery on CR% and HRR, which are indicative of improvements in cardiac autonomic regulation in post-bariatric women. It is worth mentioning the high prevalence of abnormal CR% and HRR prior to the surgery (RYGB: 50 and 72%; RYGB+ET: 78 and 80%, respectively), which corroborate the cardiac autonomic impairment and increased cardiovascular risks in this group. These alterations were improved by bariatric surgery, reinforcing the benefits of this surgical intervention in the cardiac autonomic function of women with morbid obesity. However, the surgery-mediated improvements in CR% and HRR were further enhanced by exercise training, as demonstrated by the significant increases in CR% and HRR indices in the RYGB+ET group at POST9. As per previous studies, increases in chronotropic response suggests improvements in cardiac beta-adrenergic sensitivity (COLUCCI *et al.*, 1989; COLUCCI *et al.*, 1989), and has been linked with improved autonomic responsivity and reduced sympathetic activity (Experience from controlled trials of physical training in chronic heart failure. Protocol and patient factors in effectiveness in the improvement in exercise tolerance. European Heart Failure Training Group, 1998). Increases in HRR indicates either (or both) faster parasympathetic reactivation or a reduction in sympathetic activation following exercise (PECANHA, SILVA-JUNIOR e FORJAZ, 2014). Importantly, these responses have been associated

with improved cardiovascular health and higher survival rates after major cardiovascular events (HAI *et al.*, 2010).

It is noteworthy that exercise benefits on CR% and HRR were independent of improvement in traditional risk factors (*e.g.*, body weight, body fat, lipid profile, blood pressure), as published elsewhere (DANTAS *et al.*, 2018). Therefore, improvements in cardiac autonomic function might help to elucidate the risk-factor-independent benefits of physical activity in cardiovascular health (*i.e.*, risk factor gap) (JOYNER e GREEN, 2009). Together, these findings provide further evidence of the efficacy of exercise training as a non-pharmacological tool to promote health benefits to post-bariatric patients beyond those brought by surgery alone, supporting the contention that exercise training should be incorporated in post-bariatric care to optimize health-related outcomes.

In conclusion, 6 months of supervised exercise training superimposed on the benefits of bariatric surgery in cardiac autonomic responses to exercise, revealing an important benefit of exercise on cardiac autonomic integrity and cardiovascular health in post-bariatric women.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors acknowledge the support by Sao Paulo Research Foundation (FAPESP) (grants 2015/02835-8, 2016/10993-5 and 2017/01427-9).

CONFLICT OF INTEREST

The authors have no conflict of interest to declare.

References

- ADAMS, T. D. *et al.* . Weight and Metabolic Outcomes 12 Years after Gastric Bypass. **N Engl J Med**, v. 377, n. 12, p. 1143-1155, 2017.
- AHTIAINEN, J. P. *et al.* . Short vs. long rest period between the sets in hypertrophic resistance training: influence on muscle strength, size, and hormonal adaptations in trained men. **J Strength Cond Res**, v. 19, n. 3, p. 572-82, 2005.
- ANGRISANI, L. *et al.* . Bariatric Surgery Worldwide 2013. **Obes Surg**, v. 25, n. 10, p. 1822-32, 2015.
- ARENTSON-LANTZ, E. J. *et al.* . Fourteen days of bed rest induces a decline in satellite cell content and robust atrophy of skeletal muscle fibers in middle-aged adults. **J Appl Physiol (1985)**, v. 120, n. 8, p. 965-75, 2016.
- ARONE, L. J. *et al.* . Autonomic nervous system activity in weight gain and weight loss. **Am J Physiol**, v. 269, n. 1 Pt 2, p. R222-5, 1995.
- AZARBAL, B. *et al.* . The incremental prognostic value of percentage of heart rate reserve achieved over myocardial perfusion single-photon emission computed tomography in the prediction of cardiac death and all-cause mortality: superiority over 85% of maximal age-predicted heart rate. **J Am Coll Cardiol**, v. 44, n. 2, p. 423-30, 2004.
- BAHIA, L. *et al.* . The costs of overweight and obesity-related diseases in the Brazilian public health system: cross-sectional study. **BMC Public Health**, v. 12, p. 440, 2012.
- BAKKAR, N. *et al.* . IKK/NF-kappaB regulates skeletal myogenesis via a signaling switch to inhibit differentiation and promote mitochondrial biogenesis. **J Cell Biol**, v. 180, n. 4, p. 787-802, 2008.
- BAMMAN, M. M.; ROBERTS, B. M.; ADAMS, G. R. Molecular Regulation of Exercise-Induced Muscle Fiber Hypertrophy. **Cold Spring Harb Perspect Med**, v. 8, n. 6, 2018.
- BASIOTIS, P. P. *et al.* . Number of days of food intake records required to estimate individual and group nutrient intakes with defined confidence. **J Nutr**, v. 117, n. 9, p. 1638-41, 1987.
- BEALS, J. W. *et al.* . Obesity Alters the Muscle Protein Synthetic Response to Nutrition and Exercise. **Front Nutr**, v. 6, p. 87, 2019.
- BEALS, J. W. *et al.* . Altered anabolic signalling and reduced stimulation of myofibrillar protein synthesis after feeding and resistance exercise in people with obesity. **J Physiol**, v. 596, n. 21, p. 5119-5133, 2018.
- BEALS, J. W. *et al.* . Anabolic sensitivity of postprandial muscle protein synthesis to the ingestion of a protein-dense food is reduced in overweight and obese young adults. **Am J Clin Nutr**, v. 104, n. 4, p. 1014-1022, 2016.

BEATON, G. H. Approaches to analysis of dietary data: relationship between planned analyses and choice of methodology. **Am J Clin Nutr**, v. 59, n. 1 Suppl, p. 253S-261S, 1994.

BEN-DOV, N. *et al.* . Low-energy laser irradiation affects satellite cell proliferation and differentiation in vitro. **Biochim Biophys Acta**, v. 1448, n. 3, p. 372-80, 1999.

BERGLIND, D. *et al.* . Longitudinal assessment of physical activity in women undergoing Roux-en-Y gastric bypass. **Obes Surg**, v. 25, n. 1, p. 119-25, 2015.

BODINE, S. C. mTOR signaling and the molecular adaptation to resistance exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 38, n. 11, p. 1950-7, 2006.

BODINE, S. C.; BAEHR, L. M. Skeletal muscle atrophy and the E3 ubiquitin ligases MuRF1 and MAFbx/atrogen-1. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 307, n. 6, p. E469-84, 2014.

BODINE, S. C. *et al.* . Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo. **Nat Cell Biol**, v. 3, n. 11, p. 1014-9, 2001.

BOLLINGER, L. M. *et al.* . Skeletal muscle myotubes in severe obesity exhibit altered ubiquitin-proteasome and autophagic/lysosomal proteolytic flux. **Obesity (Silver Spring)**, v. 23, n. 6, p. 1185-93, 2015.

BOLSTER, D. R.; JEFFERSON, L. S.; KIMBALL, S. R. Regulation of protein synthesis associated with skeletal muscle hypertrophy by insulin-, amino acid- and exercise-induced signalling. **Proc Nutr Soc**, v. 63, n. 2, p. 351-6, 2004.

BOLSTER, D. R.; KIMBALL, S. R.; JEFFERSON, L. S. Translational control mechanisms modulate skeletal muscle gene expression during hypertrophy. **Exerc Sport Sci Rev**, v. 31, n. 3, p. 111-6, 2003.

BOND, D. S. *et al.* . Intervention-related increases in preoperative physical activity are maintained 6-months after Bariatric surgery: results from the bari-active trial. **Int J Obes (Lond)**, v. 41, n. 3, p. 467-470, 2017.

BORG, G.; LJUNGGREN, G.; CECI, R. The increase of perceived exertion, aches and pain in the legs, heart rate and blood lactate during exercise on a bicycle ergometer. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 54, n. 4, p. 343-9, 1985.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos não Transmissíveis e Promoção da Saúde. **Vigitel Brasil 2014: . vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico**, 2015.

BRUBAKER, P. H.; KITZMAN, D. W. Chronotropic incompetence: causes, consequences, and management. **Circulation**, v. 123, n. 9, p. 1010-20, 2011.

BUCHWALD, H. *et al.* . Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. **JAMA**, v. 292, n. 14, p. 1724-37, 2004.

BUCHWALD, H. *et al.* . Weight and type 2 diabetes after bariatric surgery: systematic review and meta-analysis. **Am J Med**, v. 122, n. 3, p. 248-256 e5, 2009.

BUCHWALD, H.; OIEN, D. M. Metabolic/bariatric surgery Worldwide 2008. **Obes Surg**, v. 19, n. 12, p. 1605-11, 2009.

BURD, N. A. *et al.* . Exercise training and protein metabolism: influences of contraction, protein intake, and sex-based differences. **J Appl Physiol** (1985), v. 106, n. 5, p. 1692-701, 2009.

CAMPANHA-VERSIANI, L. *et al.* . The Effect of a Muscle Weight-Bearing and Aerobic Exercise Program on the Body Composition, Muscular Strength, Biochemical Markers, and Bone Mass of Obese Patients Who Have Undergone Gastric Bypass Surgery. **Obes Surg**, v. 27, n. 8, p. 2129-2137, 2017.

CAMPOS, G. E. *et al.* . Muscular adaptations in response to three different resistance-training regimens: specificity of repetition maximum training zones. **Eur J Appl Physiol**, v. 88, n. 1-2, p. 50-60, 2002.

CAMPOS, J. C. *et al.* . Exercise prevents impaired autophagy and proteostasis in a model of neurogenic myopathy. **Sci Rep**, v. 8, n. 1, p. 11818, 2018.

CAREY, D. G.; PLIEGO, G. J.; RAYMOND, R. L. Body composition and metabolic changes following bariatric surgery: effects on fat mass, lean mass and basal metabolic rate: six months to one-year follow-up. **Obes Surg**, v. 16, n. 12, p. 1602-8, 2006.

CFM, C. F. D. M.-. **Alteração na Resolução CFM nº 1.766, de 13 de maio de 2005, publicada no Diário Oficial da União em 11 de julho de 2005, Seção I, página 114, que estabelece normas seguras para o tratamento cirúrgico da obesidade mórbida, definindo indicações, procedimentos e equipe.** . MEDICINA, C. F. D. Resolução CFM nº 1.942/2010. 2010.

_____. **Ementa de Reconhecimento da cirurgia metabólica como opção de tratamento de pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 2, com IMC entre 30 kg/m² e 34,9 kg/m², sem resposta ao tratamento clínico convencional, como técnica não experimental de alto risco e complexidade.** MEDICINA, C. F. D. Resolução CFM nº 2.172/2017 2017.

CHEN, C. N. *et al.* . Age-dependent effects of caloric restriction on mTOR and ubiquitin-proteasome pathways in skeletal muscles. **Geroscience**, 2019.

CHEVALIER, S. *et al.* . Protein and glucose metabolic responses to hyperinsulinemia, hyperglycemia, and hyperaminoacidemia in obese men. **Obesity (Silver Spring)**, v. 23, n. 2, p. 351-8, 2015.

CHRISTOV, C. *et al.* . Muscle satellite cells and endothelial cells: close neighbors and privileged partners. **Mol Biol Cell**, v. 18, n. 4, p. 1397-409, 2007.

COATES, P. S. *et al.* . Gastric bypass surgery for morbid obesity leads to an increase in bone turnover and a decrease in bone mass. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 89, n. 3, p. 1061-5, 2004.

COEN, P. M. *et al.* . Exercise and Weight Loss Improve Muscle Mitochondrial Respiration, Lipid Partitioning, and Insulin Sensitivity After Gastric Bypass Surgery. **Diabetes**, v. 64, n. 11, p. 3737-50, 2015a.

COEN, P. M. *et al.* . Clinical trial demonstrates exercise following bariatric surgery improves insulin sensitivity. **J Clin Invest**, v. 125, n. 1, p. 248-57, 2015b.

COHEN, J. **Statistical power analysis for the behavioral sciences** Hillsdale: Lawrence Earlbaum Associates, 1988.

COHEN, R. V. *et al.* . Microvascular Outcomes after Metabolic Surgery (MOMS) in patients with type 2 diabetes mellitus and class I obesity: rationale and design for a randomised controlled trial. **BMJ Open**, v. 7, n. 1, p. e013574, 2017.

COLE, C. R. *et al.* . Heart-rate recovery immediately after exercise as a predictor of mortality. **N Engl J Med**, v. 341, n. 18, p. 1351-7, 1999.

COLUCCI, W. S. *et al.* . Impaired chronotropic response to exercise in patients with congestive heart failure. Role of postsynaptic beta-adrenergic desensitization. **Circulation**, v. 80, n. 2, p. 314-23, 1989.

CUMMINGS, D. E. *et al.* . Gastric bypass surgery vs intensive lifestyle and medical intervention for type 2 diabetes: the CROSSROADS randomised controlled trial. **Diabetologia**, v. 59, n. 5, p. 945-53, 2016.

DAMAS, F. *et al.* . A review of resistance training-induced changes in skeletal muscle protein synthesis and their contribution to hypertrophy. **Sports Med**, v. 45, n. 6, p. 801-7, 2015.

DANIELS, P. *et al.* . Effect of a randomised 12-week resistance training programme on muscular strength, cross-sectional area and muscle quality in women having undergone Roux-en-Y gastric bypass. **J Sports Sci**, v. 36, n. 5, p. 529-535, 2018.

DANTAS, W. S. *et al.* . Reversal of Improved Endothelial Function After Bariatric Surgery Is Mitigated by Exercise Training. **J Am Coll Cardiol**, v. 72, n. 18, p. 2278-2279, 2018.

DAVIDSON, L. E. *et al.* . Fat-Free Mass and Skeletal Muscle Mass Five Years After Bariatric Surgery. **Obesity (Silver Spring)**, v. 26, n. 7, p. 1130-1136, 2018.

DE LARICHAUDY, J. *et al.* . TNF-alpha- and tumor-induced skeletal muscle atrophy involves sphingolipid metabolism. **Skelet Muscle**, v. 2, n. 1, p. 2, 2012.

DINENNO, F. A. *et al.* . Age-associated arterial wall thickening is related to elevations in sympathetic activity in healthy humans. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 278, n. 4, p. H1205-10, 2000.

Experience from controlled trials of physical training in chronic heart failure. Protocol and patient factors in effectiveness in the improvement in exercise tolerance. European Heart Failure Training Group. **Eur Heart J**, v. 19, n. 3, p. 466-75, 1998.

FOLLAND, J. P.; WILLIAMS, A. G. The adaptations to strength training : morphological and neurological contributions to increased strength. **Sports Medicine**, v. 37, n. 2, p. 145-68, 2007.

FONTAINE, K. R. *et al.* . Years of life lost due to obesity. **JAMA**, v. 289, n. 2, p. 187-93, 2003.

FREEDSON, P. S.; MELANSON, E.; SIRARD, J. Calibration of the Computer Science and Applications, Inc. accelerometer. **Med Sci Sports Exerc**, v. 30, n. 5, p. 777-81, 1998.

FRISBEE, J. C. Remodeling of the skeletal muscle microcirculation increases resistance to perfusion in obese Zucker rats. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 285, n. 1, p. H104-11, 2003.

FU, X. *et al.* . Obesity Impairs Skeletal Muscle Regeneration Through Inhibition of AMPK. **Diabetes**, v. 65, n. 1, p. 188-200, 2016.

GARCIA-MARTINEZ, C. *et al.* . Tumour necrosis factor-alpha increases the ubiquitination of rat skeletal muscle proteins. **FEBS Lett**, v. 323, n. 3, p. 211-4, 1993.

GARCIA-MARTINEZ, C. *et al.* . Ubiquitin gene expression in skeletal muscle is increased by tumour necrosis factor-alpha. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 201, n. 2, p. 682-6, 1994.

Gastrointestinal surgery for severe obesity: National Institutes of Health Consensus Development Conference. **Am J Clin Nutr**, v. 55, n. 2, p. 615S-619S, 1991.

GHASEMI, A.; ZAHEDIASL, S. Normality tests for statistical analysis: a guide for non-statisticians. **Int J Endocrinol Metab**, v. 10, n. 2, p. 486-9, 2012.

GIUSTI, V. *et al.* . Effects of laparoscopic gastric banding on body composition, metabolic profile and nutritional status of obese women: 12-months follow-up. **Obes Surg**, v. 14, n. 2, p. 239-45, 2004.

GONZALEZ-MUNIESA, P. *et al.* . Obesity. **Nat Rev Dis Primers**, v. 3, p. 17034, 2017.

GRASSI, G. *et al.* . Sympathetic activation in obese normotensive subjects. **Hypertension**, v. 25, n. 4 Pt 1, p. 560-3, 1995.

GRUMATI, P. *et al.* . Physical exercise stimulates autophagy in normal skeletal muscles but is detrimental for collagen VI-deficient muscles. **Autophagy**, v. 7, n. 12, p. 1415-23, 2011.

GUILLET, C. *et al.* . Changes in basal and insulin and amino acid response of whole body and skeletal muscle proteins in obese men. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 94, n. 8, p. 3044-50, 2009.

GUTTRIDGE, D. C. *et al.* . NF-kappaB-induced loss of MyoD messenger RNA: possible role in muscle decay and cachexia. **Science**, v. 289, n. 5488, p. 2363-6, 2000.

HAI, J. J. *et al.* . Relationship between changes in heart rate recovery after cardiac rehabilitation on cardiovascular mortality in patients with myocardial infarction. **Heart Rhythm**, v. 7, n. 7, p. 929-36, 2010.

HAKKINEN, K. *et al.* . Changes in electromyographic activity, muscle fibre and force production characteristics during heavy resistance/power strength training in middle-aged and older men and women. **Acta Physiol Scand**, v. 171, n. 1, p. 51-62, 2001.

HAKKINEN, K. *et al.* . Changes in muscle morphology, electromyographic activity, and force production characteristics during progressive strength training in young and older men. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, v. 53, n. 6, p. B415-23, 1998.

HAUN, C. T. *et al.* . A Critical Evaluation of the Biological Construct Skeletal Muscle Hypertrophy: Size Matters but So Does the Measurement. **Front Physiol**, v. 10, p. 247, 2019.

HECTOR, A. J. *et al.* . Pronounced energy restriction with elevated protein intake results in no change in proteolysis and reductions in skeletal muscle protein synthesis that are mitigated by resistance exercise. **FASEB J**, v. 32, n. 1, p. 265-275, 2018.

HEPPLE, R. T. A new measurement of tissue capillarity: the capillary-to-fibre perimeter exchange index. **Can J Appl Physiol**, v. 22, n. 1, p. 11-22, 1997.

HEPPLE, R. T. *et al.* . Quantitating the capillary supply and the response to resistance training in older men. **Pflugers Arch**, v. 433, n. 3, p. 238-44, 1997.

HERNANDEZ, J. M.; FEDELE, M. J.; FARRELL, P. A. Time course evaluation of protein synthesis and glucose uptake after acute resistance exercise in rats. **J Appl Physiol (1985)**, v. 88, n. 3, p. 1142-9, 2000.

HERRING, L. Y. *et al.* . The effects of supervised exercise training 12-24 months after bariatric surgery on physical function and body composition: a randomised controlled trial. **Int J Obes (Lond)**, v. 41, n. 6, p. 909-916, 2017.

HOLVIALA, J. H. *et al.* . Effects of strength training on muscle strength characteristics, functional capabilities, and balance in middle-aged and older women. **J Strength Cond Res**, v. 20, n. 2, p. 336-44, 2006.

HUE, O. *et al.* . Muscle force and force control after weight loss in obese and morbidly obese men. **Obes Surg**, v. 18, n. 9, p. 1112-8, 2008.

HULSTON, C. J. *et al.* . Resistance exercise stimulates mixed muscle protein synthesis in lean and obese young adults. **Physiol Rep**, v. 6, n. 14, p. e13799, 2018.

JAMART, C. *et al.* . Autophagy-related and autophagy-regulatory genes are induced in human muscle after ultraendurance exercise. **Eur J Appl Physiol**, v. 112, n. 8, p. 3173-7, 2012a.

JAMART, C. *et al.* . Modulation of autophagy and ubiquitin-proteasome pathways during ultra-endurance running. **J Appl Physiol (1985)**, v. 112, n. 9, p. 1529-37, 2012b.

JOANISSE, S. *et al.* . Skeletal Muscle Regeneration, Repair and Remodelling in Aging: The Importance of Muscle Stem Cells and Vascularization. **Gerontology**, v. 63, n. 1, p. 91-100, 2017.

JOYNER, M. J.; GREEN, D. J. Exercise protects the cardiovascular system: effects beyond traditional risk factors. **J Physiol**, v. 587, n. Pt 23, p. 5551-8, 2009.

KADI, F. *et al.* . The behaviour of satellite cells in response to exercise: what have we learned from human studies? **Pflugers Arch**, v. 451, n. 2, p. 319-27, 2005.

KADI, F. *et al.* . The effects of heavy resistance training and detraining on satellite cells in human skeletal muscles. **J Physiol**, v. 558, n. Pt 3, p. 1005-12, 2004.

KADI, F.; THORNELL, L. E. Concomitant increases in myonuclear and satellite cell content in female trapezius muscle following strength training. **Histochem Cell Biol**, v. 113, n. 2, p. 99-103, 2000.

KAI, H. *et al.* . Large blood pressure variability and hypertensive cardiac remodeling--role of cardiac inflammation. **Circ J**, v. 73, n. 12, p. 2198-203, 2009.

KARASON, K. *et al.* . Heart rate variability in obesity and the effect of weight loss. **Am J Cardiol**, v. 83, n. 8, p. 1242-7, 1999.

KERN, P. A. *et al.* . The effects of weight loss on the activity and expression of adipose-tissue lipoprotein lipase in very obese humans. **N Engl J Med**, v. 322, n. 15, p. 1053-9, 1990.

KIZILBASH, M. A. *et al.* . The temporal relationship between heart rate recovery immediately after exercise and the metabolic syndrome: the CARDIA study. **Eur Heart J**, v. 27, n. 13, p. 1592-6, 2006.

LANSLEY, K. E. *et al.* . A 'new' method to normalise exercise intensity. **Int J Sports Med**, v. 32, n. 7, p. 535-41, 2011.

LAUER, M. S. *et al.* . Impaired chronotropic response to exercise stress testing as a predictor of mortality. **JAMA**, v. 281, n. 6, p. 524-9, 1999.

LAVIE, C. J. *et al.* . Obesity and cardiovascular diseases: implications regarding fitness, fatness, and severity in the obesity paradox. **J Am Coll Cardiol**, v. 63, n. 14, p. 1345-54, 2014.

LAW, C. W. *et al.* . voom: Precision weights unlock linear model analysis tools for RNA-seq read counts. **Genome Biol**, v. 15, n. 2, p. R29, 2014.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. **Methods**, v. 25, n. 4, p. 402-8, 2001.

LIXANDRAO, M. E. *et al.* . Time Course of Resistance Training-Induced Muscle Hypertrophy in the Elderly. **J Strength Cond Res**, v. 30, n. 1, p. 159-63, 2016.

LYYTINEN, T. *et al.* . Physical function and properties of quadriceps femoris muscle after bariatric surgery and subsequent weight loss. **J Musculoskelet Neuronal Interact**, v. 13, n. 3, p. 329-38, 2013.

MA, Y. *et al.* . Number of 24-hour diet recalls needed to estimate energy intake. **Ann Epidemiol**, v. 19, n. 8, p. 553-9, 2009.

MACKEY, A. L. *et al.* . Enhanced satellite cell proliferation with resistance training in elderly men and women. **Scand J Med Sci Sports**, v. 17, n. 1, p. 34-42, 2007.

MACKEY, A. L. *et al.* . Assessment of satellite cell number and activity status in human skeletal muscle biopsies. **Muscle Nerve**, v. 40, n. 3, p. 455-65, 2009.

MAGHRABI, A. H. *et al.* . Two-year outcomes on bone density and fracture incidence in patients with T2DM randomized to bariatric surgery versus intensive medical therapy. **Obesity (Silver Spring)**, 2015.

MAGLIO, C. *et al.* . The IRS1 rs2943641 variant and risk of future cancer among morbidly obese individuals. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 98, n. 4, p. E785-9, 2013.

MARTIN-RINCON, M. *et al.* . Exercise Mitigates the Loss of Muscle Mass by Attenuating the Activation of Autophagy during Severe Energy Deficit. **Nutrients**, v. 11, n. 11, 2019.

MASIERO, E. *et al.* . Autophagy is required to maintain muscle mass. **Cell Metab**, v. 10, n. 6, p. 507-15, 2009.

MAURO, A. Satellite cell of skeletal muscle fibers. **J Biophys Biochem Cytol**, v. 9, p. 493-5, 1961.

MCKAY, B. R. *et al.* . Association of interleukin-6 signalling with the muscle stem cell response following muscle-lengthening contractions in humans. **PLoS One**, v. 4, n. 6, p. e6027, 2009.

MCKAY, B. R. *et al.* . Co-expression of IGF-1 family members with myogenic regulatory factors following acute damaging muscle-lengthening contractions in humans. **J Physiol**, v. 586, n. 22, p. 5549-60, 2008.

MCKAY, B. R. *et al.* . Elevated SOCS3 and altered IL-6 signaling is associated with age-related human muscle stem cell dysfunction. **Am J Physiol Cell Physiol**, v. 304, n. 8, p. C717-28, 2013.

MCKAY, B. R. *et al.* . Myostatin is associated with age-related human muscle stem cell dysfunction. **FASEB J**, v. 26, n. 6, p. 2509-21, 2012.

MINGRONE, G. *et al.* . Bariatric-metabolic surgery versus conventional medical treatment in obese patients with type 2 diabetes: 5 year follow-up of an open-label, single-centre, randomised controlled trial. **Lancet**, v. 386, n. 9997, p. 964-73, 2015.

MIZUSHIMA, N. *et al.* . A protein conjugation system essential for autophagy. **Nature**, v. 395, n. 6700, p. 395-8, 1998.

MIZUSHIMA, N. *et al.* . In vivo analysis of autophagy in response to nutrient starvation using transgenic mice expressing a fluorescent autophagosome marker. **Mol Biol Cell**, v. 15, n. 3, p. 1101-11, 2004.

MORITANI, T.; DEVRIES, H. A. Neural factors versus hypertrophy in the time course of muscle strength gain. **Am J Phys Med**, v. 58, n. 3, p. 115-30, 1979.

MURAI, I. H. *et al.* . Exercise Mitigates Bone Loss in Women With Severe Obesity After Roux-en-Y Gastric Bypass: A Randomized Controlled Trial. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 104, n. 10, p. 4639-4650, 2019.

MURTON, A. J. *et al.* . Obesity Appears to Be Associated With Altered Muscle Protein Synthetic and Breakdown Responses to Increased Nutrient Delivery in Older Men, but Not Reduced Muscle Mass or Contractile Function. **Diabetes**, v. 64, n. 9, p. 3160-71, 2015.

NEDERVEEN, J. P. *et al.* . Skeletal muscle satellite cells are located at a closer proximity to capillaries in healthy young compared with older men. **J Cachexia Sarcopenia Muscle**, v. 7, n. 5, p. 547-554, 2016.

NEWCOMER, K. L.; KRUG, H. E.; MAHOWALD, M. L. Validity and reliability of the timed-stands test for patients with rheumatoid arthritis and other chronic diseases. **J Rheumatol**, v. 20, n. 1, p. 21-7, 1993.

NEWTON, R. U. *et al.* . Mixed-methods resistance training increases power and strength of young and older men. **Med Sci Sports Exerc**, v. 34, n. 8, p. 1367-75, 2002.

NGUYEN, N. Q. *et al.* . Accelerated intestinal glucose absorption in morbidly obese humans - relationship to glucose transporters, incretin hormones and glycaemia. **J Clin Endocrinol Metab**, p. jc20143144, 2014.

NIH conference. Gastrointestinal surgery for severe obesity. Consensus Development Conference Panel. **Ann Intern Med**, v. 115, n. 12, p. 956-61, 1991.

ONOFRE, T. *et al.* . Effects of a Physical Activity Program on Cardiorespiratory Fitness and Pulmonary Function in Obese Women after Bariatric Surgery: a Pilot Study. **Obes Surg**, 2017.

PECANHA, T. *et al.* . Methods of assessment of the post-exercise cardiac autonomic recovery: A methodological review. **Int J Cardiol**, v. 227, p. 795-802, 2017.

PECANHA, T.; SILVA-JUNIOR, N. D.; FORJAZ, C. L. Heart rate recovery: autonomic determinants, methods of assessment and association with mortality and cardiovascular diseases. **Clin Physiol Funct Imaging**, v. 34, n. 5, p. 327-39, 2014.

PEREIRA, A. Z. *et al.* . Lean and fat mass loss in obese patients before and after Roux-en-Y gastric bypass: a new application for ultrasound technique. **Obes Surg**, v. 22, n. 4, p. 597-601, 2012.

PETRELLA, J. K. *et al.* . Potent myofiber hypertrophy during resistance training in humans is associated with satellite cell-mediated myonuclear addition: a cluster analysis. **J Appl Physiol (1985)**, v. 104, n. 6, p. 1736-42, 2008.

PHILLIPS, S. M. A brief review of critical processes in exercise-induced muscular hypertrophy. **Sports Med**, v. 44 Suppl 1, p. S71-7, 2014.

PHILLIPS, S. M. *et al.* . Resistance-training-induced adaptations in skeletal muscle protein turnover in the fed state. **Can J Physiol Pharmacol**, v. 80, n. 11, p. 1045-53, 2002.

PODSIADLO, D.; RICHARDSON, S. The timed "Up & Go": a test of basic functional mobility for frail elderly persons. **J Am Geriatr Soc**, v. 39, n. 2, p. 142-8, 1991.

POLACOW, V. O.; SCAGLIUSI, F. B.; LANCHA JUNIOR, A. H. **Validation of a portion-size measurement aid in a brazilian sample.** The Fifth International Conference on Dietary Assessment Methods. Chiang Rai, Tailândia 2003.

POOLE, D. C.; WILKERSON, D. P.; JONES, A. M. Validity of criteria for establishing maximal O₂ uptake during ramp exercise tests. **Eur J Appl Physiol**, v. 102, n. 4, p. 403-10, 2008.

ROBINSON, M. D.; MCCARTHY, D. J.; SMYTH, G. K. edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. **Bioinformatics**, v. 26, n. 1, p. 139-40, 2010.

ROCHE, F. *et al.* . Chronotropic incompetence response to exercise in congestive heart failure, relationship with the cardiac autonomic status. **Clin Physiol**, v. 21, n. 3, p. 335-42, 2001.

RODRIGUEZ-GALLEGO, E. *et al.* . Mapping of the circulating metabolome reveals alpha-ketoglutarate as a predictor of morbid obesity-associated non-alcoholic fatty liver disease. **Int J Obes (Lond)**, 2014.

ROMERO-CALVO, I. *et al.* . Reversible Ponceau staining as a loading control alternative to actin in Western blots. **Anal Biochem**, v. 401, n. 2, p. 318-20, 2010.

ROSENBAUM, M.; LEIBEL, R. L.; HIRSCH, J. Obesity. **N Engl J Med**, v. 337, n. 6, p. 396-407, 1997.

ROSENBLATT, J. D.; PARRY, D. J. Gamma irradiation prevents compensatory hypertrophy of overloaded mouse extensor digitorum longus muscle. **J Appl Physiol** (1985), v. 73, n. 6, p. 2538-43, 1992.

RYDEN, A.; TORGERSON, J. S. The Swedish Obese Subjects Study--what has been accomplished to date? **Surg Obes Relat Dis**, v. 2, n. 5, p. 549-60, 2006.

SAKATA, K. *et al.* . Cardiac sympathetic dysfunction contributes to left ventricular remodeling after acute myocardial infarction. **Eur J Nucl Med**, v. 27, n. 11, p. 1641-9, 2000.

SAMUEL, I. *et al.* . Bariatric surgery trends: an 18-year report from the International Bariatric Surgery Registry. **Am J Surg**, v. 192, n. 5, p. 657-62, 2006.

SANDRI, M. Signaling in muscle atrophy and hypertrophy. **Physiology (Bethesda)**, v. 23, p. 160-70, 2008.

SBCBM. Sociedade Brasileira de Cirurgia Bariátrica e Metabólica - Número de cirurgias bariátricas no brasil cresce 7,5% em 2016., 2017. Disponível em: <Erro! A referência de hiperlink não é válida..

SCHAUER, P. R. *et al.* . Bariatric Surgery versus Intensive Medical Therapy for Diabetes - 5-Year Outcomes. **N Engl J Med**, v. 376, n. 7, p. 641-651, 2017.

SCHAUER, P. R. *et al.* . Bariatric surgery versus intensive medical therapy for diabetes-3-year outcomes. **N Engl J Med**, v. 370, n. 21, p. 2002-13, 2014.

SCHAUER, P. R. *et al.* . Bariatric surgery versus intensive medical therapy in obese patients with diabetes. **N Engl J Med**, v. 366, n. 17, p. 1567-76, 2012.

SCHERRER, U. *et al.* . Body fat and sympathetic nerve activity in healthy subjects. **Circulation**, v. 89, n. 6, p. 2634-40, 1994.

SCHIAVON, C. A. *et al.* . Effects of Bariatric Surgery in Obese Patients With Hypertension: The GATEWAY Randomized Trial (Gastric Bypass to Treat Obese Patients With Steady Hypertension). **Circulation**, 2017.

SCHULTZ, E.; DARR, K. C.; MACIUS, A. Acute effects of hindlimb unweighting on satellite cells of growing skeletal muscle. **J Appl Physiol** (1985), v. 76, n. 1, p. 266-70, 1994.

SJOSTROM, L. *et al.* . Effects of bariatric surgery on mortality in Swedish obese subjects. **N Engl J Med**, v. 357, n. 8, p. 741-52, 2007.

SJOSTROM, L. *et al.* . Bariatric surgery and long-term cardiovascular events. **JAMA**, v. 307, n. 1, p. 56-65, 2012.

SMILES, W. J. *et al.* . Modulation of autophagy signaling with resistance exercise and protein ingestion following short-term energy deficit. **American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 309, n. 5, p. R603-R612, 2015.

SNIJDERS, T. *et al.* . Muscle fibre capillarization is a critical factor in muscle fibre hypertrophy during resistance exercise training in older men. **J Cachexia Sarcopenia Muscle**, v. 8, n. 2, p. 267-276, 2017.

SNIJDERS, T.; PARISE, G. Role of muscle stem cells in sarcopenia. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v. 20, n. 3, p. 186-190, 2017.

STEGEN, S. *et al.* . Physical fitness in morbidly obese patients: effect of gastric bypass surgery and exercise training. **Obes Surg**, v. 21, n. 1, p. 61-70, 2011.

SUBRAMANIAN, A. *et al.* . Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 102, n. 43, p. 15545-50, 2005.

TARNOPOLSKY, M. A. *et al.* . Suction-modified Bergstrom muscle biopsy technique: experience with 13,500 procedures. **Muscle Nerve**, v. 43, n. 5, p. 717-25, 2011.

TEAM, R. D. C. A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical computing., 2010. Disponível em: <Erro! A referência de hiperlink não é válida.>.

TRENDELENBURG, A. U. *et al.* . TAK-1/p38/nNFkappaB signaling inhibits myoblast differentiation by increasing levels of Activin A. **Skelet Muscle**, v. 2, n. 1, p. 3, 2012.

TROMBETTA, I. C. *et al.* . Weight loss improves neurovascular and muscle metaboreflex control in obesity. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 285, n. 3, p. H974-82, 2003.

TURPIN, S. M. *et al.* . Apoptosis in skeletal muscle myotubes is induced by ceramides and is positively related to insulin resistance. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 291, n. 6, p. E1341-50, 2006.

VETTER, T. R. Fundamentals of Research Data and Variables: The Devil Is in the Details. **Anesth Analg**, v. 125, n. 4, p. 1375-1380, 2017.

WASMUND, S. L. *et al.* . Improved heart rate recovery after marked weight loss induced by gastric bypass surgery: two-year follow up in the Utah Obesity Study. **Heart Rhythm**, v. 8, n. 1, p. 84-90, 2011.

WASSERMAN, K. *et al.* . Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise. **J Appl Physiol**, v. 35, n. 2, p. 236-43, 1973.

WHO. World Health Organization - WHO. Prevalence of obesity, 18+, 1975 - 2014 2014.

WOHLGEMUTH, S. E. *et al.* . Skeletal muscle autophagy and apoptosis during aging: effects of calorie restriction and life-long exercise. **Exp Gerontol**, v. 45, n. 2, p. 138-48, 2010.

XANTHAKOS, S. A. Nutritional deficiencies in obesity and after bariatric surgery. **Pediatr Clin North Am**, v. 56, n. 5, p. 1105-21, 2009.

YIP, S.; PLANK, L. D.; MURPHY, R. Gastric bypass and sleeve gastrectomy for type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of outcomes. **Obes Surg**, v. 23, n. 12, p. 1994-2003, 2013.

YOUNG, M. T. *et al.* . One-year outcomes of laparoscopic sleeve gastrectomy versus laparoscopic adjustable gastric banding for the treatment of morbid obesity. **Am Surg**, v. 80, n. 10, p. 1049-53, 2014.

ZALESIN, K. C. *et al.* . Differential loss of fat and lean mass in the morbidly obese after bariatric surgery. **Metab Syndr Relat Disord**, v. 8, n. 1, p. 15-20, 2010.

ZURLO, F. *et al.* . Low ratio of fat to carbohydrate oxidation as predictor of weight gain: study of 24-h RQ. **Am J Physiol**, v. 259, n. 5 Pt 1, p. E650-7, 1990.

Figure legends

Figure 1 – Resting heart rate (HR_{rest}), peak heart rate (HR_{rest}), reserve heart rate ($HR_{reserve}$) and chronotropic response along study. Panels A, C, E and G show HR_{rest} , HR_{rest} , $HR_{reserve}$ and chronotropic response, respectively, before (PRE), 3 (POST3), and 9 (POST9) months after bariatric surgery. Panels B, D, F and H show delta changes scores (POST9-PRE) in HR_{rest} , HR_{rest} , $HR_{reserve}$ and chronotropic response, respectively. Panel I shows the percentage of participants with blunted %CR in each group. RYGB: non-exercise group; RYGB+ET: exercise group; * denote significant main time effects.

Figure 2 – Heart rate recovery in 30 (HRR_{30s}), 60 (HRR_{60s}), and 120 (HRR_{120s}) seconds after maximal exercise along study. Panels A, C, and E show HRR_{30s} , 60 HRR_{60s} and HRR_{120s} , respectively, before (PRE), 3 (POST3), and 9 (POST9) months after bariatric surgery. Panels B, D and F show delta changes scores (POST9-PRE) in HRR_{30s} , 60 HRR_{60s} and HRR_{120s} , respectively. Panel G shows the percentage of participants with blunted HRR in each group across time. RYGB: non-exercise group; RYGB+ET: exercise group; a: $p < 0.05$ between POST3 vs POST9. b: $p < 0.05$ between PRE vs POST9. c: $p < 0.05$ for between-group comparisons at POST9. * denote significant main time effects.

Apêndice 2 – Informações detalhadas sobre anticorpos e diluições usadas na técnica de imunofluorescência.

Apêndice 1. Informações detalhadas sobre anticorpos e diluições usadas na técnica de imunofluorescência.

Anticorpo primário	Espécie	Marca	Referência	Diluição	Anticorpo secundário
Anti-Laminin	Coelho	Abcam	ab11575	1:100	Alexa Fluor 488 ou 564, Goat anti-coelho, 1:200
Anti-MHCI	Rato	DSHB	A4.951	1:75	Alexa Fluor 594, Goat anti-mouse, 1:1000
Anti-Pax7	Rato	DSHB	Pax7	<i>Neat</i>	Alexa Fluor 594, Goat anti-mouse, 1:1000
Anti-CD31	Coelho	Abcam	ab28364	1:20	Alexa Fluor 488, Goat anti-rabbit, 1:200

Apêndice 3 – Sequência de oligonucleotídeos iniciadores utilizados para avaliação da expressão de RNA mensageiro.

Apêndice 2. Sequência de oligonucleotídeos iniciadores utilizados para avaliação da expressão de RNA mensageiro.

<i>Gene</i>	<i>Forward Sequence</i>	<i>Reverse Sequence</i>	<i>NCBI gene ID number</i>
HIF-1α	CCCAATGGATGATGACTTCC	TGGGTAGGAGATGGAGATGC	3091
ANGPT1	GGGGGAGGTTGGACTGTAAT	GAATAGGCTCGGTTCCCTTC	284
ANGPT2	TGCAAGTGCTGGAGAACATC	GTTAACTTCCGCGTTTGCTC	285
MDM2	GATTCAGCTTCGGAACAAG	CCTGATCCAACCAATCACCT	4193
TEK	TACACCTGCCTCATGCTCAG	TGTGCAGTTCACAAGCCTTC	7010
THBS1	CCTCAATGAACGGGACAACT	GTTCTGGTGGCCATCTTCAT	7057
MuRF-1	TGAGCCAGAAGTTTGACACG	GATGAGTTGCTTGGCAGTCA	84676
Atrogin-1	TCACAGCTCACATCCCTGAG	GACTTGCCGACTCTTTGGAC	67731
BNIP3	AAAATACTGCTGGACGCACA	GAATATTTTCCGGCCGACTT	664
BECN1	TCACCATCCAGGAATCACA	TTCAGTCTTCGGCTGAGGTT	8678
LAMP2	TGGTTAATGGCTCCGTTTTTC	ATGGGCACAAGGAAGTTGTC	3920
CTSL1	GTGGACATCCCTAAGCAGGA	CATTCTTCACCCAGCTGTT	1514

HIF-1 α : hypoxia inducible factor 1 subunit alpha; ANGPT: Angiopoietins; MDM2: murine double minute 2; TEK: Tyrosine-Protein Kinase Receptor; THBS1: Thrombospondin 1; MuRF-1: muscle RING-finger protein-1; Atrogin-1: muscle atrophy F-box; BNIP3: BCL2 interacting protein 3; BECN1: beclin 1; LAMP2: Lysosome-associated membrane protein 2; CTSL1: Cathepsin L1.

Apêndice 4 – Informações detalhadas sobre anticorpos e diluições utilizadas na técnica de *Western Blotting*.

Apêndice 3. Informações detalhadas sobre anticorpos e diluições usadas na técnica de *Western Blotting*.

Anticorpo	Fonte (diluição)	Referência
<u>mTOR</u>	<u>Cell Signaling</u> (1:1000)	#2983
p-MTOR	<u>Cell Signaling</u> (1: 1000)	#5536
p70 S6K	<u>Cell Signaling</u> (1: 1000)	#2708
p-p70 S6K	<u>Cell Signaling</u> (1: 1000)	#9204
4E-BP1	<u>Cell Signaling</u> (1:1000)	#2855
p-4E-BP1	<u>Cell Signaling</u> (1:1000)	#2855
VEGF-B	<u>Cell Signaling</u> (1: 1000)	#2463
LC3A/B	<u>Cell Signaling</u> (1: 1000)	#9644
Beclin-1	<u>Cell Signaling</u> (1: 1000)	#3495
MuRF-1	Santa Cruz (1: 1000)	#33782
Atrogin-1	Santa Cruz (1:200)	# 134397

Apêndice 5 – Análise da expressão gênica e proteica de marcadores de angiogênese ao longo do estudo.

Apêndice 5 – Análise da expressão gênica (painéis A, B, C, D, E e F, n=15 por grupo] e proteica [painéis G e H, n=14 por grupo] de marcadores de angiogênese ao longo do estudo. RYGB: Grupo tratamento padrão; RYGB+TF: Grupo tratamento padrão mais treinamento físico; PRE: antes da cirurgia; 3MESES: 3 meses após a cirurgia; 9MESES: 9 meses após a cirurgia. ^ indica efeito principal de tempo. * indica diferença significativa comparado ao PRE; # indica diferença significativa comparado ao 3MESES; \$ indica diferença significativa comparado ao 9MESES.

ANEXOS

Anexo 1. Termo de consentimento livre e esclarecido.

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

MODELO DE TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE

CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

DOCUMENTO DE IDENTIDADE :.....SEXO: M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO.:/...../.....

ENDEREÇO: Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE:

CEP: TELEFONE: DDD (.....).....

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: Efeitos de um programa de exercícios físicos em indivíduos obesos submetidos à cirurgia bariátrica.

PESQUISADOR: Prof. Dr. Bruno Gualano

CARGO/FUNÇÃO: Professor Associado

UNIDADE DO HCFMUSP: Disciplina de Reumatologia

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO ☐

RISCO MÉDIO ☒

RISCO BAIXO ☐

RISCO MAIOR ☐

4. DURAÇÃO DA PESQUISA: 9 meses

1 – Desenho do estudo e objetivo(s)

A cirurgia bariátrica, a qual você irá fazer, pode levar à perda muito rápida e importante de músculo e osso do seu corpo. A prática de exercícios físicos pode atenuar essa perda, sendo importante para a manutenção da sua saúde. Dessa forma, o objetivo desse estudo é verificar os efeitos de um programa de exercícios físicos em pacientes submetidos à cirurgia bariátrica.

2 – Descrição dos procedimentos que serão realizados, com seus propósitos e identificação dos que forem experimentais e não rotineiros.

Primeiramente, gostaríamos de convidá-la a participar deste estudo.

Caso você aceite o convite, você realizará alguns exames que estão descritos abaixo, no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Após estes exames, você poderá ser sorteada em um destes dois grupos: 1) grupo treinado (treinamento físico será realizado 3 vezes por semana, com duração de aproximadamente 1 hora por sessão, no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo) ou 2) Placebo (sem treinamento físico).

Três (3) meses e nove (9) meses após a cirurgia (i.e., 6 meses após o início do programa de exercícios físicos pelo grupo TR – treinado), os exames realizados antes da cirurgia serão repetidos em ambos os grupos.

Abaixo estão descritos os exames que serão feitos por você.

- Teste na esteira – você terá que correr na esteira até o seu esforço máximo para sabermos o quanto você consegue correr. Durante as 16 semanas do estudo o seu exercício será bem menos intenso. Esse teste é utilizado de forma rotineira no hospital. Neste mesmo exame, antes de iniciá-lo, você deverá ficar deitada na maca por 30 minutos, para avaliarmos sua taxa metabólica de repouso, ou seja, o quanto você gasta de energia para manter seu organismo funcionando em repouso.

- Testes de função muscular: você terá que fazer 2 testes de função muscular. O primeiro envolverá movimentos de sentar e levantar por 30 s. No segundo, você partirá da posição sentada e terá que percorrer uma ida e volta num percurso de 3 m.

- “Teste do açúcar”, conhecido como curva glicêmica. Esse procedimento pode causar desconforto por conta do líquido que é muito doce. Esse exame é realizado para sabermos se você tem uma utilização ruim do açúcar. O “teste do açúcar” terá duração aproximada de 4 horas, será realizado no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e será supervisionado por médicos. Nesse teste, você tomará, pela boca, 75 gramas de açúcar com 300 ml de água.

- *Realização de uma punção no músculo da coxa (biópsia muscular por agulha de sucção) que será feita na enfermaria da Disciplina de Reumatologia. Nessa etapa, avaliaremos como é utilizado o açúcar no seu músculo*

com o intuito de descobrir possíveis falhas no funcionamento. Você será orientada a deitar-se em uma maca, com os joelhos dobrados e a músculo da coxa relaxado. O médico fará uma “limpeza” do local e, em seguida, te dará um remédio para prevenir dor no local da punção do músculo. Vale à pena lembrar que essa técnica tem sido muito utilizada pelo nosso grupo e outros grupos de todo o mundo, com uma baixíssima taxa de problemas após o procedimento. Você poderá sentir um desconforto leve como dor ou inchaço.

- Avaliação da composição corporal, ou seja, do quanto você tem de gordura, músculo e de osso. Este exame será realizada em um equipamento chamado DXA, o qual consiste em uma máquina que “escaneia” seu corpo, sem nenhum risco.

- Avaliação da estrutura óssea (microarquitetura óssea): neste exame será feito algumas “fotos” do seu osso da perna que mostrará a chance que você tem quebrar os seus ossos. Esse exame não oferece nenhum risco à sua saúde.

- Aplicação de questionários: você precisará responder algumas perguntas específicas que ajudarão a determinar se os exercícios ajudaram a melhorar a sua qualidade de vida e o seu cansaço.

- Todos os procedimentos descritos acima não fazem parte de sua rotina de acompanhamento no hospital e, portanto, são considerados experimentais.

- Os pacientes que forem sorteados no grupo que fará exercícios físicos, participarão por 24 semanas, três vezes por semana, de um programa de exercícios físicos cuidadosamente planejados, com supervisão do professor de Educação Física do Laboratório de Avaliação e Condicionamento em Reumatologia (LACRE) e acompanhamento do médico assistente da Disciplina de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

3 – Relação dos procedimentos rotineiros e como são realizados.

Os seguintes exames já fazem parte da sua rotina:

- Coleta de sangue, que será feita em jejum de 12 horas para determinar as concentrações de fatores inflamatórios, sensibilidade à insulina (que reflete o metabolismo do açúcar no seu sangue), e perfil lipídico (reflete como está o metabolismo de gorduras no seu sangue).

- Biópsia muscular por agulha de sucção: O médico fará uma “limpeza” do local e, em seguida, te dará um remédio (anestesia local) para prevenir dor no local da punção do músculo.

4 – Descrição dos desconfortos e riscos esperados nos procedimentos dos itens 2 e 3;

Se você tiver medo de agulhas, você poderá sentir certo desconforto durante a coleta de sangue, que poderá causar um leve desconforto no local da picada, mas deve desaparecer em um dia. Na biópsia muscular, você poderá sentir um desconforto leve como dor ou inchaço.

5 – Benefícios para o participante

Programas de exercícios físicos supervisionados por profissionais experientes.

6 – Garantia de acesso:

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Prof. Dr. Bruno Gualano, que pode ser encontrado no endereço Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 255 – 4º andar – LACRE – Laboratório de Avaliação e Condicionamento em Reumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP. Telefone: 2661-8022.

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 2661-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 2661-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br

7 – Você tem a liberdade de desistir ou interromper sua colaboração e deixar de participar deste estudo no momento em que desejar sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição.

8 – Os resultados obtidos serão analisados em conjunto com outros pacientes e mantidos em sigilo. Serão divulgados apenas em publicações científicas, sem a menção dos seus dados pessoais. Caso deseje, poderá pessoalmente tomar conhecimento dos resultados, ao final da pesquisa.

9 – Você não terá despesas pessoais em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

10 – Se os procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo lhe causarem algum mal-estar ou desconforto, você terá direito a tratamento médico no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP.

11 – Os pesquisadores se comprometem a utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas por mim, descrevendo o estudo “Efeitos de um programa de exercícios físicos em indivíduos obesos submetidos à cirurgia bariátrica.”

Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal Data ____/____/____

Assinatura da testemunha _____ Data ____ / ____ / ____

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

(Somente para o responsável do projeto)

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

Assinatura do responsável pelo estudo Data ____ / ____ / ____

Anexo 2. Aprovação dos procedimentos do estudo pelo comitê de ética local.

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeitos de um programa de exercícios físicos em indivíduos obesos submetidos à cirurgia bariátrica.

Pesquisador: Bruno Gualano

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 21056813.3.0000.0068

Instituição Proponente: HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA U S P

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 470.085

Data da Relatoria: 06/11/2013

Apresentação do Projeto:

Apresentação do projeto adequada

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo claro e de acordo com a justificativa do trabalho

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos e benefícios adequadamente apontados.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto bem contextualizado, com metodologia corretamente delineada.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

TCLE corretamente descrito

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
 Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010
 UF: SP Município: SÃO PAULO
 Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: marcia.carvalho@hc.fm.usp.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
FACULDADE DE MEDICINA DA
USP - HCFMUSP

Continuação do Parecer: 470.085

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12, cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

SAO PAULO, 27 de Novembro de 2013

Assinador por:
Luiz Eugênio Garcez Leme
(Coordenador)

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 9º andar
Bairro: Cerqueira César CEP: 05.403-010
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: marcia.carvalho@hc.fm.usp.br

Anexo 3. *Check-list* de informações a serem inseridas em estudos randomizados.

CONSORT 2010 checklist of information to include when reporting a randomised trial*

Section/Topic	Item No	Checklist item	Reported on page No
Title and abstract			
	1a	Identification as a randomised trial in the title	Título
	1b	Structured summary of trial design, methods, results, and conclusions (for specific guidance see CONSORT for abstracts)	-
Introduction			
Background and objectives	2a	Scientific background and explanation of rationale	13-14
	2b	Specific objectives or hypotheses	15
Methods			
Trial design	3a	Description of trial design (such as parallel, factorial) including allocation ratio	26
	3b	Important changes to methods after trial commencement (such as eligibility criteria), with reasons	Não houve
Participants	4a	Eligibility criteria for participants	26
	4b	Settings and locations where the data were collected	26
Interventions	5	The interventions for each group with sufficient details to allow replication, including how and when they were actually administered	27
Outcomes	6a	Completely defined pre-specified primary and secondary outcome measures, including how and when they were assessed	15 e 26
	6b	Any changes to trial outcomes after the trial commenced, with reasons	Não houve
Sample size	7a	How sample size was determined	36
	7b	When applicable, explanation of any interim analyses and stopping guidelines	Não houve
Randomisation:			
Sequence generation	8a	Method used to generate the random allocation sequence	26
	8b	Type of randomisation; details of any restriction (such as blocking and block size)	26
Allocation concealment mechanism	9	Mechanism used to implement the random allocation sequence (such as sequentially numbered containers), describing any steps taken to conceal the sequence until interventions were assigned	26
Implementation	10	Who generated the random allocation sequence, who enrolled participants, and who assigned participants to interventions	-
Blinding	11a	If done, who was blinded after assignment to interventions (for example, participants, care providers, those	Não houve

		assessing outcomes) and how	
	11b	If relevant, description of the similarity of interventions	26
Statistical methods	12a	Statistical methods used to compare groups for primary and secondary outcomes	36
	12b	Methods for additional analyses, such as subgroup analyses and adjusted analyses	36
Results			
Participant flow (a diagram is strongly recommended)	13a	For each group, the numbers of participants who were randomly assigned, received intended treatment, and were analysed for the primary outcome	38 e 40
	13b	For each group, losses and exclusions after randomisation, together with reasons	38 e 40
Recruitment	14a	Dates defining the periods of recruitment and follow-up	26 e 36
	14b	Why the trial ended or was stopped	-
Baseline data	15	A table showing baseline demographic and clinical characteristics for each group	39
Numbers analysed	16	For each group, number of participants (denominator) included in each analysis and whether the analysis was by original assigned groups	38 e 40
Outcomes and estimation	17a	For each primary and secondary outcome, results for each group, and the estimated effect size and its precision (such as 95% confidence interval)	40-45
	17b	For binary outcomes, presentation of both absolute and relative effect sizes is recommended	-
Ancillary analyses	18	Results of any other analyses performed, including subgroup analyses and adjusted analyses, distinguishing pre-specified from exploratory	46-61
Harms	19	All important harms or unintended effects in each group (for specific guidance see CONSORT for harms)	38
Discussion			
Limitations	20	Trial limitations, addressing sources of potential bias, imprecision, and, if relevant, multiplicity of analyses	66-67
Generalisability	21	Generalisability (external validity, applicability) of the trial findings	68
Interpretation	22	Interpretation consistent with results, balancing benefits and harms, and considering other relevant evidence	62-67
Other information			
Registration	23	Registration number and name of trial registry	26
Protocol	24	Where the full trial protocol can be accessed, if available	-
Funding	25	Sources of funding and other support (such as supply of drugs), role of funders	

*We strongly recommend reading this statement in conjunction with the CONSORT 2010 Explanation and Elaboration for important clarifications on all the items. If relevant, we also recommend reading CONSORT extensions for cluster randomised trials, non-inferiority and equivalence trials, non-pharmacological treatments, herbal interventions, and pragmatic trials. Additional extensions are forthcoming: for those and for up to date references relevant to this checklist, see www.consort-statement.org.