

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTE

**Efeito de 10 semanas de treinamento físico aeróbio sobre a
microbiota intestinal de homens adultos jovens e sedentários**

AYANE DE SÁ RESENDE

São Paulo
2019

AYANE DE SÁ RESENDE

Efeito de 10 semanas de treinamento físico aeróbio sobre a microbiota intestinal de homens adultos jovens e sedentários

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

Área de concentração: Estudos Biodinâmicos da Educação Física e Esporte

Orientador: Prof. Dr. Antonio Herbert Lancha Junior

São Paulo

2019

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

Resende, Ayane de Sá

Efeito de 10 semanas de treinamento físico aeróbio sobre a microbiota intestinal de homens adultos jovens e sedentários / Ayane de Sá Resende. – São Paulo : [s.n.], 2019.

120p.

Dissertação (Mestrado) - Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Herbert Lancha Junior

1. Treinamento físico 2. Treinamento aeróbio 3. Sedentarismo
I. Título.

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: RESENDE, Ayane de Sá

Título: Efeito de 10 semanas de treinamento físico aeróbio sobre a microbiota intestinal de homens adultos jovens e sedentários

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

Data: ___/___/___

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Esta dissertação foi elaborada seguindo as normas e diretrizes da Secretaria de Pós-Graduação da Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo aprovadas em 27 de fevereiro de 2014, as quais estão presentes nas Resoluções CoPGr 6651 e 6652. A formatação do trabalho seguiu as recomendações da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

***Dedico este trabalho aos meus pais que
sempre me ensinaram que a educação e o amor
são as principais ferramentas para um mundo mais justo.***

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus por tudo. A fé que tenho Nele me guia e me faz mais forte.

Aos meus pais, Fatinha e Toninho (apelidos carinhosos herdados da minha querida e falecida avó). A eles eu devo a minha vida. A mulher perseverante que sou hoje, eu devo à base que eles me deram. Todo o apoio e amor incondicional que sempre recebi. Eu sou eternamente grata aos melhores pais do mundo!

Aos meus irmãos, Aline e Alan. Irmãos mais velhos que sempre cuidaram muito bem de mim e me ensinaram o valor de compartilhar e viver em conjunto. Às minhas sobrinhas, Letícia e Isadora, que despertam meu sorriso mais profundo. À Marisa, que é uma mulher guerreira e eu me orgulho de tê-la como cunhada.

À toda minha família, tios e primos, que é uma grande família, sempre muito presente, animada, unida e que enche meu coração de gratidão e amor. Especialmente à minha tia Cida e meus quatro avós que não estão mais em corpo, mas sei que estão em alma. Jamais esquecerei vocês!

Ao meu querido namorado, Matheus. Dentre as bênçãos que recebi em minha vida, ele é uma delas. Aprendi e aprendo muito com você. Obrigada pelo seu apoio, amor, admiração e companheirismo. “Une o meu viver com o seu viver, e/e só precisa existir para me completar...” (VERCILLO, Jorge).

Aos meus amigos de Aracaju (SE), os quais eu faço valer este conselho: Tenha amigos que compartilham bons e maus momentos, que te apoiam e te lembram o quão você é importante. Em particular, à minha amiga de longa data Manu.

Aos queridos amigos que fiz em São Paulo. Vitão que eu considero ser uma pessoa e profissional espetacular, Noemy sempre alto-astrol e guerreira, Will sempre sincero e parceiro, Vicky, Nemézio, Gui Yamaguchi, Alan, Rapha (Carioca), Isa e Keth que pude compartilhar conversas e momentos alegres que quero levar sempre em meu coração. Obrigada por toda a ajuda que me deram durante meu mestrado. Outros tantos colegas que fiz, entre eles USPianos, da UNIFESP e do curso de pós-graduação na EEFÉ, aos funcionários da EEFÉ que sempre me auxiliaram quando precisei. Perdão não mencionar todos, tive a sorte de sempre estar muito bem acompanhada nessa árdua jornada. Mesmo alguns de forma indireta contribuíram para minha formação e eu sou grata!

Em especial, quero agradecer imensamente a Vitinho, técnico do nosso laboratório e meu amigo, por todo apoio, carinho e comidinhas deliciosas que recebi ao longo desses 3 anos. E do ponto mais profundo do meu coração, quero agradecer às minhas amigas Aline e Geovana, duas pesquisadoras que eu admiro muito. Vocês fizeram toda a diferença nesses últimos anos. Obrigada pela amizade, parceria, treinos e risadas!

A todos os professores que eu tive a honra de conhecer, em especial Ronaldinho, Zeca, Dani Caetano, Rômulo Bertuzzi, Chris Hoffmann, Carol Marcantonio, Cris Bogsan, Sandra Ribeiro e minha ex-orientadora da UFS, Raquel Simões. Tê-los como referência é uma inspiração não só na vida profissional, mas pessoal também. Eu tenho muito respeito e admiração por vocês.

Não menos importante, gostaria de agradecer ao meu orientador e professor Antonio Herbert Lancha Jr por toda sua paciência comigo, pelos ensinamentos, orientação acadêmica e por todas as portas que me abriu. Obrigada por acreditar em mim!

Por fim, agradeço à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo auxílio financeiro e incentivo à pesquisa, sem o qual este estudo e muitos outros não poderiam ser conduzidos. Ciência não é gasto, é investimento! E quero agradecer a todos os voluntários que participaram do meu projeto, os quais foram essenciais e sempre estiveram dispostos a ajudar.

A palavra GRATIDÃO faz todo sentido quando vivemos em comunidade e harmonia.

“Uma criança, um professor, um livro e um lápis podem mudar o mundo.”

Malala Yousafzai

RESUMO

RESENDE, A. S. **Efeito de 10 semanas de treinamento físico aeróbio sobre a microbiota intestinal de homens adultos jovens e sedentários.** 2019. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

A microbiota intestinal (MI) é formada por milhões de microrganismos presentes no trato gastrointestinal, especialmente no cólon. Recentemente, estudos tem sugerido que o treinamento físico aeróbio pode modificar a composição desta MI, por exemplo, aumentando a abundância de bactérias comensais, as quais positivamente influenciam o organismo do hospedeiro. Entretanto, algumas lacunas existem: estudos foram realizados majoritariamente em animais e estes apresentaram associação com outros modelos de dietas e doenças; em humanos, estudos observacionais não apontaram causalidade do treinamento físico e os poucos estudos com intervenção possuíam influência de outras variáveis, as quais estiveram associadas com tais mudanças. Assim, dificulta isolar e compreender o efeito do treinamento físico sobre a MI humana. Portanto, a partir de um delineamento controlado, o objetivo desse estudo foi investigar o efeito do treinamento físico aeróbio realizado em intensidade moderada sobre a composição da microbiota intestinal em humanos. Para isso, foram recrutados homens sedentários, entre 18 a 40 anos, universitários, com padrões alimentares semelhantes, não obesos e com ausência de quaisquer doenças, os quais foram randomizados em grupo controle (GC) e grupo treino (GT). Todos passaram pelas seguintes coletas: aplicação de questionários, coleta de sangue e fezes, avaliação da composição corporal e teste de esforço progressivo máximo, no pré- e pós-intervenção. Os voluntários do GT foram treinados em bicicletas ergométricas por 10 semanas (3x/semana; 50 minutos/dia; 60-65% VO_{2pico}). A análise dos dados referentes à microbiota intestinal foram processados pelo software QIIME 2.0, as análises estatísticas foram realizadas pelo QIIME 2.0 e visualizadas no site do QIIME (<https://view.qiime2.org/>). Outras análises estatísticas foram realizadas no programa SPSS versão 25 por meio de análise de variância com medidas repetidas, utilizando “grupo” e “tempo” como fatores ou pelo teste Kruskal-Wallis. O nível de significância foi $p < 0,05$. Após 10 semanas de intervenção houve aumento significativo da capacidade aeróbia nos voluntários treinados, a qual

promoveu aumento significativo da família *Lachnospiraceae* e das espécies *Roseburia* sp. e *Bacteroides ovatus*. Em contrapartida houve redução do gênero *Faecalibacterium* e das espécies *Lachnospira* sp e *Bilophila* sp. Não foram detectadas diferenças nos índices de α - e β -diversidade. Após o treinamento físico, o GT apresentou maior abundância de bactérias comensais em comparação ao GC, tais como, *Faecalibacterium*, *Roseburia*, *Lachnospira* e *Akkermansia*, enquanto que o GC apresentou aumento de bactérias ligadas à obesidade. A α -diversidade, bem como, a abundância relativa da família *Lachnospiraceae* e do gênero *Akkermansia* se mostraram positivamente associados ao VO_{2pico} . Deste modo, conclui-se que 10 semanas de treinamento físico foi eficiente em modificar a composição da MI em homens sedentários e minizar possíveis interferências negativas do comportamento sedentário.

Palavras-chave: exercício físico; microbiota intestinal; humanos; VO_{2pico} ; *Lachnospiraceae*

ABSTRACT

RESENDE, A. S. **Effect of 10 weeks aerobic training on gut microbiota of young and sedentary men.** 2019. Thesis (Master in Sciences). School of Physical Education and Sports, University of São Paulo, São Paulo, 2019.

Gut microbiota (GM) is composed by million of microorganisms present in the gastrointestinal tract, especially in the distal gut. Recently, studies have suggested that aerobic training can modify the GM composition, for instance by increasing the commensal bacteria abundance, which positively influence the host organism. Nevertheless, some gaps exist: studies were conducted mostly in animal models in association with other design of diets and diseases; in humans, cross-sectional studies did not point to causality of training, and the few intervention studies were influenced by other variables, which have been associated with such changes. So, it is difficult to isolate and understand the aerobic training effect on the human GM. Therefore, from a controlled design, the objective of this study was to investigate the effect of aerobic training at moderate intensity on the human GM composition. For this, healthy and sedentary men, between 18 to 40 years old, university students, with similar diet habits and non-obese were recruited, and then were randomized in control group (CG) and training group (TG). The volunteers went through the following sample collections: questionnaires, blood and faeces samples, body composition and maximum progressive test, at pre and post intervention. TG volunteers were trained on stationary bicycles for 10 weeks (3x/week, 50 minutes/day, 60-65% VO_2peak). The microbial data were conducted in QIIME 2.0 and statistical analyses were performed in QIIME 2.0 and visualized by QIIME view. Whereas other data was conducted in SPSS software version 25 by repeated measures of variance analysis with "group" and "time" as factors or Kruskal-Wallis test. The level of significance was $p < 0.05$. After 10 weeks of intervention, there was a significant increasing in aerobic capacity in TG, which promoted a significant increasing in the relative abundance of *Lachnospiraceae* family and *Roseburia* sp. and *Bacteroides ovatus* species. In contrast, there was a reduction of the *Faecalibacterium* genus and *Lachnospira* sp. and *Bilophila* sp. species. No differences were detected in α - and β -diversity. At post-intervention, TG showed a greater abundance of commensal bacteria, such as *Faecalibacterium*, *Roseburia*, *Lachnospira* and *Akkermansia* in comparison with CG, while CG presented an

increase of bacteria related to obesity. The α -diversity as well as the relative abundance of the *Lachnospiraceae* family and *Akkermansia* genus were positively associated with VO_2 peak. Thus, it was concluded that 10 weeks of aerobic training was efficient in modifying the GM composition in sedentary men and in minimizing possible negative interferences of the sedentary behavior.

Key words: exercise, gut microbiota, human, VO_2 peak, *Lachnospiraceae*

LISTA DE ABREVIações

AGCC: ácidos graxos de cadeia curta

AMPs: peptídeos antimicrobianos

AMPK: adenosina monofosfato-ativado proteína quinase

CAZimas: enzimas ativadas por carboidrato

FXR: receptores X farnesoides

GALT: tecido linfoide associado ao intestino

GT: grupo treino

GC: grupo controle

HDL-c: colesterol de alta densidade

HPA: eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal

IgAs: imunoglobulinas A

IL: interleucina

IMC: índice de massa corporal

IPAQ: questionário internacional de atividade física

LDL-c: colesterol de baixa densidade

LPS: lipolissacarídeo

MI: microbiota intestinal

PARQ: questionário de prontidão para atividade física

QFA: questionário de frequência alimentar

TCLE: termo de consentimento livre e esclarecido

TGI: trato gastrointestinal

TNF- α : fator de necrose tumoral-alfa

VO₂pico: consumo pico de oxigênio

Wpico: potência pico

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Visão geral do ambiente intestinal colonizado pela microbiota.....	21
Figura 2 – Exemplo de classificação hierárquica taxonômica do Reino Bacteria.....	23
Figura 3 – Distribuição da microbiota intestinal ao longo do trato gastrointestinal.....	27
Figura 4 – Principais meios de interação entre o exercício físico e a microbiota intestinal.....	30
Figura 5 – Fluxograma de recrutamento dos participantes do projeto de pesquisa.....	42
Figura 6 – Delineamento do estudo.....	46
Figura 7 – Avaliação da composição corporal utilizando o método de pletismografia gasosa.....	48
Figura 8 – Teste de esforço progressivo máximo realizado por voluntário do estudo.....	51
Figura 9 – Gráfico produzido por analisador de gases em teste de esforço progressivo máximo.....	54
Figura 10 – Sessão de treinamento físico realizado por alguns voluntários do estudo.....	56

Figura 11 – Variação dos parâmetros de composição corporal dos voluntários do grupo treino.....	65
Figura 12 – Efeito do treinamento físico sobre parâmetros do teste de esforço progressivo máximo.....	70
Figura 13 – Alfa diversidade e curva de rarefação.....	72
Figura 14 – Análise de uniformidade entre os grupos e momentos através do índice de Pielou evenness.....	73
Figura 15 – Beta diversidade entre os grupos e momentos avaliados.....	75
Figura 16 – Histograma da composição da microbiota intestinal fecal de humanos no nível taxonômico correspondente aos filos.....	77
Figura 17 – Mapa de temperatura dos 32 gêneros mais abundantes identificados na microbiota intestinal das fezes.....	83
Figura 18 – Abundância relativa das principais espécies bacterianas encontradas nas amostras fecais.....	85
Figura 19 – Correlação entre α -diversidade, VO ₂ pico e consumo de carboidratos.....	87
Figura 20 – Correlação entre abundância relativa de OTUs e o VO ₂ pico.....	88

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 – Sumário de estudos que investigaram o efeito do treinamento físico sobre a composição da microbiota intestinal em humanos.....	33
Tabela 1 – Dados referentes à composição corporal e parâmetros metabólicos plasmáticos dos participantes.....	64
Tabela 2 – Dados referentes ao consumo alimentar e hídrico dos participantes.....	66
Tabela 3 – Dados obtidos a partir do teste de esforço progressivo máximo.....	69
Tabela 4 – Frequência de comunidades bacterianas conforme revelado pela análise de sequenciamento 16S rRNA.....	71
Tabela 5 – Abundância relativa (%) dos filos e famílias identificados na microbiota intestinal das fezes.....	79

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1 <i>O que é a microbiota intestinal?.....</i>	<i>20</i>
2.2 <i>Qual a relação entre o treinamento físico e a microbiota intestinal?.....</i>	<i>29</i>
3. JUSTIFICATIVA.....	39
4. OBJETIVOS.....	40
4.1 <i>Objetivo geral.....</i>	<i>40</i>
4.2 <i>Objetivos específicos.....</i>	<i>40</i>
5. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	41
5.1 <i>Seleção dos participantes.....</i>	<i>41</i>
5.2 <i>Fluxograma de recrutamento.....</i>	<i>41</i>
5.3 <i>Considerações éticas.....</i>	<i>43</i>
5.4 <i>Local e duração do estudo.....</i>	<i>43</i>
5.5 <i>Delineamento do estudo.....</i>	<i>44</i>
5.6 <i>Avaliação da composição corporal.....</i>	<i>46</i>
5.7 <i>Avaliação da dieta.....</i>	<i>48</i>
5.8 <i>Amostras de fezes.....</i>	<i>49</i>
5.9 <i>Avaliação da capacidade física e do consumo pico de oxigênio.....</i>	<i>50</i>
5.10 <i>Treinamento físico.....</i>	<i>55</i>
5.11 <i>Análises de perfil lipídico e glicêmico.....</i>	<i>57</i>
5.12 <i>Extração do DNA total microbiano.....</i>	<i>57</i>
5.13 <i>Sequenciamento 16S rRNA.....</i>	<i>58</i>
5.14 <i>Bioinformática.....</i>	<i>60</i>
5.15 <i>Análise estatística.....</i>	<i>61</i>

6. RESULTADOS.....	63
6.1 <i>Características descritivas dos participantes.....</i>	63
6.2 <i>Consumo alimentar.....</i>	65
6.3 <i>Efeito do treinamento físico sobre a capacidade aeróbia.....</i>	68
6.4 <i>Efeito do treinamento físico sobre a composição da microbiota intestinal.....</i>	69
6.4.1 Alfa-diversidade.....	69
6.4.2 Análise da diversidade bacteriana por coordenadas principais (PCoA).....	74
6.4.3 Abundância dos OTUs em níveis taxonômicos.....	75
6.4.4 Correlação entre a microbiota intestinal e o VO₂pico e parâmetros de composição corporal.....	86
7. DISCUSSÃO.....	90
8. CONCLUSÃO.....	101
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	102
ANEXO 1.....	117
ANEXO 2.....	119

1. INTRODUÇÃO

A microbiota intestinal (MI) é composta por microrganismos, em particular bactérias, residentes ao longo do trato gastrointestinal (MARCHESI *et al.*, 2015). Pesquisas produzidas ao longo das duas últimas décadas têm revelado participação importante desta MI e seu genoma, denominado como microbioma, sobre a fisiologia do hospedeiro e predisposição a doenças estabelecendo, assim, relação bidirecional muito próxima entre a MI e os sistemas do organismo humano (MACFARLANE & MACFARLANE, 1997; LE CHATELIER *et al.*, 2013).

Diversos pesquisadores tentando compreender o papel da MI no desenvolvimento da obesidade, por exemplo, observaram que indivíduos que apresentavam maior adiposidade e índice de massa corpórea (IMC), resistência à insulina, perfil dislipidêmico e perfil inflamatório mais pronunciado também apresentavam significativamente menor variabilidade bacteriana (LE CHATELIER *et al.*, 2013; LIU *et al.*, 2017b). Estes pesquisadores sugerem que maior diversidade entre as espécies de bactérias que compõe a MI e maior abundância de bactérias comensais, respectivamente denominadas como diversidade e riqueza de espécies, podem contribuir positivamente para a saúde do hospedeiro (HOLMES *et al.*, 2012; LE CHATELIER *et al.*, 2013).

A composição da MI, bem como sua diversidade e riqueza de espécies, é influenciada ao longo da vida, principalmente, por fatores ambientais, como os hábitos alimentares (FERNANDES *et al.*, 2014). Dado que o treinamento físico aeróbio provoca adaptações fisiológicas sobre o sistema intestinal (BERMON *et al.*, 2015; COOK *et al.*, 2015), este tem sido apontado como outro fator ambiental capaz de provocar mudanças consistentes na composição da MI (CRONIN; MOLLOY; SHANAHAN, 2016; CERDÁ *et al.*, 2016).

Em modelo animal, diversos estudos demonstraram que ratos que passaram por treinamento físico aeróbio em intensidade moderada exibiram perfil da MI significativamente diferente, principalmente apresentaram aumento da abundância de espécies de bactérias comensais, diversidade e riqueza microbiana, em comparação àqueles não treinados (MATSUMOTO *et al.*, 2008; CHOI *et al.*, 2013; EVANS; LEPARD; KWAK, 2014; MIKA *et al.*, 2014; CAMPBELL *et al.*, 2016; WELLY *et al.*, 2016; LIU *et al.*, 2017a). Estas diferenças foram observadas tanto na porção distal do

intestino quanto nas fezes (MATSUMOTO *et al.*, 2008; CHOI *et al.*, 2013; PETRIZ *et al.*, 2014; EVANS; LEPARD; KWAK, 2014).

Estudos realizados em humanos corroboram com estes dados encontrados em modelo animal. De fato, foi observado em estudos transversais que há diferenças significantes na composição da MI presente nas fezes entre indivíduos treinados e sedentários, em que indivíduos fisicamente ativos e atletas apresentam maior diversidade e riqueza de espécies em comparação aos sedentários. É possível observar esta diferença através de métodos estatísticos que permitem analisar a complexidade e diversidade da MI entre os grupos, tal como a análise de coordenadas principais (PCoA) (CLARKE *et al.*, 2014; ESTAKI *et al.*, 2016; BRESSA *et al.*, 2017; STEWART *et al.*, 2017; YANG *et al.*, 2017; MÖRKL *et al.*, 2018). Além disso, a capacidade aeróbia, representada através do consumo máximo de oxigênio ($VO_2máx$) durante um teste de esforço máximo, é uma importante característica que difere esses sujeitos treinados e sedentários nos estudos transversais. Neste sentido, Estaki *et al* (2016) demonstraram que há correlação positiva entre o $VO_2máx$ e a riqueza de espécies de bactérias intestinais.

No entanto, por serem estudos observacionais, não há como sugerir o treinamento físico apenas como causa destas observações. Além disso, sobre os indivíduos que já são treinados, não há controle sobre o tempo que são treinados ou como é o treinamento físico destes sujeitos. Ao mesmo tempo, nestes estudos transversais, os grupos de indivíduos fisicamente ativos e atletas possuíam hábitos alimentares, IMC e composição corporal significativamente diferentes dos sedentários (CLARKE *et al.*, 2014; YANG *et al.*, 2017; BRESSA *et al.*, 2017).

Allen *et al* (2017) e Munukka *et al* (2018) foram os primeiros estudos em humanos a investigar o efeito do treinamento físico aeróbio realizado em intensidade moderada sobre a MI humana. Em ambos os estudos citados, as sessões de treino nas primeiras semanas tiveram duração de 30 a 40 minutos com intensidade próxima a 60% da frequência cardíaca de reserva, assim, evoluindo para 60 minutos de treino nas últimas sessões com intensidade próxima a 75% da frequência cardíaca de reserva (ALLEN *et al.*, 2017; MUNUKKA *et al.*, 2018). Allen e colaboradores demonstraram que seis semanas de treinamento físico aeróbio provocou aumento do $VO_2máx$ e, em paralelo, provocou alterações significantes sobre a abundância de gêneros bacterianos observados nas amostras de fezes tanto em indivíduos eutróficos quanto em obesos previamente sedentários (ALLEN *et al.*, 2017). No

entanto, estas mudanças foram significativamente diferentes entre indivíduos eutróficos e obesos. Por exemplo, o treinamento físico proposto por Allen *et al* (2017) provocou aumento do gênero *Faecalibacterium* em eutróficos e redução deste gênero em obesos. Munukka *et al* (2018), corroboraram para o aumento da diversidade de gêneros de bactérias após seis semanas de treinamento físico em mulheres com sobrepeso. Entretanto, foram observadas alterações diferentes de Allen *et al* (2017), tais como redução significativa de gêneros do filo Proteobacteria (MUNUKKA *et al.*, 2018).

Diante disso, há indícios de que o treinamento físico é capaz de modificar a composição da MI (COSTA *et al.*, 2017; CLARK & MACH, 2017), porém as limitações são pertinentes. Especialmente, acerca do tipo e tempo de treinamento físico praticado que diverge entre os estudos e pode favorecer os diferentes resultados encontrados na literatura (CLARKE *et al.*, 2014; ESTAKI *et al.*, 2016; BRESSA *et al.*, 2017; PETERSEN *et al.*, 2017; ZHAO *et al.*, 2018b). Além do mais, os únicos estudos com intervenção de treinamento físico focaram, no efeito do treinamento físico aeróbio em condições de sobrepeso e obesidade (ALLEN *et al.*, 2017; BRESSA *et al.*, 2017; MUNUKKA *et al.*, 2018), suplementação de proteínas (KARL *et al.*, 2017; CRONIN *et al.*, 2017) e no envelhecimento (TANAGUCHI *et al.*, 2018). Allen *et al* (2017) incluíram como população de estudo tanto homens quanto mulheres, enquanto que Estaki *et al* (2016) sugerem que o gênero pode ser um fator de influência. Vale salientar que alguns estudos não descreveram acerca dos hábitos alimentares durante a intervenção (ALLEN *et al.*, 2017; CRONIN *et al.*, 2018) e não apresentaram grupo controle sedentário (KARL *et al.*, 2017; ALLEN *et al.*, 2017; CRONIN *et al.*, 2018; MUNUKKA *et al.*, 2018). Estas variáveis quando não controladas devidamente podem dificultar a compreensão em relação aos efeitos do treinamento físico sobre a MI.

Portanto, considerando a relevância em investigar o efeito do treinamento físico aeróbio sobre a composição da MI, a partir de um delineamento controlado para as limitações acima mencionadas, o presente estudo teve como objetivo investigar o efeito de 10 semanas de treinamento físico aeróbio realizado em intensidade moderada sobre a composição da MI em adultos jovens, sedentários, não obesos e com ausência de doenças. A hipótese deste trabalho é que após 10 semanas de treinamento físico aeróbio, o grupo de treinamento apresentará mudanças em termos de diversidade da MI e abundância de bactérias diferentemente dos indivíduos do grupo controle sedentário.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O que é a microbiota intestinal?

Milhões de microrganismos estão presentes em regiões do corpo humano que possuem acesso ao meio externo, tais como, a cavidade oral, o trato gastrointestinal (TGI), o trato respiratório, a pele e o órgão sexual. Entre esse microrganismos estão bactérias, fungos, vírus e protozoários (GUPTA; PAUL; DUTTA, 2017). É denominado como microbiota o aglomerado desses microrganismos habitando uma determinada região do corpo. Os microrganismos que habitam especificamente o TGI compõem a microbiota intestinal (MI). É neste ambiente que reside a maior densidade e diversidade destes microrganismos os quais, em sua grande maioria, são bactérias (DONALDSON; LEE; MAZMANIAN, 2015; MARCHESI *et al.*, 2015).

Estas bactérias intestinais, por sua vez, formam uma rede ecológica simbiótica com o hospedeiro, ou seja, uma inter-relação entre dois organismos em que há benefícios para ambos. Estas bactérias consideradas comensais permanecem no intestino tirando proveito do ambiente e dos nutrientes que por ali passam e, em troca, não oferecem prejuízo ao hospedeiro e podem desempenhar funções importantes que afetam o metabolismo do hospedeiro (MARCHESI *et al.*, 2015). Elas são capazes de extrair energia e produzir diversos metabólitos, entre eles os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), através do processo de fermentação (SINGH *et al.*, 2017), promovem o desenvolvimento e maturação do tecido linfóide associado ao intestino (GALT) e do epitélio intestinal (LEE & MAZMANIAN, 2010), estimulam o controle da resposta inflamatória através de endotoxinas, como lipopolissacarídeos (LPS), e produzem bacteriocinas e outros subprodutos que contribuem para a defesa contra agentes patogênicos (GOLDSZMID & TRINCHIERI, 2012). Além disso, algumas espécies de bactérias intestinais possuem enzimas que atuam na degradação de xenobióticos, na biotransformação de produtos tóxicos e fármacos, na conversão dos ácidos biliares, na absorção de polifenóis pelas células intestinais e na produção de vitaminas e de peptídeos antimicrobianos (SOMMER & BÄCKHED, 2013; RIVIÈRE *et al.*, 2016). Estas bactérias também interagem entre si, produzindo substratos que

podem ser utilizados por outras bactérias, compondo, assim, uma complexa comunidade (MACFARLANE & MACFARLANE, 1997) (Figura 1).

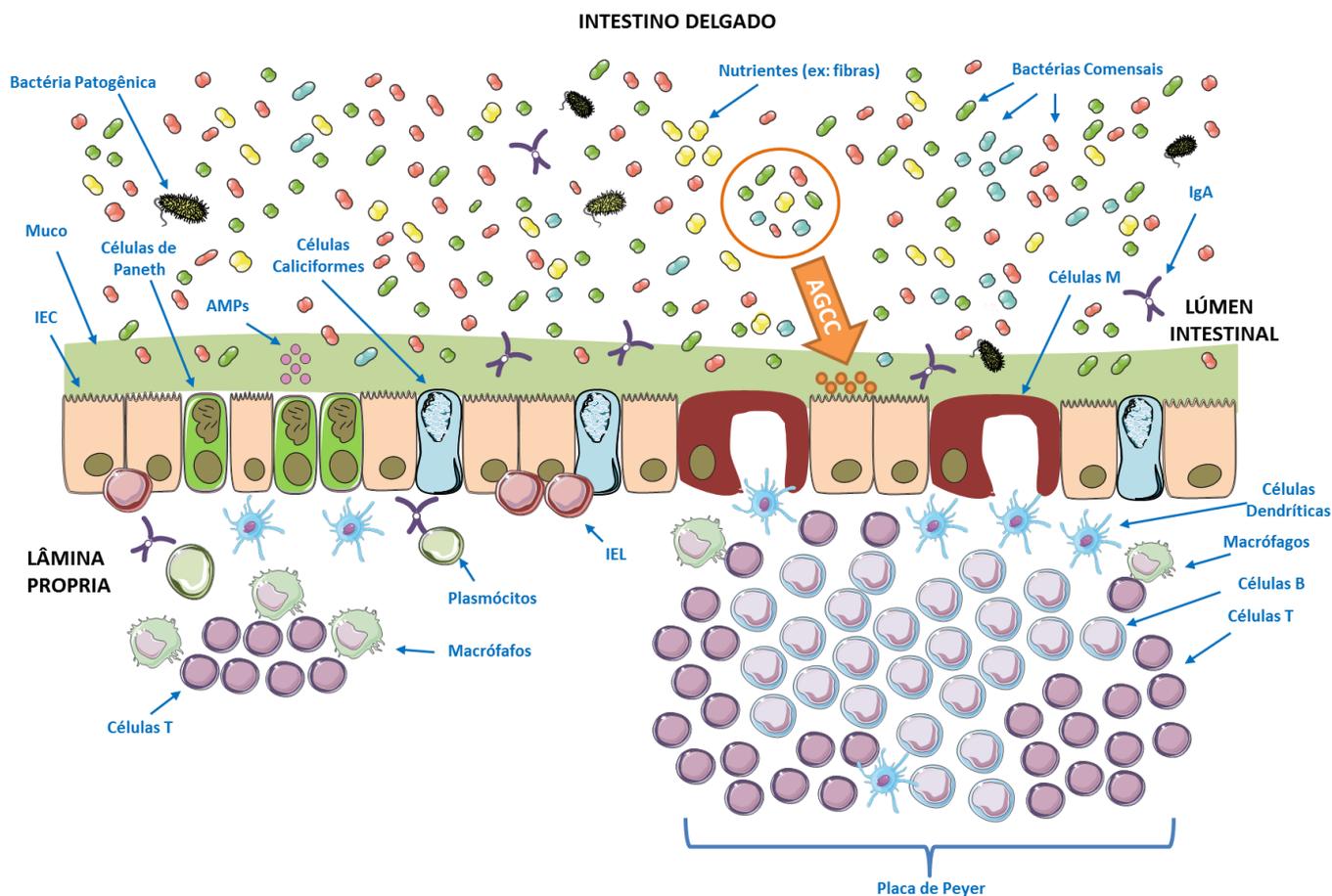


Figura 1. Visão geral do ambiente intestinal colonizado pela microbiota. Formada, em sua maioria, por bactérias comensais, a microbiota intestinal (MI) desempenha diversas funções que contribuem para o metabolismo do hospedeiro, sendo, principalmente, responsável pela produção dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e pela defesa contra microrganismos patogênicos. Estes AGCC podem ser utilizados pela própria MI e podem ser transportados para dentro das células intestinais participando do metabolismo energético destas células. Além disso, estas bactérias também contribuem para a barreira intestinal, a qual é formada por imunoglobulinas A (IgAs), muco intestinal, camada epitelial do intestino e junções paracelulares e as células imunológicas do tecido linfóide associado ao intestino (GALT) localizadas na lâmina própria. Estas células do GALT possuem comunicação bidirecional com a MI através das células M. Além disso, algumas bactérias próximas da mucosa estimulam a produção de peptídeos antimicrobianos (AMPs) pelas células de Paneth e muco intestinal pelas células caliciformes. Elas também contribuem na defesa contra patógenos, visto que os microrganismos competem entre si pelo espaço e por nutrientes. **Legenda:** IEC: células do epitélio intestinal; IEL: linfócitos intraepiteliais. Adaptado de Costa et al. (2018).

As bactérias da MI são identificadas a partir de métodos baseados na subunidade 16S do RNA ribossômico (rRNA) e, a partir do seu sequenciamento, podem ser classificadas em unidades operacionais taxonômicas (OTUs) (LEPAGE *et al.*, 2013), como demonstrado na Figura 2. Essas classificações são feitas de acordo com as semelhanças estruturais e funcionais que as bactérias apresentam entre si.

Por exemplo, bactérias que fazem parte de um mesmo filo compartilham o mesmo ancestral em comum, enquanto que bactérias que fazem parte de uma mesma espécie apresentam 97% de semelhanças entre si, de acordo com suas sequências genéticas baseadas no 16S rRNA (LEPAGE *et al.*, 2013; JOHNSON *et al.*, 2017).

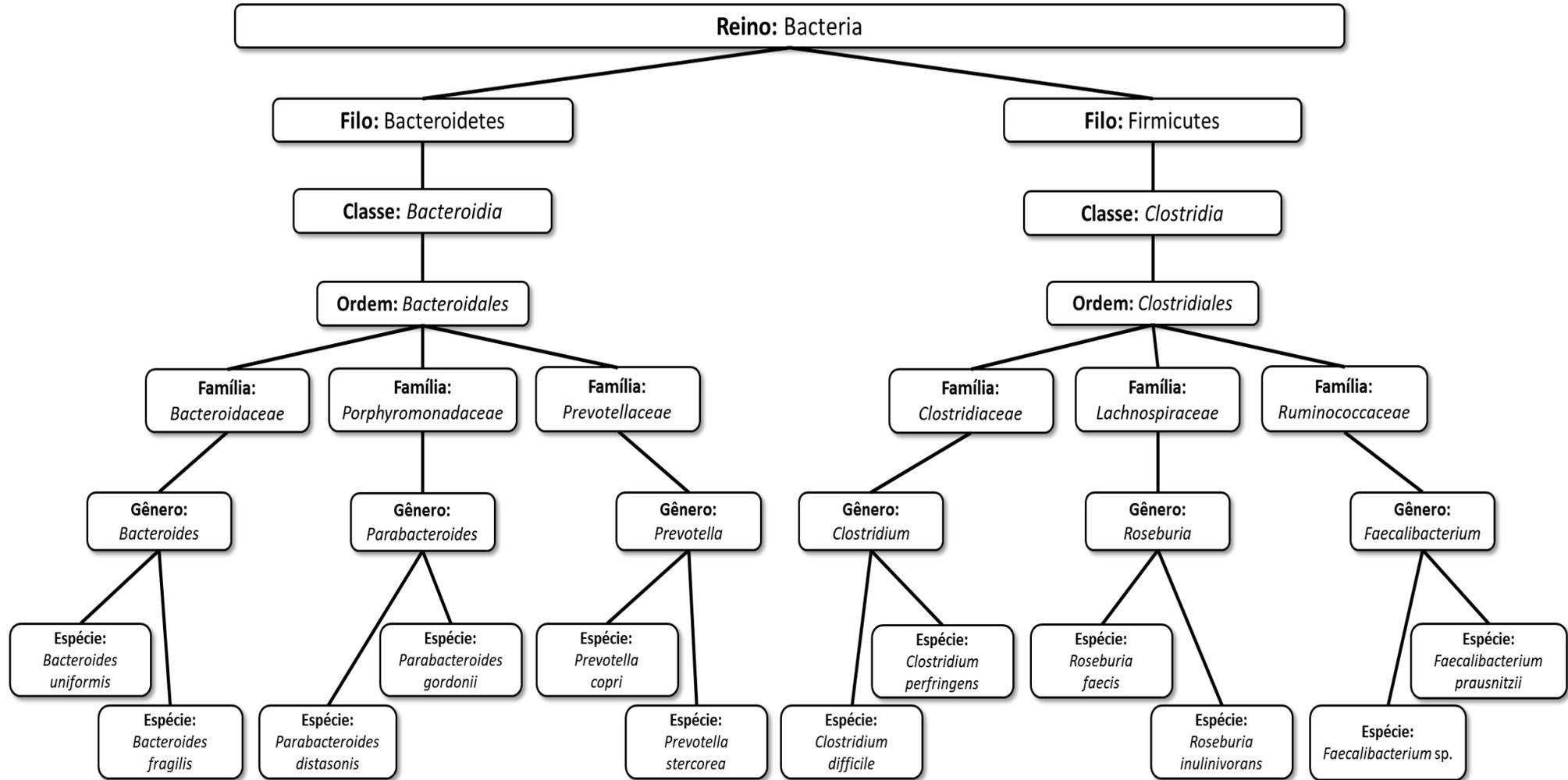


Figura 2. Exemplo de classificação hierárquica taxonômica do Reino Bacteria. Do maior para o menor, em termos de hierarquia, os grupos taxonômicos são: Reino ou Domínio, Filo, Classe, Ordem, Família, Gênero e Espécie. Dentro da espécie é possível ainda classificar a bactéria em cepa. Informações compiladas dos artigos de Hooper *et al* (2003), Hold *et al* (2003), Tremaroli e Backhed (2012) e Bressa *et al* (2017).

Os filos mais encontrados na MI humana são: Bacteroidetes, Firmicutes, Actinobacteria, Proteobacteria, Verrucomicrobia, Fusobacteria, Tenericutes e Cyanobacteria. Os filos Bacteroidetes e Firmicutes são os mais abundantes, abrangem maior quantidade de grupos de bactérias intestinais e estão presentes em quase todas as porções do TGI, inclusive nas fezes, enquanto que os outros são encontrados em menores proporções (ECKBURG *et al.*, 2005; DONALDSON; LEE; MAZMANIAN, 2015). Além disso, pelo fato de os filos abrangerem vasta gama de bactérias com diversas funções, neles podem conter tanto bactérias comensais como também patobiontes. Os patobiontes são bactérias oportunistas que se aproveitam de eventuais desequilíbrios no ambiente intestinal e podem se tornar potencialmente patogênicas (MARCHESI *et al.*, 2015).

O filo Bacteroidetes é composto em sua maioria por bactérias gram-negativas e bactérias que possuem grande afinidade em metabolizar tanto carboidratos provindos da dieta, quanto glicanos presentes no muco intestinal (JONSHON *et al.*, 2017). Por conta disso, são conhecidas como bactérias sacarolíticas. Essa afinidade se dá pela presença das CAZimas (enzimas ativadas por carboidrato), as quais são capazes de degradar polissacarídeos. Neste filo, a classe *Bacteroidia*, a ordem *Bacteroidales* e as famílias *Prevotellaceae* e *Bacteroidaceae* são as mais abundantes na MI humana. Fazem parte desse filo os gêneros *Bacteroides*, *Prevotella*, *Xylanibacter* e *Porphyromonas* (TREMAROLI & BACKHED, 2012; JOHNSON *et al.*, 2017). Os gêneros *Bacteroides* e *Prevotella* também contêm enzimas envolvidas na biossíntese de vitaminas, como por exemplo, a biotina, riboflavina, o ácido pantotênico e ascórbico e a tiamina e o folato, respectivamente (ARUMUGAM *et al.*, 2011). As espécies *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides uniformis* e *Bacteroides intestinalis* são comumente encontradas no cólon de adultos saudáveis (HOOPER *et al.*, 2003).

Dentro do filo Firmicutes, a classe *Clostridria*, a ordem *Clostridiales* e as famílias *Lachnospiraceae* e *Ruminococcaceae* são as mais abundantes. A classe *Clostridia*, por exemplo, abrange os *clusters* IV e XIVa, compostos, principalmente, por bactérias capazes de produzir butirato (AGCC), tais como, *Faecalibacterium*, *Eubacterium*, *Anaerostipes* e *Roseburia* (HOLD *et al.*, 2003; ECKBURG *et al.*, 2005). Outros gêneros comumente encontrados na MI humana são *Clostridium*, *Streptococcus*, *Ruminococcus*, *Blautia*, *Dorea*, *Lachospira*, *Gemmiger*, *Oscillospira* e *Lactobacillus*. A espécie *Faecalibacterium prausnitzzi* vem sendo considerada como

biomarcador de doenças no intestino, pois estudos demonstraram que ela está quase ausente em pacientes com doença inflamatória intestinal e doença de Crohn (SOKOL *et al.*, 2008; RIVIÈRE *et al.*, 2016), enquanto que indivíduos saudáveis apresentaram maiores proporções desta espécie (LE CHATELIER *et al.*, 2013; ALLEN *et al.*, 2017). O grupo *Roseburia-Eubacterium rectale* é formado basicamente por bactérias produtoras de butirato, as quais participam da manutenção e proteção do epitélio colônico (HOLD *et al.*, 2003; WALKER *et al.*, 2005).

O filo Proteobacteria é conhecido por conter enterobactérias, a exemplo da *Escherichia coli* e *Bilophila wadsworthia*, conhecidas por serem bactérias patogênicas (MARCHESI *et al.*, 2015). O filo Actinobacteria contém espécies de *Bifidobacterium*, bactéria que, assim como o *Lactobacillus*, vem sendo utilizado como probiótico por conta dos seus benefícios à saúde do hospedeiro desde o nascimento até a fase idosa (RIVIÈRE *et al.*, 2016). A *Akkermansia muciniphila* é uma espécie de bactéria que faz parte do filo Verrucomicrobia. Sua principal função é a degradação de mucina, importante componente da barreira intestinal, utilizando-a como fonte energética. Esta bactéria possui efeito protetor sobre a barreira intestinal pois, através desse processo, ela estimula a produção de muco pelas células caliciformes (SHIN *et al.*, 2014). Essa espécie foi encontrada em maior quantidade em indivíduos fisicamente treinados (CLARKE *et al.*, 2014; BRESSA *et al.*, 2017; MUNUKKA *et al.*, 2018) e apresentou associação negativa com o colesterol sérico total e LDL em mulheres obesas (BRAHE *et al.*, 2015).

Além desta diversidade em termos de diferentes famílias, gêneros e espécies, há variedade na proporção de bactérias intestinais ao longo do TGI. Esta distribuição depende de variações fisiológicas próprias do ambiente intestinal e da disponibilidade de nutriente (ZHAO *et al.*, 2015). O estômago, duodeno e jejuno apresentam características que limitam o crescimento e estabelecimento dessas bactérias, tais como, maior concentração de oxigênio, de enzimas digestivas, sais biliares e peptídeos antimicrobianos. Além disso, as bactérias que habitam essas porções do trato gastrointestinal são mais competitivas por substratos para produção de energia devido ao trânsito intestinal ser mais acelerado (DONALDSON; LEE; MAZMANIAN, 2015; PEREIRA; BERRY, 2017). Uma vez que essas limitações vão reduzindo ao longo do TGI, juntamente com a redução do pH e maior concentração de polissacarídeos e fibras, a densidade e diversidade dessa MI aumenta

gradativamente em direção ao cólon (ALDENBERG *et al.*, 2014; DONALDSON; LEE; MAZMANIAN, 2015) (Figura 3).

A distribuição e concentração da MI também acontece no eixo horizontal na direção da mucosa intestinal para o lúmen (PEREIRA; BERRY *et al.*, 2017). Estudos que avaliaram biópsias de humanos reportaram que a camada de muco intestinal é rica em bactérias anaeróbias facultativas que utilizam glicanos e peptídeos como fontes de energia, tais como as famílias *Lachospiraceae*, *Ruminococcaceae*, *Bacteroidaceae* e *Coriobacteriaceae* (OUWERKERK *et al.*, 2013; ALDENBERG *et al.*, 2014; DE WEIRDY; VAN DE WIELE, 2015; LAVALLE *et al.*, 2015). Aproximadamente $3,9 \times 10^{13}$ bactérias residem no cólon do hospedeiro o que, em um homem entre 20 a 30 anos pesando 70kg, pode representar até 2kg do seu peso corporal. Em média, $0,9 \times 10^{11}$ bactérias por grama de fezes úmidas é excretada (SENDER; FUCHS; MILO, 2016). Por tais motivos, vem sendo reportado na literatura que a amostra de fezes pode representar o conteúdo microbiano presente tanto no lúmen quanto na mucosa intestinal da porção distal do TGI de humanos (SERIKOV *et al.*, 2010; ZHAO *et al.*, 2015) (Figura 3).

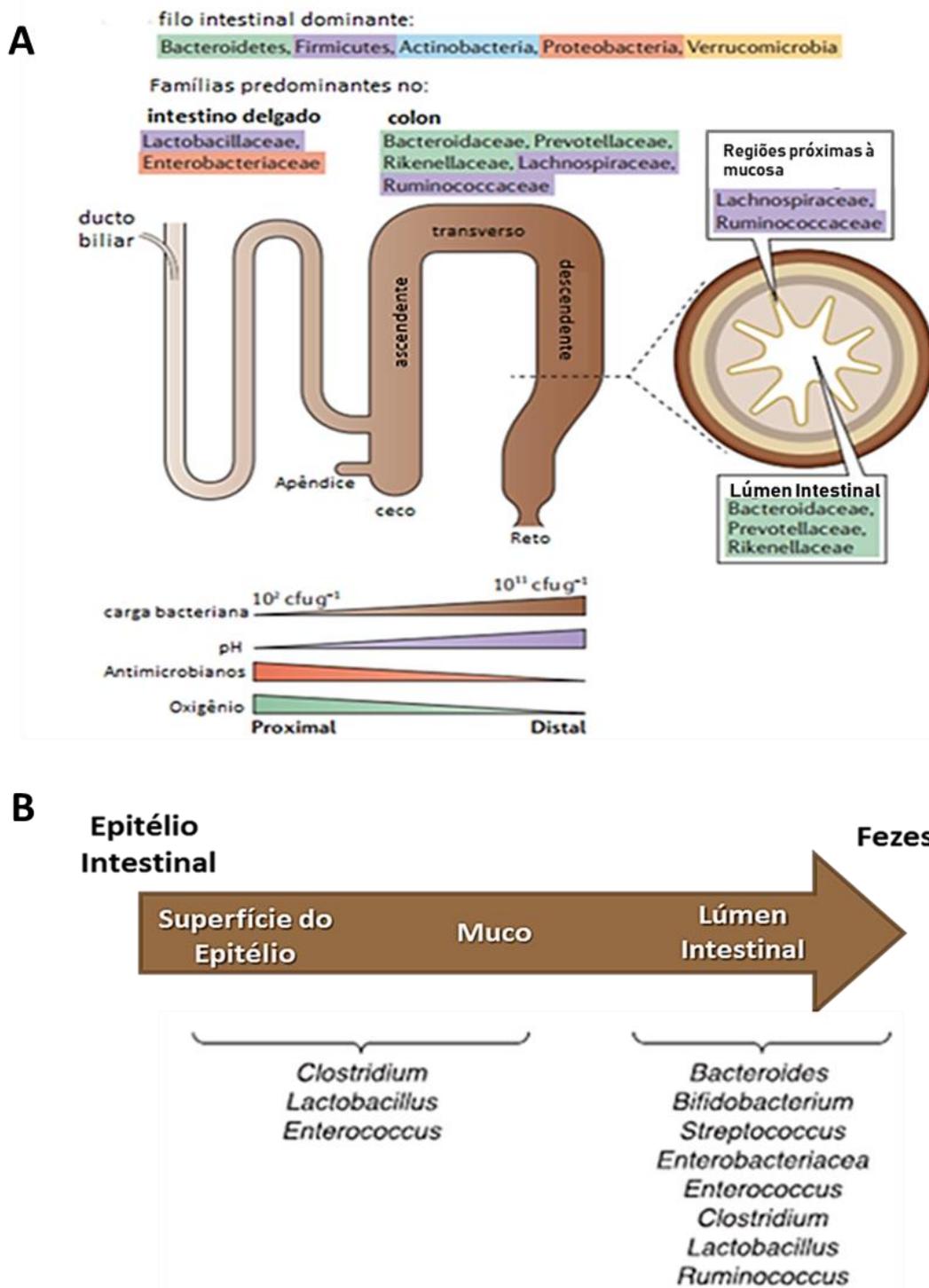


Figura 3. Distribuição da microbiota intestinal ao longo do trato gastrointestinal. A figura (A) ilustra as condições ambientais de cada porção do trato gastrointestinal, tais como, pH, concentração de oxigênio, ácidos biliares e de peptídeos antimicrobianos que determinam as populações de bactérias intestinais que habitam em cada porção. A densidade de bactérias aumenta em direção ao cólon (nesta figura, as cores correspondem aos filios dominantes em cada região). Alguns grupos de bactérias intestinais, a maioria do filo Firmicutes, estão aderidos à mucosa intestinal ou superfície do epitélio e consomem o oxigênio fornecido pelo epitélio intestinal, enquanto que outros grupos de bactérias anaeróbias estritas, a maioria do filo Bacteroidetes, encontram-se em trânsito no lúmen intestinal. A figura (B) ilustra a diferença em termos de abundância e diversidade de bactérias, em que estas particularidades aumentam em direção ao lúmen intestinal. O conteúdo bacteriano encontrado nas fezes é, em maioria, composto por bactérias do lúmen intestinal. Adaptado de Donaldson, Lee, Mazmanian (2015) e Serikov *et al* (2010).

Especula-se que pelo menos um terço dos microrganismos presentes na MI é comum entre os seres humanos e compartilham as mesmas funcionalidades, enquanto que dois terços da MI são específicos a cada indivíduo (LOZUPONE *et al.*, 2012). Ou seja, esses dois terços são característicos das influências causadas por fatores genéticos e ambientais e pelo estado de saúde de cada indivíduo (QIN *et al.*, 2010; FALONY *et al.*, 2016). Os fatores que mais afetam a composição da MI são: a idade, o uso de antibióticos e a localização geográfica. Esta última envolve costumes culturais, alimentação e hábitos de vida (ex: atividade física) (LOZUPONE *et al.*, 2012; GUPTA; PAUL; DUTTA, 2017; POWER *et al.*, 2014; VOREADES; KOZIL; WEIR, 2014). Esses fatores podem influenciar tanto a riqueza microbiana, ou seja, a presença e abundância de diferentes espécies bacterianas, como também a diversidade microbiana, a qual é representada pela variedade bactérias presentes na MI de um indivíduo. Ainda, a α -diversidade refere-se à diversidade de espécies em um grupo de amostras investigadas, enquanto que a β -diversidade se refere à diversidade de espécies e suas relações filogenéticas que compõe a MI entre diferentes grupos (HOLMES *et al.*, 2012; LE CHATELIER *et al.*, 2013). Estes índices de diversidade podem estar associados ao estado de saúde do hospedeiro e há indícios de que o aumento da riqueza e da diversidade microbiana pode contribuir para melhores parâmetros no perfil metabólico e inflamatório (HOLMES *et al.*, 2012; LE CHATELIER *et al.*, 2013).

2.2 Qual a relação entre o treinamento físico e a microbiota intestinal?

O treinamento físico é amplamente recomendado com o objetivo de promover benefícios à saúde (MONTEIRO & SOBRAL FILHO, 2004). Especialmente o treinamento físico aeróbio praticado em intensidade moderada por pelo menos 8 semanas é capaz de promover benefícios ao organismo, causando adaptações positivas no funcionamento dos sistemas e tecidos, principalmente, muscular (ROBINSON *et al.*, 2015), adiposo (KRAMER; GOODYEAR, 2007; LIU *et al.*, 2015), metabolismo oxidativo (RADAK *et al.*, 2008), sistema nervoso central e periférico (DUCLOS; TABARIN, 2016), hormonal (YANG *et al.*, 2014) e cardiorrespiratório (MYERS *et al.*, 2015). É capaz de aumentar o consumo máximo de oxigênio ($VO_{2máx}$), marcador fisiológico padrão-ouro para determinar o condicionamento físico, em indivíduos sedentários (EDGE; BISHOP; GOODMAN, 2005; MATSUO *et al.*, 2014; FISHER *et al.*, 2015; ROBINSON *et al.*, 2015; MYERS *et al.*, 2015). O treinamento que promove aumento no $VO_{2máx}$ (ou VO_{2pico}) implica em melhor capacidade aeróbia e aptidão física, reduz o risco de desenvolver doenças cardiometabólicas, tais como, obesidade, diabetes tipo 2 e hipertensão, e está associado, de forma independente, com a chance de sobreviver em condições de risco (JOUANNOT, 2001; SILVERMAN, DEUSTER, 2014).

Além disso, indivíduos fisicamente ativos tendem a possuir melhor perfil inflamatório caracterizado por menor circulação de citocinas pró-inflamatórias clássicas, tais como, $TNF-\alpha$, $IL-1\beta$ e $IL-6$ com concomitante aumento da $IL-10$, redução da circulação da proteína C reativa (CALDER *et al.*, 2013; LUNDE *et al.*, 2017), e menor concentração no plasma de LPS, endotoxina liberada por bactérias gram-negativas da MI (LIRA *et al.*, 2010; CALDER *et al.*, 2013).

Com relação ao intestino, o treinamento físico aeróbio contribui para adaptações do sistema de diversas formas: atenuando processos inflamatórios no intestino e aumentando a expressão de proteínas de oclusão, assim, contribuindo para a barreira intestinal (HOLLAND *et al.*, 2015; CAMPBELL *et al.*, 2016); estimulando a produção de IgA (BERMON *et al.*, 2015); acelerando o trânsito intestinal de modo que reduz o tempo de contato entre substâncias tóxicas (ex: amônia e derivados do enxofre) e a mucosa do cólon (DAINESE *et al.*, 2004); e atuando sobre o metabolismo dos ácidos biliares (WERTHEIM *et al.*, 2009). Além

disso, é consistentemente reportado que pessoas fisicamente ativas apresentam menor risco para desenvolver câncer de cólon (TANG *et al.*, 1999; LEE *et al.*, 2012), diverticulites (ALDOORI *et al.*, 1995), colelitíase (LEITZMANN, *et al.* 1998), doenças inflamatórias do intestino (JOHANNESSON *et al.*, 2015) e constipação crônica (MESHKINPOUR *et al.*, 1998; COOK *et al.*, 2015).

A influência que o treinamento físico aeróbio exerce sobre os órgãos e, especialmente, sobre o intestino levantou hipóteses sobre a relação entre o treinamento físico e a MI, pois ambos influenciam o organismo humano por caminhos semelhantes (Figura 4). Além disso, especula-se que o treinamento físico aeróbio pode promover adaptações no ambiente intestinal, como mencionado anteriormente, de tal maneira que modula a composição da MI (CERDÁ *et al.*, 2016; COSTA *et al.*, 2017).

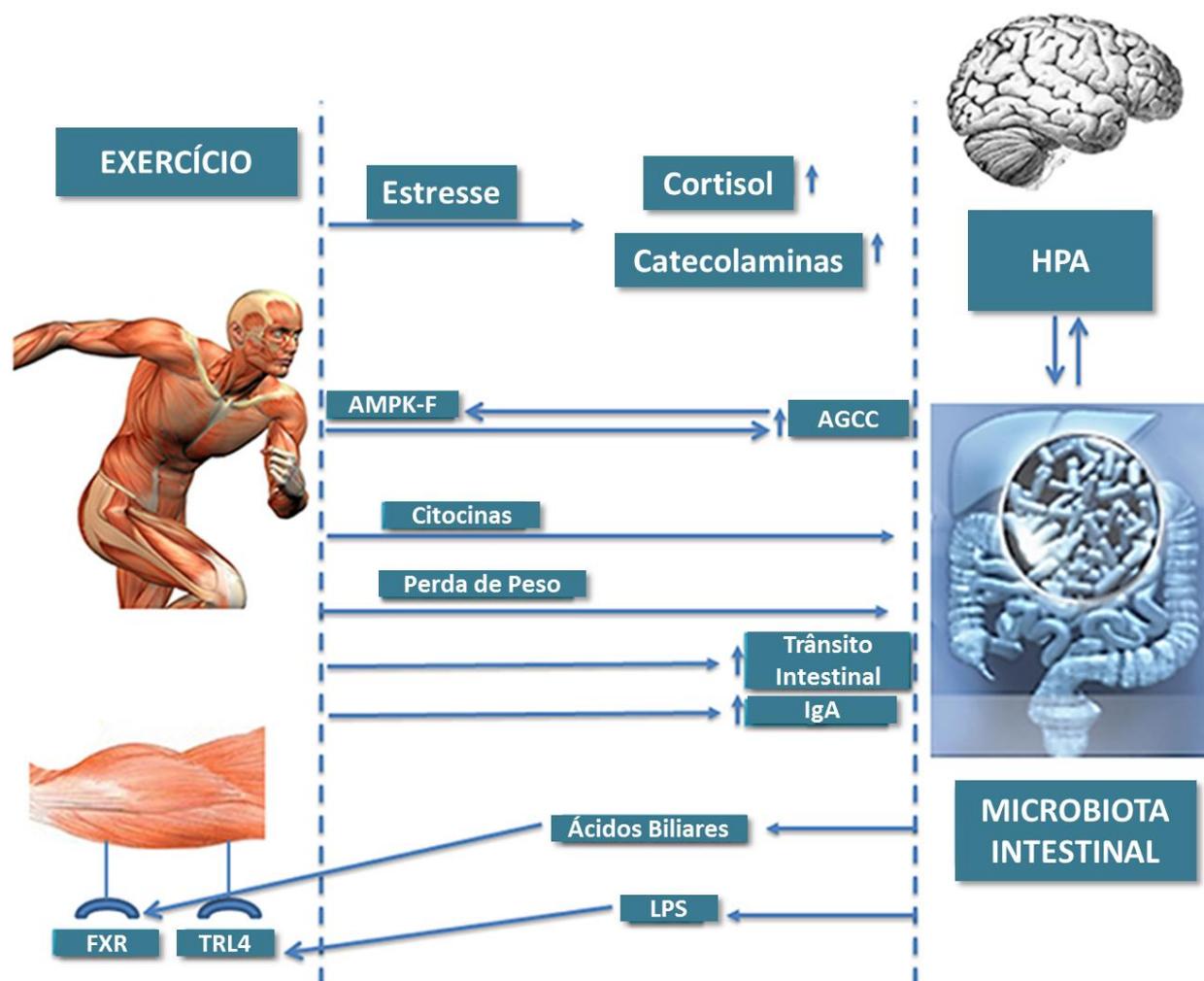


Figura 4. Principais meios de interação entre o exercício físico e a microbiota intestinal. LEGENDA: HPA: eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal; AMPK-P: adenosina monofosfato-ativado proteína quinase fosforilada; AGCC: ácidos graxos de cadeia curta; IgA: imunoglobulina A; LPS: lipolissacarídeo presente em bactérias gram-negativas; TRL4: receptor do tipo Toll 4; FXR: receptor X farnesoide. Adaptado de Cerdá *et al* (2016).

Matsumoto *et al* (2008) foram os pioneiros na área de investigação entre exercício físico e MI. Os autores demonstraram em modelo animal que o exercício físico aeróbio voluntário em 5 semanas foi capaz de modificar a composição da MI aumentando alguns grupos de bactérias intestinais, especialmente, as bactérias produtoras de butirato e, conseqüentemente, aumentando as concentrações de butirato no lúmen e mucosa intestinais destes ratos. A partir desse achado, outros estudos demonstraram em modelo animal que o treinamento físico aeróbio provocou mudanças significativas na composição da MI e que essas diferenças podem ser observadas na composição das fezes (CHOI *et al.*, 2013; PETRIZ *et al.*, 2014; EVANS; LEPARD; KWAK, 2014).

Os estudos realizados com animais apresentam diversidade de modelos experimentais, além da associação do treinamento físico com restrição calórica (QUEIPO-ORTUÑO *et al.* 2013), dietas ricas em gordura (EVANS; LEPARD; KWAK, 2014; KANG *et al.*, 2014; CAMPBELL *et al.*, 2016; WELLY *et al.*, 2016; DENOUE *et al.*, 2016), dietas ricas em frutose (BATACAN *et al.*, 2017) e modelos de doenças como diabetes tipo 2 (LAMBERT *et al.*, 2015); obesidade e hipertensão (PETRIZ *et al.*, 2014). Além disso, estes estudos variam em termos de tipos de exercício físico, como exercícios realizados voluntariamente (EVANS; LEPARD; KWAK, 2014), exercícios em intensidade leve (LIT; 40 a 50% VO₂máx em 4 sessões de 30 minutos com descanso de 2h entre as sessões) (BATACAN *et al.*, 2017) ou moderada (entre 30 a 60 minutos a 60 a 70% do VO₂máx) (PETRIZ *et al.*, 2014) ou ainda treino intervalado de alta intensidade (HIIT; 4 sessões de 2 a 5 minutos a >90% VO₂máx com descanso de 2 a 3 minutos entre as sessões) (DENOUE *et al.*, 2016; BATACAN *et al.*, 2017).

Devido a esta variedade de delineamentos, os resultados encontrados em termos de composição da MI também variam e, por vezes, os grupos de bactérias que aumentam ou diminuem pós-intervenção são diferentes entre os estudos. Ainda assim, é possível observar que o treinamento físico é capaz de provocar mudanças específicas na composição da MI, as quais não são observadas nos grupos sedentários ou controles.

Em relação aos estudos em animais, após a intervenção de 8 a 12 semanas de treinamento físico aeróbio houve aumento significativo na proporção de bactérias comensais, tais como, da família *Lachnospiraceae*, dos gêneros *Bifidobacterium* e *Akkermancia* e a espécie *Faecalibacterium prauznitzii* (MATSUMOTO *et al.*, 2008; QUEIPO-ORTUÑO *et al.*, 2013; EVANS; LEPARD; KWAK, 2014; LAMBERT *et al.*,

2015; CAMPBELL *et al.*, 2016; BATAKAN *et al.*, 2017; LIU *et al.*, 2017a). Por conseguinte, o aumento destas bactérias esteve associado, no pós-treinamento, à concentração de AGCC encontrada no lúmen intestinal e nas fezes (MATSUMOTO *et al.*, 2008; BATAKAN *et al.*, 2017), às concentrações séricas de leptina e grelina (QUEIPO-ORTUÑO *et al.*, 2013) e à melhora dos parâmetros de composição corporal e tolerância à glicose (EVANS; LEPARD; KWAK, 2014; LAMBERT *et al.*, 2015; CAMPBELL *et al.*, 2016). Além disso, Campbell *et al.* (2016) observaram o mesmo aumento na abundância destas bactérias mencionadas e, em paralelo, que o treinamento físico aeróbio reduziu a concentração de citocinas pró-inflamatórias no intestino, aumentou a expressão de proteínas de oclusão no epitélio intestinal e diminuiu a infiltração de moléculas de gordura no epitélio intestinal em comparação aos sedentários. Também foi observado por alguns autores que, independentemente do modelo experimental associado, os grupos sedentários e treinados apresentaram diferenças significantes em relação à α - e/ou β -diversidade (EVANS *et al.* 2014; PETRIZ *et al.*, 2014; WELLY *et al.*, 2016; DENOU *et al.*, 2016; BATAKAN *et al.*, 2017; LAMOUREX *et al.*, 2017; LIU *et al.*, 2017a) (ANEXO 2 – QUADRO 2).

Em humanos, tais variações em termos de delineamento também são encontradas e, conseqüentemente, diferentes resultados são observados com relação à presença, diversidade e abundância de bactérias intestinais. No entanto, assim como nos animais, o treinamento físico aeróbio foi capaz de provocar mudanças na composição da MI em humanos (QUADRO 1).

Quadro 1 – Sumário de estudos que investigaram o efeito do treinamento físico sobre a composição da microbiota intestinal em humanos.

Referência	Exercício/Duração	População/ Grupos	Resultados
Clarke <i>et al.</i> (2014)	Sem intervenção; estudo transversal	Homens (Irlanda): Atletas (rúgbi) X Indivíduos sedentários pareados por IMC; n=40	↑ α -diversidade nos atletas (\neq) com ↑ filo Firmicutes e ↓ Bacteroidetes, ↑ famílias <i>Ruminococcaceae</i> e <i>Akkermasiaceae</i> e ↑ <i>Akkermansia</i> em comparação aos controles com elevado IMC; ↑ família <i>Prevotellaceae</i> e ↓ família <i>Lactobacillaceae</i> e dos gêneros <i>Bacteroides</i> e <i>Lactobacillus</i> em comparação aos controles menor IMC.
Estaki <i>et al.</i> (2016)	Sem intervenção; estudo transversal	Homens e Mulheres (Canadá): Reduzido, médio e elevado VO_2 pico; n= 39	Correlação positiva entre o VO_2 pico e α -diversidade; ↑ bactérias produtoras de butirato (<i>Clostridiales</i> , <i>Roseburia</i> , <i>Lachnospiraceae</i> e <i>Erysipelotrichaceae</i>) e ↑ das [butirato] nas fezes de voluntários com maior VO_2 pico. β -diversidade baseada no VO_2 pico = entre os grupos.
Karl <i>et al.</i> (2017)	Treino militar: 51km de travessia de esqui dividido em 50min de exercício e 10min e descanso; 4 dias	Soldados (Noruega): Controle X PRO X CHO (todos com Ex, gordura e fibra = entre os grupos); n= 73	↑ α - e β -diversidade após Ex em todos os grupos; ↑ filios Firmicutes, Actinobacteria e ↓ Bacteroidetes e Proteobacteria e gênero <i>Sutarella</i> em todos os grupos após Ex.

Stewart <i>et al.</i> (2017)	Sem intervenção; estudo transversal	Homens (Reino Unido): Controle X Diabetes tipo 1 (ambos com VO ₂ máx > 50ml/kg/min e fisicamente ativos); n= 20	α - e β - diversidade = entre os grupos; abundância das espécies <i>Faecalibacterium sp.</i> , <i>Roseburia sp.</i> , <i>Bifidobacterium sp.</i> e <i>Bacteroides sp.</i> em ambos os grupos.
Yang <i>et al.</i> (2017)	Sem intervenção; estudo transversal	Mulheres (Austria): AN x AT x EU x SOB x OB; n= 106	↑ α -diversidade nas AT em comparação aos outros grupos; β -diversidade \neq entre os grupos; ↑ Coriobacteriaceae em AN.
Bressa <i>et al.</i> (2017)	7 dias de avaliação da FAF através de acelerômetro	Mulheres (Espanha): Sed X Fisicamente ativas (Ex); n= 40	α - e β - diversidade = entre os grupos; tendência em ↑ Firmicutes e ↓Bacteroidetes no Ex; ↑ espécies <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> , <i>Roseburia hominis</i> , <i>Akkermansia muciniphila</i> no Ex; ↑ Bacteroides/ Prevotella no Ex.
Petersen <i>et al.</i> (2017)	Sem intervenção; estudo transversal	Homens e mulheres (Estados Unidos): Ciclistas amadores X Ciclistas profissionais; n= 33	Carga horária por semana de Ex esteve positivamente correlacionada com a abundância do gênero <i>Prevotella</i> . ↑ espécie <i>Methanobrevibacter smithii</i> em profissionais. Presença do gênero <i>Akkermansia</i> e maior atividade do filo Firmicutes e gêneros <i>Faecalibacterium</i> e <i>Eubacterium</i> em todos os ciclistas.

Allen <i>et al.</i> (2017)	Exercício aeróbio MOD: 30 a 60min na esteira ou bicicleta a 60-75% da frequência cardíaca de reserva; 6 sem de treino (3x/sem) + 6 sem de destreino	Homens e mulheres (Estados Unidos): Obesos X Eutróficos previamente sedentários; n= 32	β-diversidade ≠ entre os grupos no basal e = após treinamento físico; α- diversidade = entre os grupos; ↑ espécies <i>Faecalibacterium spp.</i> , <i>Lachnospira spp.</i> , <i>Roseburia spp.</i> , <i>Clostridiales spp.</i> e família <i>Lachnospiraceae</i> nos dois grupos após treinamento e ↓ após destreino, o contrário aconteceu com as espécies <i>Bacteroides spp.</i> e <i>Rikenella spp.</i> ; ↑ AGCC nos dois grupos após treinamento físico e ↓ após destreino apenas nos eutróficos.
Cronin <i>et al.</i> (2018)	Exercício aeróbio MOD e resistido: 18 a 32 min de bicicleta ou esteira + 3 séries de 8 repetições cada em 7 diferentes máquinas de musculação (3 de membros superiores, 3 de membros inferiores e 1 exercício de abdominal); 8 sem (3x/sem)	Homens e mulheres (Irlanda): Ex X Ex + Whey X Whey; n= 54	α e β-diversidade = entre os grupos, tendência em aumento da riqueza de espécies nos grupos Ex; ↑α-diversidade do reino <i>Archaea</i> no grupo Whey e ↓ no grupo Ex; ausência de algumas espécies de vírus no grupo Ex em comparação aos outros grupos.
Zhao <i>et al.</i> (2018b)	Estudo transversal; Prova de meia-maratona (21.1km)	Corredores homens e mulheres (China): Antes X Depois da prova; n= 20	α-diversidade = entre os momentos; ↑ filo Actinobacteria, família <i>Coriobacteriaceae</i> e gêneros <i>Pseudobutyrvibrio</i> , <i>Coprococcus_2</i> , <i>Collinsella</i> e <i>Mitsuokella</i> .

Munukka <i>et al.</i> (2018)	Exercício aeróbio MOD: 30 a 60min dividido em 3 a 4 sessões de 10min em bicicletas a 60-75% da frequência cardíaca de reserva; 6 sem (3x/sem)	Mulheres (Finlândia) com sobrepeso Sed; n= 17	α- diversidade = entre os momentos pré- e pós-Ex; pequeno ↑ β-diversidade após Ex; ↑ filo <i>Verrucomicrobia</i> , famílias <i>Bifidobacteriaceae</i> e <i>Verrucomicrobiaceae</i> , gêneros <i>Dorea</i> e <i>Anaerofilum</i> e espécie <i>Akkermancia muciniphila</i> após Ex; ↓ filo Proteobacteria.
Taniguchi <i>et al.</i> (2018)	Estudo cross-over; Exercício aeróbio MOD: 30 a 45 min em bicicletas a 60 a 70% do VO ₂ máx; 5 sem (3x/sem)	Homens (Japão) >60 anos; n=31	α- e β- diversidade = entre os momentos pré- e pós-Ex; ↑ gênero <i>Oscillospira</i> ; ↓ <i>Clostridium difficile</i>

Os resultados explanados neste quadro mostram diferenças significantes entre os grupos ($p < 0.05$). **Legenda:** n: número total de animais/participantes; sem: semana; Ex: Exercício/Exercitado; Sed: Sedentário/baixo nível de atividade física; km: quilômetros; min: minutos; ↑: aumento; ↓ redução; ≠: diferente ($p < 0.05$); =: semelhante; MOD: exercício de moderada intensidade calculada a partir do VO₂pico ou frequência cardíaca de cada indivíduo; PI: pós-intervenção; VO₂pico: consumo máximo de oxigênio calculado a partir de teste de esforço progressivo máximo; IMC: índice de massa corporal; AN: anorexia nervosa; AT: atletas; EU: eutróficas; SOB: sobrepeso; OB: obesas; PRO: suplementado com proteína; CHO: suplementado com carboidrato; AGCC: ácidos graxos de cadeia curta; FAF: frequência de atividade física.

Independente das populações avaliadas em cada estudo, o treinamento físico aeróbio provocou mudanças significantes na composição da MI e indivíduos treinados e não treinados apresentaram diferenças significantes (Quadro 1). Além disso, há evidências de que o treinamento físico aeróbio pode modificar determinados grupos de bactérias, uma vez que tanto atletas de rúgbi (CLARKE *et al.*, 2014) e ciclistas (PETERSEN *et al.*, 2017) quanto mulheres com sobrepeso não atletas, porém, fisicamente ativas (BRESSA *et al.*, 2017; MUNUKKA *et al.*, 2018), apresentaram menor proporção de bactérias do filo Bacteroidetes e maior abundância da espécie *Akkermansia muciniphila*. Assim como em modelos animais, houve aumento da família *Lachnospiraceae*, o qual foi significativamente diferente do grupo sedentário (ESTAKI *et al.*, 2016; ALLEN *et al.*, 2017). Bressa *et al* (2017) também demonstraram que realizar o mínimo de atividade física recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS - 150 minutos de exercício físico durante a semana) com o objetivo de reduzir o tempo sedentário ao longo do dia pode contribuir para mudanças na composição da MI em mulheres com sobrepeso.

Associações entre o VO_{2pico} e a MI também foram encontradas em estudos anteriores. Estaki *et al* (2016) relataram que houve correlação positiva entre a α -diversidade e o VO_{2pico} e entre o VO_{2pico} e as concentrações de butirato nas fezes. Além disso, indivíduos fisicamente ativos com maior VO_{2pico} apresentaram maior ativação das funções metabólicas relacionadas com a biossíntese e degradação de macronutrientes (BARTON *et al.*, 2017; MUNUKKA *et al.*, 2018). Em especial, a biossíntese de ácidos graxos e do ácido butírico estiveram positivamente correlacionadas com o VO_{2pico} (ESTAKI *et al.*, 2016; BARTON *et al.*, 2017).

Os estudos apontam para uma mesma direção em que a prática regular de exercício físico provoca mudanças sobre a MI, no entanto, permanece pouco esclarecido acerca do efeito do treinamento físico sobre a diversidade e abundância de bactérias intestinais. Nesse sentido, os diferentes delineamentos experimentais tem contribuído para os diferentes resultados encontrados na literatura (QUADRO 1). Por exemplo, estudos tem apontado para efeito do treinamento físico aeróbio sobre riqueza das espécies *Faecalibacterium prausnitzii* (BRESSA *et al.*, 2017; ALLEN *et al.*, 2017; STEWART *et al.*, 2017; PETERSEN *et al.*, 2017), *Bifidobacterium sp.* (STEWART *et al.*, 2017; MUNUKKA *et al.*, 2018) e *Roseburia sp.* (ESTAKI *et al.*, 2016; BRESSA *et al.*, 2017; STEWART *et al.*, 2017). Contudo, Allen *et al* (2017) observaram que os gêneros *Faecalibacterium*, *Bacteroides* e *Collinsella* aumentaram em

indivíduos eutróficos pós-treinamento físico e reduziram em indivíduos obesos. Embora Munukka *et al* (2018) tenham aplicado um protocolo de treinamento físico semelhante ao de Allen *et al* (2017), os autores observaram alterações diferentes de Allen *et al* (2017), tais como redução significativa de gêneros do filo Proteobacteria (MUNUKKA *et al.*, 2018). Cronin *et al* (2017) não observaram mudanças significantes em nenhum dos níveis taxonômicos dentro do Reino Bacteria do pré para o pós-intervenção de treinamento físico.

Em termos de α - e β -diversidade os resultados encontrados ainda são controversos, pois algumas mudanças após treinamento físico ou diferenças entre indivíduos treinados e não treinados podem estar associados a outras variáveis. Clarke *et al* (2014), por exemplo, demonstraram que a α -diversidade esteve correlacionada com a ingestão de proteínas nos atletas e o percentual de gordura diferiu significativamente entre os grupos. Allen *et al* (2017) observaram que a abundância das espécies *Collinsella spp.*, *Faecalibacterium spp.* e *Lachnospira spp.* estiveram fortemente associadas a mudanças no IMC. Do mesmo modo, Munukka *et al* (2018) observaram esta relação com os gêneros *Bifidobacterium* e *Dorea*. Alterações da α -diversidade no estudo de Cronin *et al* (2018) foram mais pronunciadas no grupo com suplementação de Whey (24g de whey protein concentrado e isolado por dia). Em Bressa *et al* (2017), mulheres fisicamente ativas consumiam significativamente mais fibras do que as sedentárias.

Kang *et al* (2014), Liu *et al* (2015), Campbell *et al* (2016) e Estaki *et al* (2016) propõem em seus trabalhos a hipótese de que o treinamento físico afeta a composição da MI independentemente da influência da dieta. Ou seja, mesmo sob influência de dietas ricas em gordura, por exemplo, o treinamento físico aeróbio provocou mudanças sobre a abundância de famílias e gêneros, as quais não foram observadas nos grupos sedentários. Porém, especificamente os níveis taxonômicos, tais como as famílias e gêneros alterados pós-treinamento físico diferem entre os estudos e esta é uma lacuna importante na compreensão do efeito do treinamento físico aeróbio sobre a composição da MI humana. Além disso, mudanças nos hábitos alimentares ou utilização de suplementos, assim como, mudanças de composição corporal durante o período de intervenção podem mascarar os efeitos do treinamento físico sobre a MI (ALLEN *et al.*, 2017; CRONIN *et al.*, 2018).

3. JUSTIFICATIVA

Como exposto anteriormente, o exercício físico aeróbio pode modificar a composição da MI. No entanto, pouco se sabe sobre as principais mudanças após intervenção de treinamento físico aeróbio com intensidade, duração e frequência controladas, pois os estudos publicados até o presente momento divergem em delineamento experimental e resultados encontrados. Grande parte das discussões provém de estudos em modelo animal, sendo que estes modelos também possuem associação com intervenções de dietas e/ou doenças (PETRIZ *et al.*, 2014; CAMPBELL *et al.*, 2016). A extrapolação destes estudos para humanos é limitada e nem sempre possível, uma vez que são organismos diferentes em termos de fisiologia e controle de fatores ambientais (NGUYEN *et al.*, 2015).

Em humanos, os estudos transversais impossibilitam sugerir o treinamento físico apenas como causa (CLARKE *et al.*, 2014; ESTAKI *et al.*, 2016; BRESSA *et al.*, 2017; STEWART *et al.*, 2017; PETERSEN *et al.*, 2017). Os poucos estudos com intervenção de treinamento físico estiveram associados a condições de obesidade (ALLEN *et al.*, 2017; MUNUKKA *et al.*, 2018) ou suplementação nutricional (KARL *et al.*, 2017; CRONIN *et al.*, 2018) dificultando isolar o efeito do treinamento físico destas outras variáveis. Vale salientar que estes estudos não apresentaram grupo controle (ALLEN *et al.*, 2017; CRONIN *et al.*, 2018; ZHAO *et al.*, 2018b; MUNUKKA *et al.*, 2018). Devido à variabilidade microbiana que existe entre pessoas e entre momentos de coleta (FALONY *et al.*, 2016), além dos fatores ambientais apresentados nos tópicos anteriores, como IMC e hábitos alimentares, um grupo controle semelhante, porém sem intervenção de exercício torna-se necessário para melhor controle das variáveis de influência.

Por fim, a localização geográfica também é fator de influência sobre a MI e não há estudos com a população brasileira avaliando o efeito do treinamento físico aeróbio moderado em humanos em um delineamento controlado para variáveis de influência, tais como, doenças, sexo, idade, dieta, IMC e parâmetros de composição corporal ao longo do período de intervenção. Portanto, o presente estudo se faz necessário em meio a estas dúvidas pertinentes na área de exercício físico e MI.

4. OBJETIVOS

4.1 *Objetivo geral*

Investigar se 10 semanas de treinamento físico aeróbio realizado de forma contínua, em intensidade moderada e controlada promove alteração sobre a composição da microbiota intestinal em homens adultos jovens e sedentários.

4.2 *Objetivos específicos:*

1) Verificar se o programa de treinamento físico proposto provocou diferenças entre os grupos controle e treino e entre os momentos pré- e pós-intervenção com relação à:

- α - e β -diversidade;
- Abundância de grupos taxonômicos presentes nas amostras sequenciadas.

2) Verificar nos diferentes grupos se há associação entre os parâmetros de diversidade e/ou abundância dos grupos taxonômicos e:

- O consumo pico de oxigênio (VO_{2pico});
- Parâmetros de composição corporal (IMC, percentual de gordura e percentual de massa magra);
- As concentrações de marcadores metabólicos (HDL-c, LDL-c, colesterol total, triglicérides e glicemia de jejum);
- A energia total, nutrientes da dieta e grupos alimentares.

5. CASUÍSTICA E MÉTODOS

5.1 Seleção dos participantes

Foram recrutados homens que cumprissem os seguintes critérios de inclusão: 1) ser insuficientemente ativo (<150 minutos de exercício físico por semana) e não estar engajado em nenhum programa de treinamento físico regular há pelo menos seis meses, 2) ter entre 18 a 40 anos de idade e 3) não ter utilizado antibióticos ou laxantes nos últimos seis meses.

Foram excluídos do estudo aqueles que: 1) apresentaram IMC menor que 18,5 ou maior que 29,9kg/m², 2) fizeram uso de antibiótico durante o período da intervenção do estudo, 3) eram veganos ou que estavam seguindo algum tipo de dieta restritiva, 4) fumavam tabaco ou ingeriam bebidas alcoólicas com frequência acima de três vezes por semana (BRASIL, 2007); 5) apresentaram alguma das seguintes condições: alteração cardiometabólica, alteração anatômica referente ao trato gastrointestinal, intolerância ou alergia a algum alimento ou quaisquer doenças metabólicas, neurológicas ou intestinais, 6) apresentaram história passada de doenças (câncer, doenças inflamatórias do trato gastrointestinal ou do fígado) ou que já foram alcoolatras, 7) apresentaram incapacidade e/ou qualquer outra intercorrência clínica que impedisse a prática de exercício físico e 8) não tinham disponibilidade de tempo para participar dos treinos e das coletas.

5.2 Fluxograma de recrutamento

A pesquisa foi amplamente divulgada por e-mail, redes sociais e nos arredores da Universidade de São Paulo. O recrutamento dos voluntários foi dividido em três blocos, respectivamente acontecendo no segundo semestre de 2016, no primeiro e no segundo semestre de 2017. No primeiro bloco foram recrutados 20 voluntários, no segundo foram 18 e no terceiro foram 21 voluntários, os quais apresentavam interesse em participar do projeto e estavam de acordo com os critérios de inclusão.

De cada bloco, respectivamente, foram excluídos 10, 8 e 13 voluntários de acordo com os critérios de exclusão. Sendo assim, ao todo foram recrutados 59 e excluídos 31 voluntários (Figura 10). A grande maioria (80,6%) dos que foram excluídos teve como principal motivo apresentar IMC maior que 30kg/m² (obesidade grau 1), um voluntário reportou tomar remédio para tratamento de hipotireoidismo, dois desistiram de participar por não terem disponibilidade de tempo para participar do projeto e três tinham hábito de fumar cigarros diariamente.

Portanto, 28 voluntários seguiram para realizar a primeira coleta de dados e, em seguida, para alocação nos grupos intervenção. Destes 28 voluntários, 24 completaram as 10 semanas de intervenção e as coletas finais. Em ambos os grupos, o motivo foi desistência por motivos pessoais não relacionados com a intervenção (Figura 5).

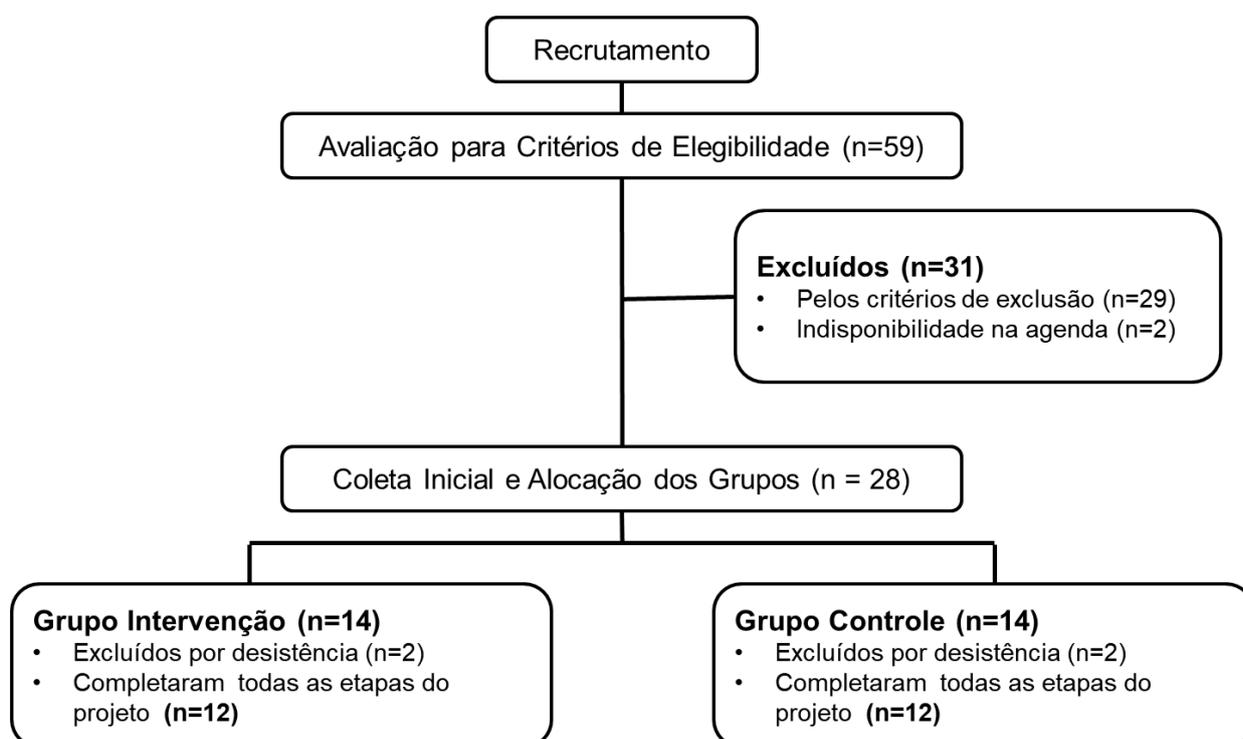


Figura 5. Fluxograma de recrutamento dos participantes do projeto de pesquisa.

5.3 Considerações éticas

Antes do início do estudo, os indivíduos foram informados via e-mail e pessoalmente sobre todos os objetivos do estudo e os procedimentos a serem realizados. Em seguida, caso concordassem em participar, eles deveriam preencher e assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), onde constava a proposta, interesses e procedimentos do projeto. O presente trabalho encontra-se atualmente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo (CAEE 44600215.2.0000.5391 – documento está anexado no final deste manuscrito). O projeto está registrado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (UTN: U1111-1186-9182).

5.4 Local e duração do estudo

Todos os procedimentos aconteceram nas dependências da Escola de Educação Física e Esporte da USP (EEFE-USP). As aplicações dos questionários, avaliação da composição corporal e coleta de sangue foram realizadas no LABNUTRI (Laboratório de Nutrição e Metabolismo Aplicados à Atividade Motora da EEFE-USP) sob supervisão do prof. Dr. Antonio Herbert Lancha Jr. Os testes de esforço progressivo máximo foram gentilmente conduzidos no LaDESP (Laboratório de Determinantes Energéticos do Desempenho Esportivo), o qual é supervisionado pelo prof. Dr. Rômulo Cássio de Moraes Bertuzzi. As sessões de exercício foram realizadas nas bicicletas disponibilizadas gentilmente pelo INCOR (Instituto do Coração), as quais estão sob supervisão do prof. Dr. Carlos Eduardo Negrão.

As coletas de dados tiveram duração de 12 semanas ao todo para cada voluntário, sendo uma semana de coletas pré-intervenção, 10 semanas de intervenção e uma semana de coletas pós-intervenção (Figura 6). Contabilizando-se do início do recrutamento dos participantes à elaboração do manuscrito final, o presente projeto teve duração de, aproximadamente, seis semestres.

5.5 Delineamento do estudo

Os voluntários que aceitaram participar da pesquisa foram recrutados para uma primeira entrevista em que foi entregue o TCLE e foram aplicados os seguintes questionários: 1) questionário de perfil para caracterização dos sujeitos contendo os critérios de inclusão e informações gerais (ANEXO 1); 2) questionário de frequência alimentar (QFA) ELSA-BRAZIL (MOLINA *et al.*, 2013), 3) questionário para quantificar a atividade física realizada diariamente, conhecido como IPAQ (HAGSTRÖMER; OJA; SJÖTRÖM, 2006) e 4) questionário de prontidão para atividade física, conhecido como PAR-Q (WILLIFORD & OLSON, 2011). Estes três últimos questionários citados são reconhecidos na literatura e validados para a população brasileira (MOLINA *et al.*, 2013; MATSUDO *et al.*, 2001; LUZ & FARINATTI *et al.*, 2005).

Após a aplicação dos questionários, foi realizada coleta de sangue em jejum de 12 horas e, em seguida, avaliação antropométrica (peso e altura) e de composição corporal por pletismografia gasosa. Neste encontro os voluntários também receberam kit para a coleta de fezes, assim como orientações para realizar esta coleta e para anotar informações sobre sua alimentação nas 48 horas antecedentes à entrega da amostra de fezes (Figura 6). Ao final deste primeiro encontro, foi oferecido um lanche padrão composto por algumas bolachas sem recheio e dois copos de 200ml de suco.

Uma nova visita ao laboratório aconteceu em até dois dias após o primeiro encontro para que os voluntários trouxessem até o laboratório a amostra de fezes (detalhado no tópico 5.8) e para a realização do teste de esforço progressivo máximo, especificamente nesta ordem. Antes do teste, os voluntários também responderam recordatório alimentar de 48 horas aplicado pela nutricionista e pesquisadora responsável pelo projeto. Logo após, os indivíduos realizaram teste ergoespirométrico em cicloergômetro para avaliação da capacidade física (tempo até a exaustão e potência pico), da capacidade aeróbia máxima (consumo pico de oxigênio - VO_{2pico}) (MATSUO *et al.*, 2014) e para prescrição individualizada da intensidade de exercício ao longo das sessões de treinamento (Figura 6).

Após as avaliações pré-intervenção, os voluntários recrutados foram pareados pelo VO_{2pico} e, paralelamente, foram designados de forma randomizada para um dos dois grupos: 1) Controle (GC - n = 12) ou 2) Treino (GT - n = 12). Dentro de no máximo cinco dias após essas coletas, os indivíduos do GT iniciaram o programa de

treinamento físico com duração de 10 semanas, sendo três sessões de treino por semana (segunda-, quarta- e sexta-feira), conferindo 30 sessões de treino no total, enquanto que o GC não passou pela intervenção. Os voluntários de ambos os grupos foram igualmente orientados a manter sua rotina diária e consumo alimentar semelhante ao longo dessas 10 semanas e avisar à pesquisadora responsável em caso de tomar algum medicamento ou mudar bruscamente sua rotina. Essas orientações foram reforçadas ao longo da intervenção. Além disso, foi solicitado a todos os voluntários o preenchimento de registro alimentar de três dias na semana cinco para posteriores análises acerca dos hábitos alimentares (Figura 6).

Após as 10 semanas de intervenção, ambos os grupos foram convocados para a coleta final. Esta coleta compreendeu os mesmos procedimentos, ordem de avaliação e horários dos primeiros encontros em relação às coletas de amostras biológicas (fezes e sangue), avaliação antropométrica e de composição corporal e teste de esforço progressivo máximo. Para os voluntários do GT, a coleta final aconteceu 48 horas após a última sessão de treino a fim de evitar detectar alterações causadas pelo efeito agudo do exercício físico. Os voluntários de ambos os grupos também receberam uma dieta para os mesmos seguirem nos dois dias antecedentes à coleta de fezes. No último encontro foi aplicado novamente o recordatório de 48 horas para confirmar tal consumo alimentar (Figura 6). Esta dieta entregue era o mesmo recordatório alimentar de 48 horas aplicado na coleta pré-intervenção.

Vale salientar que todos os sujeitos foram orientados a manter sua ingestão dietética habitual e sem consumo de álcool 24 horas antes de todas as coletas acima mencionadas, além de não ingerir café ou outras fontes de cafeína antes do teste de esforço progressivo máximo a fim de não influenciar em seu desempenho e na amostra de fezes. Estas orientações foram repassadas sempre antes das coletas pré- e pós-intervenção com o objetivo de padronizar as mesmas condições de coleta.

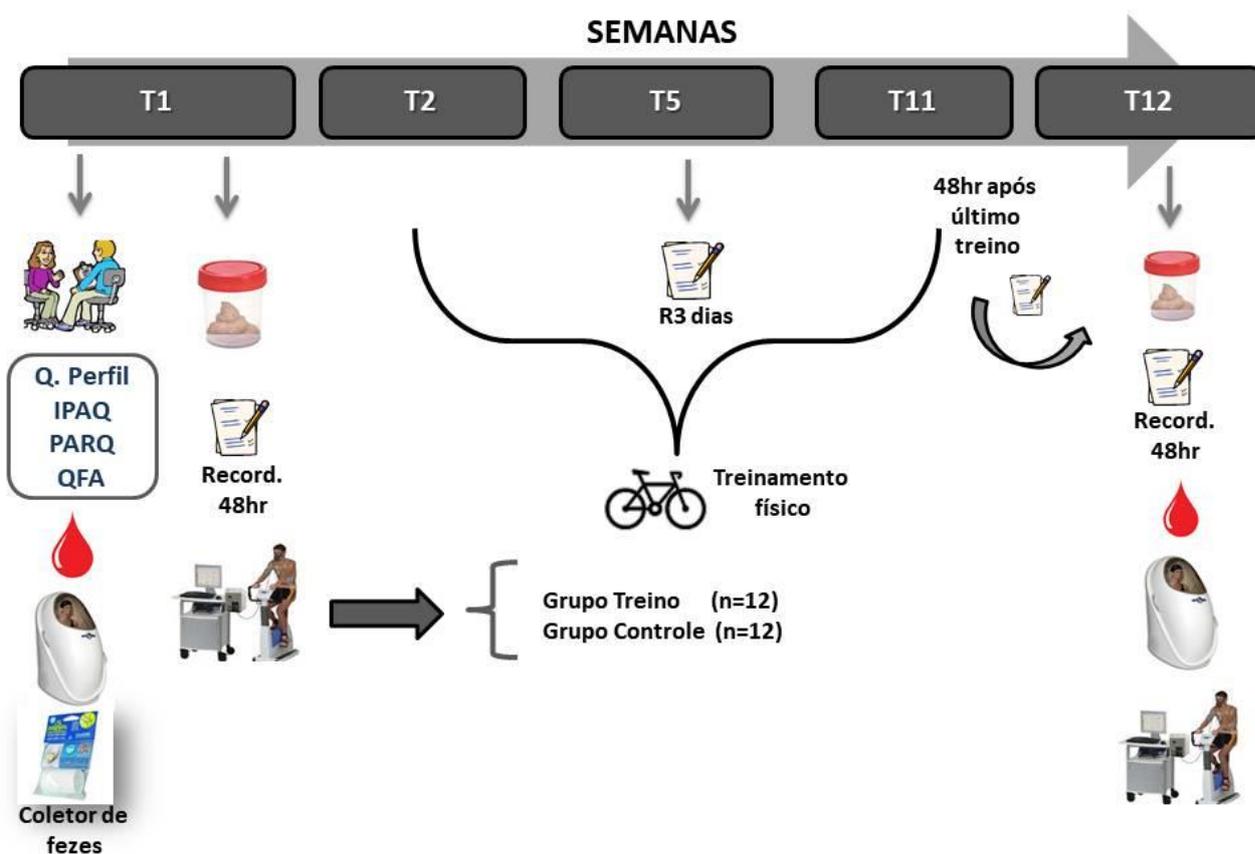


Figura 6. Delineamento do estudo. A primeira e a décima segunda semana correspondem às semanas de coletas, enquanto que a intervenção do treinamento físico aconteceu entre a segunda e a décima primeira semana. Na quinta semana foi aplicado o registro alimentar de 3 dias.

5.6 Avaliação da composição corporal

Para aferição do peso e altura dos participantes foram utilizados balança e estadiômetro na posição em pé, respectivamente. Estas medidas foram utilizadas no cálculo do índice de massa corporal (IMC) utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{IMC} = \text{peso (kg)} / \text{altura}^2 \text{ (m)}$$

A composição corporal, especialmente o volume corporal e o percentual de gordura, foi mensurado por meio da pletismografia gasosa de corpo inteiro (*air displacement plethysmography*, BOD POD® *body composition system*; Life

Measurement Instruments, Concord, CA, USA) (FIELDS & GORAN, 2000; FIELDS; HIGGINS; HUNTER, 2004) (Figura 7). Antes das avaliações, o aparelho foi calibrado utilizando-se um cilindro com volume conhecido (50.173L) seguindo as orientações do manual. A balança, utilizada para obter o peso corporal, é acoplada ao aparelho e também foi calibrada antes de cada teste utilizando-se peso referencial conhecido de 20kg. Após esta calibração, os voluntários foram avaliados usando sunga e touca de natação. Orientou-se também que os voluntários reitrassem óculos ou objetos metálicos como brincos, anéis, correntes, relógios e piercings. O voluntário realizou esse teste em jejum de água e comida por pelo menos três horas.

O processo de avaliação seguiu as instruções do fabricante. Primeiramente, os dados do voluntário foram incluídos no *software* do equipamento. Em seguida, realizou-se a pré-calibração exigida pelo equipamento e, logo após, o avaliado foi pesado na balança acoplada ao aparelho, a qual possui sensibilidade de três casas decimais. Em seguida, o voluntário foi orientado a entrar no aparelho, ficar sentado, respirando normalmente e permanecer parado durante a avaliação. Cada teste durou em média quatro minutos.

O método de avaliação da composição corporal pela pletismografia gasosa baseia-se nos dados inseridos no *software*, no volume ocupado pelo voluntário dentro do aparelho e no volume residual pulmonar. O equipamento informa o volume corporal verificado pela diferença entre o volume inicial da câmara vazia e o volume com o sujeito sentado dentro da câmara. A partir disso e dos dados inseridos no *software*, tais como data de nascimento, altura, raça e sexo, o aparelho calcula a densidade corporal. Para estimar a composição corporal (massa gorda e massa livre de gordura) a partir da densidade corporal, o *software* baseia-se na equação de Siri (1961) (BIESEK; ALVES; GUERRA, 2015).



Figura 7. Avaliação da composição corporal utilizando o método de pletismografia gasosa.

5.7 Avaliação da dieta

A fim de avaliar o consumo energético, de macronutrientes (carboidratos, proteínas, lipídeos), colesterol, fibras e grupos alimentares mais consumidos foram aplicados os seguintes questionários: QFA ELSA-BRAZIL (MOLINA *et al.*, 2013), recordatório de 48 horas e registro alimentar de três dias não consecutivos (sendo dois dias da semana e um dia do fim de semana) (Figura 6).

O questionário de frequência alimentar (QFA) é utilizado com o objetivo de avaliar a frequência média de ingestão de determinados alimentos nos últimos 12 meses. Dentre os métodos de avaliação nutricional e rastreamento de hábitos alimentares, o QFA ELSA-BRAZIL apresenta-se com destaque, visto que o mesmo

contem alimentos das cinco regiões brasileiras, foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o efeito de fatores nutricionais para o desenvolvimento da obesidade e doenças crônicas não transmissíveis e apresentou boa correlação para macronutrientes e micronutrientes (MOLINA *et al.*, 2013). Além disso, foram aplicados também dois recordatórios de 24 horas em dias seguidos nas coletas pré- e pós-intervenção com o objetivo de avaliar o consumo de energia, macronutrientes, colesterol e fibras nas 48 horas antecedentes à entrega da coleta de fezes. Tanto o QFA quanto os recordatórios de 24 horas foram aplicados por nutricionista e ambos já foram utilizados em estudos que avaliaram a MI ou seus substratos (CLARKE *et al.*, 2014; YANG & ROSE, 2014; SOUZA *et al.*, 2015).

O registro alimentar foi entregue aos voluntários de ambos os grupos durante o período de intervenção (quinta semana) para preencherem em casa. Este registro foi utilizado, sobretudo, para avaliar o padrão alimentar quantitativo dos voluntários, ou seja, se eles estão mantendo rotina alimentar constante ao longo das 10 semanas. Os voluntários foram orientados a preencher cada parte do registro, preferencialmente, logo após as refeições e eles receberam instruções e ilustrações de alimentos com o intuito de ajudar a preencher o diário alimentar da melhor forma possível.

Todos os dados obtidos para análise de dieta foram tabulados no *software* AvaNutri™ (Rio de Janeiro, Brasil), o qual utiliza as tabelas brasileiras de composição nutricional como base de dados para o cálculo de nutrientes (PHILIPPI, 2002; NEPA, 2011).

5.8 Amostras de fezes

Na primeira entrevista, os voluntários receberam kit para coleta das fezes contendo um coletor de fezes de 50ml, espátula e um revestimento de assento sanitário que permite fazer a coleta sentado em posição fisiológica (ColOFF®, São Paulo, Brasil). Todo o kit é lacrado e esterelizado para a coleta. Além disso, foram entregues um par de luvas descartáveis para usar no momento da coleta e um isopor para conservar a amostra no momento do transporte até o laboratório.

Junto com o kit, os voluntários receberam as seguintes instruções: o indivíduo deve defecar no revestimento de assento sanitário que vem junto com o coletor e, usando a luva, deve colocar parte das fezes dentro do coletor utilizando a colher esterelizada que vem dentro do kit. Em seguida, o voluntário deve tampar o coletor, colocá-lo dentro do isopor e armazená-lo em congelador até o momento de levar até o laboratório. O transporte destas amostras de fezes até o laboratório foi realizado dentro deste isopor contendo gelo em cima, a fim de preservar a integridade do material. Para todos os voluntários, o tempo entre a coleta em casa e a entrega desta amostra de fezes congelada até laboratório respeitou o limite de 24 horas (WU *et al.*, 2010).

Assim que as amostras de fezes foram entregues no laboratório, elas foram alicotadas dentro da Capela de Fluxo Laminar (Veco do Brasil, Campinas, Brasil). Cinco alíquotas de 300mg da amostra de fezes foram feitas em microtubos. Cada alíquota foi composta de partes diferentes da própria amostra de fezes, de preferência das porções mais internas. Em seguida, as alíquotas foram armazenadas em freezer -80°C para posteriores análises (WU *et al.*, 2010).

5.9 Avaliação da capacidade física e do consumo pico de oxigênio

O questionário de prontidão para atividade física, conhecido como PAR-Q e recomendado pelo Colégio Americano de Medicina Esportiva (WILLIFORD & OLSON, 2011), foi aplicado na primeira consulta com o voluntário previamente ao teste de esforço progressivo máximo a fim de excluir quaisquer condições fisiológicas e metabólicas que pudesse representar risco para o teste e para o período de treinamento físico (Figura 6).

O $VO_{2m\acute{a}x}$ representa a maior medida de consumo de oxigênio por unidade de tempo. Por se tratar de indivíduos sedentários foi optado utilizar a denominação VO_{2pico} , visto que eles dificilmente atingem o platô ($VO_{2m\acute{a}x}$) no teste de esforço progressivo máximo (WAGNER, 2000). A fim de determinar a capacidade física e o VO_{2pico} (ml/kg/min) cada participante foi submetido, antes e após o período de 10 semanas de intervenção, ao teste de esforço progressivo com incrementos de carga

até a exaustão. O teste foi realizado em cicloergômetro Wingate de membros inferiores (Biotec 2100, Cefise, Nova Odessa, Brasil) porque a intervenção de treinamento físico seria realizada em bicicletas ergométricas. Antes do início do teste, a posição dos participantes no ergômetro (altura do banco, altura do guidão, encaixe dos pés e distância do banco ao guidão) foi ajustada de forma individual e esses ajustes foram anotados para repetir na coleta final (Figura 8). Também foram repassados, nesse momento, todos os procedimentos do teste.



Figura 8. Teste de esforço progressivo máximo realizado por voluntário do estudo.

Ainda antes de iniciar o teste, o indivíduo permaneceu sentado e parado por 5 minutos a fim de obter sua frequência cardíaca de repouso e para o estabelecimento da linha de base do consumo de oxigênio (Figura 8). Em seguida, o teste começou com aquecimento de três minutos com carga mínima da própria balança de 250g, a qual é equivalente a 20 watts (W). Após o aquecimento, a carga de trabalho foi fixada

em 50W e os voluntários eram instruídos a manter o ritmo de 60 rotações por minuto (rpm), equivalente a 19 e 20km/h de acordo com o velocímetro acoplado no cicloergometro. A cada minuto do teste houve incremento de carga equivalente a 25W e estes incrementos seriam realizados até o fim do teste. Logo após cada incremento foi aplicada a escala de percepção subjetiva de esforço de Borg (de 6 a 20). Esta ferramenta contribuiu para indicativos do esforço do indivíduo ao longo do teste podendo variar de esforço muito leve (6), difícil (13-15) até extremamente difícil ou esforço máximo (20) (BORG, 1982). O teste seria interrompido seguindo alguns critérios: quando a cadência do pedal reduzisse para baixo de 60rpm por pelo menos cinco segundos, sem possibilidade de retorno; ou quando o voluntário atingisse o platô no consumo de oxigênio observado através do gráfico do computador; ou ainda se o sujeito voluntariamente parasse de pedalar por não conseguir manter o esforço por mais tempo.

A capacidade física foi caracterizada com a mensuração de algumas das principais variáveis captadas no teste de esforço progressivo máximo, tais como, o tempo até a exaustão e a potência mais alta alcançada no teste (W_{pico}). Durante o teste, os sujeitos eram estimulados, através de encorajamento verbal, a manter a potência adequada para cada estágio e conforme eles se aproximassem da exaustão. Os testes foram monitorados pela pesquisadora responsável com auxílio da professora de educação física e doutoranda Geovana Silva Fogaça Leite em todos os testes, a fim de garantir o meso estímulo durante o esforço para todos os voluntários e em ambos os momentos de coleta pré- e pós-intervenção. Ao final do teste, os voluntários pedalarão por mais quatro minutos com carga mínima (250g) como desaquecimento. Este protocolo foi adaptado a partir dos trabalhos realizados por Estaki *et al* (2016) e Matsuo *et al* (2014) e baseou-se nas orientações do livro elaborado pelos autores Lancha e Lancha Jr (2016).

Durante o teste, a ventilação foi avaliada através do analisador de gases Cortex (MetaLyzer® 3B), o qual era calibrado sempre antes de cada teste. Para determinar o consumo de oxigênio foram utilizados os valores encontrados para o volume de gases inspirados e expirados (O_2 e CO_2) em cada estágio do teste por espirometria de circuito aberto (Vacumed Gold). A ventilação foi registrada a cada ciclo respiratório usando um ventilômetro com turbina devidamente calibrada. A frequência cardíaca foi registrada por frequencímetro (Polar, Kempele, Finlândia) no repouso inicial, a cada estágio do teste e no 1º, 2º e 4º minuto de recuperação após o teste de esforço

progressivo máximo. Através desse protocolo pôde-se determinar a frequência cardíaca correspondente a cada estágio do teste, a frequência cardíaca pico, a razão de trocas respiratórias (RER), a W_{pico} e o VO_{2pico} . Estes três últimos foram determinados como a média dos 20 segundos finais do teste, os quais foram obtidos através de planilha de excel salva pelo software do equipamento ao final do teste (MATSUO *et al.*, 2014).

Outros parâmetros, entre eles os limiares ventilatórios, também foram observados a partir da análise dos gases O_2 e CO_2 realizado junto ao teste de esforço progressivo máximo. Após o teste de esforço progressivo máximo foi gerada um gráfico, como demonstrado na figura 9 e uma planilha de Excel contendo dados do teste. Com o início do exercício, a ventilação pulmonar (VE), a qual representa as trocas de ar através da inspiração e expiração, começa aumentando progressivamente em paralelo com o aumento do consumo de oxigênio (VO_2). O primeiro limiar (LV1), também conhecido como limiar aeróbio, é identificado quando há um aumento não linear do equivalente ventilatório para oxigênio (VE/VO_2) na curva ventilatória com uma manutenção do volume de dióxido de carbono produzido (VE/VCO_2). Nesse momento, acontece o primeiro grande aumento da frequência cardíaca e coincide com os valores 13 a 15 da escala de percepção subjetiva de esforço de Borg. Além disso, a pressão expirada de oxigênio ($PETO_2$) e a fração expirada de oxigênio (FEO_2) diminuem transitoriamente entre o início do exercício até atingir o LV1. O segundo limiar (LV2), conhecido como limiar anaeróbio, acontece quando há um aumento não linear da VE/VCO_2 . Este é o momento em que acontece o ponto de compensação respiratória junto com uma hiperventilação desproporcional à eliminação de CO_2 e a razão das trocas respiratórias é maior que um ($RER > 1$). Além disso, observa-se que a pressão expirada de dióxido de carbono ($PETCO_2$) e a fração expirada de dióxido de carbono ($FECO_2$) atinge um valor máximo, caracterizando o LV2, podendo diminuir em seguida (BENTLEY; NEWELL; BISHOP, 2007; LANCHÁ; LANCHÁ JR, 2016). Esse momento coincide com os valores 16 a 18 na escala de Borg (SILVA; DERESZ; LIMA, 2006), chegando próximo do esforço máximo, uma vez que há uma diminuição do pH sanguíneo de forma que o corpo não consegue tamponar e o indivíduo não consegue manter o exercício por muito mais tempo. Entre o LV1 e LV2, a ventilação pulmonar (VE), observada em litros por minuto, aumenta paralelamente com o VO_2 . No LV2, a VE passa a aumentar desproporcionalmente ao VO_2 (BORG, 1982; SILVA; DERESZ; LIMA, 2006).

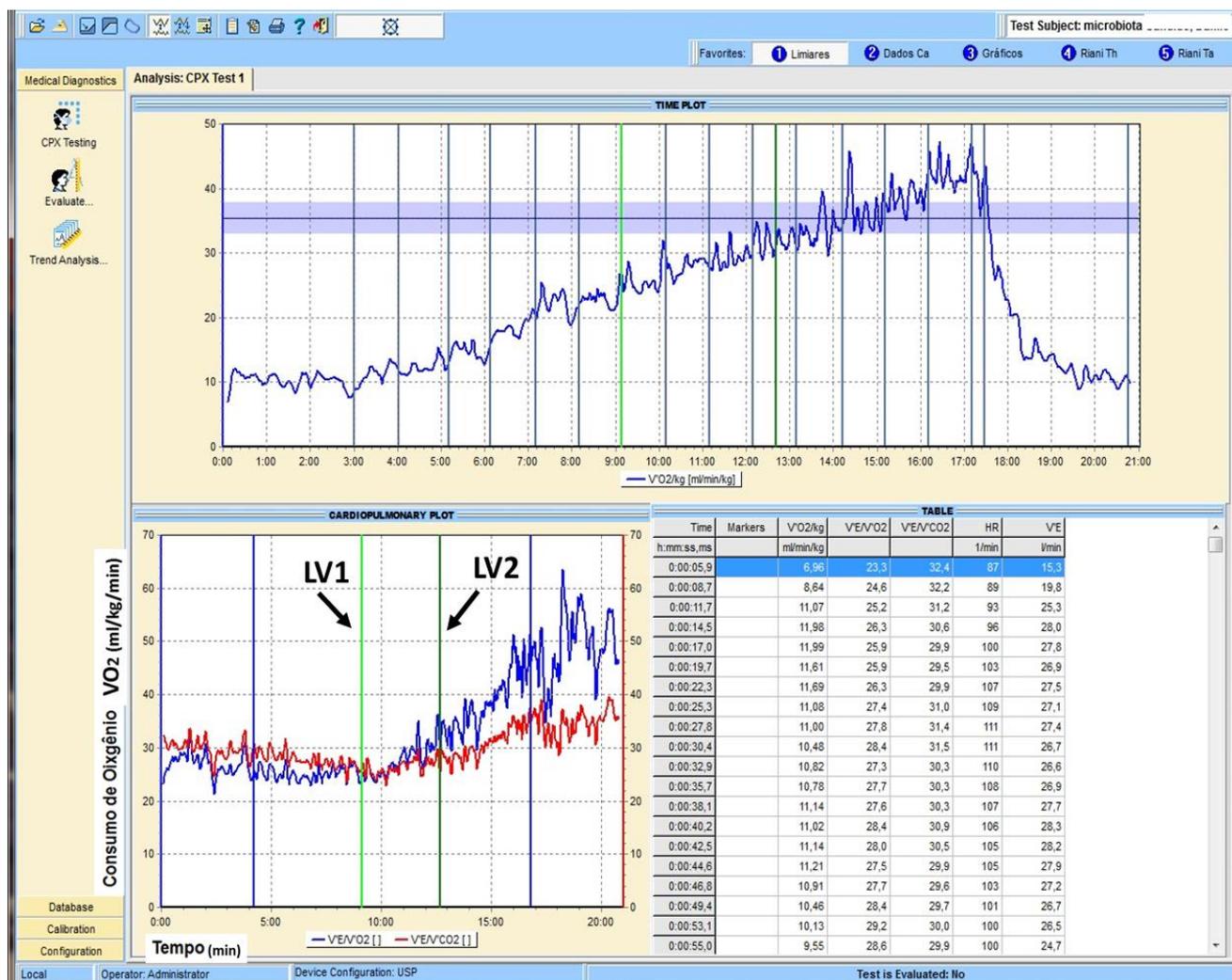


Figura 9. Gráfico produzido por analisador de gases em teste de esforço progressivo máximo.

Legenda: VO_2 : Consumo de oxigênio; VE/VO_2 : equivalente ventilatório para o oxigênio; VE/VCO_2 : equivalente ventilatório de dióxido de carbono produzido; LV1: primeiro limiar ventilatório; LV2: segundo limiar ventilatório.

Vale salientar que antes do teste de esforço progressivo máximo e dos treinos, os voluntários foram familiarizados com as bicicletas ergométricas. Essa familiarização refere-se a explicar detalhadamente como o teste e os treinos aconteceriam e os procedimentos básicos para utilizar a bicicleta com segurança.

5.10 Treinamento físico

Entre três a cinco dias após o teste ergoespirométrico inicial, os voluntários iniciaram o programa de treinamento físico. A intervenção teve duração de 10 semanas, com treinos acontecendo três vezes por semana (preferencialmente as segundas-, quartas- e sextas-feiras consecutivas, de forma que eles tenham pelo menos 36 horas de descanso) e cumprindo um total de 30 sessões de treino.

As sessões de treino foram realizadas em bicicletas ergométricas (Bycicle 2600 Eletromagnetic Moviment) com o seguinte protocolo: cinco minutos de aquecimento com carga de trabalho de 30W, seguindo para 40 minutos de exercício contínuo mantendo cadência em torno de 60 a 70 rpm durante o exercício e intensidade equivalente a 60-65% do VO_{2pico} . Em seguida, o treino foi finalizado com desaquecimento de cinco minutos com a carga de trabalho inicial de 30W (MATSUO *et al.*, 2014). Cada sessão de treino teve duração de 50 minutos, totalizando 150 minutos semanais de exercício físico aeróbio realizado em intensidade moderada, seguindo as recomendações de saúde do Colégio Americano de Medicina Esportiva (HASKELL *et al.*, 2007) e da Organização Mundial de Saúde (WHO, 2010) (Figura 10).



Figura 10. Sessão de treinamento físico realizado por alguns voluntários do estudo.

A intensidade moderada do exercício físico foi determinada de forma individualizada a partir dos resultados obtidos no teste de esforço progressivo máximo, entre eles VO_{2pico} e o LV1. Os valores de potência (watts) e da frequência cardíaca (batimentos por minuto) que se encaixaram na faixa entre 60 a 65% do VO_{2pico} de cada voluntário também foram identificados e estes valores foram utilizados para planejar as sessões de treino e a fim de auxiliarem no monitoramento da intensidade ao longo das sessões de treinamento. Além disso, a cada 3 sessões de treino eram aplicados questionários de percepção de esforço e de recuperação com escala de 0 a 10, a fim de contribuir nos ajustes necessários da intensidade do treinamento. Para avaliar o esforço, a escala foi aplicada 20 minutos após a sessão de treino e, para avaliar recuperação, foi aplicada logo antes da seguinte sessão de treino começar.

Visto que os voluntários não praticavam qualquer atividade física estruturada e planejada há mais de 6 meses, eles começaram as primeiras sessões de treinos com carga mais leve referente a 60% do VO_{2pico} . Ao longo das 10 semanas de treino foram incrementadas cargas na bicicleta com o objetivo de aumentar a potência, a

fim de mantê-los sempre trabalhando em intensidade moderada. A frequência cardíaca foi monitorada em todas as sessões de treino por frequencímetro (Polar, Kempele, Finlândia) e foi registrada nos primeiros cinco minutos, 25º minuto e nos cinco minutos finais do treino. Todos os voluntários realizaram as sessões de treino no período da tarde ou início da noite. Também foi orientado que os voluntários do GT se alimentassem entre duas e quatro horas antes do treino para evitar qualquer desconforto durante a sessão de treino.

5.11 Análises de perfil lipídico e glicêmico

Para as coletas de sangue, os indivíduos foram orientados a jejuar nas 12 horas antecedentes à coleta. Foram coletados 8ml de sangue de cada voluntário por punção venosa, sendo que 4ml foi coletado em tubo com anticoagulante K₃EDTA (Vacuette®) para análise de colesterol total, HDL-c, LDL-c e triglicérides em plasma e 4 ml em tubo contendo Fluoreto de sódio e EDTA (Vacuette®) para análise de glicose em jejum. Os tubos ficaram em isopor com gelo até o fim da coleta.

Em seguida, as amostras foram centrifugadas (Universal 32R, Hettich, Buckinghamshire, England) a 3000 rpm por 10 min a 4º C para a separação do plasma. Uma vez separado, o plasma foi alicotado e armazenado em *freezer* a -80°C até a análise. Para dosar a glicose de jejum, colesterol total, HDL-c, LDL-c e triglicérides foi empregado o método enzimático colorimétrico utilizando-se os kits específicos para cada (Biotécnica, Minas Gerais, Brasil).

5.12 Extração do DNA total microbiano

A análise da composição da MI foi realizada a partir de 48 amostras de fezes dos voluntários nos momentos pré- (GC=12; GT=12) e pós-intervenção (GC=12; GT=12).

Primeiramente, o DNA total de cada amostra foi extraído utilizando o mini kit de DNA QIAamp para fezes (Qiagen, Valencia, CA) (WU *et al.*, 2010). Para a extração

de DNA foram utilizados entre 190 a 200mg de fezes de cada voluntário, a qual foi pesada ainda no estado congelado. Os passos da extração seguiram estritamente as recomendações do fabricante. Após a extração, o DNA foi quantificado por espectrofotometria (NanoDrop – ND 2000).

As alíquotas contendo o DNA total extraído foram transportadas em isopor contendo gelo seco seguindo estritamente as recomendações do laboratório responsável pelo sequenciamento (BPI tecnologia, Botucatu, SP). Ao chegar no laboratório BPI, o DNA total extraído passou por análise de qualidade através de gel de agarose 2% corado com Gel Red (Uniscience), visualizado sob luz ultravioleta.

5.13 Sequenciamento 16S rRNA

Após a extração do DNA total microbiano, iniciaram-se os passos para o sequenciamento do RNA ribossomal 16S (16S rRNA), o qual é um marcador filogenético que faz parte da subunidade 30S dos ribossomos procarióticos e é composto por 9 regiões (V). O 16S está presente na grande maioria das bactérias, com baixa taxa de evolução ao longo do tempo e apresenta um tamanho suficiente para análises de bioinformática (JANDA; ABBOTT, 2007). Além disso, tem sido amplamente utilizado em estudos com propósito semelhante ao presente projeto (CLARKE *et al.*, 2014; ESTAKI *et al.*, 2016; BRESSA *et al.*, 2017; ALLEN *et al.*, 2017; MUNUKKA *et al.*, 2018).

Para tal fim, optou-se pelo método de sequenciamento de DNA de nova geração (NGS) em larga escala utilizando a plataforma MiSeq Illumina (Illumina, San Diego, CA). Todos os procedimentos envolvidos nesta análise seguiram as recomendações desta plataforma e o mesmo fluxo descrito por Caporaso *et al* (2012).

Foram realizadas reações amplificação da região V4 do 16S rRNA através do qPCR (do inglês “quantitative polymerase chain reaction”) em tempo real, tendo como volume final de 20 µL, contendo 10 µL de GoTaq® Colorless Master Mix 2x (Promega, USL), 0,3µM de oligonucleotideo foward e 0,3µM de oligonucleotideo reverse, 30 ng de DNA genômico e água ultrapura estéril suficiente para 20uL. Para a amplificação foram utilizados os iniciadores 515F e 806R, respectivamente:

- 16s – V4 *Forward* 5' –
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGGTGCCAGCMGCCGCG
GTAA – 3'
- 16s – V4 *Reverse* 5'–
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGGACTACHVGGGGT
WTCTAAT – 3'

O programa de amplificação consistiu de desnaturação inicial a 94°C por 3 minutos, seguida por 29 ciclos de desnaturação a 94°C por 45 segundos, anelamento a 50°C por 1 minuto; extensão a 72°C por 1 minuto e 30 segundos e uma extensão final a 72°C por 10 minutos. As reações de amplificação foram conduzidas em termociclador Veriti™ Thermal Cycler (Applied Biosystems, Foster City, CA). Os produtos de amplificação foram submetidas as etapas de purificação utilizando bead magnética Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter), de acordo com o protocolo do fabricante.

Em seguida, foi realizada a etapa de indexação em que foram inseridos indexadores nos adaptadores comuns (8-bp *barcodes* específicos para cada amostras), os quais são necessários para organização e identificação das leituras. Esta reação foi realizada por PCR seguindo o protocolo do kit Nextera XT Index (Illumina). O programa de amplificação consiste de: incubação à 72°C por 3 minutos, desnaturação inicial à 95°C por 30 segundos, seguidos de 12 ciclos de 95°C por 10 segundos, 55°C por 30 segundos e 72°C por 30 segundos e extensão final a 72°C por 5 minutos. As reações de amplificação foram conduzidas em termociclador Veriti™ Thermal Cycler (Applied Biosystems, Foster City, CA).

As leituras indexadas foram submetidas às etapas de purificação utilizando bead magnética Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter), para remoção de fragmentos muito pequenos da população total de moléculas e restos de primers. Após, foi realizada a quantificação pela metodologia de qPCR em tempo real utilizando termociclador QuantStudio 3 Real Time (Applied Biosystems, Foster City, CA) e Kit KAPA-KK4824 (Library Quantification Kit - Illumina/Universal), todos de acordo com protocolo do fabricante. Gerou-se um pool equimolar de DNA, através da normalização de todas as amostras a 2nM, para realização do sequenciamento, o qual foi conduzido utilizando-se o sistema Illumina MiSeq de sequenciamento de nova geração (Illumina® Sequencing). As amostras foram sequenciadas a partir de ambas

as extremidades das moléculas (*paired-ends*) para um comprimento total de leitura de 300 pares de bases (pb), sendo 150pb de cada extremidade (2 x 150bp).

5.14 Bioinformática

A cobertura de sequenciamento foi em torno de 156.250 leituras por amostra. Um total de 4.044.921 de sequências originais no formato *.fastq* foram obtidas após o sequenciamento 16S rRNA na plataforma Illumina MiSeq. Estas, por sua vez, foram processadas utilizando o *software* QIIME (do inglês – “Quantitative Insights Into Microbial Ecology”) *pipeline 2* versão 2018.11. O fluxo de trabalho e passos optados para o tratamento destas sequências foram descritas por Caporaso *et al* (2010) e estiveram de acordo com as ferramentas e recomendações do QIIME2 detalhadas em seu site (<https://docs.qiime2.org>).

Em resumo, o comando *vsearch* foi utilizado para juntar as leituras de cada extremidade (2x150bp), considerando no mínimo de 6 pares de bases (pb) de sobreposição. Em seguida, passaram por filtro de qualidade (>33) e, com o método *Deblur*, foram identificadas as sequências representativas de cada unidade taxonômica operacional (OTUs) (AMIR *et al.*, 2017). Estes passos contribuem para redução de erros e sequências duplicadas provindas do sequenciamento, oferecendo leituras com maior qualidade.

O próximo passo gerou uma árvore filogenética, a qual foi utilizada para posteriores análises taxonômicas e de α - e β -diversidade. Estas diversidades, por sua vez, foram realizadas através do script *qiime diversity core-metrics-phylogenetic*, com o objetivo de gerar os resultados sumarizados de taxonomia, curvas de rarefação, medidas de riqueza de OTUs, tais como índice de Shannon e enriquecimento observado (*observed OTUs*) que, respectivamente, são medidas quanti e qualitativa que se referem à variedade e complexidade de espécies de uma comunidade (α -diversidade), além de matrizes de distância da β -diversidade quanti (*Bray-Curtis* e *UniFrac weighted*) e qualitativas (*Jaccard* e *UniFrac unweighted*) para construção das análises de coordenadas principais (PCoA). A matrizes de distância UniFrac levam em consideração as relações filogenéticas e abundância relativa dos microrganismos presentes nas amostras. Também analisou-se a homogeneidade das amostras

através do *Pielou evenness*, medida que mostra o quão uniforme está a proporção de OTUs em cada amostra. Todos os artefatos e gráficos gerados por esses procedimentos foram visualizados pela ferramenta QIIME2 *view*.

Em seguida, as sequências foram agrupadas e assinaladas à suas respectivas OTUs, respeitando 97% de similaridade (BOKULICH *et al.*, 2018). Para isto, foram utilizados como limites de corte os valores de 75% para nível taxonômico de filo, 85% para classe, 95% para gênero e 97% para espécie (STACKEBRANDT & GOEBEL, 1994). Posteriormente, utilizando o comando *taxonomy classifiers*, estas sequências foram contrastadas contra o banco de dados Greengenes região V4 versão 2013/08, considerando o limiar de confiança mínimo de 80% (MCDONALD *et al.*, 2012). O arquivo BIOM gerado foi convertido para gerar a tabela com o consenso taxonômico até o nível de espécies e, a partir desta, foram realizados os procedimentos estatísticos.

5.15 Análise estatística

Primeiramente, cada variável analisada, tais como os dados de composição corporal, parâmetros metabólicos plasmáticos, do teste de esforço progressivo máximo, consumo alimentar e os dados referentes a MI (número de sequências, OTUs observadas e índices de diversidade) foram testadas quanto a sua distribuição usando o teste Shapiro-Wilk. Algumas variáveis de consumo alimentar apresentaram distribuição não-Gaussiana, então, foram transformadas em log e atingiram a normalidade. A partir de distribuição normal, as diferenças entre os grupos no momento pré-intervenção foram testadas utilizando o teste T de *Student* (duas caudas e amostras independentes) com correção Welch. Para testar as diferenças entre os grupos e momentos optou-se pela análise de variância de dois fatores (ANOVA *two way*) com medidas repetidas, a partir do procedimento de modelo linear generalizado (GLM), com “grupo” e “tempo” como fatores. No caso de um valor F significativo, foi aplicado o teste de *post-hoc* de Tukey. O tamanho do efeito (TE) foi calculado utilizando o coeficiente *d* de Cohen. Os descritores qualitativos para a interpretação do ES foram designados da seguinte maneira: <0,2, efeito trivial; 0,2 – 0,39, efeito pequeno; 0,40 – 0,75, efeito moderado; >0,75, efeito grande.

Com relação à MI, as diversidades alfa e beta e as diferenças de abundância de OTUs foram realizadas a partir de comandos e scripts no *software* QIIME2 e visualizadas pelo site do QIIME (<https://view.qiime2.org/>). O índice de diversidade de Shannon e o enriquecimento observado foram utilizados para avaliar a riqueza de comunidades nos grupos e momentos testados. A β -diversidade foi computada considerando a amostragem de 1.667 sequências por amostra, a qual foi baseada na saturação atingida na curva de rarefação (Figura 12). A partir disto, os algoritmos de matrizes de similaridades de *Bray Curtis*, *Jaccard*, *UniFrac weighted* e *unweighted* foram utilizados para gerar as estruturas do PCoA (Figura 14), as quais foram visualizadas usando o EMPeror (VAZQUEZ-BAEZA *et al.*, 2013) e analisadas estatisticamente através do teste PERMANOVA (do inglês – “Permutational Multivariate Analysis of Variance”) com 999 permutações aleatórias no QIIME2. Com relação aos dados de taxonomia, todas as análises foram realizadas com o QIIME2 a partir da OTU table após a rarefação. Para avaliar o efeito do treinamento físico sobre a abundância de OTUs e níveis taxonômicos, especialmente, filo, família, gênero e espécie, foram aplicadas a ANOVA two way com medidas repetidas ou Kruskal Wallis quando as variáveis não atingiram normalidade. O teste T de *Student* para amostras independentes com correção de Welch ou Mann-Whitney foram aplicados para avaliar diferenças entre os grupos. As correlações entre as variáveis de estudo com os dados referentes à MI (α -diversidade e OTUs) foram testadas pelo coeficiente de correlação de Pearson ou método de Spearman.

A análise de composição corporal, parâmetros metabólicos plasmáticos, teste de esforço progressivo máximo e consumo alimentar foi conduzida através do *software* SPSS versão 25.0. Para construção das figuras foi utilizado o *software* GraphPad versão 7.4. Na seção de resultados, os dados foram representados em média \pm desvio-padrão (DP) ou em mediana e intervalos interquartílicos referentes a 25% e 75%. O nível de significância assumido foi $p < 0.05$. As comparações múltiplas foram corrigidas, quando necessário, com o FDR (do inglês “False Discovery Rate”) utilizando o método de Benjamini e Hochberg e o teste de Bonferroni.

6. RESULTADOS

6.1 Características descritivas dos participantes

Com relação aos dados descritivos, dos 24 voluntários que responderam o questionário de perfil na coleta pré-intervenção: 62,5% relataram que, nos últimos 7 dias anteriores à coleta, a frequência fecal acontecia diariamente 1x por dia (GC=7, GT=8), os outros 37,5% voluntários relataram apresentar frequência fecal alternada (dia sim, dia não) ou entre cinco a seis vezes por semana; 16,6% voluntários fumavam cigarro em alguns fins de semana (GC=3, GT=1); 66,6% dos voluntários bebiam bebidas alcoólicas em média 1x por semana, em geral, cervejas com teor alcoólico em torno de 5% (GC=9, GT=7); em média, os voluntários compartilhavam seus lares com mais 3,5 pessoas; 29,1% dos voluntários nasceram de parto normal (GC=5, GT=2), 62,5% nasceram de parto cesáreo (GC=6, GT=9), 1 voluntário do GC e 1 do GT não souberam informar; 79,1% dos voluntários receberam aleitamento materno por no mínimo 6 meses após o nascimento, enquanto 20,8% receberam fórmulas prontas (GC=4, GT=1); 8,3% dos voluntários relataram ser ovolactovegetarianos (GC=1, GT=1), sendo todos os outros onívoros; 16,6% dos voluntários relataram ter viajado para fora do país (GC=3, GT=1), no entanto, essa viagem aconteceu entre 4 a 5 meses antes da coleta pré-intervenção; e, por fim, os voluntários relataram ter em média 6,9 horas de sono por noite, sendo que nenhum relatou ter dificuldade para dormir.

Nenhum voluntário fazia uso de medicamentos, suplementos nutricionais, probióticos ou prébióticos antes ou durante o período de intervenção. Não houve mudanças significantes com relação aos hábitos de frequência fecal dos voluntários em nenhum dos grupos no momento pós-intervenção ($p=0,59$). Vale salientar que nenhum dos voluntários relatou ter dificuldades para defecação.

A maioria dos treinos aconteceu como programado, sendo preferencialmente as segundas, quartas e sextas, porém, quando houveram imprevistos, era solicitado aos participantes que repusessem tal sessão num outro dia (terça- e quinta-feira ou sábado). A taxa de aderência aos treinos dos voluntários do GT foi de 100%, ou seja,

todos completaram as 30 sessões de treino estabelecidas pelo programa de treinamento físico do presente estudo.

A tabela 1 abaixo demonstra dados de caracterização coletados dos 24 voluntários que finalizaram todos as etapas do estudo. Não foram observadas diferenças significantes no momento pré-intervenção entre os grupos ou ainda no pós-intervenção para nenhuma das variáveis analisadas ($p > 0,05$).

Tabela 1. Dados referentes à composição corporal e parâmetros metabólicos plasmáticos dos participantes.

	PRÉ			PÓS		
	GC (n=12)	GT (n=12)	p^*	GC (n=12)	GT (n=12)	$p^\#$
Idade (anos)	25,5 ± 4,66	25,58 ± 5,07	0,96	-	-	-
Peso (kg)	72,15 ± 10,99	77,36 ± 13,19	0,30	72,39 ± 11,17	76,52 ± 12,78	0,26
IMC (kg/m²)	23,65 ± 3,33	25,35 ± 4,20	0,28	23,75 ± 3,31	25,04 ± 3,93	0,85
%G	21,87 ± 12,18	23,59 ± 11,63	0,72	21,85 ± 12,08	21,65 ± 9,32	0,77
%MLG	78,12 ± 12,18	76,40 ± 11,63	0,72	78,14 ± 12,08	78,35 ± 9,32	0,77
TRIG (mg/dL)	103,42 ± 11,24	100,45 ± 15,45	0,59	106,30 ± 17,93	99,41 ± 12,18	0,64
COLEST. TOTAL (mg/dL)	172,34 ± 22,77	166,10 ± 11,00	0,40	165,80 ± 22,10	157,26 ± 15,46	0,83
HDL-c (mg/dL)	55,71 ± 9,75	54,70 ± 5,74	0,76	68,70 ± 15,33	71,16 ± 8,80	0,57
LDL-c (mg/dL)	88,11 ± 22,11	86,29 ± 34,65	0,87	93,01 ± 30,03	89,67 ± 45,69	0,93
GLICOSE DE JEJUM (mg/dL)	92,02 ± 8,94	93,95 ± 8,82	0,26	92,51 ± 8,34	91,78 ± 12,38	0,43

Os dados estão apresentados como média ± desvio-padrão. * os valores desta coluna fazem referência ao valor p de efeito principal do grupo no momento pré-intervenção. # os valores desta coluna fazem referência ao valor p de interação grupo x tempo. **Legenda** GC: grupo controle; GT: grupo treino; IMC: índice de massa corporal em kilogramas por metro ao quadrado (kg/m²); %G: percentual de gordura; %MLG: percentual de massa livre de gordura; TRIG: triglicérides; COLEST.: colesterol; HDL: *high density lipoprotein-cholesterol*; LDL: *low density lipoprotein-cholesterol*; mg/dL: miligramas por decilitro de plasma.

Embora não tenha sido observado significância, após o período de treinamento físico, a massa gorda dos voluntários do GT reduziu, em média, 8% (Figura 11C), enquanto que o percentual de massa livre de gordura apresentou aumento de 2,55% em média (Figura 11D).

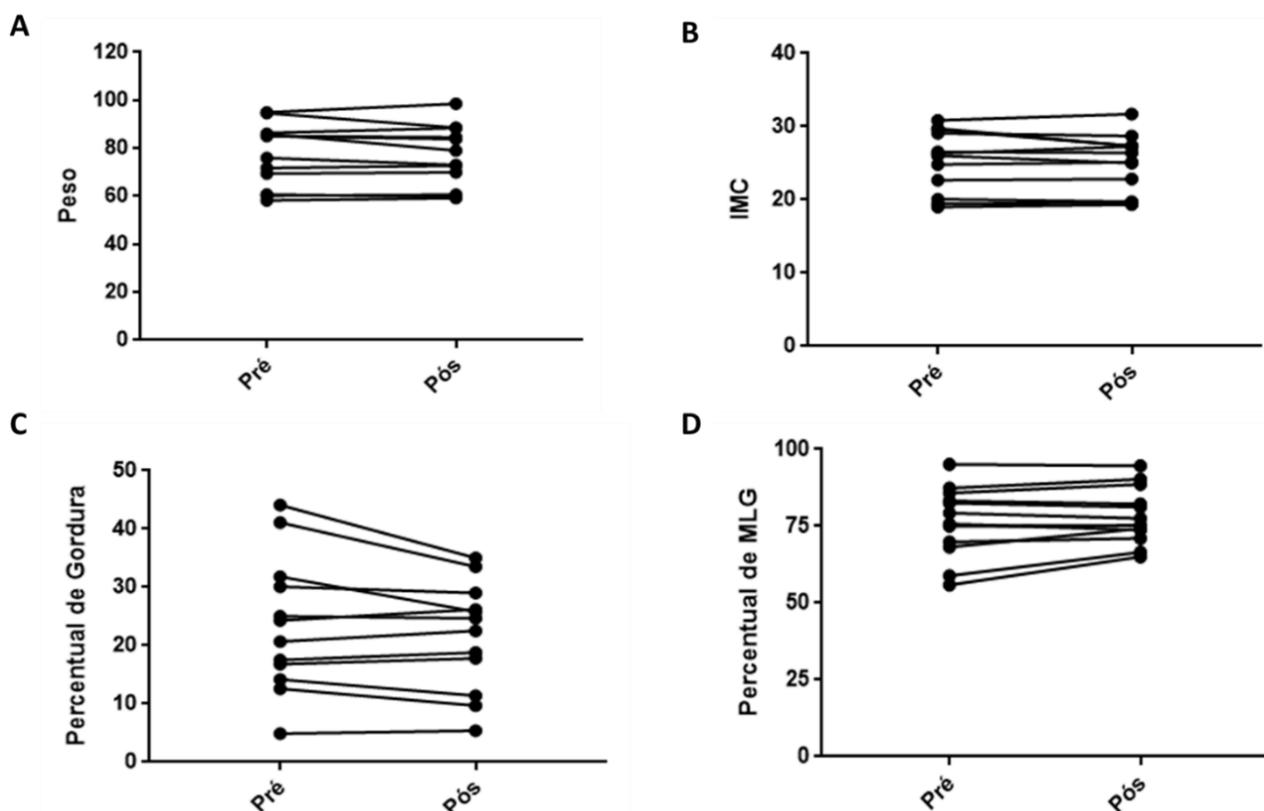


Figura 11. Variação dos parâmetros de composição corporal dos voluntários do grupo treino. Os gráficos acima apresentam os valores de (A) peso em kilogramas, (B) índice de massa corpórea (IMC) em kg/m², (C) percentual de gordura e (D) percentual de massa livre de gordura (MLG) dos voluntários do grupo Treino nos momentos pré- e pós-intervenção. Em nenhum destes parâmetros foi detectada diferença significativa entre os momentos ($p>0,05$).

6.2 Consumo alimentar

A tabela 2 apresenta os dados quantitativos sobre o consumo alimentar e hídrico dos participantes nos momentos pré, durante (quinta semana) e pós-intervenção. Os valores em porcentagem do consumo de calorias providas de carboidratos, proteína e gordura total foram calculados de acordo com a energia total, ou seja, eles representam o quanto que cada macronutriente aproximadamente contribui nas calorias totais diárias. É apresentado também dados referentes aos grupos alimentares consumidos pelos voluntários extraídos a partir do QFA (Tabela 2). Para os nutrientes e grupos alimentares avaliados, não houve diferença entre os grupos no momento pré-intervenção tampouco entre os diferentes momentos de avaliação em relação aos outros parâmetros de consumo alimentar apresentados na tabela 2 ($p>0,05$).

Tabela 2. Dados referentes ao consumo alimentar e hídrico dos participantes.

	PRÉ		<i>p</i> *	QUINTA SEMANA		PÓS		<i>p</i> #
	GC (n=12)	GT (n=12)		GC (n=12)	GT (n=11)	GC (n=12)	GT (n=12)	
ENERGIA (kcal)	2083,81 ± 368,88	2452,64 ± 717	0,12	2229,17 ± 581,56	2101,43 ± 679,77	1919,19 ± 485,90	2035,65 ± 708,31	0,21
CHO (g)+	274,72 ± 69,05	316,33 ± 126,33	0,32	286,83 ± 109,44	262,85 ± 107,32	248,24 ± 75,29	276,78 ± 109,34	0,36
CHO (%)	52,65 ± 7,99	51,11 ± 8,70	0,66	50,47 ± 9,06	49,55 ± 7,43	51,44 ± 6,13	52,96 ± 4,09	0,43
PROT (g)+	94,69 ± 39,62	100,71 ± 34,05	0,69	99,94 ± 21,37	105,62 ± 23,79	86,93 ± 26,76	94,67 ± 35,74	0,97
PROT (%)	18,25 ± 6,58	16,61 ± 3,71	0,46	18,62 ± 4,26	20,93 ± 4,19	18,58 ± 5,46	18,72 ± 4,41	0,11
PROT (g/kg/dia)	1,24 ± 0,34	1,31 ± 0,41	0,65	-	-	1,20 ± 0,33	1,25 ± 0,49	0,88
GORD TOTAL (g)+	67,35 ± 16,31	87,15 ± 30,84	0,62	73,92 ± 22,07	69,70 ± 25,97	64,41 ± 21,54	94,67 ± 35,74	0,08
GORD TOTAL (%)	29,17 ± 5,59	32,27 ± 6,32	0,22	30,08 ± 5,76	29,51 ± 5,44	29,8 ± 4,69	28,52 ± 5,41	0,31
GORD SAT (g)	15,12 ± 10,44	17,36 ± 11,19	0,29	25,14 ± 9,07	23,19 ± 9,29	20,92 ± 5,80	20,65 ± 7,97	0,14
GORD MONO (g)+	15,10 ± 10,44	17,33 ± 11,17	0,61	16,11 ± 6,07	19,87 ± 7,97	15,10 ± 7,21	12,62 ± 3,87	0,21
GORD POLI (g)	10,33 ± 5,92	8,9 ± 5,30	0,54	9,64 ± 3,25	10,02 ± 4,47	7,83 ± 4,86	8,25 ± 4,00	0,66
COLEST (mg)+	242,48 ± 153,67	311,82 ± 236,85	0,40	280,81 ± 117,17	266,96 ± 177,80	228,34 ± 120,41	248,85 ± 132,29	0,82
FIBRAS (g)	15,27 ± 4,73	18,79 ± 13,38	0,40	15,11 ± 3,42	20,39 ± 8,13	14,16 ± 6,53	16,59 ± 10,04	0,25
ÁGUA (ml)	1277,91 ± 848,78	1468,75 ± 555,05	0,52	-	-	1277,91 ± 848,78	1468,75 ± 555,05	0,99
PCT (g)	373,35 ± 231,51	352,47 ± 155,32	0,79	-	-	-	-	-
Frutas (g)	129,22 ± 131,35	267,51 ± 272,50	0,12	-	-	-	-	-
VLL+ (g)	326,69 ± 208,79	279,40 ± 180,50	0,55	-	-	-	-	-
Ovos (g)	24,39 ± 29,45	20,09 ± 22,01	0,68	-	-	-	-	-
LIQ+ (g)	362,65 ± 280,97	225,37 ± 275,60	0,23	-	-	-	-	-

Tabela 2. continuação

Carnes (g)	154,25 ± 93,49	175,15 ± 110,65	0,62	-	-	-	-	-
Peixes (g)	22,58 ± 24,09	71,17 ± 109,58	0,14	-	-	-	-	-
Doces (g)	25,46 ± 22,62	46,00 ± 35,72	0,11	-	-	-	-	-

Os dados estão apresentados como média ± desvio-padrão. + transformados em log para análise. * os valores desta coluna fazem referência ao valor *p* de efeito principal do grupo no momento pré-intervenção. # os valores desta coluna fazem referência ao valor *p* de interação grupo x tempo. **Legenda:** GC: grupo controle; GT: grupo treino; kcal - quilocaloria; CHO: carboidrato; %: porcentagem do macronutriente calculada em cima do valor energético diário (Kcal/dia); PROT: proteína; GORD: gordura; SAT: saturada; MONO: monoinsaturada; POLI: poli-insaturada; COLEST: colesterol; prot (g/kg/dia) - proteína por quilograma de peso corporal por dia; g: gramas; PCT: pães, cereais e tubérculos; VLL: verduras, legumes e leguminosas; LIQ: Leite, iogurtes e queijos.

6.3 Efeito do treinamento físico sobre a capacidade aeróbia

O programa de treinamento físico proposto neste estudo teve como características ser realizado de forma contínua, ou seja, mantendo mínima variação na cadência (60-70rpm) ao longo da sessão de treino e em intensidade moderada (60-65% do VO_{2pico}). Os voluntários começaram as primeiras semanas de treinamento em torno de 40 a 45% da sua $Wpico$, atingindo 70% da sua $Wpico$ ao final das 10 semanas de treino, respeitando a progressão individual de carga planejada para as semanas de treinamento físico. Através da escala de 0 a 10 de percepção de esforço e recuperação, respectivamente, após as sessões os voluntários do GT comumente relatavam esforço entre 5 a 9, sendo 10 máximo esforço, e na sessão seguinte relatavam entre 0 a 5 para recuperação, sendo 0 máxima recuperação.

A fim de investigar o efeito do treinamento físico sobre parâmetros de capacidade aeróbia, aplicou-se o teste ANOVA *two way* com medidas repetidas. O teste estatístico detectou efeito significativo da interação Grupo x Tempo sobre as variáveis $Wpico$, VO_{2pico} , LV1 e RER alcançados no teste de esforço progressivo máximo (tabela 5). Além disso, o teste revelou significativo efeito intra-grupo no GT, indicando aumento da $Wpico$ ($p < 0,001$; TE = 0,976), do VO_{2pico} ($p = 0,001$; TE = 0,971) e do LV1 ($p = 0,033$; TE = 0,58) em comparação ao período pré-intervenção. Não foram observadas diferenças significantes entre os dois grupos no momento pré-intervenção, tampouco no GC entre os momentos pré- e pós-intervenção.

Tabela 3. Dados obtidos a partir do teste de esforço progressivo máximo.

	PRÉ		p^*	PÓS		$p^{\#}$
	GC (n=12)	GT (n=12)		GC (n=12)	GT (n=12)	
W_{pico} (W)	297,31 ± 45,14	288,22 ± 34,18	0,56	297,68 ± 46,50	360,27 ± 52,09	0,001
VO_{2pico} (ml.kg⁻¹.min⁻¹)	37,73 ± 4,72	35,83 ± 7,68	0,58	37,38 ± 4,67	42,90 ± 6,00	<0,001
LV1 (seg)	498 ± 92,77	502,16 ± 111,96	0,88	485,72 ± 132,01	634,33 ± 124,92	0,01
RER	1,306 ± 0,06	1,34 ± 0,16	0,52	1,35 ± 0,07	1,26 ± 0,10	0,03
FC_{máx} (bpm)	188,33 ± 8,46	186,66 ± 9,35	0,65	184,54 ± 9,40	183,83 ± 8,49	0,85

Os dados estão apresentados como média ± desvio-padrão. * os valores desta coluna fazem referência ao valor p de efeito principal do grupo no momento pré-intervenção. # os valores desta coluna fazem referência ao valor p de interação grupo x tempo. **Legenda:** GC: grupo controle; GT: grupo treino; W_{max}: potência pico em watts (W) atingida em teste de esforço progressivo máximo; VO_{2pico}: consumo pico de oxigênio em mililitros por kilogramas por minuto atingido em teste de esforço progressivo máximo; LV1: primeiro limiar anaeróbio atingido em teste de esforço progressivo máximo analisado em segundos; RER: razão de trocas respiratórias; FC_{máx}: frequência cardíaca máxima em batimentos por minuto (bpm) atingida em teste de esforço progressivo máximo.

Houve aumento médio de 16,48% do VO_{2pico} (ml/kg/min) e de 19,99% da W_{pico} no GT alcançados no teste de esforço progressivo máximo indicando, assim, melhora do treinamento físico proposto neste estudo sobre a capacidade aeróbia e condicionamento físico destes indivíduos (Figura 12), enquanto nenhuma diferença significativa foi observada para estes parâmetros no GC ($p=0,064$).

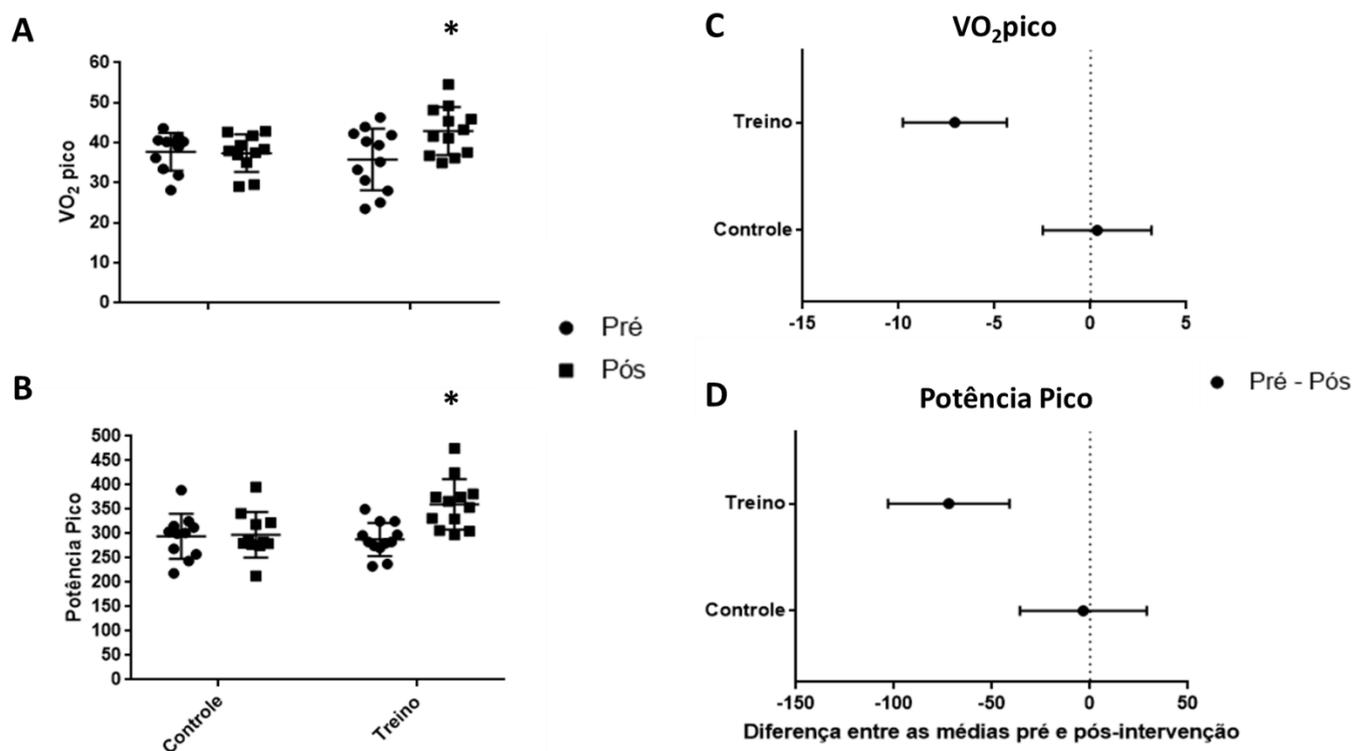


Figura 12. Efeito do treinamento físico sobre parâmetros do teste de esforço progressivo máximo. Cada bola ou cubo representa um voluntário. Nos gráficos à direita, as bolas pretas representam o momento pré-intervenção e os cubos pretos representam o momento pós-intervenção dos grupos controle e treino. (A) Valores do consumo pico de oxigênio (VO₂pico) em ml/kg/min; (B) Valores da Potência Pico em watts; (C) Intervalo de confiança de 95% para os grupos treino e controle em relação ao consumo pico de oxigênio (VO₂pico); (D) Intervalo de confiança de 95% para os grupos treino e controle em relação à potência pico. **Legenda:** * efeito da interação estatisticamente significante ($p < 0.05$).

6.4 Efeito do treinamento físico sobre a composição da microbiota intestinal

6.4.1 Alfa-diversidade

A filtração algorítmica (detalhada no tópico 5.13) resultou em um total de 140.500 sequências 16S rRNA obtidas de 48 amostras fecais fornecidas por 24 voluntários do estudo nos momentos pré- e pós-intervenção (GC=12; GT=12). Em média, foram obtidas 2.927 sequências por amostra (mínimo e máximo de sequências observadas por amostra, respectivamente, 1.811 e 4.545), com tamanho de 290 pb. Foram identificadas 2.121 OTUs distintas, as quais foram observadas nestas 140.500

sequências finais. Estas sequências finais corresponderam a 10 filos, 18 classes, 24 ordens, 42 famílias, 83 gêneros e 133 espécies.

A tabela 4 apresenta a média de sequências finais obtidas após filtração algorítmica, número de OTUs observadas e índices α -diversidade apresentados por grupo e momento. Não houve diferença significativa entre os grupos no momento pré-intervenção ($p>0,05$). Embora o índice de Shannon tenha se revelado um pouco maior no GT no momento pós-intervenção em comparação tanto ao seu momento pré quanto ao GC, não foi detectada diferença estatística ($p=0,39$). Também não se observou diferença significativa após ANOVA *two way* com medidas repetidas em nenhuma das variáveis apresentadas na tabela 4 ($p>0.05$).

Tabela 4. Frequência de comunidades bacterianas conforme revelado pela análise de sequenciamento 16S rRNA.

Grupos	Tempo	Nº de seqs finais	OTUs observadas	Índice de Shannon*	Enriquecimento observado*
GC	Pré (n=12)	3.333,25 ± 672,16	262,33 ± 32,68	6,41 ± 0,53	226,50 ± 36,49
	Pós (n=12)	2.783,83 ± 569,39	273,33 ± 45,53	6,66 ± 0,42	243,41 ± 35,79
GT	Pré (n=12)	2.954,17 ± 620,21	268,50 ± 41,76	6,72 ± 0,44	240,33 ± 37,93
	Pós (n=12)	2.637,08 ± 740,52	263,83 ± 41,10	6,76 ± 0,41	240,33 ± 33,43

Os dados estão apresentados como média \pm desvio-padrão. * valores obtidos a partir da análise pelo comando *core-metric-phylogenetic* e baseados em 1.667 sequências por amostra de acordo com a curva de rarefação. **Legenda:** GC: grupo controle; GT: grupo treino; Nº: número; seqs: sequências; OTUs: unidades taxonômicas operacionais.

De acordo com essas sequências finais obtidas, as medições de rarefação foram utilizadas para gerar a curva de rarefação, a qual permite avaliar a riqueza de OTUs em cada grupo e nos momentos pré- e pós-intervenção. Quanto maior a curva, maior a riqueza de OTUs observadas em dado número de sequências. As curvas de rarefação abaixo mostra que houve saturação com 1.667 sequências 16S rRNA sugerindo, assim, quantidade suficiente de sequências por amostra para posteriores análises de diversidade bacteriana. O acréscimo de mais sequências iria promover um número reduzido de novas espécies adicionais ao estudo (Figura 13).

As curvas de rarefação, em conjunto com os valores da tabela 6, confirmam que não há diferença entre os grupos em nenhum dos momentos avaliados (pré- e pós-intervenção) em termos de riqueza de espécies bacterianas (Figura 13A e 13B). Mesmo o GT no momento pós-intervenção não apresentou diferença significativa em comparação ao momento pré-intervenção ($p>0,05$). Desse modo, sugere-se que não houve efeito do treinamento físico sobre os parâmetros de α -diversidade, bem como, de riqueza de espécies.

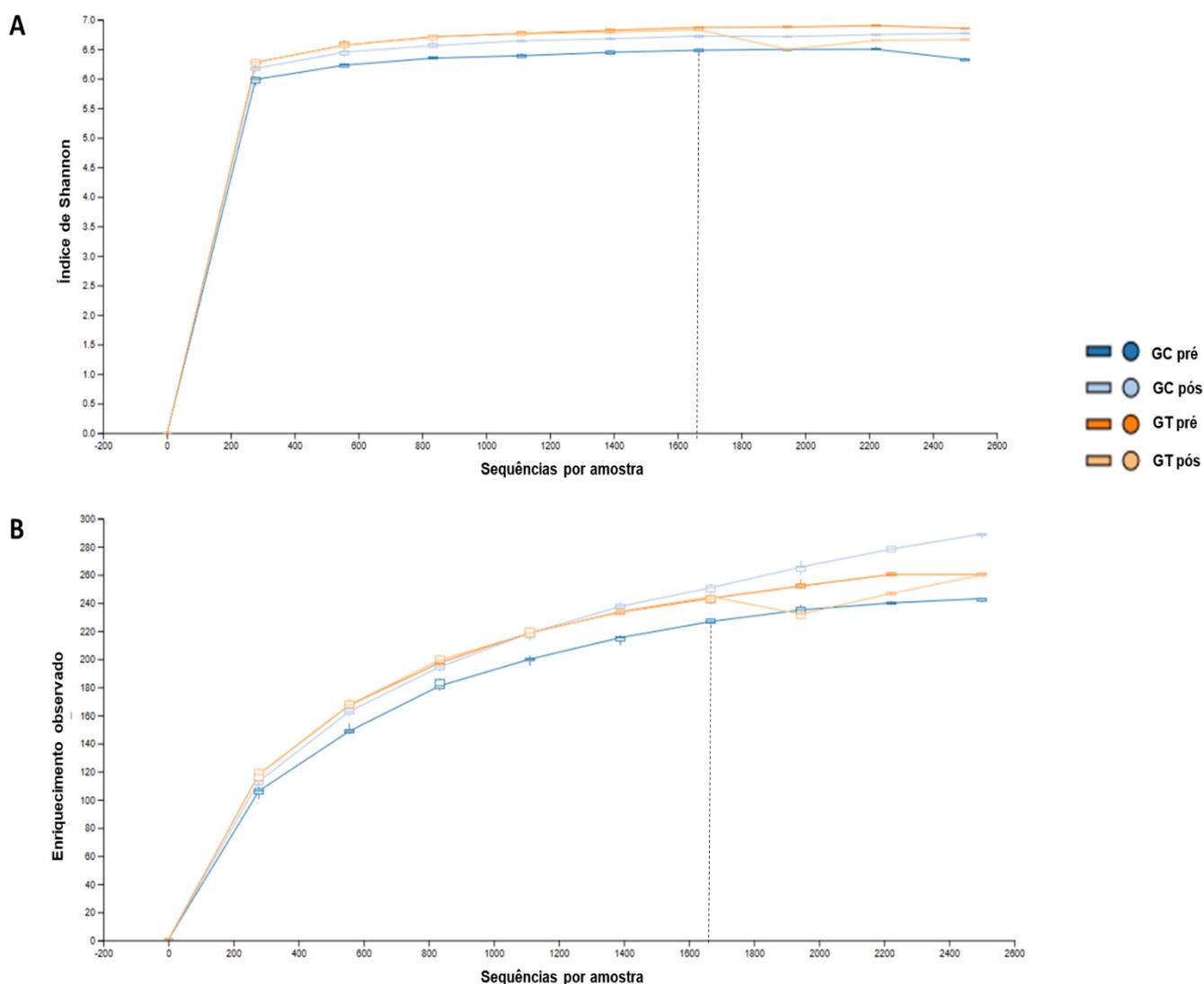


Figura 13. Alfa diversidade e curva de rarefação. As curvas de rarefação apresentadas pelas medidas do índice de Shannon (A) e de enriquecimento observado (B) mostram saturação com 1.667 sequências 16S rRNA em cada amostra (linha pontilhada; n total=48 amostras). Cada linha conecta um número médio e desvio-padrão correspondente a 97% de similaridade entre as OTUs observadas para cada grupo e momento. **Legenda:** GC: grupo controle; GT: grupo treino; pré: momento de coleta pré intervenção; pós: momento de coleta pós-intervenção.

A fim de complementar a compreensão acerca da α -diversidade entre os grupos e momentos, foi aplicado o índice *Pielou evenness*. Este, por sua vez, informa acerca da quantidade de bactérias por OTUs em cada grupo, deste modo sugerindo quão uniforme ou homogênea é a distribuição, em termos de abundância, entre os diferentes OTUs em uma amostra. Este índice é representado como um valor calculado a partir do índice de Shannon que varia de 0 a 1. Quanto mais próximo de zero, menor a uniformidade, assim, indicando que possivelmente há dominância de algumas espécies em uma comunidade (HEIP; HERMAN; SOETAERT, 1998).

A figura 14 demonstra que, apesar de não ter alcançado significância estatística ($p=0,28$; $F=1,18$), o GT se mostra mais uniforme que o GC ($0,86 \pm 0,03$ versus $0,85 \pm 0,03$, respectivamente no pós-intervenção). Isto é, no GT pós-intervenção, a distribuição de bactérias nos diferentes grupos taxonômicos esteve mais proporcional. Entre os momentos pré- e pós-intervenção de treinamento físico observou-se aumento deste índice no GT, porém não foi detectada diferença significativa ($p=0,89$).

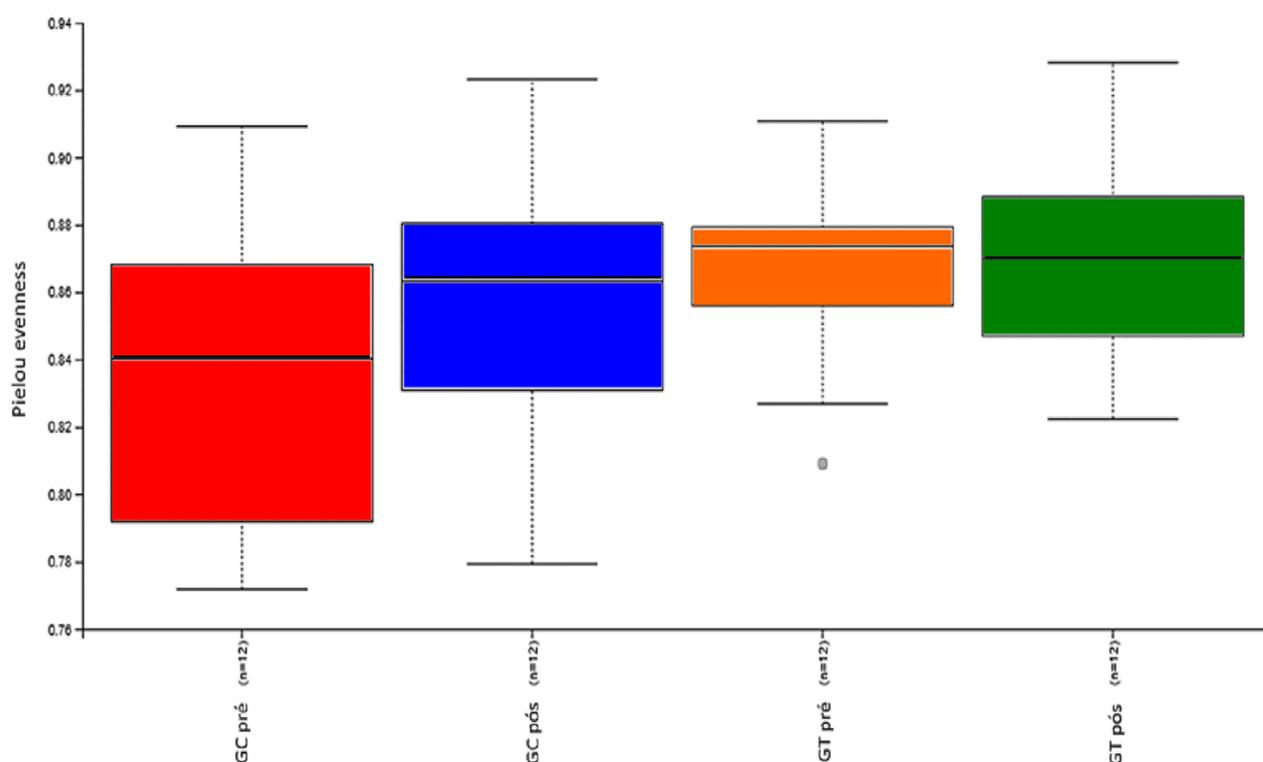


Figura 14. Análise de uniformidade entre os grupos e momentos através do índice de *Pielou evenness*. Legenda: GC: grupo controle; GT: grupo treino; pré: momento pré-intervenção; pós: momento pós-intervenção. $p>0,05$ pelo teste de ANOVA *two way* com medidas repetidas.

6.4.2 Análise da diversidade bacteriana por coordenadas principais (PCoA)

A fim de verificar as similaridades na composição da MI e investigar se o treinamento físico provoca mudanças na comunidade microbiana foram aplicadas as matrizes de similaridade quanti e qualitativas da β -diversidade para gerar o PCoA (Figura 15). Este PCoA demonstra virtualmente como cada voluntário do estudo se dispõe em relação à composição da sua MI. Os gráficos das matrizes de distância UniFrac *unweighed* e *weighted* também incorporam as relações filogenéticas entre os OTUs observados em cada indivíduo (Figura 15C e 15D).

Para a divisão adotada na figura 15, em que os indivíduos do estudo estão divididos em grupos (GC e GT) e momentos (pré- e pós-intervenção), não foi detectada diferença estatística em relação à β -diversidade (PERMANOVA; $p=0,96$). Além do mais, não foi possível observar com clareza nenhum agrupamento referente ao efeito do treinamento físico, uma vez que as amostras do GT pré e GT pós, no PCoA, estão próximos. Entretanto, de acordo com as matrizes de distância *Jaccard* (Figura 15B) e UniFrac *unweighed* (Figura 15D), é possível observar que os indivíduos do GT no pós-intervenção (em verde) ocupam posições diferentes em comparação ao GT no momento pré-intervenção (em laranja).

Os resultados da PERMANOVA demonstraram que, dentre as variáveis categóricas testadas, tais como idade, tipo de parto ao nascer, frequência fecal, composição corporal, parâmetros metabólicos plasmáticos, consumo alimentar e VO_{2pico} , apenas o IMC ($p=0,001$), percentual de massa gorda ($p=0,005$), de massa magra ($p=0,022$) e VO_{2pico} ($p=0,047$) apresentaram diferenças significantes entre os grupos em relação à matriz de distância UniFrac *unweighed* para a β -diversidade. Com relação à dieta, nenhum nutriente ou grupo de alimentar provocou diferenças significantes entre os grupos, especialmente, pelo fato de os indivíduos apresentarem um padrão alimentar similar ao longo do estudo.

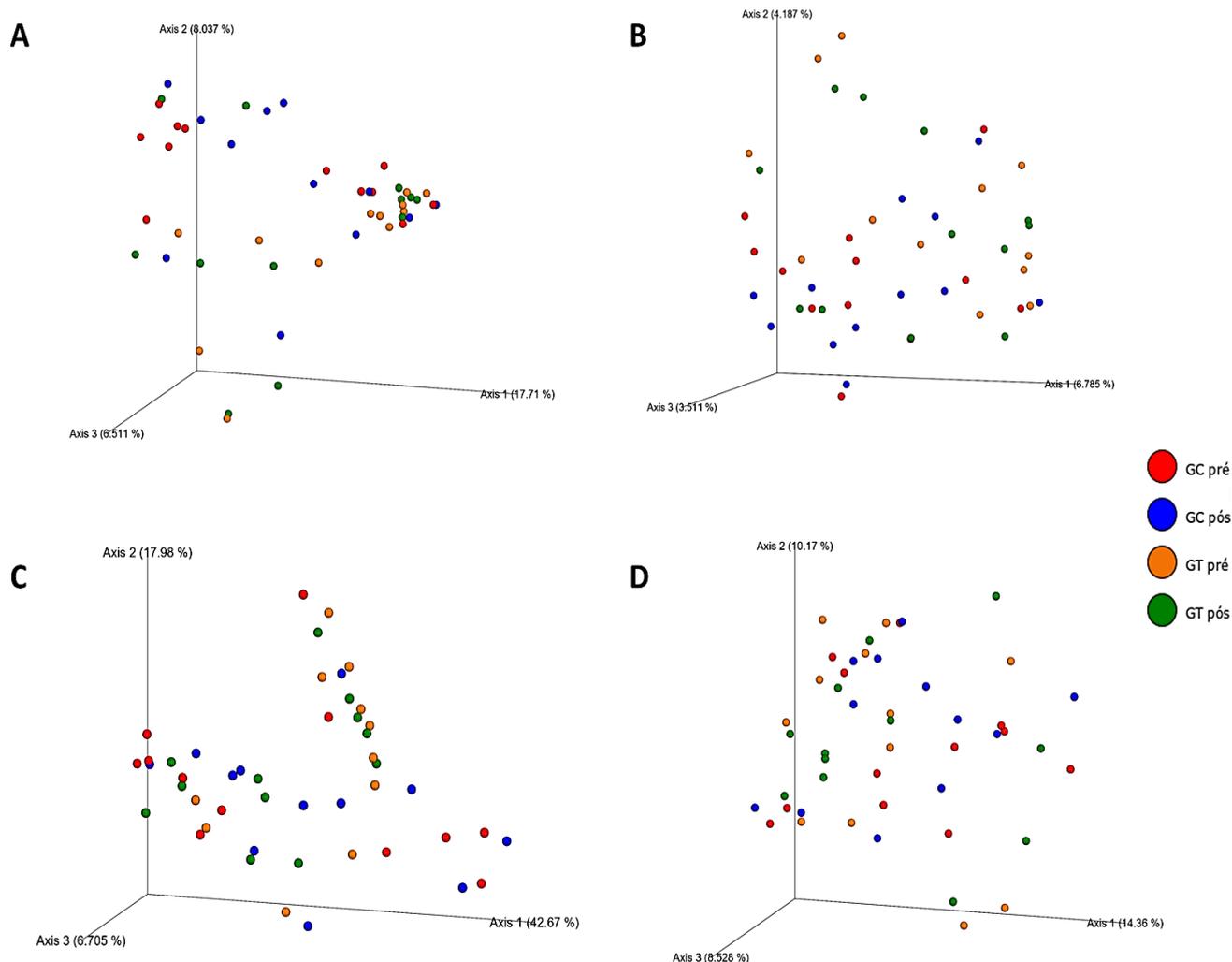


Figura 15. Beta diversidade entre os grupos e momentos avaliados. PCoAs construídos a partir das matrizes de similaridades de *Bray-Curtis* (A), *Jaccard* (B), e de distância UniFrac *weighted* (C) e *unweighted* (D), os quais se basearam nas sequências microbianas obtidas nas amostras fecais. Estes gráficos refletem o quão distintos ou similares estão estes indivíduos em relação à sua microbiota intestinal. Cada pontinho no gráfico representa um indivíduo, o qual está colorido para representar o grupo e o momento estudado. Os eixos 1, 2 e 3 representam o percentual de dados que são explicados por cada coordenada. **Legenda:** GC pré: grupo controle no momento pré-intervenção (vermelho); GC pós: grupo controle no momento pós-intervenção (azul); GT pré: grupo treino no momento pré-intervenção (amarelo); GT pós: grupo treino no momento pós-intervenção (verde).

6.4.3 Abundância dos OTUs em níveis taxonômicos

Um total de 10 filos foram identificados, sendo eles, em ordem decrescente de abundância: Bacteroidetes (45,44%), Firmicutes (41,94%), Proteobacteria (6,20%), Verrucomicrobia (2,57%), Actinobacteria (1,58%), Cianobacteria (1,56%),

Tenericutes (0,50%), Lentisphaerae (0,10%), Elusimicrobia (0,07%) e Fusobacteria (0,01%). Apenas Bacteroidetes, Firmicutes e Proteobacteria foram identificados em todos os voluntários. Curiosamente, apenas 1 voluntário do GC apresentou bactérias do filo Fusobacteria. Entre todos os voluntários, apenas 1 voluntário do GT apresentou os filios Elusimicrobia e Lentisphaerae. No momento pré-intervenção, respectivamente, suas abundâncias eram de 0,16% e 1,03% aumentando no pós-intervenção, respectivamente, para 2,37% e 1,39%. Este voluntário era universitário com nacionalidade Colombiana e estava morando no Brasil há mais de 2 anos.

A figura 16 demonstra a abundância relativa observada dos principais filios dominantes presentes nas amostras de fezes coletadas dos voluntários do estudo nos momentos pré- e pós-intervenção. Os filios mais abundantes em ambos os grupos no momento pré-intervenção foram o Bacteroidetes e o Firmicutes (Figura 16A). No pós-intervenção, é possível observar redução do filo Bacteroidetes no GC enquanto que houve aumento no GT como efeito do treinamento físico (Figura 16B). Com relação ao filo Firmicutes, também houve aumento no GT após as 10 semanas de treinamento físico (Figura 16C). A razão dos filios Bacteroidetes:Firmicutes diminuiu de 1,05 para 0,95 no GC e de 1,13 para 1,08 no GT. Embora não se tenha observado diferença estatística para o filo Proteobacteria ($p>0,05$), no pós-intervenção, o GT apresentou redução média de 47,67% (Tabela 5).

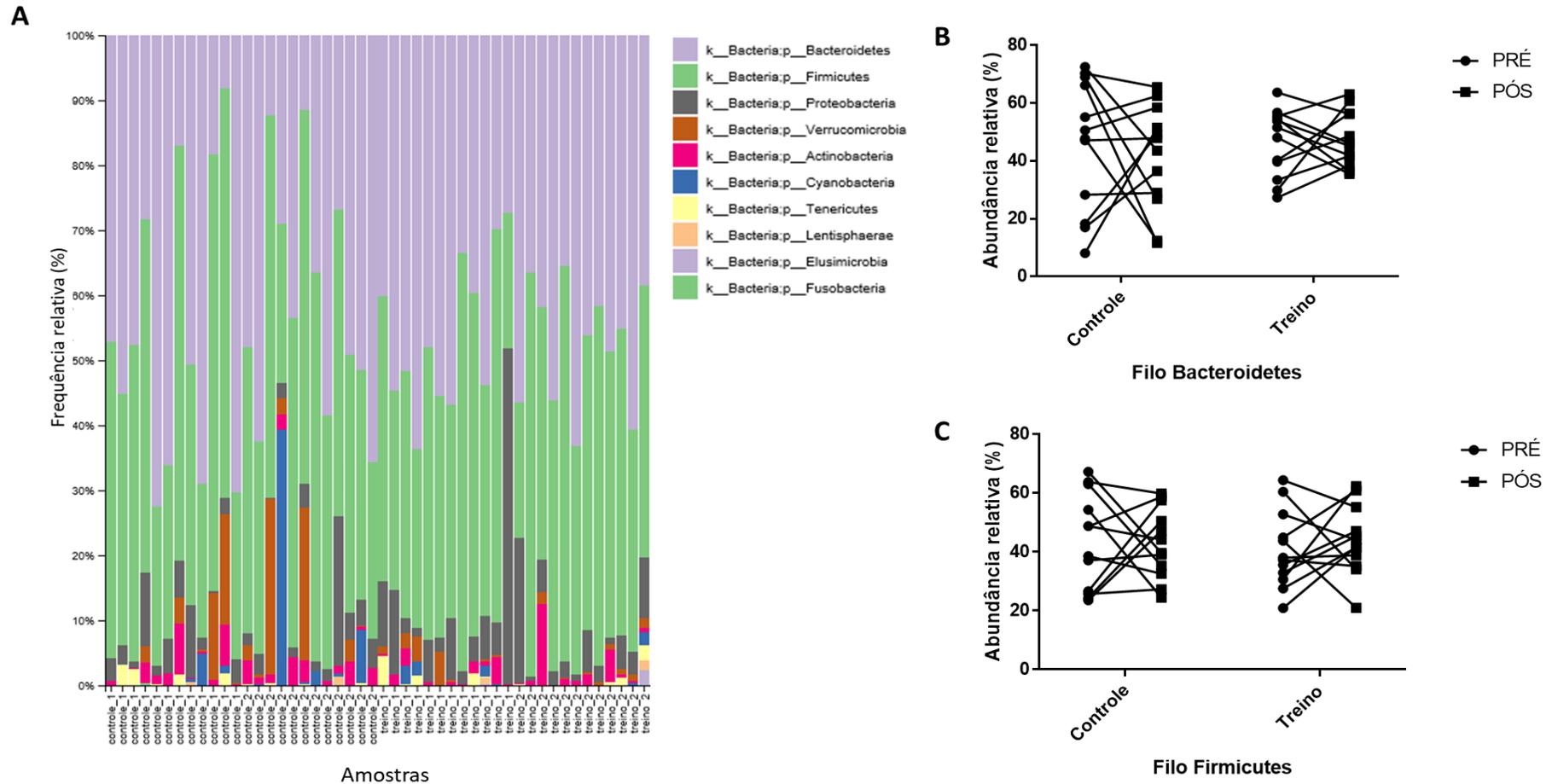


Figura 16. Histograma da composição da microbiota intestinal fecal de humanos no nível taxonômico correspondente aos filios. Distribuição bacteriana observada no nível taxonômico filo (A). Cada barra do histograma refere-se a um voluntário de um grupo e momento específico, os quais estão pareados, ou seja, o primeiro controle_1 é o mesmo voluntário no controle_2, só que em momentos diferentes, e assim sucessivamente. A legenda ao lado da figura refere-se aos filios em ordem de abundância. Abundância dos principais filios Bacteroidetes (B) e Firmicutes (C) analisados por ANOVA two way com medidas repetidas ($p > 0,05$ para ambos os filios). **Legenda:** controle_1: voluntário do grupo controle no momento pré-intervenção; controle_2: voluntário do grupo controle no momento pós-intervenção; treino_1: voluntário do grupo treino no momento pré-intervenção; treino_2: voluntário do grupo treino no momento pós-intervenção.

A tabela 5 apresenta os filos, as famílias e gêneros bacterianos mais abundantes encontradas nas amostras fecais de cada grupo e momento. As famílias *Prevotellaceae* e *Ruminococcaceae* foram as famílias mais abundantes nas amostras. Apesar de não ser significativa, na tabela 5 observa-se importante aumento da família *Prevotellaceae* e redução da família *Bacteroidaceae* no GT pós-intervenção ($p > 0,05$). Estas alterações são observadas também a nível de gênero (*Prevotella* e *Bacteroides*, respectivamente). O aumento do filo Firmicutes no GT é representado, principalmente, pelo enriquecimento das famílias que fazem parte deste filo, especialmente, a *Ruminococcaceae* (a família mais abundante deste filo), *Lachnospiraceae* e *Veillonellaceae*. No entanto, apenas a família *Lachnospiraceae* apresentou alteração significativa em sua abundância em comparação ao GC, estando esta família mais enriquecida no GT pós-intervenção ($p < 0,05$). Dentro do filo Proteobacteria, ambas as famílias *Alcaligenaceae* e *Desulfovibrionaceae* aumentaram em abundância relativa no GC e reduziram no GT ($p > 0,05$). Vale salientar que para nenhuma das variáveis testadas houve diferença entre os grupos no momento pré-intervenção ou efeito principal do tempo no GC ($p > 0,05$).

Tabela 5. Abundância relativa (%) dos filos e famílias identificados na microbiota intestinal das fezes.

OTUs	GC		GT		Pré vs Pós no GT	GC vs GT no pós
	pré (n=12)	pós (n=12)	pré (n=12)	pós (n=12)	p	p
BACTEROIDETES⁺	45,87 ± 22,76	41,26 ± 18,23	46,21 ± 11,79	47,53 ± 9,52	0,54 ⁺⁺	0,76 ⁺⁺
<i>Prevotellaceae</i>	20,06 (1,53-55,46)	16,73 (3,72-35,42)	2,05 (0,01-33,39)	26,35 (0,20-40,66)	0,33	0,71
<i>Prevotella</i>	20,06 (1,53-55,46)	16,73 (3,72-35,42)	2,04 (0,01-33,38)	26,35 (0,20-40,66)	0,32	0,71
<i>Bacteroidaceae</i>	5,45 (1,26-16,60)	11,76 (2,28-17,25)	23,46 (1,72-42,80)	14,63 (1,60-37,12)	0,79	0,66
<i>Bacteroides</i>	5,45 (1,26-16,60)	11,76 (2,28-17,26)	23,46 (1,72-42,8)	14,63 (1,60-37,12)	0,79	0,66
<i>Paraprevotellaceae</i>	0,08 (0-7,23)	0,11 (0-1,09)	0,37 (0-3,01)	0,31 (0-7,29)	0,87	0,60
<i>S24-7</i>	0 (0-0,91)	0,51 (0-5,26)	0,16 (0-1,19)	0,04 (0-0,73)	0,64	0,53
<i>Porphyromonadaceae</i>	0,75 (0,26-1,50)	0,74 (0,27-2,12)	1,02 (0,12-2,57)	0,84 (0,24-2,35)	0,88	0,86
<i>Parabacteroides</i>	0,75 (0,26-1,50)	0,74 (0,27-2,12)	1,03 (0,12-2,58)	0,84 (0,24-2,35)	0,89	0,86
FIRMICUTES⁺	43,47 ± 16,38	43,01 ± 12,06	40,75 ± 13,12	43,93 ± 11,68	0,64 ⁺⁺	0,54 ⁺⁺⁺
<i>Ruminococcaceae</i>	14,20 (8,53-31,39)	15,57 (12,14-24,72)	15,61 (9,99-22,60)	17,69 (12,38-21,00)	0,81	0,90
<i>Ruminococcaceae</i>						
<i>UCG-002</i>	5,56 (1,64-15,45)	10,18 (4,11-13,15)	3,82 (2,55-7,35)	5,70 (3,89-7,78)	0,51	0,26
<i>Faecalibacterium⁺</i>	2,74 ± 1,79	2,23 ± 1,17	4,81 ± 4,36	3,37 ± 1,58	0,04 ^{++++#}	0,30 ⁺⁺⁺
<i>Subdoligranulum</i>	1,36 (0,46-1,80)	1,76 (1,30-2,45)	1,96 (0,90-4,50)	1,49 (1,21-3,98)	0,08	0,84
<i>Ruminococcus</i>	0,45 (0,13-2,60)	0,81 (0,31-2,62)	1,21 (0,19-2,52)	0,80 (0,41-4,29)	0,50	0,59
<i>Gemmiger</i>	0,47 (0,22-1,66)	0,92 (0,40-1,85)	0,58 (0,23-1,18)	0,83 (0,31-2,99)	0,46	0,97
<i>Oscillospira</i>	0,29 (0,13-0,55)	0,43 (0,22-0,78)	0,40 (0,22-0,69)	0,44 (0,24-0,63)	0,89	0,87
<i>Lachnospiraceae</i>	7,12 (4,77-14,39)	7,28 (5,88-13,95)	10,54 (9,56-13,89)	14,08 (11,36-22,26)	0,09	0,01 [#]
<i>GNI[*]</i>	1,54 (0,60-2,79)	1,78 (0,82-4,33)	0,94 (0,21-2,84)	1,15 (0,53-6,59)	0,55	0,49

Tabela 5. continuação.

<i>Roseburia</i>	1,06 (0,54-1,62)	1,31 (0,72-5,52)	3,69 (0,88-4,62)	3,39 (1,79-6,40)	0,01 [#]	0,43
<i>Lachnospira</i>	0,77 (0,16-1,68)	0,28 (0,09-0,87)	1,41 (0,79-3,80)	0,93 (0,53-2,30)	0,01 [#]	0,02 [#]
<i>Dorea</i>	0,26 (0,15-0,47)	0,34 (0,19-0,64)	0,23 (0,15-0,29)	0,23 (0,14-0,37)	0,80	0,09
<i>Blautia</i>	0,40 (0,30-0,75)	0,72 (0,43-0,92)	0,48 (0,19-1,18)	0,49 (0,28-0,74)	0,93	0,31
<i>Clostridium</i>	0,25 (0,08-0,40)	0,52 (0,18-1,33)	0,26 (0,01-0,71)	0,41 (0,08-1,02)	0,40	0,42
<i>Veillonellaceae</i> [*]	9,28 ± 8,72	8,95 ± 8,56	7,01 ± 5,83	7,31 ± 3,39	0,80 ^{**}	0,84 ^{***}
<i>Dialister</i>	4,46 (0-9,29)	0,07 (0-12,13)	0,09 (0-4,12)	0,26 (0-5,98)	0,86	0,76
<i>Phascolarctobacterium</i>	0,95 (0-4,08)	1,25 (0,53-2,90)	2,94 (0,22-6,79)	4,34 (0-6,99)	0,43	0,91
<i>Erysipelotrichaceae</i>	0,99 (0,38-2,87)	1,37 (0,48-4,22)	0,90 (0,23-2,25)	0,79 (0,37-1,82)	0,97	0,28
<i>Eubacterium</i>	0,66 (0-2,13)	0,53 (0-1,66)	0 (0-0,80)	0,03 (0-0,76)	0,88	0,35
PROTEOBACTERIA	3,32 (1,67-5,66)	2,83 (1,58-4,14)	5,79 (2,2-9,88)	3,03 (1,35-6,14)	0,22	0,58
<i>Enterobacteriaceae</i>	0,19 (0,05-0,40)	0,15 (0,01-0,47)	0,32 (0,02-1,88)	0,30 (0,08-0,66)	0,91	0,46
<i>Shigella</i>	0,15 (0,04-0,29)	0,04 (0-0,24)	0,10 (0,02-1,75)	0,19 (0,02-0,57)	0,83	0,24
<i>Alcaligenaceae</i>	0,45 (0,19-1,11)	0,62 (0,09-1,65)	0,84 (0,19-1,62)	0,74 (0,4-1,86)	0,89	0,59
<i>Sutterella</i>	0,45 (0,19-1,11)	0,62 (0,08-1,65)	0,84 (0,19-1,62)	0,74 (0,40-1,86)	0,88	0,60
<i>Desulfovibrionaceae</i>	0,29 (0,09-1,04)	0,49 (0,14-1,2)	0,47 (0,01-1,18)	0,09 (0-1,37)	0,36	0,16
<i>Desulfovibrio</i>	0,08 (0-0,96)	0,19 (0-0,61)	0,30 (0-0,89)	0 (0-1,29)	0,45	0,80
<i>Bilophila</i>	0,12 (0,05-0,23)	0,16 (0,08-0,20)	0,03 (0-0,21)	0 (0-0,09)	0,53	0,02 [#]
VERRUCOMICROBIA	0,02 (0-3,58)	0,30 (0-3,07)	0,28 (0-2,11)	0,41 (0-0,91)	0,96	0,64
<i>Verrucomicrobiaceae</i>	0,02 (0-3,58)	0,31 (0-3,08)	0,27 (0-2,05)	0,41 (0-0,91)	0,98	0,64
<i>Akkermansia</i>	0,02 (0-3,58)	0,31 (0-3,08)	0,28 (0-2,05)	0,41 (0-0,91)	0,61	0,64
ACTINOBACTERIA	0,67 (0,18-2,84)	1,90 (0,66-4,36)	0,51 (0,13-1,83)	0,61 (0,30-1,55)	0,54	0,22

Tabela 5. continuação.

<i>Coriobacteriaceae</i>	0,32 (0,17-2,00)	0,68 (0,45-1,36)	0,30 (0,08-0,63)	0,31 (0,08-1,13)	0,61	0,17
<i>Collinsella</i>	0,32 (0,17-1,55)	0,62 (0,42-1,32)	0,30 (0,07-0,63)	0,31 (0,08-0,80)	0,78	0,14
<i>Bifidobacteriaceae</i>	0,03 (0-1,49)	0,67 (0-1,99)	0,00 (0-0,92)	0,20 (0-0,44)	0,79	0,37
<i>Bifidobacterium</i>	0,03 (0-1,50)	0,67 (0-1,99)	0,00 (0-0,92)	0,20 (0-0,44)	0,79	0,37

Nesta tabela constam os filos (em negrito e maiúsculo), famílias (em itálico, lado esquerdo) e gêneros (em itálico, lado direito) que estiveram presentes em pelo menos 80% do total de amostras. **GNI*: gênero não identificado. Os dados estão apresentados como mediana (intervalos interquartílicos) e foram testados com estatística não-paramétrica (Kruskal-Wallis). + Média e desvio-padrão. ** ANOVA two way com medidas repetidas (valor *p* efeito da interação grupo x tempo). ***Teste T de *student* pareado para testar a diferença do tempo no grupo treino. **** ANOVA two way com medidas repetidas (valor *p* efeito principal do grupo). #*p*<0,05. **Legenda:** OTUs: unidades operacionais taxonômicas (filos, famílias e gêneros); GC: grupo controle; GT: grupo treino; vs: versus.

A fim de aprofundar a compreensão acerca da abundância de gêneros nos indivíduos estudados, realizou-se um mapa de temperatura que demonstra a proporção destes OTUs em cada voluntário, grupo e momento estudado (Figura 17). Através deste mapa, observa-se predominância de gêneros que fazem parte do filo Bacteroidetes, tais como, *Prevotella* e *Bacteroides*, os quais continuam sendo os gêneros dominantes pós-intervenção no GT. Curiosamente, pertencentes ao filo Firmicutes, houve redução dos gêneros *Faecalibacterium* ($p=0,04$; $F=4,66$), *Roseburia* ($p=0,008$; $H=11,68$) e *Lachnospira* ($p=0,02$; $H=9,56$) no GT pós-intervenção. Além disso, o gênero *Phascolarctobacterium* aumentou sua proporção em 1,5 vezes no GT pós-intervenção, porém não foi uma alteração significativa ($p>0,05$). Com relação aos níveis pertencentes ao filo Proteobacteria, foi detectada redução significativa do gênero *Bilophila* em comparação ao GC ($p<0,05$). Embora não significativa, também houve redução dos gêneros *Sutterella* e *Desulfovibrio* no GT, enquanto que houve aumento do gênero *Shigella* ($p>0,05$). Com relação a estes quatro gêneros (*Bilophila*, *Sutterella*, *Desulfovibrio* e *Shigella*), o GC apresentou alteração inversa entre os momentos pré- e pós-intervenção (Tabela 5).

Em relação ao nível taxonômico correspondente à espécie, as espécies mais abundantes (>0,1%), em ordem decrescente, foram: *Prevotella copri* (19,05%), *Bacteroides* sp. (14,54%), *UCG-002* sp. (7,73%), *Dialister* sp. (4,33%), *Phascolarctobacterium* sp. (2,86%), *Akkermansia muciniphila* (2,56%), *Subdoligranulum* sp. (2,53%), *Gemmiger formicilis* (1,92%), *Bacteroides uniformis* (1,87%), *Shigella* sp. (1,84%), *Faecalibacterium prausnitzii* (1,83%), *Butyrivibrio crossotus* (1,79%), *Prevotella stercorea* (1,68%), *Ruminococcus bromii* (1,48%), *Lachnospira* sp. (1,47%), *Roseburia* sp. (1,34%), *Sutterella* sp. (1,18%), *Parabacteroides* sp. (1,04%), *Faecalibacterium* sp. (0,94%), *Roseburia inulinivorans* (0,93%), *Eubacterium bifforme* (0,76%), *Prevotella* sp. (0,70%), *Bifidobacterium* sp. (0,69%), *Blautia* sp. (0,61%), *Bacteroides ovatus* (0,51%), *Oscillospira* sp. (0,44%), *Collinsella aerofaciens* (0,44%), *Faecalibacterium* sp. (0,43%), *Ruminococcus* sp. (0,43%), *Bacteroides caccae* (0,34%), *Roseburia faecis* (0,29%), *Clostridium clostridioforme* (0,23%), *Dorea longicatena* (0,22%), *Bilophila* sp. (0,21%) e *Odoribacter* sp. (0,20%).

Dessas espécies, apenas *Lachnospira* sp., *Roseburia* sp., *Bacteroides ovatus* e *Bilophila* sp. apresentaram abundâncias relativas significativamente diferentes entre os GC e GT no momento pós-intervenção, após passar pelo FDR ($p < 0,05$). Houve aumento na proporção das espécies *Bacteroides ovatus* e *Roseburia* sp. (Figura 18B e 18C) e redução das espécies *Lachnospira* sp. e *Bilophila* sp. no GT (Figura 18A e 18D), embora tais variações no tempo não tenham sido estatisticamente significantes ($p > 0,05$; Figura 18).

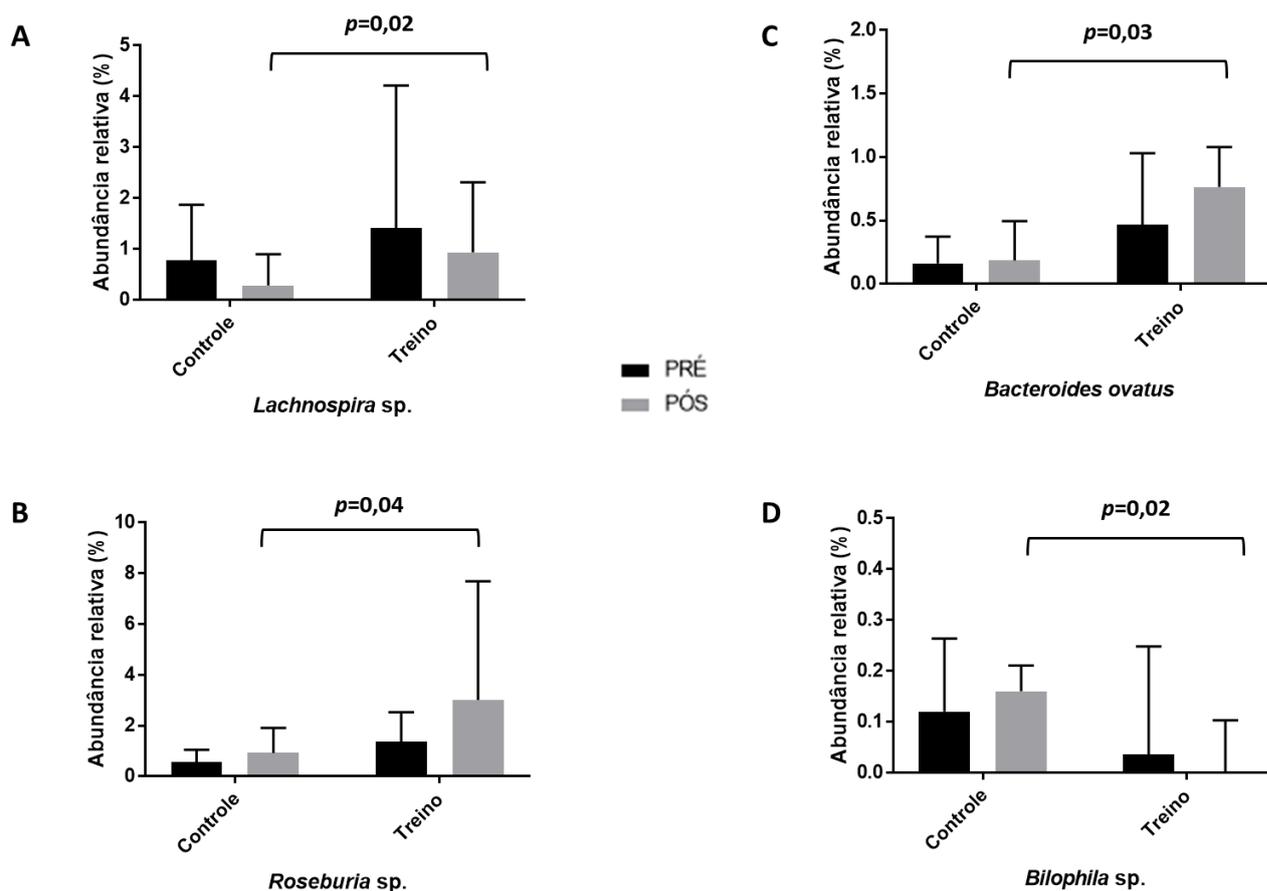


Figura 18. Abundância relativa das principais espécies bacterianas encontradas nas amostras fecais. Os gráficos apresentam a abundância relativa (%) das espécies (A) *Lachnospira sp.*, (B) *Roseburia sp.*, (C) *Bacteroides ovatus* e (D) *Bilophila sp.*, em que as barras indicam a distribuição desta abundância entre os voluntários de cada grupo (controle e treino) e momentos (pré- e pós-intervenção) em mediana e intervalo de confiança a 95%. Os valores de abundância relativa foram obtidos a partir da proporção de sequências observadas em cada OTU identificado após rarefação. Os valores de p das espécies *Lachnospira sp.*, *Bacteroides ovatus* e *Bilophila sp.* foram detectados a partir do teste de Kruskal Wallis, enquanto que o valor de p da espécie *Roseburia sp.* foi detectado por ANOVA two way com medidas repetidas, sendo este p referente ao efeito principal do grupo. Todos estes valores de p indicam diferença significativa entre os grupos no momento pós-intervenção.

Através de todas as análises elucidadas, é possível observar grande variabilidade interindividual, a qual reduz a possibilidade de detecção de diferenças significantes entre os grupos GC e GT e momentos pré- e pós-intervenção. Além disso, observou-se que o GC variou mais em termos de riqueza e diversidade microbiana entre os momentos estudados em comparação ao GT. Vale salientar que não houve diferença significativa entre os grupos e momentos avaliados nas outras variáveis capazes de influenciar a composição da MI, tais como, idade, IMC, percentual de gordura, parâmetros metabólicos plasmáticos (Tabela 1) e consumo alimentar (tabela 2), havendo somente alteração na capacidade aeróbia como efeito do treinamento físico ($p < 0,05$) (Figura 12). Dessa forma, sugere-se que as alterações

supracitadas observadas nos níveis taxonômicos refletem o efeito de 10 semanas de treinamento físico aeróbio sobre a MI.

6.4.4 Correlação entre a microbiota intestinal e o VO₂pico e parâmetros de composição corporal

Conforme evidenciado na Figura 11, apenas os voluntários do GT apresentaram aumento significativo do VO₂pico, o que representa melhoria da sua capacidade aeróbia. Deste modo, o próximo passo foi plotar esta variável contra os indicadores de riqueza e diversidade a fim de se investigar uma possível correlação entre tais variáveis de estudo. Como hipotetizado previamente, observou-se que o índice de Shannon (Figura 19A) e o enriquecimento observado estiveram positivamente correlacionados com o VO₂pico (Figura 19C).

Sabendo-se que outras variáveis, tais como de composição corporal e consumo alimentar, podem também estar associadas aos achados de diversidade bacteriana no presente estudo, as variáveis apresentadas na tabela 1, 2 e 3, foram plotadas contra os indicadores de diversidade. A partir disso, encontrou-se apenas correlação positiva entre o índice de Shannon e o consumo diário de carboidratos na alimentação (Figura 19B), bem como entre o enriquecimento observado e o consumo diário de carboidratos (Figura 19D).

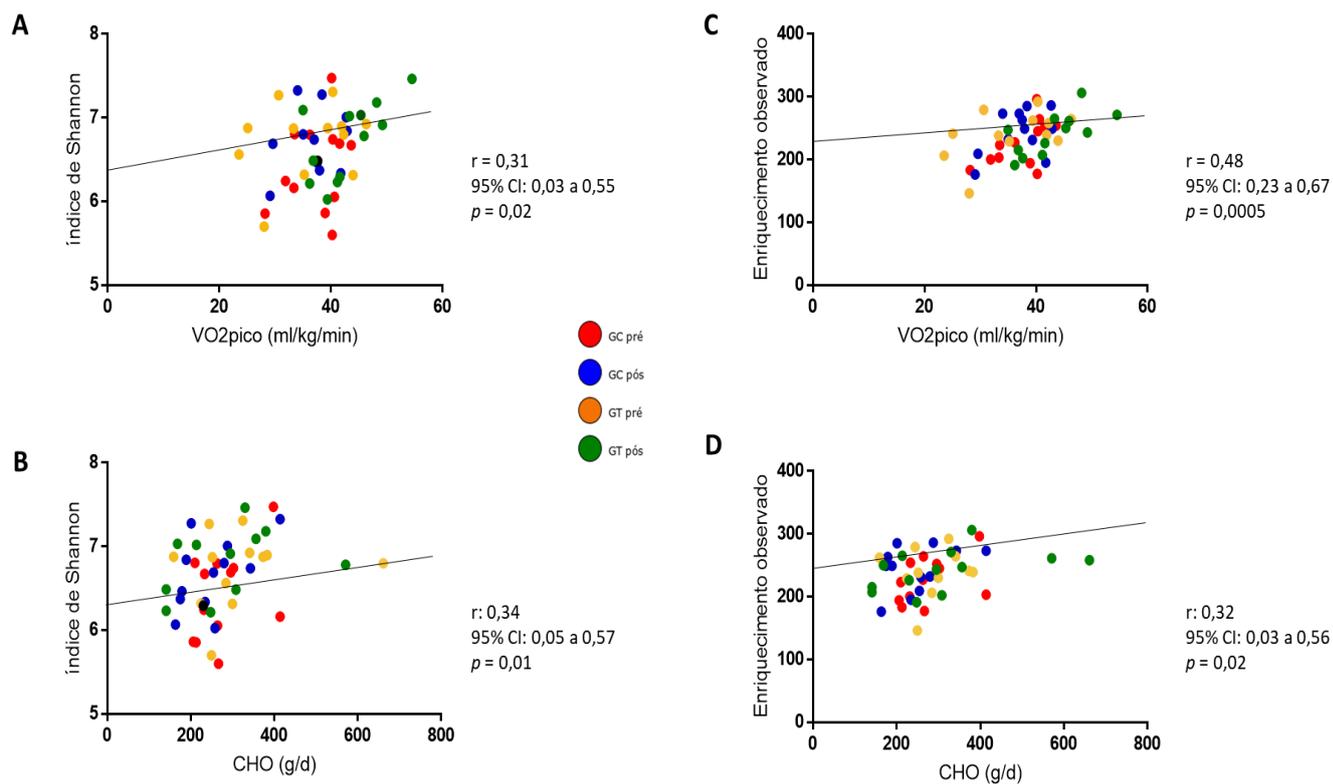


Figura 19. Correlação entre α -diversidade, VO₂pico e consumo de carboidratos. (A) coeficiente de correlação de Pearson (r) entre o índice de Shannon e VO₂pico; (B) coeficiente de correlação de Spearman (r) entre o índice de Shannon e o consumo diário em gramas (g/d) de carboidratos; (C) coeficiente de correlação de Pearson (r) entre o enriquecimento observado e VO₂pico; (D) coeficiente de correlação de Spearman entre o enriquecimento observado e o consumo diário em gramas (g/d) de carboidratos. **Legenda:** 95% CI: intervalo de confiança a 95%; GC pré: grupo controle no momento pré-intervenção (vermelho); GC pós: grupo controle no momento pós-intervenção (azul); GT pré: grupo treino no momento pré-intervenção (amarelo); GT pós: grupo treino no momento pós-intervenção (verde).

Ao testar possíveis correlações entre a abundância relativa dos OTUs e o $VO_{2\text{pico}}$, apenas observou-se no GT correlação positiva entre o $VO_{2\text{pico}}$ e as OTUs correspondentes à família *Lachnospiraceae* (r de Spearman: 0,44; Figura 20A) e ao gênero *Akkermansia* (r de Spearman: 0,54; Figura 20B). Entre as espécies, apenas a *Roseburia* sp. apresentou tendência em se associar positivamente ao $VO_{2\text{pico}}$ (r de Pearson: 0,39; R^2 : 0,15; 95%CI: -0,01 a 0,68; $p=0,05$).

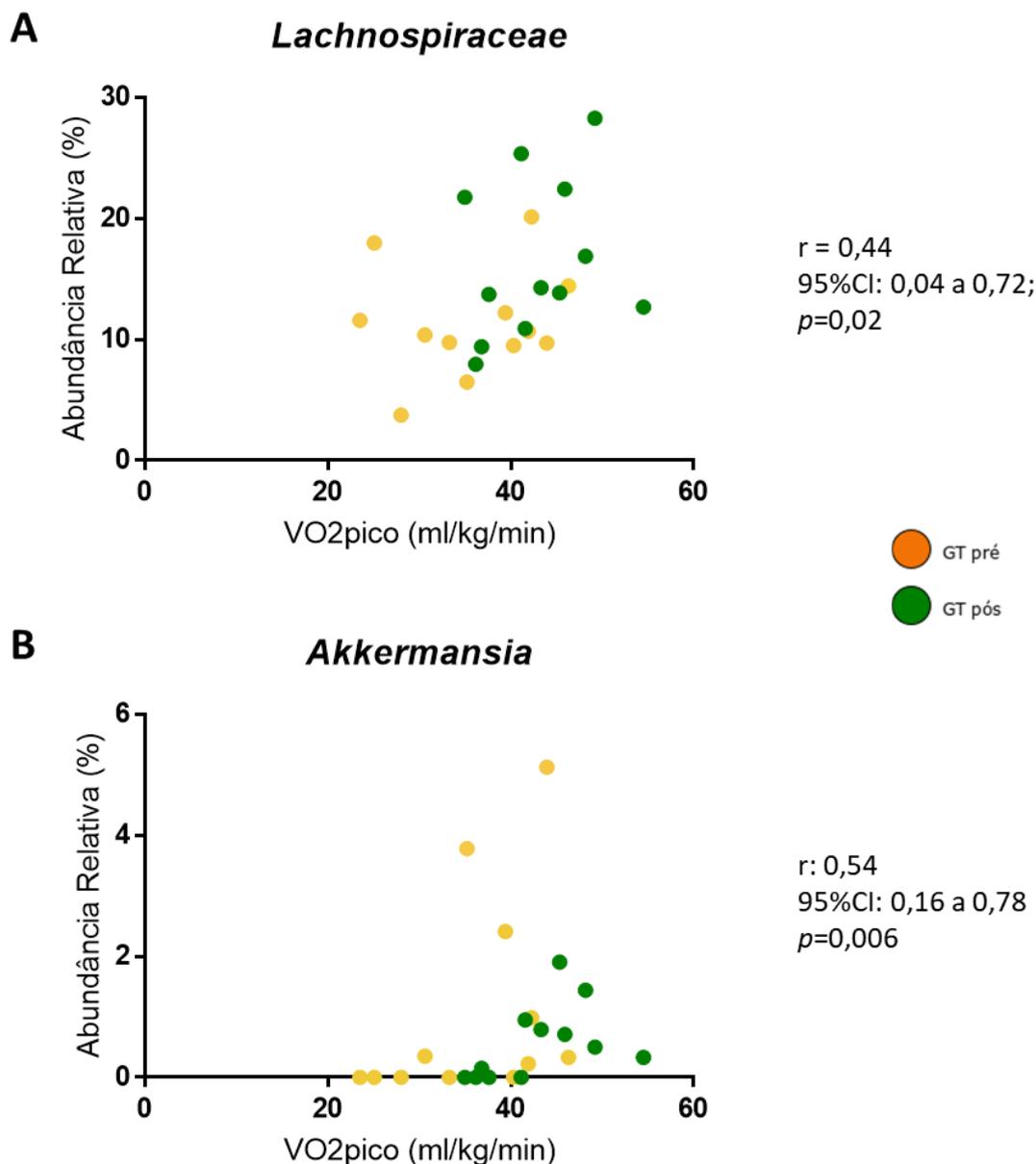


Figura 20. Correlação entre abundância relativa de OTUs e o $VO_{2\text{pico}}$. (A) coeficiente de correlação de Spearman (r) entre a família *Lachnospiraceae* e $VO_{2\text{pico}}$. (B) coeficiente de correlação de Spearman (r) entre o gênero *Akkermansia* e o $VO_{2\text{pico}}$. **Legenda:** 95% CI: intervalo de confiança a 95%; GC pré: grupo controle no momento pré-intervenção (vermelho); GC pós: grupo controle no momento pós-intervenção (azul); GT pré: grupo treino no momento pré-intervenção (amarelo); GT pós: grupo treino no momento pós-intervenção (verde).

Em relação às outras variáveis coletadas, apenas o gênero *Shigella* correlacionou-se com o IMC (r de Spearman: -0,34; 95%CI: -0,58 a -0,06; $p=0,01$). O percentual de massa gorda esteve negativamente correlacionado a três gêneros: *Butyrivibrio* (r de Spearman: -0,29; 95%CI: -0,54 a -0,008; $p=0,03$), *Desulfovibrio* (r de Spearman: -0,33; 95%CI: -0,57 a 0,04; $p=0,01$), e *Akkermansia* (r de Spearman: -0,30; 95%CI: -0,54 a -0,01; $p=0,03$). Ao contrário, estes três gêneros estiveram positivamente correlacionados com o percentual de massa magra: *Butyrivibrio* (r de Spearman: 0,39; 95%CI: 0,11 a 0,61; $p=0,005$), *Desulfovibrio* (r de Spearman: 0,33; 95%CI: 0,05 a 0,57; $p=0,01$) e *Akkermansia* (r de Spearman: 0,30; 95%CI: 0,01 a 0,54; $p=0,03$). O gênero *Dorea* apresentou tendência em se correlacionar positivamente com o peso (kg) (r de Spearman: -0,24; 95%CI: -0,50 a 0,05; $p=0,09$). Por fim, não foi encontrada nenhuma outra correlação significativa entre as variáveis avaliadas no presente estudo e parâmetros encontrados da MI, tal como diversidade ou abundância relativa de OTUs correspondentes a outros níveis taxonômicos além de gênero.

DISCUSSÃO

Os resultados evidenciados no presente estudo dão subsídio à hipótese de que o exercício físico é um importante fator externo capaz de modificar a composição da microbiota intestinal (MI) humana. No entanto, o comparativo com estudos anteriores deve ser cauteloso devido à frequente variabilidade interindividual humana e os diferentes delineamentos metodológicos entre os estudos anteriores (QUADRO 1). Nesse sentido, vale reforçar o rigor metodológico apresentado neste trabalho ao recrutar homens jovens adultos, com ausência de doenças e/ou desordens metabólicas, psicológicas ou intolerâncias/alergias alimentares, há 6 meses sedentários e sem tomar antibióticos/fármacos/fungicidas/suplementos, não obesos e com hábitos alimentares e estilos de vida semelhantes. Em virtude do mencionado, o treinamento físico proposto foi eficiente em aumentar a capacidade aeróbia dos voluntários (aumento médio de 16,48% do VO_{2pico} em ml/kg/min e de 19,99% da $Wpico$ no GT) sem haver alteração significativa de outras variáveis de influência sobre a MI durante e após o estudo, tais como, peso, composição corporal e hábitos alimentares (Tabelas 1 e 2).

O principal achado deste trabalho indica que 10 semanas de treinamento físico aeróbio realizado em intensidade moderada induziu variações em todos os níveis taxonômicos, embora mudanças significantes tenham sido detectadas apenas sobre a abundância de algumas famílias, gêneros e espécies bacterianas. Entretanto, estas alterações não afetaram a α -diversidade nos voluntários do GT (Tabela 4). Em congruência, estudos prévios demonstraram que seis semanas de treinamento físico aeróbio em intensidade moderada provocou diferenças significantes na composição da MI de adultos jovens previamente sedentários sem que houvesse alteração significativa na α -diversidade (QUADRO 1) (ALLEN *et al.*, 2017; MUNUKKA *et al.*, 2018). Do mesmo modo, Cronin *et al* (2018) não detectaram mudanças sobre este parâmetro após oito semanas de treinamento físico aeróbio e resistido realizado em intensidade moderada a vigorosa, embora tenham observado que o treinamento físico foi capaz de reduzir a diversidade do Reino *Archea* e da comunidade viral no pós-intervenção em comparação aos outros grupos experimentais que estavam sob influência de suplemento proteico (*whey protein*). Apenas estudos com atletas e indivíduos treinados há mais de 1 ano apresentaram índices de α -diversidade, especialmente riqueza de espécies, significativamente maior em comparação com

indivíduos sedentários (CLARKE *et al.*, 2014; YANG *et al.*, 2017; KARL *et al.*, 2018). No entanto, Clarke *et al* (2014) e Yang *et al* (2017) realizaram estudos transversais comparando atletas e indivíduos sedentários com diferentes IMCs e composição corporal e Karl *et al* (2018) realizaram intervenção de treinamento de alta intensidade com suplementação nutricional de carboidratos e proteínas durante 4 dias em soldados; desta forma, tornando difícil isolar o efeito do exercício físico nestas condições.

Assim como o presente estudo, Allen *et al* (2017), Munukka *et al* (2018) e Cronin *et al* (2018) realizaram intervenções de treinamento físico aeróbio similares e observaram que houve pequeno aumento dos índices de α -diversidade (Shannon e enriquecimento observado) pós-treinamento físico ($p>0,05$). Possivelmente, o tempo de treinamento físico maior que 10 semanas seja necessário para que tais mudanças sejam observadas significativamente, como observado em atletas que são treinados há mais de 1 ano (CLARKE *et al.*, 2014; YANG *et al.*, 2017; PETERSEN *et al.*, 2017; ZHAO *et al.*, 2018b).

Ainda foi demonstrado aqui que, em comparação ao GC, o GT apresentou maior indicador de uniformidade, embora o aumento do pré- para o pós-intervenção não tenha sido significativo (Figura 14). Alguns autores tem debatido sobre menor uniformidade estar associada a quadros de disbiose, visto que a distribuição desigual entre os diferentes OTUs pode sugerir dominância de espécies oportunistas (YANG *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2018). O *Pielou evenness* não é comumente analisado entre os estudos da área de exercício físico e MI. Em concordância com os autores Heip, Herman e Soetaert (1998), este índice deve ser considerado junto a outros índices, como o índice de Shannon, pois cada indicador acrescenta informações sobre diferentes aspectos estruturais da comunidade bacteriana. Além disso, eles se baseiam nas sequências identificadas nas amostras, estando assim, sujeitos aos erros das técnicas de sequenciamento e tratamento dos dados.

Em relação à β -diversidade, não foram detectadas diferenças significantes entre os grupos e momentos testados como efeito do treinamento físico aeróbio proposto neste trabalho. Curiosamente, ainda que não haja um claro agrupamento das amostras, observou-se no PCoA que os voluntários do GC se apresentaram mais dispersos em comparação ao GT entre os momentos pré- e pós-intervenção (Figura 15). Ainda que estas mudanças não sejam significantes, os dados referentes à α - e β -diversidade sugerem que os indivíduos que treinaram tenderam a preservar suas

estruturas microbianas ao passo que os indivíduos que permaneceram sedentários variaram mais entre os momentos estudados. Ao comparar 72 indivíduos obesos (IMC: $37,03 \pm 4,69\text{kg/m}^2$) contra 79 eutróficos ($20,24 \pm 1,26\text{kg/m}^2$), Liu *et al* (2017b) observaram que os obesos apresentaram maior β -diversidade do que os eutróficos ($p < 0,05$), indicando maior heterogeneidade entre as estruturas microbianas em indivíduos obesos. Embora Liu *et al* (2017) não relataram sobre a prática de atividade física destes indivíduos, o sedentarismo é um fator que pode levar à obesidade (LEE *et al.*, 2012).

As informações presentes na literatura acerca da β -diversidade em condição de treinamento físico são controversas. Estudos transversais demonstraram que indivíduos com diferentes capacidades aeróbias (reduzido, médio ou alto $\text{VO}_2\text{máx}$) e hábitos com relação à prática de exercício físico (fisicamente ativos *versus* sedentários) não apresentaram diferenças significantes em relação à β -diversidade (ESTAKI *et al.*, 2016; BRESSA *et al.*, 2017). Cronin *et al* (2018) não encontraram mudanças significantes após oito semanas de treinamento físico aeróbio em indivíduos com sobrepeso e obesidade e, mesmo em idosos não foi detectado efeito sobre a diversidade beta após cinco semanas de treinamento físico aeróbio (TANIGUCHI *et al.*, 2018), sendo que ambos os estudos mantiveram intensidade de treino moderado a vigoroso ao longo da intervenção (60-70% do VO_2pico). Por outro lado, seis semanas de treinamento físico aeróbio realizado em intensidade moderada provocou aumento significativo na β -diversidade, tanto em homens quanto em mulheres (ALLEN *et al.*, 2017; MUNUKKA *et al.*, 2018). Entretanto, Allen e colaboradores (2017) observaram a partir do PCoA que, após o tempo de treinamento, os voluntários obesos apresentaram β -diversidade semelhante à de indivíduos eutróficos. Além disso, o aumento de alguns gêneros de bactérias esteve associado a mudanças no IMC e composição corporal destes voluntários. Portanto, concluíram que as mudanças apresentadas pós-intervenção foram dependentes do estado de obesidade dos voluntários, tendo o IMC e parâmetros de composição corporal influenciado nestas mudanças.

Do mesmo modo, Munukka *et al* (2018) incluíram em seu estudo elevada proporção de mulheres obesas, as quais apresentaram mudança significativa no percentual de gordura pós-intervenção. No estudo de Yang *et al* (2017) foi observado que as diferenças significantes na β -diversidade estiveram associadas com a circunferência da cintura e o percentual de gordura. Karl *et al* (2017) também

observaram aumento significativo da β -diversidade, porém além do treinamento físico ser de longa duração (quatro dias - 51km de esqui por dia), os autores empregaram suplementação de carboidrato e proteína como intervenção (QUADRO 1), a qual contribuiu para as alterações sobre o perfil microbiano dos soldados. Os estudos que não mostraram diferenças neste parâmetro de diversidade após período de treinamento físico, assim como o presente estudo, também não apresentaram diferenças significantes na composição corporal e hábitos alimentares (CRONIN *et al.*, 2018; TANIGUCHI *et al.*, 2018).

É possível que mudanças ocorridas sobre outros parâmetros em resposta ao treinamento físico aeróbio, como o IMC e a composição corporal, ou ainda os hábitos alimentares provoquem mudanças mais significativas sobre a β -diversidade, e não somente o exercício físico. No presente estudo, detectou-se diferenças na β -diversidade quando as matrizes de distâncias foram calculadas considerando o IMC, percentual de massa gorda, de massa magra e o $VO_{2\text{pico}}$ dos indivíduos estudados ($p < 0,05$). Ou seja, quando os voluntários foram reagrupados considerando estas variáveis, a PERMANOVA detectou diferenças estruturais nas comunidades bacterianas entre os grupos. Além do mais, os estudos com intervenção de treinamento físico aeróbio, tal como o presente estudo, não contemplaram análises acerca da composição de outros Reinos, especialmente das comunidades virais e de fungos. Cronin *et al* (2018), por exemplo, demonstraram que a interferência de 24g diários de suplemento *whey protein* sobre a diversidade destas comunidades pode ser minimizada pelo treinamento físico, em que se observou pós-treinamento físico redução e ausência de algumas espécies de vírus.

Partindo para uma investigação mais específica sobre a composição da MI, observou-se maior proporção do filo Bacteroidetes em relação ao Firmicutes, contudo ambos os filios aumentaram em abundância pós-treinamento físico aeróbio, ao contrário do GC que apresentou redução dos mesmos. Além disso, houve importante redução do filo Proteobacteria ($\downarrow \sim 48\%$) no GT, embora estas variações não tenham sido significantes. Estudos em humanos que buscaram investigar o efeito do treinamento físico aeróbio sobre a composição da MI, não apresentaram dados em relação aos filios, pois não observaram mudanças significantes como efeito do treinamento físico. Apenas Munukka *et al* (2018) observaram aumento significativo do filo Verrucomicrobia e, assim como no presente estudo, redução do filo Proteobacteria após seis semanas de treinamento físico aeróbio realizado em intensidade moderada.

De fato, níveis taxonômicos mais específicos, como famílias, gêneros e espécies são capazes de levantar informações mais relevantes. Dentro do filo Bacteroidetes, houve aumento significativo do número de bactérias pertencentes à espécie *Bacteroides ovatus* no pós-intervenção. Nenhum outro estudo até o presente momento encontrou efeito do treinamento físico aeróbio sobre esta espécie. Liu *et al* (2017b) observaram maior abundância desta espécie entre indivíduos eutróficos em comparação a obesos. Sugere-se, portanto, um efeito positivo do treinamento físico proposto neste trabalho, uma vez que recentes pesquisas realizadas em animais, *in vitro* e *in vivo* demonstraram que a espécie *Bacteroides ovatus* contribuiu para equilibrar respostas inflamatórias desencadeadas por LPS (TAN *et al.*, 2018), bem como tem ação antimicrobiana capaz de inibir o crescimento da espécie *Clostridium difficile* a partir da transformação de ácidos biliares (YOON *et al.*, 2017). Tan *et al* (2018) ainda sugerem a cepa ELH-B2 desta espécie como potencial probiótico da próxima geração devido a seu efeito anti-inflamatório, antimicrobiano e segurança em relação ao seu perfil toxigênico.

No presente estudo, a família *Lachnospiraceae* aumentou significativamente no GT após 10 semanas de treinamento físico aeróbio. Em consonância, estudos prévios apontaram para efeito importante do exercício físico sobre esta família e gêneros pertencentes a esta família, tanto em animais (EVANS *et al.*, 2014; CAMPBELL *et al.*, 2016; BATAKAN *et al.*, 2017) quanto em humanos (ESTAKI *et al.*, 2016; BRESSA *et al.*, 2017; ALLEN *et al.*, 2017). A família *Lachnospiraceae* é comumente reconhecida por apresentar efeito protetor sobre as células intestinais em humanos saudáveis, posto que bactérias desta família são capazes de produzir butirato e este AGCC atua sobre o metabolismo colônico e diferenciação celular (MEEHAN; BEIKO, 2014). Além disso, o presente estudo demonstrou associação positiva entre a família *Lachnospiraceae* e o VO_2 pico, assim como observado por Estaki e colaboradores (2016). Logo, sugere-se que as bactérias desta família são afetadas positivamente pelo treinamento físico aeróbio e o aumento da capacidade aeróbia.

Assim como observado em outros estudos com animais sob influência de dietas ricas em gordura (KANG *et al.*, 2014; CAMPBELL *et al.*, 2016) e doenças metabólicas (PETRIZ *et al.*, 2014), acredita-se que o treinamento físico aeróbio é capaz de minizar os efeitos negativos do comportamento sedentário sobre a composição da MI (BRESSA *et al.*, 2017). No presente estudo, os gêneros *Lachnospira* e *Roseburia*, pertencentes à família *Lachnospiraceae*, variaram

significativamente no GT, em que ambos os gêneros reduziram no pós-intervenção. Importante salientar que ambos os grupos GC e GT reduziram, porém o GC reduziu quase 3x mais a proporção do gênero *Lachnospira* (Tabela 5). Em Allen *et al* (2017), após seis semanas sem treinamento físico, ou seja, sedentários, houve redução significativa deste gênero, principalmente em indivíduos eutróficos. Existe forte associação entre baixas abundâncias de *Lachnospira* e maior risco de asma e doenças alérgicas em crianças. Estratégias para aumentar este gênero em gestantes podem reduzir o risco de desenvolver estas doenças em crianças (SIMONYTE SJÖDIN *et al.*, 2016).

Apesar da redução do gênero *Roseburia*, o GT exibiu significativo aumento da espécie *Roseburia* sp. ($p < 0,05$), assim como observado em Bressa *et al* (2017) e Stewart *et al* (2017). Além disso, no presente estudo foi observada tendência desta espécie em se associar positivamente com o VO_{2pico} . Os resultados do estudo de Bressa *et al* (2017) apontam que reduzir o tempo sedentário através de atividade física ao longo do dia pode contribuir para mudanças na composição da MI em mulheres com sobrepeso, tal como o aumento desta espécie. A *Roseburia* sp., assim como outras espécies do gênero *Roseburia*, como a *Roseburia inulinivorans* também identificada nas amostras do presente estudo, é capaz de produzir AGCC, especialmente butirato. Tamanai-shacoori *et al* (2017) sugerem que baixas concentrações podem estar associadas a doenças gastrointestinais, obesidade e diabetes tipo 2.

Outra observação importante é que, diferente do grupo treinado, o GC aumentou a abundância dos gêneros *Dorea* e *Ruminococcus* de modo que o GC e o GT quase alcançaram diferença significativa no pós-intervenção. Estudos em humanos tem revelado que estes gêneros estão associados à obesidade (TURNBAUGH *et al.*, 2009; KASAI *et al.*, 2015; LIU *et al.*, 2017b; ALLEN *et al.*, 2017; MUNUKKA *et al.*, 2017). Além disso, observou-se maior abundância do gênero *Ruminococcus* em ratos com reduzida capacidade aeróbia (PEKKALA *et al.*, 2017), além de associação positiva deste gênero com IMC (OTTOSSON *et al.*, 2018), indicando que o aumento deste grupo de bactérias não seja positivo. Liu *et al* (2017b), por exemplo, através de um sequenciamento Shotgun, uma das tecnologias precursoras responsável por possibilitar o sequenciamento do genoma completo, observaram associação entre espécies pertencentes aos gêneros *Ruminococcus* e *Dorea* e marcadores genéticos associados à obesidade, além de maior abundância

destas bactérias em indivíduos obesos em comparação a eutróficos. No presente estudo, o gênero *Dorea* também apresentou tendência em se associar positivamente à variável peso (kg). Outros trabalhos corroboram com esta observação (ALLEN *et al.*, 2017; MUNUKKA *et al.*, 2018). Uma vez que diminuiu a abundância relativa do gênero *Ruminococcus* e manteve a proporção do gênero *Dorea* no GT pós-intervenção, embora não tenha sido detectada variação significativa, sugere-se que o treinamento físico aeróbio pode minimizar interferências negativas sobre a composição da MI.

Além disso, no filo Firmicutes houve aumento da proporção das famílias *Ruminococcaceae* e *Veillonellaceae* ($p > 0,05$). Bressa *et al* (2017) demonstraram que mulheres fisicamente ativas também apresentaram maior abundância destas famílias em comparação com mulheres sedentárias, especialmente na família *Ruminococcaceae* ($p < 0,05$). Dentro desta família encontra-se o gênero *Faecalibacterium*, o qual apresentou redução significativa no GT. Estudos com treinamento físico aeróbio mostraram efeito sobre o aumento deste gênero (ALLEN *et al.*, 2017; BRESSA *et al.*, 2017), enquanto outros estudos não reportaram sobre sua abundância (MUNUKKA *et al.*, 2018; CRONIN *et al.*, 2018). Ainda há controvérsias, pois Allen *et al* (2017) observaram que as mudanças neste gênero foram dependentes do IMC, uma vez que os indivíduos eutróficos apresentaram aumento em sua abundância enquanto que os obesos apresentaram redução significativa após seis semanas de treinamento físico aeróbio. Além disso, após seis semanas em destreino, os indivíduos eutróficos apresentaram redução de cerca de 3x neste gênero enquanto que os obesos apresentaram aumento, porém não significativo. No estudo realizado por Liu *et al* (2017b), embora maior abundância tenha sido detectada entre os eutróficos, a espécie *Faecalibacterium prausnitzii* esteve associada positivamente associada ao IMC e circunferência da cintura. A *Faecalibacterium* vem sendo amplamente reconhecida como gênero benéfico para a saúde intestinal por conta da produção de butirato e tem sido observada em reduzida proporção em pacientes com doença de Crohn (SOKOL *et al.*, 2008; FERREIRA-HALDER; FARIA; ANDRADE, 2017). Mesmo com a redução deste gênero no GT, os voluntários treinados ainda apresentaram maior abundância desta bactéria em comparação ao GC. Ainda assim, a redução do gênero *Faecalibacterium* e espécies pertencentes a ele observada no presente estudo é questionável. Possivelmente

outros dados relacionados à funcionalidade da comunidade bacteriana poderiam contribuir melhor para esta discussão.

Além das bactérias pertencentes à família *Lachnospiraceae* e à espécie *Faecalibacterium prausnitzii*, outras bactérias capazes de produzir butirato aumentaram pós-treinamento físico. É o caso do gênero *Phascolarctobacterium*. Além disso, houve aumento da abundância do gênero *Gemmiger*, embora não tenham sido variações significantes. São poucos os estudos que observaram estes gêneros ou espécies pertencentes a eles, porém alguns sugerem que são bactérias comensais benéficas para a saúde intestinal (WU *et al.*, 2017), bem como para a manutenção da composição corporal (AQUIRRE; BUSSOLO DE SOUZA; VENEMA, 2016).

Dentro do filo Proteobacteria, ambas as famílias *Alcaligenaceae* e *Desulfovibrionaceae* aumentaram em abundância relativa no GC e reduziram no GT ($p > 0,05$), assim como observado por Bressa *et al* (2017) maior proporção destas famílias entre mulheres sedentárias em comparação a mulheres fisicamente ativas e por Munukka *et al* (2018) que demonstraram redução da família *Desulfovibrionaceae* pós-treinamento físico. Bressa *et al* (2017) ainda observaram associação positiva desta família com parâmetros relacionados ao comportamento sedentário, tal como tempo sentado ou em repouso. No presente estudo, ainda que não tenha ocorrido mudanças significantes nos grupos com relação à composição corporal, detectou-se que as alterações do gênero *Desulfovibrio* pertencente a família *Desulfovibrionaceae*, assim como o *Butyrivibrio*, foram dependentes do percentual de gordura e de massa magra, em consonância com o estudo realizado por Munukka *et al* (2018). Outra espécie pertencente à família *Desulfovibrionaceae* que respondeu ao treinamento físico aeróbio foi a *Bilophila* sp. Após 10 semanas de treinamento físico aeróbio, esta espécie reduziu significativamente no GT, enquanto que aumentou no GC. Do mesmo modo ocorreu com a abundância de bactérias pertencentes ao gênero *Sutterella* no presente estudo. Ambas são bactérias gram-negativas e resistentes à ácidos biliares. Estudos anteriores demonstraram em animais que estas bactérias estiveram associadas a marcadores inflamatórios (SCHNEEBERGER *et al.*, 2015; MARCHESI *et al.*, 2015; HIIPPALA *et al.*, 2016).

A *Akkermansia muciniphila* é comumente citada na área de exercício físico e MI em que estudos reportam maior abundância desta espécie em atletas (CLARKE *et al.*, 2014; PETERSEN *et al.*, 2017), em pessoas fisicamente ativas (BRESSA *et al.*,

2017) e após intervenção de treinamento físico aeróbio (MUNUKKA *et al.*, 2018). Schneeberger *et al* (2015) observaram que esta bactéria esteve inversamente correlacionada com a expressão de marcadores inflamatórios no tecido adiposo em ratos obesos. Além disso, sua abundância apresentou associação negativa com o colesterol sérico total e LDL em mulheres obesas (BRAHE *et al.*, 2015). No presente estudo, não houve diferenças significantes entre os grupos e momentos estudados. Contudo, foi observada associação positiva do gênero *Akkermansia* com o VO_{2pico} e associação negativa deste gênero com o percentual de gordura. Diante disso, sugere-se que mudanças no organismo do hospedeiro em resposta ao treinamento físico, tais como aumento da capacidade aeróbia e diminuição da massa gorda, podem estar associados ao aumento deste gênero na MI.

Por fim, existe uma variabilidade interindividual considerável que é inerente ao hospedeiro devido a diversas condições que o mesmo é exposto desde o nascimento. O PCoA apresentado neste trabalho deixa evidente essa variabilidade, por mais que os voluntários apresentem características semelhantes. Em seu estudo, Munukka *et al* (2018) discutem que a dificuldade em detectar significantes mudanças na β -diversidade se dá a esta variabilidade e à possibilidade de que existem microgansimos presentes na MI que são mais ou menos reponsivos ao efeito do treinamento físico aeróbio. Este raciocínio é apoiado em outro estudo realizado por Zhao *et al* (2018a) com o objetivo de melhorar parâmetros metabólicos em sujeitos com diabetes tipo 2 a partir de intervenção dietética rica em fibra. Os autores perceberam que apenas 15, dos 154 genes microbianos que compartilhavam mesma funcionalidade, responderam ao tratamento.

Além do mais, a literatura ainda se limita a esclarecer sobre o mecanismos por trás do efeito do treinamento físico aeróbio sobre a MI. Especula-se o treinamento físico aeróbio de forma crônica provocaria adaptações fisiológicas no organismo humano, especialmente sobre o sistema intestinal e metabolismo energético que levariam a mudanças na composição da MI. Por exemplo, Cook *et al* (2015), Cerdá *et al* (2016) e Costa *et al* (2017) sugerem que modificações no ambiente intestinal, tais como, alteração de fluxo sanguíneo durante o exercício, de pH, de motilidade, mudanças na concentração de ácidos graxos de cadeia curta e ácidos biliares no cólon e, especialmente, o estímulo crônico sobre o sistema imunológico com interface com a mucosa intestinal, podem influenciar na sobrevivência e abundância dos microrganismos que compõe a MI. Porém, estas adapatações são dependentes do

tipo de exercício físico praticado, uma vez que exercícios de alta intensidade e longa duração provocam estímulos sobre o organismo de forma diferente de exercícios físicos com intensidade leve a moderada (COOK *et al.*, 2015; CERDÁ *et al.*, 2016). Este pode ser um dos motivos que expliquem as diferenças significantes encontradas entre atletas e fisicamente ativos (CLARKE *et al.*, 2014; ESTAKI *et al.*, 2016; PETERSEN *et al.*, 2017).

Um tópico ainda pouco explorado na MI humana são as complexas relações entre os microrganismos residentes e transitórios, bem como a interação entre o genoma do hospedeiro e o microbioma. Assim como observado que alterações metabólicas (PEDERSEN *et al.*, 2016; LIU *et al.*, 2017b) e de composição corporal (TURNBAUGH *et al.*, 2009; LIU *et al.*, 2017b) estão intimamente associadas à composição da MI, estudos em animais demonstraram que o genoma do hospedeiro é capaz de explicar até 50% ou mais das variações na composição da MI (ORG *et al.*, 2015; CHU *et al.*, 2016). Neste tocante, estudos controlados com ratos adultos e sedentários demonstraram que a MI também é influenciada pela capacidade aeróbia intrínseca herdada ($VO_{2máx}$) (COX-YORK *et al.*, 2015; PEKKALA *et al.*, 2017). Além disso, estudos em humanos, tal como o presente estudo, observam uma associação positiva entre algumas bactérias intestinais e o VO_{2pico} (ESTAKI *et al.*, 2016; STEWART *et al.*, 2017; ALLEN *et al.*, 2017). Considerando o delineamento do presente estudo, sugere-se que o aumento da capacidade aeróbia também está envolvido nas mudanças observadas na composição da MI, embora ressalta-se a necessidade de análises mais aprofundadas que possam confirmar esta relação.

Em suma, as mudanças promovidas pelo treinamento físico aeróbio proposto no presente trabalho indicam para o efeito do treinamento físico em direção a equilibrar as proporções dos diferentes OTUs. Em outras palavras, há crescimento de algumas bactérias comensais, tais como, da família *Lachnospiraceae*, e das espécies *Lachnospira* sp., *Roseburia* sp. e *Bacteroides ovatus* em detrimento da diminuição de outras, como a *Bilophila* sp e *Sutterella*. Juntamente esses achados com os dados de riqueza de espécies e diversidade bacteriana, sugere-se que o treinamento físico aeróbio realizado em intensidade moderada foi eficiente em minizar possíveis interferências negativas do comportamento sedentário, tais como, aumento dos gêneros *Ruminococcus*, *Bilophila*, *Dorea*, *Sutterella* e *Desulfovibrio* (BRESSA *et al.*, 2017) e significativa redução das espécies comensais *Lachnospira* sp e *Faecalibacterium* spp. como foi observado no GC.

Levando em consideração as sugestões e limitações acima mencionadas, ressalva-se a necessidade de mais estudos controlados como o presente, especialmente com maior proporção de indivíduos estudados e maior tempo de treinamento físico, visto que esta é uma área científica em ascensão capaz de contribuir significativamente para o entendimento do papel da MI sobre a saúde humana.

8. CONCLUSÃO

Dez semanas de treinamento físico aeróbio realizado em intensidade moderada por adultos jovens previamente sedentários e com ausência de doenças foi capaz de modificar a abundância dos grupos taxonômicos bacterianos, especialmente sobre famílias, gêneros e espécies, sem provocar grandes mudanças na α - e β -diversidade.

As principais mudanças em resposta ao treinamento foram aumento significativo da família *Lachnospiraceae* e das espécies *Bacteroides ovatus* e *Roseburia* sp., enquanto que reduziu a abundância do gênero *Lachnospira* sp e de bactérias pertencentes ao filo Proteobacteria, como por exemplo da espécie *Bilophila* sp. Além disso, o grupo treinado, em média, apresentou maior abundância de bactérias comensais em comparação ao controle após 10 semanas de treinamento físico, tais como, *Faecalibacterium*, *Roseburia*, *Lachnospira* e *Akkermansia*. Especialmente a família *Lachnospiraceae* e o gênero *Akkermansia* se mostraram positivamente associados ao VO_2 pico.

Este é o primeiro estudo em nosso conhecimento até o presente momento a demonstrar tais efeitos em homens sedentários submetidos ao treinamento físico aeróbio controlado.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALDENBERG, L. et al. Correlation Between Intraluminal Oxygen Gradient and Radial Partitioning of Intestinal Microbiota. **Gastroenterology**, vol. 147, p. 1055-1063, 2014.
- ALDOORI, W. H. et al. Prospective study of physical activity and the risk of symptomatic diverticular disease in men. **Gut**, vol. 36, n. 2, p. 276-282, 1995.
- ALLEN, J. M. et al. Exercise alters gut microbiota composition and function in lean and obese humans. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, vol. 50, n. 4, p. 745-757, 2017.
- AMIR, A. et al. Deblur Rapidly Resolves Single-Nucleotide Community Sequence Patterns. **mSystems**, vol. 2, n. 2, p. e00191-16, 2017.
- AQUIRRE, M.; BUSSOLO DE SOUZA, C.; VENEMA, K. The Gut Microbiota from Lean and Obese Subjects Contribute Differently to the Fermentation of Arabinogalactan and Inulin. **PLoS One**, vol. 11, n. 7, p. e0159236, 2016.
- ARUMUGAM, M. et al. Enterotypes of the human gut microbiome. **Nature**, vol. 473, p. 174-180, 2011.
- BARTON, W. et al. The microbiome of professional athletes differs from that of more sedentary subjects in composition and particularly at the functional metabolic level. **Gut**, vol. 0, p. 1-9, 2017.
- BATACAN, R. B. et al. A gut reaction: the combined influence of exercise and diet on gastrointestinal microbiota in rats. **Journal of Applied Microbiology**, vol. 122, p. 1627-1638, 2017.
- BENTLEY, D. J.; NEWELL, J.; BISHOP, D. Incremental Exercise Test Design and Analysis: Implications for Performance Diagnostics in Endurance Athletes. **Sports Medicine**, vol. 37, n. 7, p. 575-586, 2007.
- BERMON, S. et al. The microbiota: An exercise immunology perspective. **Exercise Immunology Review**, vol. 21, p. 70-79, 2015.

BIESEK, S.; ALVES, L. A.; GUERRA, I. **Estratégias de nutrição e suplementação no esporte**. 3. ed. rev. e atual. Barueri, SP: Manole, 2015.

BORG, G. A. V. Psychophysical bases of perceived exertion. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, vol. 14, n. 5, p. 377-381, 1982.

BOKULICH, N. A. et al. Optimizing taxonomic classification of marker-gene amplicon sequences with QIIME 2's q2-feature-classifier plugin. **Microbiome**, vol. 6, p. 90, 2018.

BRAHE, L. K. et al., Specific gut microbiota features and metabolic markers in postmenopausal women with obesity. **Nutrition & Diabetes**, vol. 5, e159, 2015.

BRASIL. Secretaria Nacional Antidrogas (SENAD). **I Levantamento Nacional sobre os padrões de consumo de álcool na população brasileira**. Brasília, DF, 2007.

BRASIL. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação (NEPA). **Tabela brasileira de composição de alimentos – TACO - 4ª edição revisada e ampliada**. Campinas, SP, 2011.

BRESSA, C. et al. Differences in gut microbiota profile between women with active lifestyle and sedentary women. **Plos One**, vol. 12, n. 2, p. e0171352, 2017.

CALDER, P. C. et al. A Consideration of Biomarkers to be used for Evaluation of Inflammation in Human Nutritional Studies. **British Journal of Nutrition**, vol. 109, n. S1, p. S1-S34, 2013.

CAMPBELL, S. C. et al. The effect of diet and exercise on intestinal and microbiota diversity in mice. **Plos One**, vol. 11, n. 3, p. e0150502, 2016.

CAPORASO, J. G. et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. **Nature Methods**, vol. 7, p. 335-336, 2010.

CAPORASO, J. G. et al. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. **The International Society for Microbial Ecology Journal**, vol. 6, p. 1621-1624, 2012.

CERDÁ, B. et al. Gut microbiota modification: Another piece in the puzzle of the benefits of physical exercise in health? **Frontiers in Physiology**, vol. 7, n. 51, p. 1-11, 2016.

CHEN, Y. J.; HO, H. J.; TSENG, C. H.; LAI, Z. L.; SHIEH, J. J.; WU, C. Y. Intestinal microbiota profiling and predicted metabolic dysregulation in psoriasis patients. **Experimental Dermatology**, vol. 27, n. 12, p. 1336-1343, 2018.

CHOI, J. J. et al. Exercise attenuates PCB-induced changes in the mouse gut microbiome. **Environmental Health Perspectives**, vol. 121, n. 6, p. 725-730, 2013.

CHU, H. et al. Gene-microbiota interactions contribute to the pathogenesis of inflammatory bowel disease. **Science**, vol. 352, n. 6289, p. 1116e20, 2016.

CLARK, A.; MACH, N. The Crosstalk between the Gut Microbiota and Mitochondria during exercise. **Frontiers in Physiology**, vol. 8, p. 319-336, 2017.

CLARKE, S. F. et al. Exercise and associated dietary extremes impact on gut microbial diversity. **Gut**, vol. 63, n. 12, p. 1913-1920, 2014.

COSTA, A. V.; LEITE, G.; RESENDE, A.; BLACHIER, F. LANCHÁ JR, A. H. Exercise, nutrition and gut microbiota: possible links and consequences. **International Journal of Sports and Exercise Medicine**, vol. 3, n. 4, p. 69-77, 2017.

COSTA, A. V. et al. Microbiota intestinal e probióticos aplicados a praticantes de exercício físico e atletas. In: LANCHÁ JR, A. H.; ROGERI, P. S.; PEREIRA-LANCHÁ, L. O. **Suplementação nutricional no esporte**. 2ª Edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan LTDA do Grupo Editorial Nacional, 2018. vol. 3, p. 203-222.

COX-YORK, K. A. et al. Ovariectomy results in differential shifts in gut microbiota in low versus high aerobic capacity rats. **Physiological Reports**, vol. 3, p. e12488, 2015.

CRONIN, O.; MOLLOY, M. G.; SHANAHAN, F. Exercise, fitness, and the gut. **Current Opinion in Gastroenterology**, vol. 32, n. 2, p. 1, 2016.

CRONIN, O. et al. A prospective metagenomic and metabolomic analysis of the Impact of exercise and/or whey protein supplementation on the gut microbiome of sedentary adults. **mSystems**, vol. 3, n. 3, pii: e00044-18, 2018.

DAINESE, R. Effects of physical activity on intestinal gas transit and evacuation in healthy subjects. **The American Journal of Medicine**, vol. 116, n. 8, p. 536-539, 2004.

DE WEIRDT, R.; VAN DE WIELE, T. Micromanagement in the gut: microenvironmental factors govern colon mucosal biofilm structure and functionality. **NPJ Biofilms and Microbiomes**, vol. 1, p. 15026, 2015.

DENOU, E. et al. High-intensity exercise training increases the diversity and metabolic capacity of the mouse distal gut microbiota during diet-induced obesity. **American Journal of Endocrinology and Metabolism**, vol. 310, p. E982-E993, 2016.

DONALDSON, G. P.; LEE, S. M.; MAZMANIAN, S. K. Gut biogeography of the bacterial microbiota. **Nature Reviews Microbiology**, vol. 14, n. 1, p. 20–32, 2015.

DUCLOS, M.; TABARIN, A. Exercise and the Hypothalamo-Pituitary-Adrenal Axis. **Frontiers of Hormone Research**, vol. 47, p. 12-26, 2016.

ECKBURG, P. B. et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. **Science**, vol. 308, n. 5728, p. 1635-1638, 2005.

EDGE, J.; BISHOP, D.; GOODMAN, C. The effects of training intensity on muscle buffer capacity in females. **European Journal of Applied Physiology**, vol. 96, p. 97-105, 2006.

ESTAKI, M. et al. Cardiorespiratory fitness as a predictor of intestinal microbial diversity and distinct metagenomic functions. **Microbiome**, vol. 4, n. 1, p. 42, 2016.

EVANS, C. C.; LEPARD, K. J.; KWAK, J. W. Exercise prevents weight gain and alters the gut microbiota in a mouse model of high fat diet-induced obesity. **Plos One**, vol. 9, n. 3, p. e92193, 2014.

FALONY, G. et al. Population-level analysis of gut microbiome variation. **Science**, vol. 352, n. 6285, p. 560-564, 2016.

FERNANDES, J. et al. Adiposity, gut microbiota and faecal short chain fatty acids are linked in adult humans. **Nutrition & Diabetes**, vol. 4, p. e121-e128, 2014.

FERREIRA-HALDER, C. V.; FARIA, A. V. S.; ANDRADE, S. S. Action and function of *Faecalibacterium prausnitzii* in health and disease. **Best Practice & Research. Clinical Gastroenterology**, vol. 3, n. 6, p. 643-648, 2017.

FIELDS, D. A.; GORAN, M. I. Body composition techniques and the four-compartment model in children. **Journal of Applied Physiology**, vol. 89, n. 2, p. 613-620, 2000.

FIELDS, D. A.; HIGGINS, P. B.; HUNTER, G. R. Assessment of body composition by air-displacement plethysmography: influence of body temperature and moisture. **Dynamic Medicine**, vol. 1, n1, p. 3, 2004.

FISHER, G. et al. High Intensity Interval- vs Moderate Intensity- Training for Improving Cardiometabolic Health in Overweight or Obese Males: A Randomized Controlled Trial. **Plos One**, vol. 10, n. 10, p. e0138853, 2015.

GOLDSZMID, R. S.; TRINCHIERI, G. The price of immunity. **Nature Immunology**, vol. 13, n. 10, p. 932-8, 2012.

GUPTA, V. K.; PAUL, S.; DUTTA, C. Geography, Ethnicity or Subsistence-Specific Variations in Human Microbiome Composition and Diversity. **Frontiers in Microbiology**, vol. 8, p. 1162-1178, 2017.

HAGSTRÖMER, M.; OJA, P.; SJÖSTRÖM, M. The international Physical Activity Questionnaire (IPAQ): a study of concurrent and construct validity. **Public Health Nutrition**. vol. 9, n. 6, p. 755-762, 2006.

HASKELL, W. L. et al. Physical Activity and Public Health: Updated Recommendation for Adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, vol. 39, n. 8, p. 1423-1434, 2007.

HEIP, C. H. R.; HERMAN, P. M. J.; SOETAERT, K. Indices of diversity and evenness. *Océanis*, vol. 24, n. 4, p. 61-87, 1998.

HIIPPALA, K.; KAINULAINEN, V.; KALLIOMÄKI, M.; ARKKILA, P.; SATOKARI, R. Mucosal Prevalence and Interactions with the Epithelium Indicate Commensalism of *Sutterella* spp. **Frontiers in Microbiology**, vol. 7, p. 1706-1719, 2016.

HOLLAND, A. M. et al. Influence of endurance exercise training on antioxidant enzymes, tight junction proteins, and inflammatory markers in the rat ileum. **BMC Research Notes**, vol. 8, p. 514-523, 2015.

HOLMES, E. et al. Gut microbiota composition and activity in relation to host metabolic phenotype and disease risk. **Cell Metabolism**, vol. 16, n.5, p. 559-64, 2012.

HOOPER, L. V. et al. Angiogenins: A new class of microbicidal proteins involved in innate immunity. **Nature Immunology**, vol. 4, p. 269–273, 2003.

HOLD, G. L. et al. Oligonucleotide probes that detect quantitatively significant groups of butyrate-producing bacteria in human feces. **Applied and Environmental Microbiology**, vol. 69, n. 7, p. 4320-4324, 2003.

JANDA, J. M.; ABBOTT, S. L. 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: pluses, perils, and pitfalls. **Journal of Clinical Microbiology**, vol. 45, n. 9, p. 2761-2764, 2007.

JOHANNESSON, E. et al. Intervention to increase physical activity in irritable bowel syndrome shows long-term positive effects. **World Journal of Gastroenterology**, vol. 21, p. 600–608, 2015.

JOHNSON, E. L. et al. Microbiome and metabolic disease: revisiting the bacterial phylum Bacteroidetes. **Journal of Molecular Medicine (Berlin, Germany)**, vol. 95, n. 1, p. 1-8, 2017.

JOUANNOT, P. VO2 max: technique and practical importance. **Presse Medicale**, vol. 30, n. 17, p. 835-840, 2001.

KANG, S. S. et al. Diet and exercise orthogonally alter the gut microbiome and reveal independent associations with anxiety and cognition. **Molecular Neurodegeneration**, vol. 9, p. 36-47, 2014.

KARL, J. P. et al. Changes in intestinal microbiota composition and metabolism coincide with increased intestinal permeability in young adults under prolonged physiological stress. **American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology**, vol. 312, p. G559-G571, 2017.

KASAI, C. et al. Comparison of the gut microbiota composition between obese and non-obese individuals in a Japanese population, as analyzed by terminal restriction fragment length polymorphism and next-generation sequencing. **BMC Gastroenterology**, vol. 15, p. 100-110, 2015.

KRAMER, H. F.; GOODYEAR, L. J. Exercise, MAPK, and NF- κ B signaling in skeletal muscle. **Journal of Applied Physiology**, vol. 103, n. 1, p. 388-395, 2007.

LAMBERT, J. E. et al. Exercise training modifies gut microbiota in normal and diabetic mice. **Applied Physiology, Nutrition and Metabolism**, vol. 40, n. 7, p. 49-52, 2015.

LAMOUREX, E. V. ; GRANDY, S. A. ; LANGILE, M. G. Moderate exercise has limited but distinguishable effects on the mouse microbiome. **mSystems**, vol. 2, n. 4, pii :e00006-17, 2017.

LANCHA, L. O. P.; LANCHA JR, A. H. **Avaliação e prescrição de exercícios físicos: normas e diretrizes** - 1ª edição. Barueri, SP. Ed. Manole, 2016.

LAVELLE, A. et al. Spatial variation of the colonic microbiota in patients with ulcerative colitis and control volunteers. **Gut**, vol. 64, n. 10, p. 1553-1561, 2015.

LE CHATELIER, E. et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. **Nature**, vol. 500, n. 7464, p. 541-546, 2013.

LEE, I.-M. ; SHIROMA, E. J. ; LOBELO, F. ; PUSKA, P.; BLAIR, S. N. ; KATZMARZYK, P. T. Impact of Physical Inactivity on the World's Major Non-Communicable Diseases. **Lancet**, vol. 380, n. 9838, p. 219–229, 2012.

LEE, Y. K.; MAZMANIAN, S. K. Has the microbiota played a critical role in the evolution of the adaptive immune system? **Science**, vol. 330, n. 6012, p. 1768-1773, 2010.

LEE, I.-M.; SHIROMA, E. J.; LOBELO, F.; PUSKA, P.; BLAIR, S. N.; KATZMARZYK, P. T. Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: an analysis of burden of disease and life expectancy. **The Lancet**, vol. 380, p. 219-229, 2012.

LEITZMANN, M. F. et al. The relation of physical activity to risk for symptomatic gallstone disease in men. **Annals of Internal Medicine**, vol. 128, n. 6, p. 417-425, 1998.

LEPAGE, P. et al. A metagenomic insight into our gut's microbiome. **Gut**, vol. 62, p. 146–158, 2013.

LIRA, F. S. et al. Endotoxin levels correlate positively with a sedentary lifestyle and negatively with highly trained subjects. **Lipids in health and disease**, vol. 9, p. 82, 2010.

LIU, T-W. et al. Physical activity differentially affects the cecal microbiota of ovariectomized female rats selectively bred for high and low aerobic capacity. **Plos One**, vol. 10, n. 8, p. e0136150, 2015.

LIU, W. X. et al. Voluntary exercise prevents colonic inflammation in high-fat diet-induced obese mice by up-regulating PPAR- γ activity. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, vol. 459, n. 3, p. 475-480, 2015.

LIU, Z. et al. Exercise affects gut microbiome composition and influences cardiac function in myocardial infarction mice. **Frontiers in Microbiology**, vol. 6, p. 1687-1698, 2017a.

LIU, R. et al. Gut microbiome and serum metabolome alterations in obesity and after weight-loss intervention. **Nature Medicine**, vol. 23, n. 7, p. 859-872, 2017b.

LOZUPONE, C. A. et al. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. **Nature**, vol. 489, p. 220-230, 2012.

LUNDE, L. K. et al. Physical activity initiated by employer induces improvements in a novel set of biomarkers of inflammation: an 8-week follow-up study. **European Journal of Applied Physiology**, vol. 117, n. 3, p. 521-532, 2017.

LUZ, L. G. O.; FARINATTI, P. T. V. Questionário de prontidão para atividade física (PAR-Q). **Revista Brasileira de Fisiologia do Exercício**, vol. 4, n. 1, p. 43-48, 2005.

MACFARLANE, G. T.; MACFARLANE, S. Human colonic microbiota: ecology, physiology and metabolic potential of intestinal bacteria. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, vol. 32, n. 222, p. 3-9, 1997.

MARCHESI, J.R. et al. The gut microbiota and host health: a new clinical frontier. **Gut**, vol. 0, p. 1-10, 2015.

MATSUO, T. et al. Low-volume, high-intensity, aerobic interval exercise for sedentary adults: Vo₂máx, cardiac mass, and heart rate recovery. **European Journal of Applied Physiology**, vol. 114, p. 1963-1972, 2014.

MATSUDO, S. et al. Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ): estudo de validade e reprodutibilidade no Brasil. **Revista Brasileira de Atividade Física e Saúde**, vol. 6, n. 2, p. 5-12, 2001.

MATSUMOTO, M. et al. Voluntary running exercise alters microbiota composition and increases n-butyrate concentration in the rat cecum. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, vol. 72, n. 2, p. 572-576, 2008.

MCDONALD, D. et al. An improved Greengenes taxonomy with explicit ranks for ecological and evolutionary analyses of bacteria and archaea. **The International Society for Microbial Ecology Journal**, vol. 6, p. 610-618, 2012.

MEEHAN, C. J. ; BEIKO, R. G. A phylogenomic view of ecological specialization in the Lachnospiraceae, a family of digestive tract-associated bacteria. **Genome Biology and Evolution**, vol. 6, n. 3, p. 703-13, 2014.

MESHKINPOUR, H. et al. Effects of regular exercise in management of chronic idiopathic constipation. **Digestive Diseases and Science**, vol. 43, p. 2379–2383, 1998.

MIKA, A. et al. Exercise is more effective at altering gut microbial composition and producing stable changes in lean mass in juvenile versus adult male F344 rats. **Plos One**, vol. 10, n. 5, p. e0125889, 2015.

MOLINA, M. D. C. B. et al. Diet assessment in the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil): Development of a food frequency questionnaire. **Revista de Nutrição**, vol. 26, n.2, p. 167-176, 2013.

MONTEIRO, M. F. ; SOBRAL FILHO, D. C. Exercício físico e o controle da pressão arterial. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, vol. 10, n. 6, p. 513-516, 2004.

MUNUKKA, E. et al. Six-Week endurance exercise alters gut metagenome that is not reflected in systemic metabolism in over-weight women. **Frontiers in Microbiology**, vol. 9, p. 2323-2339, 2018.

MYERS, T. R. et al. Whole-body aerobic resistance training circuit improves aerobic fitness and muscle strength in sedentary young females. **The Journal of Strength and Conditioning Research**, vol. 29, n. 6, p. 1592-1600.

NGUYEN, T. L. A.; VIEIRA-SILVA, S.; LISTON, A.; RAES, J. How informative is the mouse for human gut microbiota research? **Diseases models & mechanisms**, vol. 8, n. 1, p. 1-16, 2015.

ORG, E. et al. Genetic and environmental control of host-gut microbiota interactions. **Genome Research**, vol. 25, n. 10, p. 1558e69, 2015.

OTTOSSON, F. et al. Connection Between BMI-Related Plasma Metabolite Profile and Gut Microbiota. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, vol. 103, n. 4, p. 1491-1501, 2018.

OUWERKERK, J. P.; DE VOS, W. M.; BELZER, C. Glycobiome: bacteria and mucus at the epithelial interface. **Best Practice & Research . Clinical Gastroenterology**, vol. 27, n. 1, p. 25-38, 2013.

PEDERSEN, H. K. et al. Human gut microbes impact host serum metabolome and insulin sensitivity. **Nature**, vol. 535, p. 376–381, 2016.

PEKKALA, S. et al. Intrinsic aerobic capacity governs the associations between gut microbiota composition and fat metabolism age-dependently in rat siblings. **Physiological Genomics**, vol. 49, n. 12, p. 733-746, 2017.

PEREIRA, F. C.; BERRY, D. Microbial nutrient niches in the gut. **Environmental Microbiology**, vol. 19, n. 4, p. 1366-1378, 2017.

PETERSEN, L. M. et al. Community characteristics of the gut microbiomes of competitive cyclists. **Microbiome**, vol. 5, p. 98-111, 2017.

PETRIZ, B. A. et al. Exercise induction of gut microbiota modifications in obese, non-obese and hypertensive rats. **BMC Genomics**, vol. 15, p. 511, 2014.

PHILIPPI, S. T. **Tabela de Composição de Alimentos**: Suporte para decisão nutricional. 2ª ed. São Paulo: Coronário; 2002.

POWER, S. E. et al. Intestinal microbiota, diet and health. **British Journal of Nutrition**, vol. 111, p. 387-402, 2014.

QIN, J. et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. **Nature**, vol. 464, p. 59-65, 2010.

QUEIPO-ORTUÑO, M. I. et al. Gut microbiota composition in male rat models under different nutritional status and physical activity and its association with serum leptin and ghrelin levels. **Plos One**, vol. 8, n. 5, p. e65465, 2013.

RADAK, Z. et al. Exercise, oxidative stress and hormesis. **Ageing Research Reviews**, vol. 7, p. 34-42, 2008.

RIVIÈRE, A. et al. Bifidobacteria and butyrate-producing colon bacteria: Importance and strategies for their stimulation in the human gut. **Frontiers in Microbiology**, vol. 7, p. 979-1000, 2016.

ROBINSON, E. et al. Short-term high-intensity interval and moderate-intensity continuous training reduce leukocyte TLR4 in inactive adults at elevated risk of type 2 diabetes. **Journal of Applied Physiology**, vol. 119, p. 508-516, 2015.

SCHNEEBERGER, M. et al. Akkermansia muciniphila inversely correlates with the onset of inflammation, altered adipose tissue metabolism and metabolic disorders during obesity in mice. **Scientific Reports**, vol. 5, p. 16643-16657, 2015.

SENDER, R.; FUCHS, S.; MILO, R. Are We Really Vastly Outnumbered? Revisiting the Ratio of Bacterial to Host Cells in Humans. **Cell**, vol. 164, n. 3, p. 337-340, 2016.

SERIKOV, V. et al. Gut Microbiota in Health and Disease. **Physiology Reviews**, vol. 90, p. 859-904, 2010.

SHIN, N. R. et al. An increase in the Akkermansia spp. population induced by metformin treatment improves glucose homeostasis in diet-induced obese mice, **Gut**, vol. 63, 727e735, 2014.

SILVA, G. S. F.; DERESZ, LC. S.; LIMA, P. R. J. Associação entre limiares ventilatórios e percepção do esforço. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, vol. 14, n. 1, p. 74-86, 2006.

SILVERMAN, M. N.; DEUSTER, P. A. Biological mechanisms underlying the role of physical fitness in health and resilience. **Interface Focus**, vol. 4 p. 20140040, 2014.

SIMONYTE SJÖDIN, K.; VIDMAN, L.; RYDÉN, P.; WEST, C. E. Emerging evidence of the role of gut microbiota in the development of allergic diseases. **Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology**, vol. 16, n. 4, p. 390-395, 2016.

SINGH, R. K. et al. Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. **Journal of Translational Medicine**, vol. 15, p. 73-90, 2017.

SIRI, W.E. Body composition from fluid spaces and density: Analyses of methods in techniques for measuring body composition. **National Academy of Sciences**, National Research Council, p.223-244, 1961.

SOMMER, F.; BÄCKHED, F. The gut microbiota – masters of host development and physiology. **Nature Reviews Microbiology**, vol. 11, p. 227–238, 2013.

SOKOL, H. et al. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, vol. 105, p. 16731–16736, 2008.

SOUZA, A. Z. Z. et al. Oral supplementation with L-glutamine alters gut microbiota of obese and overweight adults: A pilot study. **Nutrition**, vol. 31, p. 884-889, 2015.

STACKEBRANDT, E.; GOEBEL, B. M. Taxonomic note: a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. **International Journal of Systematic Bacteriology**, vol. 44, p. 846-849, 1994.

STEWART, C. J. et al. Gut microbiota of Type 1 diabetes patients with good glycaemic control and high physical fitness is similar to people without diabetes: an observational study. **Diabetic Medicine**, vol.34, n. 1, p. 127-134, 2017.

TAMANAI-SHACOORI, Z. et al. Roseburia spp.: a marker of health? **Future Microbiology**, vol. 12, p. 157-170, 2017.

- TAN, H. et al. Pilot safety evaluation of a novel strain of *Bacteroides ovatus*. **Frontiers in Genetics**, vol.6, n. 9, p. 539-551, 2018.
- TANG, R. et al. Physical activity, water intake and risk of colorectal cancer in Taiwan: a hospital-based casecontrol study. **International Journal of Cancer**, vol. 82, p. 484–489, 1999.
- TREMAROLI, V.; BACKHED, F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. **Nature**, vol. 489, n. 7415, p. 242-249, 2012.
- TURNBAUGH, P. J. et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. **Nature**, vol. 457, p. 480–484, 2009.
- VAZQUEZ-BAEZA, Y.; PIRRUNG, M.; GONZALEZ, A.; KNIGHT, R. EMPeror: a tool for visualizing high-throughput microbial community data. **Gigascience**, vol. 2, n. 1, p. 16, 2013.
- VOREADES, N.; KOZIL, A.; WEIR, T. L. Diet and the development of the human intestinal microbiome. **Frontiers in Microbiology**, vol. 5, p. 494-503, 2014.
- WAGNER, T. D. New ideas on limitations to VO₂max. **Exercise and Sports Sciences Reviews**, vol. 28, n.1, p. 10-14, 2000.
- WALKER, A. W. et al. pH and peptide supply can radically alter bacterial populations and short-chain fatty acid ratios within microbial communities from the human colon. **Applied and Environmental Microbiology**, vol. 71, p. 3692–3700, 2005.
- WANG, J. et al. Dysbiosis of maternal and neonatal microbiota associated with gestational diabetes mellitus. **Gut**, vol. 67, n. 9, p. 1614-1625, 2018.
- WELLY, R. J. et al. Comparison of diet vs. exercise on metabolic function & gut microbiota in obese rats. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, vol. 48, n. 9, p. 1688-1698, 2016.
- WERTHEIM, B. C. et al. Physical activity as a determinant of fecal bile acid levels. **Cancer Epidemiology of Biomarkers & Prevention**, vol. 18, p. 1591–1598, 2009.

WHO. **World Health Organization**. Global recommendations on physical activity for health. Geneva: WHO Library Cataloguing-in-Publication Data, 2010.

WILLIFORD, H.; OLSON, M. Selecting and Effectively Using a Health/Fitness Facility. ACSM Fit Society Page. **The American College of Sports Medicine Spring**. 2011.

WU, F.; GUO, X.; ZHAANG, M.; OU, Z.; PENG, Y. Phascolarctobacterium faecium abundant colonization in human gastrointestinal tract. *Experimental and therapeutic medicine*, vol. 14, n.4, p. 3122-3126, 2017.

WU, G. D. et al. Sampling and pyrosequencing methods for characterizing bacterial communities in the human gut using 16S sequence tags. **BMC Microbiology**, vol. 10, p. 206-220, 2010.

YANG, Z.; SCOTT, C. A.; MAO, C.; TANG, J.; FARMER, A. J. Resistance exercise versus aerobic exercise for type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. **Sports Medicine**, vol. 44, n. 4, p. 487-499, 2014.

YANG, J.; ROSE, D. J. Long-term dietary pattern of fecal donor correlates with butyrate production and markers of protein fermentation during in vitro fecal fermentation. **Nutrition Research**, vol. 34, p. 749-759, 2014.

YANG, T. et al. Gut microbiota dysbiosis is linked to hypertension. **Hypertension**, vol. 65, n. 6, p. 1331-1340, 2015.

YOON, S. et al. Bile salt hydrolase-mediated inhibitory effect of *Bacteroides ovatus* on growth of *Clostridium difficile*. **Journal of Microbiology**, vol. 55, n. 11, p. 892-899, 2017.

YU, L. C-H. et al. Enteric dysbiosis promotes antibiotic-resistant bacterial infection: systemic dissemination of resistant and commensal bacteria through epithelial transcytosis. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**, vol. 30, n. 8, p. G824-G835, 2014.

ZHAO, W. et al. The dynamic distribution of porcine microbiota across different ages and gastrointestinal tract segments. **PLoS One**, vol. 10, n. 2, p. e0117441, 2015.

ZHAO, L. et al. Gut bacteria selectively promoted by dietary fibers alleviate type 2 diabetes. **Science**, vol. 359, p. 1151–1156, 2018a.

ZHAO, Z.; ZHANG, Z.; HU, B.; HUANG, W.; YUAN, C.; ZOU, L. Response of gut microbiota to metabolite changes induced by endurance exercise. **Frontiers in Microbiology**, vol. 9, p. 765-776, 2018b.

ANEXO 1

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
 ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTE
 LABORATÓRIO DE NUTRIÇÃO E METABOLISMO APLICADOS À ATIVIDADE MOTORA



PROJETO:

Efeito treinamento físico aeróbio sobre a microbiota intestinal de humanos: um estudo exploratório.

Instruções:

* **Obrigado por aceitar participar desta pesquisa!** Marque o quadrado respectivo à pergunta em cada questão ou responda no espaço aberto, quando necessário;

* Não precisa preencher os itens que vão de 6 a 13;

* **Todas as informações serão mantidas confidenciais.**

Data da Entrevista:

IDENTIFICAÇÃO

Código:

1) Nome:

2) Telefone:

3) Data de Nascimento:

4) Peso Atual: _____ Kg **5) Altura Atual:** _____ cm

Informações de Composição Corporal (Não responder, seguir para a questão 14):

6) IMC: _____ kg/m² **7) Fat:** _____ % **8) Free Fat:** _____ %
 _____ Kg

9) TMB _____ **NEE** _____ **10) Massa Corporal:** _____ Kg

11) Volume Corp: _____ L **12) Densidade Corp:** _____ Kg/L

13) Volume GT: _____ LL

14) Frequência fecal: Diário 1x/dia Diário 2 ou mais vezes/dia
 5 a 6 vezes/semana Alternado dia sim, dia não 1 a 2x/semana <
 1x/semana

15) Último uso de antibiótico: ≥ 6 meses menos de 6 meses

16) Último uso de laxante: ≥ 6 meses menos de 6 meses

17) Usa algum tipo de medicamento ou suplemento de forma contínua/controlada nos últimos 3 meses? Sim Não Se sim, qual?

18) Faz uso de probióticos ou prebióticos? Sim Não
 Se sim, qual a marca e a frequência de uso?

19) Fuma cigarro? Sim Não

Se sim, qual a frequência (média de cigarros por dia e quantos dias por semanas ou mês)? _____

20) Bebe (álcool)? Sim Não

Se sim, qual a frequência (dias por semana)? _____

21) Apresenta intolerância ou alergia alimentar? Sim Não

Se sim, qual? _____

22) Histórico de doenças: (Marque X só se você apresenta alguma dessas doenças abaixo)

Doença de Crohn Câncer de Cólon Câncer do trato gastrointestinal
 Colitis Doença inflamatória intestinal Diabetes tipo 1 ou 2
 Eczema tópica ou dermatite Autismo Síndrome do intestino curto ou
 irritável
 Hipertensão Arterial Gordura no fígado Outra Qual?

23) Você mora com quantas pessoas na mesma casa (incluindo você)?

24) Você viajou para fora do país alguma neste último ano? Sim Não
 Se sim, quantas vezes? _____ Se sim, por quanto tempo ficou fora?

25) Qual foi o seu tipo de parto? Parto Normal Parto Cesáreo Não sei

26) Recebeu aleitamento materno após o nascimento? Sim Não
 Se sim, por quanto tempo (em média)? _____

27) É vegetariano ou segue algum tipo de dieta (dieta da proteína, paleo, etc)? Sim
 Não

Se sim, qual: _____

28) Quantas horas você dorme por noite, em média no último mês?

29) Como você classificaria seu sono da noite, em geral no último mês?

Muito bom Bom Média Ruim

30) Como você define seu nível de stress do seu dia-a-dia no último mês?

Muito alto Alto Mediano Baixo Muito baixo

ANEXO 2

Quadro 2 – Sumário de estudos que investigaram o efeito do treinamento físico sobre a composição da microbiota intestinal em animais.

Referência	Exercício/ Duração	População/ Grupos	Resultados
Matsumoto <i>et al.</i> (2008)	Exercício voluntário; 5 sem	Animais: Ex X Sed	↑ [n-butirato] no ceco e ↑ bactérias produtoras de butirato apenas no Ex.
Choi <i>et al.</i> (2013)	Exercício voluntário; 5 sem	Animais: Ex X Sed em modelo com poluente (PCB)	↑ filo Proteobacteria no grupo Sed após PCB; grupo Ex apresentou menor aumento deste filo e foi positivamente correlacionado com diversidade da MI.
Queipo-Ortuño <i>et al.</i> (2013)	Exercício voluntário; 6 dias	Animais: Ex X Sed em modelo de RC	Ex sem RC: ↑ gêneros <i>Bifidobacterium</i> e <i>Lactobacillus</i> , grupo produtor de butirato <i>B. coccoides-E. rectale</i> e riqueza microbiana ≠ do Sed e EX com RC.
Evans <i>et al.</i> (2014)	Exercício voluntário; 12 sem	Animais: Ex X Sed em modelo de dieta LFD e HFD	↑ filo Bacteroidetes e ↓ Firmicutes, ↑ famílias <i>Lachnospiraceae</i> e <i>Ruminococcaceae</i> e ↓ <i>Lactobacillaceae</i> em ambos os grupos Ex LFD e HFD; ↓ filo Actinobacteria no Ex LFD; ↑ β-diversidade no EX HFD (≠).
Kang <i>et al.</i> (2014)	Exercício aeróbio MOD; 16 sem	Animais: Ex X Sed em modelo de dieta ND e HFD	↑ filo Firmicutes, ↓ Bacteroidetes e ↓ Tenericutes e o gênero <i>Streptococcus</i> em ambos os grupos Ex ND e HFD; o perfil microbiano (<i>clusters</i>) mudou em resposta à dieta e exercício, mostrando-se ≠ entre os 4 grupos.
Petriz <i>et al.</i> (2014)	Exercício aeróbio MOD; 4 sem	Animais: Grupo Ex (basal e PI) em modelo de doenças (controle,	No Ex PI: ↓ <i>Streptococcus</i> no controle; ↑ gêneros <i>Allobaculum</i> e ↓ <i>Aggregatibacter</i> e <i>Suturella</i> nos hipertensivos; ↑ Firmicutes, gêneros <i>Pseudomonas</i> e <i>Lactobacillus</i> e as espécies

		hipertensão e obesidade)	<i>Bifidobacterium animalis</i> e <i>Ruminococcus gnavus</i> nos obesos; ↑ α -diversidade nos 3 modelos, porém perfil microbiano \neq nos obesos no Ex PI.
Lambert <i>et al.</i> (2015)	Exercício aeróbio LIT; 6 sem	Animais: Ex X Sed com e sem diabetes tipo 2	↑ filo Firmicutes, ↑ espécies <i>Lactobacillus spp.</i> e o <i>Clostridium</i> cluster IV e ↓ <i>Bacteroides/Prevotella</i> e espécies <i>Methanobrevibacter spp.</i> nos dois grupos de Ex; ↑ espécies <i>Bifidobacterium spp.</i> apenas no Ex controle.
Liu <i>et al.</i> (2015)	Exercício voluntário; 11 sem	Animais (fêmeas Ovariectomizadas): Ex X Sed em modelo LCR e HCR, ambos com HFD	↓ filo Firmicutes, ↑ Proteobacteria e Cianobacteria, ↓ famílias <i>Ruminococcaceae</i> e <i>Lachnospiraceae</i> no Ex LCR, o contrário aconteceu no Ex HCR; ↑ família <i>Clostridiaceae</i> e gênero <i>Clostridium</i> nos dois grupos Ex.
Mika <i>et al.</i> (2015)	Exercício voluntário; 6 sem	Animais: Ex X Sed; Jovens X Adultos	As mudanças causadas pelo exercício foram maiores no grupo Ex jovem, com ↑ filo Bacteroidetes e ↓ filios Firmicutes e Proteobacteria, as quais permanecerem por 25 dias após interrupção do Ex.
Campbell <i>et al.</i> (2016)	Exercício voluntário; 12 sem	Animais: Ex X Sed em modelo de dieta ND e HFD	↑ ordem <i>Clostridiales</i> e família <i>Lachnospiraceae</i> nos grupos Ex; ↑ espécies <i>Allobaculum spp.</i> e <i>Clostridium spp.</i> no Ex ND; ↑ espécie <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> apenas nos grupos Ex.
Welly <i>et al.</i> (2016)	Exercício voluntário; 8 sem	Animais: Ex X Sed em modelo de HFD e RC	Houve \neq na β -diversidade entre Sed HFD e Ex HFD sem \neq na α -diversidade; ↓ filo Bacteroidetes nos grupos Ex; ↑ família <i>Streptococcaceae</i> e o gênero <i>Streptococcus</i> e ↓ <i>Rikenellaceae</i> no Ex HFD, mas não no Ex RC.
Denou <i>et al.</i> (2016)	Exercício aeróbio HIIT; 6 sem	Animais: Ex X Sed em modelo de dieta ND e HFD	↑ α -diversidade microbiana nos grupos Ex; ↑ filios Bacteroidetes, Actinobacteria, as ordens <i>Bacteroidales</i> e <i>Dorea</i> e o gênero

			<i>Lactobacillus</i> nos grupos Ex, ≠ do Sed ND e HFD.
Batacan <i>et al.</i> (2017)	Exercício aeróbio controlado 12 sem	Animais: Controle X Sed X HIIT X LIT em modelo de dieta ND e HFFD	Tanto HIIT quanto LIT provocaram mais mudanças nos grupos ND (≠ apenas na β-diversidade); ↑ filós Tenericutes e Actinobacteria e ↑ famílias <i>Bifidobacteriaceae</i> e <i>Coriobacteriaceae</i> e ↑ espécie <i>Lactobacillus johnsonii</i> no LIT ND; ↑ Firmicutes no HIIT independentemente da dieta; ↑ da espécie <i>Roseburia intestinalis</i> no HIIT em comparação ao Sed; ↑ família <i>Erysipelotrichaceae</i> , <i>Clostridiaceae</i> e ↑ espécies de <i>Clostridium</i> no HIIT e LIT HFFD; ↑ família <i>Lachnospiraceae</i> no HIIT ND.
Lamourex <i>et al.</i> (2017)	Exercício aeróbio; 8 sem	Animais: Ex voluntário X Ex controlado MOD X Sed	α e β-diversidade = entre os grupos. ↑ filo Bacteroidetes e famílias S24-7, <i>Bacteroidaceae</i> e <i>Rikenellaceae</i> no grupo Ex voluntário. ↑ filo Firmicutes e ordem <i>Clostridiales</i> no grupo Ex controlado e ↓ gêneros <i>Lactobacillus</i> , <i>Bacteroides</i> e <i>Ruminococcus</i> neste grupo em comparação ao Sed.
Liu <i>et al.</i> (2017a)	Exercício aeróbio; 4 sem	Animais: Ex X Sed	↑ β-diversidade no grupo Ex; ↑ família <i>Erysipelotrichaceae</i> e gêneros <i>Butyricimonas</i> , <i>Prevotella</i> e <i>Akkermansia</i> no grupo Ex.

Legenda: n: número total de animais estudado; sem: semana; Ex: Exercício/Exercitado; Sed: Sedentário/baixo nível de atividade física; []: concentração; ↑: aumento; ↓ redução; ≠: diferente ($p < 0.05$); =: semelhante; PCB: Bifenilos Policlorados; MOD: exercício de moderada intensidade calculado a partir do VO_2 pico ou frequência cardíaca; PI: pós-intervenção; LIT: treino de baixa intensidade; HIIT: treino intervalado de alta intensidade; RC: restrição calórica; LFD: dieta com baixo teor de gordura; ND: dieta com distribuição normal de macronutrientes; HFD: dieta com alto teor de gordura; HFFD: dieta com alto teor de gordura e de frutose; LCR: baixa capacidade aeróbia; HCR: alta capacidade aeróbia; AGCC: ácidos graxos de cadeia curta.

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Metabolismo Intestinal, microbiota e exercício físico em humanos: um estudo exploratório

Pesquisador: Antonio Herbert Lancha Jr

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 44600215.2.0000.5391

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE DE SAO PAULO

Patrocinador Principal: FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.107.762

Data da Relatoria: 25/06/2015

Apresentação do Projeto:

Trata-se do 3º. relato do Projeto.

A apresentação do projeto foi documentada em relatos anteriores.

Objetivo da Pesquisa:

- 1) Verificar se o exercício (moderado, agudo, crônico, intenso) altera a microbiota intestinal e o metabolismo de células colônicas em humanos, em indivíduos sedentários, em vários cenários de exercício físico (agudo, crônico, aeróbio, intermitente).
- 2) Verificar como a possível mudança na microbiota intestinal ocorrida com o exercício agudo, crônico, aeróbico ou intermitente se relaciona com a composição corporal, marcadores inflamatórios e a imunidade ao longo do tempo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Já apresentado em relatos anteriores.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Nada a acrescentar.

Endereço: Av. Profº Mello Moraes, 65

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 05.508-030

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3091-3097

Fax: (11)3812-4141

E-mail: cep39@usp.br

ESCOLA DE EDUCAÇÃO
FÍSICA E ESPORTE DA
UNIVERSIDADE DE SÃO



Continuação do Parecer: 1.107.762

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Conforme solicitado em parecer anterior, foi incluído no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido oficial do CEP, o parágrafo referente ao ressarcimento pela participação no estudo, no item IV de esclarecimentos dados pelo pesquisador. Este documento foi anexado na Plataforma Brasil pelo pesquisador responsável em 15/6/2015.

Recomendações:

Pela aprovação do protocolo.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Nada a acrescentar.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

SAO PAULO, 15 de Junho de 2015

Assinado por:
Edilamar Menezes de Oliveira
(Coordenador)

Endereço: Av. Profº Mello Moraes, 65

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 05.508-030

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3091-3097

Fax: (11)3812-4141

E-mail: cep39@usp.br



Universidade de São Paulo
Escola de Educação Física e Esporte

Documento sem validade oficial

FICHA DO ALUNO

39135 - 9674986/1 - Ayane de Sá Resende

Email: ayanesa@usp.br
Data de Nascimento: 01/05/1992
Cédula de Identidade: RG - 3.363.961-2 - SE
Local de Nascimento: Estado de Sergipe
Nacionalidade: Brasileira
Graduação: Bacharela em Nutrição - Universidade Federal de Sergipe - Sergipe - Brasil - 2014

Curso: Mestrado
Programa: Educação Física e Esporte
Área: Estudos Biotômicos da Educação Física e Esporte
Data de Matrícula: 28/01/2016
Início da Contagem de Prazo: 28/01/2016
Data Limite para o Depósito: 28/01/2019
Orientador: Prof(a). Dr(a). Antonio Herbert Lancha Junior - 28/01/2016 até o presente. Email: lanchajr@usp.br
Proficiência em Línguas: Inglês, Aprovado em 26/01/2016
Data de Aprovação no Exame de Qualificação: Aprovado em 23/08/2017
Data do Depósito do Trabalho:
Título do Trabalho:
Data Máxima para Aprovação da Banca:
Data de Aprovação da Banca:
Data Máxima para Defesa:
Data da Defesa:
Resultado da Defesa:
Histórico de Ocorrências: Primeira Matrícula em 28/01/2016

Aluno matriculado no Regimento da Pós-Graduação USP (Resolução nº 6542 em vigor de 20/04/2013 até 28/03/2018).

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 16/07/2018

Impresso em: 24/01/2019 14:01:16



Universidade de São Paulo
Escola de Educação Física e Esporte
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

39135 - 9674986/1 - Ayane de Sá Resende

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
MCM5860-3/4	Bioestatística I (Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo)	01/03/2016	11/04/2016	90	0	-	-	N	Pré-matricula indeferida
EFP5757-5/1	Docência no Ensino Superior em Educação Física e Esporte	02/03/2016	15/06/2016	90	6	95	A	N	Concluída
FBA5752-1/3	Probióticos em Alimentos e Suas Implicações na Saúde Humana (Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo)	05/04/2016	16/05/2016	60	4	91	A	N	Concluída
EFP5773-1/2	Aplicações e Implicações de Conceitos de Estatística nos Estudos da Educação Física e Esporte	10/08/2016	09/11/2016	90	6	85	A	N	Concluída
BIF5794-1/1	Sinalização Celular (Instituto de Biociências - Universidade de São Paulo)	13/09/2016	21/11/2016	60	4	90	A	N	Concluída
FBA5753-1/2	Nutrigenômica e Programação das Doenças Crônicas Não-Transmissíveis (Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo)	26/09/2016	02/10/2016	30	0	-	-	N	Matrícula cancelada
FBA5712-6/3	Fisiologia da Nutrição I (Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo)	02/03/2017	12/04/2017	90	6	90	A	N	Concluída
FLM5577-1/1	Redação Científica em Inglês com Foco na Publicação Internacional: do Texto ao Contexto (Faculdade de Filosofia, Letras e Ciências Humanas - Universidade de São Paulo)	16/03/2017	17/05/2017	90	6	100	A	N	Concluída
EFE5748-3/1	Modelos Estatísticos de Medidas Repetidas Aplicadas à Educação Física	20/03/2017	28/05/2017	90	6	100	A	N	Concluída
TNM5791-3/3	Metodologia da Pesquisa Científica (Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - Universidade de São Paulo)	30/05/2017	21/08/2017	60	0	-	-	N	Matrícula cancelada
EFE5758-2/1	Metodologia da Pesquisa Quantitativa	14/08/2017	26/11/2017	120	8	80	A	N	Concluída
EFP5769-3/2	Caracterização Acadêmica e Profissional da Educação Física e Esporte	04/09/2017	12/11/2017	90	6	80	A	N	Concluída
FBA5906-2/1	Análise de Dados de Microbioma (Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo)	26/02/2018	08/04/2018	90	6	100	A	N	Concluída

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito da dissertação	
Disciplinas:	0	40	58
Estágios:			
Total:	0	40	58

Créditos Atribuídos à Dissertação: 56

Conceito a partir de 02/01/1997:

A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.
 Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 16/07/2018

Impresso em: 24/01/2019 14:01:16



RELATÓRIO DE ATIVIDADES PARA SOLICITAÇÃO DE DEFESA DO MESTRADO

1. IDENTIFICAÇÃO

Aluno: Ayane de Sá Resende

Nº USP: 9674986

Área: Biodinâmica do Movimento do Corpo Humano

Nível: Mestrado

E-mail: ayanesa@usp.br

Orientador: Prof. Dr. Antonio Herbert Lancha Junior

Data de ingresso: 28/01/2016

Data da solicitação: 28/01/2018

2. DISCIPLINAS CURSADAS

SIGLA	NOME DA DISCIPLINA	INÍCIO	TÉRMINO	SITUAÇÃO
EFP5757- 5/1	Docência no Ensino Superior em Educação Física e Esporte	02/03/2016	15/06/2016	Concluída
FBA5752- 1/3	Probióticos em Alimentos e Suas Implicações na Saúde Humana	05/04/2016	16/05/2016	Concluída
EFP5773- 1/2	Aplicações e Implicações de Conceitos de Estatística nos Estudos da Educação Física e Esporte	10/08/2016	09/11/2016	Concluída
BIF5794- 1/1	Sinalização Celular	13/09/2016	21/11/2016	Concluída
FBA5712- 6/3	Fisiologia da Nutrição I	02/03/2017	12/04/2017	Concluída
FLM5577- 1/1	Redação Científica em Inglês com Foco na Publicação Internacional: do Texto ao Contexto	16/03/2017	17/05/2017	Concluída



EFE5748- 3/1	Modelos Estatísticos de Medidas Repetidas Aplicadas à Educação Física	20/03/2017	28/05/2017	Concluída
EFE5758- 2/1	Metodologia da Pesquisa Quantitativa	14/08/2017	26/11/2017	Concluída
EFP5769- 3/2	Caracterização Acadêmica e Profissional da Educação Física e Esporte	04/09/2017	12/11/2017	Concluída
FBA5906- 2/1	Análise de Dados de Microbioma	26/02/2018	08/04/2018	Concluída

Créditos mínimos exigidos: 40

Créditos obtidos: 58

3. AVALIAÇÃO DAS DISCIPLINAS CURSADAS

3.1 Docência no Ensino Superior em Educação Física e Esporte

Disciplina oferecida pela Escola de Educação Física e Esporte

Docentes responsáveis: Edison de Jesus Manoel

A disciplina envolveu aulas reflexivas, expositivas e instigadoras. Havia sempre participação ativa dos alunos, seja por meio de trabalhos em grupos ou por discussões em sala de aula. A disciplina não somente cumpriu seu objetivo com relação ao conteúdo da aula, como também abordou reflexões acerca do ambiente acadêmico e do papel do docente na universidade. O método de avaliação abrangeu uma prova escrita, algumas tarefas realizadas em casa e alguns trabalhos em grupos realizados em casa e na sala de aula. Ao meu ver, foram suficientes para ampliar meu conhecimento e minha curiosidade, além de promover uma maior integração entre os alunos na sala de aula.



3.2 Probióticos em Alimentos e Suas Implicações na Saúde Humana

Disciplina oferecida pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Docente responsável: Susana Marta Isay Saad e Raquel Bedani

O objetivo da disciplina foi oferecer aos alunos a oportunidade de aprofundar o conhecimento dos diversos aspectos relacionados à suplementação de probióticos e sua atuação na saúde humana. Foram sorteados artigos entre os alunos para serem apresentados no formato de seminário, a fim de promover discussão em sala de aula. Como avaliação final, os alunos deveriam ministrar uma aula sobre algum assunto referente à temática da disciplina, além de entregar a versão escrita em formato de artigo de revisão. Eu apresentei uma aula sobre a suplementação de probióticos sobre parâmetros de saúde imunológica em idosos. Essa disciplina me trouxe perspectivas para minha área de pesquisa e pude aprender muito com as aulas e discussões. Além disso, as professoras participavam ativamente das aulas, discutindo e explicando sobre os assuntos abordados. A turma da disciplina foi reduzida, o que proporcionou uma boa integração da mesma.

3.3 Aplicações e Implicações de Conceitos de Estatística nos Estudos da Educação Física e Esporte

Disciplina oferecida pela Escola de Educação Física

Docentes responsáveis: Luciano Basso

Tratou-se de uma disciplina interessante com destaque para discussão dos conceitos básicos de Estatística. De certa forma, o conteúdo da mesma não foi inteiramente original para mim porque já eu conhecia alguns conceitos, no entanto, foi muito importante para que eu pudesse relembrar e tornar a estudar estes conceitos básicos essenciais para melhor compreender a Estatística. No entanto, algumas aulas eram bem reflexivas, básicas e teóricas e talvez isso tenha dificultado um melhor aprendizado da minha parte com relação à prática, uma vez que alguns dados do meu projeto necessitam de uma estatística um pouco mais rebuscada. Contudo, o professor Luciano apresenta uma boa didática e esteve disponível para dúvidas.



3.4 Sinalização Celular

Disciplina oferecida pela Instituto de Biociências

Docentes responsáveis: Ana Maria de Lauro Castrucci

Apesar de não ter relação direta com meu projeto de pesquisa, essa disciplina foi essencial para mim. A turma era reduzida, então sempre havia boas discussões nas aulas. Os temas das aulas foram sorteados entre os alunos, então cada aluno ficou responsável por apresentar uma aula e, ao final, elaborar 3 perguntas sobre o tema para promover discussão. As tarefas para casa contribuíram para as discussões em aula. Essas discussões eram muito interessantes, uma vez que os alunos eram de departamentos e áreas de pesquisa diferentes e acrescentavam detalhes enriquecendo a discussão em sala. O método de avaliação se baseou nas tarefas de casa, artigos, discussões em aula e apresentação do seminário. Além disso, a professora e a monitora participavam ativamente das aulas e estavam sempre disponíveis para dúvidas.

3.5 Fisiologia da Nutrição I

Disciplina oferecida pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Docentes responsáveis: Fernando Salvador Moreno

Pelo fato de eu ser nutricionista, houve um grande interesse da minha parte em aprofundar meus conhecimentos nessa área, uma vez que futuramente estarei atuando como docente. Mas essa aula me surpreendeu. Os assuntos abordados foram bem divididos e bem discutidos ao longo do período da disciplina. Os alunos eram responsáveis por criar uma discussão sobre um artigo original e, em seguida, dar uma aula sobre o assunto previamente sorteado. As aulas foram recheadas de discussões bem produtivas e foi possível aprender bastante com elas. O professor e mais uma aluna de monitoria contribuíram muito com meu



aprendizado, pois eles também apresentaram algumas aulas, participaram ativamente das apresentações dos alunos e promoveram discussões importantes acerca dos temas.

3.6 Redação Científica em Inglês com Foco na Publicação Internacional: do Texto ao Contexto

Disciplina oferecida pela Faculdade de Filosofia, Letras e Ciências Humanas

Docentes responsáveis: Marília Mendes Ferreira

O meu interesse por essa disciplina se deu pelo fato de nós, universitários brasileiros, termos poucos incentivos e condições para aprender de fato a escrita inglesa. Apesar de ser um processo que requer mais tempo e mais prática, junto com o contato que já tenho através dos artigos que leio, essa disciplina contribuiu para o meu desenvolvimento na escrita em inglês. A professora teve uma boa didática e as aulas eram ministradas em inglês. A professora passou algumas tarefas ao longo da disciplina e a avaliação final era feita com base em um texto que cada aluno tinha que escrever em inglês. Tive a possibilidade de fazer reuniões com monitores do departamento, a fim de tirar dúvidas e obter ajuda na escrita.

3.7 Modelos Estatísticos de Medidas Repetidas Aplicadas à Educação Física

Disciplina oferecida pela Escola de Educação Física e Esporte

Docentes responsáveis: Carlos Ugrinowitsch

Essa disciplina foi importante para mim, uma vez que eu já tinha conhecimento sobre alguns conceitos básicos, porém sentia ainda muita dificuldade em interpretar gráficos, tabelas, resultados e métodos de artigos, além de mexer com *softwares*. O conteúdo da disciplina era complexo e se baseava no funcionamento do *software* SAS. A partir dessa disciplina comecei a rodar alguns dados do meu projeto sozinha e com uma capacidade de entendimento maior ao final da disciplina do que quando comecei. O professor também apresentou uma ótima didática e as tarefas para casa foram essenciais para manter a prática e o estudo acerca do assunto.

3.8 Metodologia da Pesquisa Quantitativa



Disciplina oferecida pela Escola de Educação Física e Esporte

Docentes responsáveis: Carlos Ugrinowitsch

Essa disciplina foi fundamental para esclarecer e aprofundar os conhecimentos acerca da pesquisa científica e seus paradigmas em termos filosóficos e metodológicos. A turma era bem interativa e o professor proporcionava discussões acerca dos projetos e desenhos experimentais dos alunos. A escrita também foi bastante trabalhada em aula através de tarefas para casa e em sala de aula. Além disso, o professor investiu algumas de suas aulas em jogos em grupos e práticas a fim de colocar em prática as discussões e leituras das aulas. Considero que foi uma disciplina muito boa.

3.9 Caracterização Acadêmica e Profissional da Educação Física e Esporte

Disciplina oferecida pela Escola de Educação Física e Esporte

Docentes responsáveis: Go Tani

A disciplina se baseou principalmente em discussões entre o professor e a turma. Em cada aula era abordado um tema específico, o qual era apresentado por um grupo de alunos, em seguida o professor reforçava a temática e, após, a turma também participava das discussões. Os assuntos discutidos em aula abordavam diversas temáticas que se relacionam com a posição do docente no cenário atual em termos de pesquisa, ensino e extensão. Apesar de eu ser nutricionista, envolvi-me bastante com as temáticas uma vez que tais discussões também são comuns na prática do profissional nutricionista, principalmente, no âmbito acadêmico.

3.10 Análise de Dados de Microbioma

Disciplina oferecida pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Docentes responsáveis: Christian Hoffmann

Pensando principalmente no meu aprofundamento em termos de análises das amostras do meu projeto, esta disciplina foi de grande valia. Nela pude conhecer formas de análise de



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTE



dados do microbioma através do seu sequenciamento, preparação e tratamento dos dados brutos até se chegar à classificação dos microrganismos presentes nas amostras de fezes. Elaborei um trabalho em formato de artigo científico testando algumas hipóteses sobre atividade física e composição da microbiota intestinal, uma vez que ainda não tinha os dados do meu projeto em mãos. Esta atividade ajudou na prática e na escrita do meu projeto. Apesar de serem assuntos complexos dentro do campo da bioinformática, bioestatística e microbioma abordados em curto prazo, foi uma excelente disciplina.



4. OUTRAS ATIVIDADES VINCULADAS AO PROGRAMA

4.1 Estágio do PAE (Programa de Aperfeiçoamento de Ensino):

O estágio foi realizado na disciplina de graduação Nutrição e Atividade Motora, a qual foi ministrada pelo professor Hamilton Roschel. No estágio pude ministrar uma sobre “Vitaminas e minerais” e uma mini-aula sobre “Aplicação de recordatórios alimentar”, além de participar ativamente das discussões e da elaboração das tarefas e provas da disciplina. Foi um aprendizado fundamental para trilhar a carreira de docência.

4.2 Escrita e publicação de artigos científicos, resumos e capítulo de livro:

4.2.1 Artigo original intitulado como: "Dissatisfaction-related food behavior is associated with a risk of eating disorders in physically active women". Primeira autora. Ano: 2017. Publicado na revista *Nutrición Clínica y Dietética Hospitalaria*.

4.2.2 Artigo original intitulado como: “Prevalência de hipertensão arterial e avaliação da ingestão de sódio em uma Unidade de Alimentação e Nutrição do estado de Sergipe/Brasil”. Segunda autora. Ano: 2017. Publicado na Revista da Associação Brasileira de Nutrição (RASBRAN).

4.2.3 Artigo de revisão intitulado como: “Exercise, Nutrition and Gut microbiota: possible links and consequences”. Terceira autora. Ano: 2017. Publicado na revista *International Journal of Sports and Exercise Medicine*.

4.2.4 Artigo de revisão intitulado como: “Colon epithelial cells luminal environment and physiopathological consequences: impact of nutrition and exercise”. Segunda autora. Ano: 2017. Publicado na revista *Nutrire*.

4.2.5 Artigo de revisão intitulado como: “Probiotics and sports: is it a new magic bullet?”. Segunda autora. Ano: 2018. Publicado na revista *Nutrition*.



4.2.6 Artigo de revisão intitulado como: “An overview of nutritional strategies for recovery process in sports-related muscle injuries”. Segunda autora. Ano: 2018. Publicado na revista *Nutrire*.

4.2.7 Artigo de revisão intitulado como: “Gut microbiota and diabetes”. Terceira autora. Ano: 2018. Em processo de submissão na revista *Canadian Journal of Diabetes*.

4.2.8 Capítulo de livro intitulado como: “Microbiota intestinal e probióticos: aplicabilidade para praticantes de exercício físico e atletas”. Livro: *Suplementação nutricional no esporte*. Grupo GEN (Grupo Editorial Nacional). Ano: 2018.

4.2.9 Capítulo de livro intitulado como: “Microbiota intestinal”. Livro: *Nutrição – do exercício físico ao esporte da Série Sban*. Editora Manole. Ano: 2018.

4.2.10 Resumo de congresso intitulado como: “30 days of probiotics supplementation: The effect upon athletes immunity after a marathon race”. 4ª autora. Local: American College of Sports Medicine, Minneapolis. Ano: 2018. Sessão: *Ergogenic Aids VI - Other. Medicine & Science in Sports & Exercise*, 2018. v. 50. p. S605-S605.

4.2.11 Resumo de congresso intitulado como: “Alterations of Mood and gastrointestinal symptoms in marathon athletes after probiotic supplementation”. 5ª autora. Local: American College of Sports Medicine, Minneapolis. Ano: 2019. Sessão: *Ergogenic Aids VI - Other. Medicine & Science in Sports & Exercise*, 2019. Aceito para apresentação oral.

4.3 Participação em cursos, apresentação de trabalhos e exposição de aulas:

4.3.1 Participação do I Simpósio de Pesquisa da Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo (EEFE-USP) em 2016;

4.3.2 Participação do IV Ciclo de Conferências em Educação Física e Esporte com a palestra “Microbiota e exercício físico” (EEFE-USP) em 2016;

4.3.3 Participação do 3º Simpósio Internacional intitulado “The 3rd Prof. Eric A. Newsholme Research Symposium – Metabolic Regulation” no Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (ICB-USP) em 2016;



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTE



4.3.4 Participação do workshop de Publicação Científica da American Journal Experts (AJE) na Faculdade de Economia, Administração e Contabilidade da Universidade de São Paulo (FEA-USP) em 2016;

4.3.5 Participação do workshop Scientific of Writing, Presenting and Evaluating no Instituto de Química da Universidade de São Paulo (IQ-USP) em 2016;

4.3.6 Participação do I Encontro de Bioenergética Aplicada ao Esporte e ao Exercício Físico na Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo (EEFE-USP) EM 2016;

4.3.7 Participação do “Curso de Coletas de Materiais Biológico (teórico e prático)” pelo Instituto Biomédico de Aprimoramento Profissional (IBAP) em 2017;

4.3.8 Participação da comissão organizadora do Simpósio Internacional sobre Exercício Físico, Saúde e Microbiota Intestinal (EEFE-USP) em 2016;

4.3.9 Participação como moderadora da Sessão II: “The role of gut microbiota on diseases” no Simpósio Internacional sobre Exercício Físico, Saúde e Microbiota Intestinal (EEFE-USP) (2016);

4.3.10 Exposição da aula teórica e prática intitulada “Alimentação, microbiota intestinal e metabolismo energético” no Curso de Verão da Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo (EEFE-USP) em 2016;

4.3.11 Exposição da aula teórica e prática intitulada “Suplementação nutricional, atividade física e microbiota intestinal” no Curso de Verão da Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo (EEFE-USP) em 2017;

4.3.12 Exposição da aula teórica intitulada "Digestão e Absorção de Proteínas" na disciplina Fisiologia da Nutrição I na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP) em 2017;

4.3.13 Participação do Seminário Internacional de Nutrição Esportiva no Centro Universitário São Camilo em 2017;

4.3.14 Participação do V Ciclo de Conferências em Educação Física e Esporte com a palestra “Sport, ethics and education” (EEFE-USP) em 2017;



4.3.15 Participação do V Ciclo de Conferências em Educação Física e Esporte com a palestra “Exercício e mitocôndria” (EEFE-USP) em 2017;

4.3.16 Exposição da aula teórica intitulada “Aspectos gerais da microbiota intestinal” no Curso de Verão da Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo (EEFE-USP) em 2018;

4.3.17 Exposição da aula teórica intitulada “Microbiota intestinal e exercício físico” no Curso de Verão da Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo (EEFE-USP) em 2018;

4.3.18 Exposição da aula teórica intitulada “Perda rápida de peso no emagrecimento e no esporte” no Curso de Especialização em Nutrição Aplicado ao Exercício Físico da Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo (EEFE-USP) em 2018;

4.3.19 Exposição da aula teórica intitulada “Microbiota intestinal, aspectos gerais e relação com o exercício físico” no Curso de Especialização em Nutrição Aplicado ao Exercício Físico da Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo (EEFE-USP) em 2018;

4.3.20 Exposição da aula teórica intitulada “Microbiota intestinal, aspectos gerais e relação com o exercício físico” no Curso de Especialização em Nutrição Aplicado ao Exercício Físico da Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo (EEFE-USP) em 2018;

4.3.21 Participação da comissão organizadora do evento “Meeting de Saúde Intestinal: aspectos nutricionais e do exercício físico” (EEFE-USP) em 2018;

4.3.22 Exposição de aula em formato de palestra intitulada “Papel da alimentação e da atividade física na constipação” no Meeting de Saúde Intestinal: Aspectos nutricionais e do exercício físico (EEFE-USP) em 2018.

4.4 Participação em projetos de pesquisa:

4.4.1 Participação no projeto: “Suplementação de probióticos, atividade imunológica e período de recuperação pós-esforço extenuante”.

Pesquisador gerente: Geovana Silva Fogaça Leite

Pesquisador responsável: Antonio Herbert Lancha Junior - EEFEUSP



Participação na coleta de dados e discussão dos dados.

4.4.2 Participação no projeto: “Suplementação de citrulina no ganho de força em sujeitos fisicamente ativos”.

Pesquisador gerente: Thiago Barros

Pesquisador responsável: Daniela Caetano – UNIFESP (Campus Santos)

Participação na coleta de dados.

4.5 Outras atividades:

4.5.1 Monitoria no curso de Pós Graduação *latu sensu*:

Curso: Nutrição Aplicada ao Exercício Físico

Professores responsáveis: Antonio Herbert Lancha Junior e José Cesar Rosa Neto

4.5.2 Orientação de Trabalho de Conclusão de Curso no Curso de Especialização em Nutrição Aplicada ao Exercício Físico. Ano: 2017-2018. Temas:

4.5.2.1 “Consumo de carboidratos e sua relação com o desempenho de jogadores de futebol”. Autor: Igor Hossamu Urushibata.

4.5.2.2 “O uso de adoçantes contribui para a perda e/ou controle do peso corporal em adultos?”. Autor: Aline Lamarco.

4.5.2.3. “Jejum Intermitente, Suas Formas e Possíveis Adaptações na Perda de Peso, Perfil Lipídico e Nível de Aderência em Indivíduos Eutróficos e Obesos”. Autor: Ricardo Fausto Rancan Junior.

4.5.2.4 “Propriedades cardioprotetoras do cacau”. Autor: Fabiana Akemi Tutibachi.

4.5.2.5 “Efeito da suplementação de creatina em indivíduos vegetarianos treinados”. Autor: Mariana Neiva Rodrigues.

4.5.2.6 “Relação entre microbiota intestinal e marcadores relacionados à doenças cardiovasculares”. Autor: Deborah Lestingi.



4.5.2.7 “Ingestão de carboidratos por atletas de rúgbi, basquetebol e futebol”.

Autor: Tainá Ferreira dos Santos.

4.5.2.8 “Ingestão de proteínas e risco de sobrepeso e obesidade em crianças e adolescentes”. Autor: Renata Napchan.

4.5.2.9 “Coaching de bem-estar e saúde como ferramenta para a mudança hábitos alimentares na prevenção de doenças”. Autor: Ana Caroline Cruvinel Melo.

4.5.2.10 “Probióticos como coadjuvantes no tratamento da Artrite Reumatóide”.
Autor: Adriana Pessoa de Mello.

5. SITUAÇÃO NO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO

Dos 40 créditos exigidos em disciplinas, 20 créditos foram cumpridos ao longo do ano de 2016, 32 créditos foram cumpridos ao longo do ano de 2017 e a disciplina “Análise de dados de microbioma” contribuiu com mais 6 créditos, totalizando 58 créditos. Mesmo atingindo o limite de créditos exigidos para o mestrado, foi considerado necessário cursar outras disciplinas de interesse próprio e do projeto de mestrado.

O projeto de pesquisa o qual a aluna adentrou o programa de pós-graduação, intitulado “Efeito de 10 semanas de treinamento físico aeróbio sobre a microbiota intestinal de humanos” foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Escola de Educação Física e Esporte e pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) em 25/06/2015, sob número CAAE 44600215.2.0000.5391 (nº do parecer: 1.107.762).

Após isso, atividades relacionadas ao planejamento do projeto aconteceram desde o 1º semestre de 2016 e estas foram cumpridas como planejado. No início do 2º semestre foram conduzidos alguns testes-piloto com o objetivo de melhor caracterizar a intensidade do treinamento a qual os participantes seriam submetidos na intervenção da presente pesquisa. Logo após estes testes, iniciou-se o recrutamento dos voluntários e verificação dos critérios de elegibilidade. As coletas de dados foram concluídas no 2º semestre de 2017. O ano de 2018 foi dedicado, principalmente, às análises dos dados dos projetos, as quais incluem análises



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTE



experimentais em laboratório, tabulação e tratamento dos dados, análise estatística e escrita da dissertação. Em paralelo, foram realizadas outras atividades relacionadas à pós-graduação, aprimoramento da escrita e prática de docência as quais são detalhadas no tópico 4 do presente documento.