

RODRIGO TALLADA IBORRA

**Treinamento físico aeróbio aumenta a
capacidade antioxidante das HDL e reduz o estresse
oxidativo plasmático no diabetes melito tipo 2**

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

Área de Concentração: Fisiopatologia Experimental

Orientadora: Profa. Dra. Marisa Passarelli

São Paulo

2006

Este estudo foi realizado no Laboratório de Lípidos (LIM 10) da Disciplina de Endocrinologia e Metabologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP, com a colaboração da Unidade de Reabilitação Cardiovascular e Fisiologia do Exercício do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP.

Este projeto foi desenvolvido com verba de auxílio regular à pesquisa a M Passarelli, proveniente da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (processo 05/55249-7) e bolsa de Mestrado a R T Iborra (processo 03/02266-6).

Dedico este trabalho a meus pais, Maria Carmen e Emilio, que sempre me apoiaram em todas decisões importantes da minha vida e me confortaram nos momentos mais difíceis. Aos meus irmãos Mari, Helena e Emilio que sempre me incentivaram. À minha esposa, Renata, que me abriu os olhos para a ciência e o coração para o amor.

Agradecimentos

Agradeço em primeiro lugar à minha orientadora, Dra. Marisa Passarelli, pela ajuda, paciência, orientação e amizade nestes 4 anos de Laboratório de Lípidos.

Ao Prof. Dr. Eder Quintão por toda ajuda durante o trabalho e por nos inspirar com seu amor pela ciência.

À Dra. Edna Nakandakare por sua orientação, apoio e imprescindível ajuda na triagem e tratamento de todos os participantes do protocolo.

À Profa. Denise Alonso, pela amizade e por ter me ajudado em meus primeiros passos científicos.

Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo Negrão por ser um exemplo como cientista, educador e administrador.

À equipe de cardiologistas, professores e, em especial, aos aprimorandos (nunca me esquecerei que já fui um) da Unidade de Reabilitação Cardiovascular e Fisiologia do Exercício do InCor.

A todos os participantes do protocolo, os quais gentilmente concordaram em treinar por 18 semanas e doaram sangue para a realização deste estudo.

As Dras. Mônica Neves e Ana Charf pela ajuda, dedicação e cuidado com os pacientes.

À Dra. Marcia Bernik e ao Dr Egídio pela grande ajuda no HU.

Ao Dr. Simão Lottenberg, Dr. Ísio Schulz e Dra. Maria Elizabeth Rossi, pelo auxílio na triagem dos pacientes no HCFMUSP.

À Valéria S. Nunes e a Fabiana Ferreira pela ajuda nos testes, dosagens, coletas e tudo o que se refere ao Laboratório.

À Lila Harada por me ensinar a pipetar e extrair RNA.

À minha amiga Isabel por ter aberto as portas do exercício no laboratório.

Aos meus grandes amigos Sérgio Catanozi e Raphael Pinto, minhas amigas Adriana Machado, Jussara Rocha e Vivian Buonacorso. Muitíssimo obrigado pela amizade e ajuda.

À Rosibel Silva, por sempre manter nossos materiais e laboratório em ordem.

A Senária Eguti e Claudia de Souza pela ajuda administrativa e por sua amizade.

A todos os amigos do LIM -10, Patrícia Rios, Gabriela, Fabiana Góes, Débora, Paula, Lígia, Ana Maria, Fernanda, Patricia Cazita, Leiko, Zenaide e Flavia, que direta ou indiretamente ajudaram neste trabalho.

A todos os funcionários do LIM 12, em especial à Dra. Maria Heloísa Shimizu e aos funcionários do LIM-25, em especial à Dra. Maria Lúcia Côrrea-Gianella, pela colaboração nas análises.

À FAPESP e à Fundação Faculdade de Medicina pelo apoio financeiro, que me deu tranquilidade para realizar este trabalho da melhor maneira possível.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Iborra, Rodrigo Tallada

Treinamento físico aeróbio aumenta a capacidade antioxidante das HDL e reduz o estresse oxidativo plasmático no diabetes melito tipo 2 / Rodrigo Tallada Iborra. São Paulo, 2006.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Fisiopatologia Experimental.

Orientadora: Marisa Passarelli.

Descritores: 1.Exercício 2.Diabetes mellittus tipo II 3.Lipoproteínas do colesterol HDL 4.Estresse oxidativo

USP/FM/SBD-175/06

LISTA DE ABREVIÇÕES

ABCA-1- do inglês ATP binding cassette transporter A-1

ABTS- 2,2'-azino-diethyl benzothiazoline sulfonic acid

ApoA1- Apolipoproteína A1

ApoB- Apolipoproteína B

AMPK- do inglês AMP-activated protein kinase - AMP cíclico

ATP- do inglês Adenosine triphosphate - Adenosina tri-fosfato

CaCl₂- Cloreto de cálcio

CC- Circunferência da cintura

CETP- do inglês Cholesterol ester transfer protein - Proteína de transferência de colesterol esterificado

CO₂- Gás carbônico

CT- Colesterol total

CuSO₄- Sulfato de cobre

DM- Diabetes melito

DMSO- do inglês Dimethyl Sulfoxide - Dimetilsulfóxido

DP- Desvio padrão

DPS- Diabetes Prevention Study – Estudo de prevenção ao diabetes

ECG- Ecocardiograma

EDTA- do inglês Ethylenediaminetetraacetic acid - Ácido etilenodiaminotetracético

FC- Frequência cardíaca

FL- Fosfolipídios

Glut 4- do inglês Glucose transporter - Transportadores de glicose

Grupo C- Indivíduos saudáveis

HbA_{1c}- Hemoglobina glicada

HCl- Ácido clorídrico

HDL- do inglês High density lipoprotein - Lipoproteína de alta densidade

HDLc- HDL colesterol

IDL- do inglês Intermediate density lipoprotein - Lipoproteína de densidade intermediária

IMC- Índice de massa corporal

LA- Limiar aeróbio

LCAT- do inglês Lecithin:cholesterol acyltransferase - Enzima lecitina colesterol aciltransferase

LDL- do inglês Low density lipoprotein - Lipoproteínas de baixa densidade

LDL_c- LDL colesterol

MDA- Malonildialdeído

NEFA- do inglês Non esterified free fatty acids - Ácidos graxos livres

O₂- Oxigênio

PAF- do inglês Platelet-activating factor – Fator de ativação plaquetária

PBS- do inglês Phosphate Buffered Saline – Solução tamponada de fosfato

PCR- Ponto de compensação respiratória

PetO₂- Pressão parcial de O₂ no final da expiração

PMSF- do inglês Phenylmethylsulphonylfluoride - Fluoreto de fenil metila sulfonila

PON- Paraoxonase

QM- Quilomícrons

RER- Razão de troca respiratória

SR-BI- do inglês Scavenger receptor class B type I – Receptor scavenger classe B do tipo I

TAS- Perfil antioxidante total no plasma

TBARS- Ácido tiobarbitúrico

TCA- Ácido tricloroacético

TFA- Treinamento físico aeróbio

TG- Triglicérides

VE- Ventilação pulmonar

VLDL- do inglês Very low density lipoprotein - Lipoproteína de muito baixa densidade

VO₂- Consumo máximo de oxigênio

W- Carga máxima

RESUMO

Iborra RT. Treinamento físico aeróbio aumenta a capacidade antioxidante das HDL e reduz o estresse oxidativo plasmático no diabetes melito tipo 2 [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2006. 79 p.

Objetivo: O objetivo deste estudo foi avaliar, em pacientes portadores de diabetes melito tipo 2 (DM 2) e em indivíduos saudáveis (C), o efeito agudo e crônico do exercício físico aeróbio intenso (TFA) sobre o insulto oxidativo e defesas antioxidantes plasmáticas, bem como o reflexo sobre a habilidade das HDL₂ e HDL₃ em inibir a oxidação das LDL "in vitro". **Métodos:** O consumo máximo de oxigênio no pico de exercício (VO₂ pico) foi medido respiração a respiração, durante teste de esforço máximo, realizado antes e após as 18 sem de TFA supervisionado. Colesterol total (CT), triglicérides (TG), glicose plasmática e insulina foram determinados antes e após TFA. Também foram determinadas a concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico ("TBARS"), o perfil antioxidante total e a atividade sérica da paraoxonase-1. As HDL₂ e HDL₃ foram isoladas do plasma por ultracentrifugação em gradiente descontínuo de densidade. Para determinar o "lag time" de oxidação de LDL (LAG) e a razão máxima de formação de dienos conjugados (RDC), as HDL₂ e HDL₃, isoladas nos diferentes períodos experimentais, foram incubadas com "pool" de LDL de doadores saudáveis, na presença de CuSO₄ (10µmol/mL) a 37°C, com leitura a 234 nm, durante 4 h. CT, TG, fosfolípides e apolipoproteína A-I foram determinados nas subfrações de HDL. **Resultados:** O VO₂ pico aumentou em ambos os grupos após TFA. Não se observou variação significativa de peso, TG, HDL colesterol (HDLc), insulina e índice HOMA entre os grupos, tampouco após o treinamento físico. Antes do período de TFA, o CT e o LDL colesterol plasmáticos do grupo C foram maiores que o do grupo DM 2, diferença que não se manteve após o período de treinamento físico. HbA_{1c} e glicemia foram maiores no grupo DM 2, antes e após TFA. O TFA não alterou a HbA_{1c} no grupo DM 2. Na presença de HDL₃, o LAG foi semelhante entre os grupos antes do TFA, porém apenas no grupo DM 2 houve aumento do LAG e redução na RDC, mediante incubação com HDL₃ isolada após TFA. Na presença de HDL₂, o LAG foi menor no grupo DM 2 quando comparado ao grupo C, antes do TFA. Após TFA esta diferença desapareceu. Não houve alteração na RDC em ambos os grupos após TFA. Não houve diferença entre os grupos na composição da HDL₃ antes e após TFA. No período basal, a HDL₂ do grupo DM 2 apresentou concentrações menores de CT e livre, desaparecendo a diferença após o TFA. Após TFA, observou-se redução no "TBARS" apenas no DM 2. O TFA não alterou a atividade da paraoxonase-1 e o perfil antioxidante total no plasma em ambos os grupos. **Conclusão:** O TFA reduziu a peroxidação lipídica no plasma, corrigiu o efeito antioxidante da HDL₂ e melhorou o da HDL₃ em indivíduos portadores de DM 2. Estes eventos foram independentes de alteração na sensibilidade à insulina e da concentração e composição de HDL no plasma.

Descritores: 1. Exercício 2. Diabetes Mellitus tipo II 3. Lipoproteínas do colesterol HDL 4. Estresse oxidativo

SUMMARY

Iborra RT. Aerobic exercise training enhances the HDL antioxidant role and reduces plasma oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. [dissertation]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2006. 79 p.

Objective: The objective of this study was to analyze in type 2 diabetes mellitus (DM 2) and in healthy controls subjects (C) the role of acute and aerobic exercise training (AET) on plasma oxidative stress and antioxidant defenses as well as the HDL₂ and HDL₃ ability to inhibit the in vitro LDL oxidation. **Methods:** Peak oxygen uptake (VO₂ peak) was measured breath to breath during a maximal cardiopulmonary exercise test before (basal period) and after a 18-wk supervised AET. HDL₂ and HDL₃ isolated in both periods by discontinuous density gradient ultracentrifugation were incubated with a healthy donor's plasma LDL pool for measuring at 234 nm both the lag time for LDL oxidation (LAG) and the maximal rate of conjugated diene formation (MCD) on CuSO₄ (10 µmol/mL) at 37°C, for 4 h. Total cholesterol, triglycerides, apolipoprotein A-I and phospholipids were measured in HDL₂ and HDL₃. TBARS, total antioxidant status and paraoxonase-1 activity were determined in plasma or serum. **Results:** VO₂ peak increased similarly in C and in DM 2 after AET. In the basal period and after AET, both DM 2 and C did not differ according to TG, HDL-c, insulin and HOMA index. HbA_{1c} and glycemia were higher in DM 2 before and after AET. Before AET TC and LDL-c was lower in DM 2 than in C. After AET, TC and LDL-c was similar between C and DM 2. In the presence of HDL₃ lag time and MCD was similar in C and DM 2, but only in DM 2 AET improved lag time and reduce MCD. HDL₃ composition was similar in DM 2 and C after AET. In the presence HDL₂ lag time was lower in DM 2 than in C in the basal period, but did not differ after AET. MCD was lower in DM 2 after AET. HDL₂ had less total and free cholesterol in DM 2 than in C but differences vanished after AET. After training plasma TBARS concentration was reduced in DM 2 alone. Training did not modify the total antioxidant status and serum paraoxonase-1 activity in both groups. AET reduces lipid peroxides in plasma, corrects the HDL₂ and improves the HDL₃ antioxidant effects in DM 2 subjects. These events were independent of changes in insulin resistance and plasma HDL concentration and composition.

Descriptors: 1. Exercise 2. Diabetes Mellitus Type II 3. Lipoproteins HDL cholesterol 4. Oxidative Stress

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Exercício físico e diabete melito	1
1.2. Metabolismo das HDL	4
1.3. Exercício físico e HDL	6
1.4. Propriedade antioxidante das HDL.....	8
1.5. Exercício físico, estresse oxidativo e aterosclerose	12
2. OBJETIVO.....	16
3. MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1. Casuística	17
3.2. Teste de esforço máximo	18
3.3. Protocolo de treinamento físico	20
3.4. Obtenção das lipoproteínas.....	23
3.5. Dosagens bioquímicas	23
3.6. Efeito inibitório da HDL sobre a oxidação das LDL "in vitro"	24
3.7. Atividade sérica da paraoxonase-1 (PON-1).....	25
3.8. Medida do perfil de antioxidantes totais no plasma.....	26
3.9. Medida de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico ("TBARS")	26
3.10. Análise estatística.....	27
4. RESULTADOS	28
5. DISCUSSÃO	50
6. CONCLUSÃO.....	61
7. REFERÊNCIAS	62

1. INTRODUÇÃO

1.1. Exercício físico e diabetes melito

A prática regular de exercício físico reduz a incidência e a progressão da doença arterial coronariana. Esta ação reside na prevenção e no tratamento de fatores de risco para a doença macrovascular, como a hipertensão arterial (Fagard RH, 2001), a obesidade (Wing RR, Hill JO, 2001), a dislipidemia (Kraus WE et al., 2002) e o diabetes melito tipo 2 (DM 2) (Knowler WC et al., 2002; Lindstrom J et al., 2003; Li G et al., 2002).

Quanto ao DM, estudo prospectivo (Wannamethee SG, et al, 2000) que incluiu 5159 homens portadores de DM 2, sem sinais de coronariopatia, seguidos por 16,8 anos, demonstrou que a atividade física regular foi, inversamente, associada com a taxa de desenvolvimento de doença arterial coronariana. As menores taxas foram observadas em indivíduos praticantes de atividade física moderada, com um pequeno acréscimo no desenvolvimento de doença arterial coronariana na vigência de atividade intensa. Já, o risco de desenvolvimento de DM 2 diminuiu, progressivamente, com o aumento da intensidade da atividade física.

Segundo Helmrich SP et al. (1991) o benefício na prevenção do desenvolvimento de DM 2, auferido pela intensidade do exercício físico, em população avaliada ao longo de 14 anos, foi evidente em indivíduos com índice de massa corporal igual ou superior a 26 kg/m^2 ou com hipertensão arterial, o que reforça seu importante papel na prevenção de DM em populações de alto risco para esta doença.

O *Diabetes Prevention Program* (Knowler WC et al., 2002) relatou uma redução de 58% na incidência de DM 2 frente à modificação no hábito dietético (redução do consumo de gordura saturada e aumento do consumo de fibras) e prática regular de exercício físico. Maiores reduções na circunferência da cintura, trigliceridemia, glicemia de jejum e pressão arterial também foram observadas no grupo que sofreu intervenção no estilo de vida quando comparado ao grupo de intolerantes à glicose, sedentário ou tratado com metformina (Ratner R et al., 2005). Resultados semelhantes foram observados em estudos menores na população finlandesa – “The Finnish Diabetes Prevention Study (DPS)” - (Lindstrom J et al., 2003) e chinesa - *DA Qing IGT and Diabetes Study* - (Li G et al., 2002) que demonstraram redução da incidência de DM 2, frente à prática regular de atividade física e mudança de hábitos alimentares.

O exercício físico constitui importante estímulo à captação periférica de glicose, por mecanismos dependentes e independentes da insulina (Goodyear LJ, Kahn BB, 1998; Holloszy JO, 2005). De fato, pacientes diabéticos, submetidos a programa de treinamento físico, apresentam melhora no perfil glicêmico e têm as doses de medicação hipoglicemiantes reduzidas (Barnard RJ et al., 1994).

Os efeitos do exercício físico sobre a sensibilidade à insulina decorrem, em sua maior parte, no maior suprimento de fluxo sanguíneo ao músculo. No entanto, independentemente da maior disponibilidade de glicose e insulina, não é observada alteração na ligação da insulina ao seu receptor (Tomas E et al., 2002).

Resultados relativos ao estímulo direto aos efetores da via de sinalização do receptor de insulina são, por sua vez, controversos e variam de acordo com o modelo experimental e a vigência simultânea de obesidade ou diabetes melito. A melhor utilização periférica de glicose, induzida pelo exercício físico, resulta na indução da expressão e translocação de transportadores de glicose (GluT4), graças ao estímulo de diversas proteínas quinases, em especial a proteína quinase dependente de AMP cíclico (AMPK), sensível à depleção de ATP na fibra muscular, e quinases ativadas por cálcio (Tomas E et al., 2002; Holloszy JO, 2005). Além disso, óxido nítrico, bradicinina e o substrato da proteína quinase B ou AKT, AS160, são postulados como possíveis mediadores da sinalização ao GluT4 (Jessen N, Goodyear LJ, 2005). Demonstra-se que, embora esses transportadores de glicose sejam insulino - dependentes, sua modulação, durante e após o exercício físico, ocorre mesmo na presença de diminutas concentrações de insulina (Goodyear LJ, Kahn BB, 1998; Tomas E et al., 2002).

A melhora na sensibilidade à insulina favorece, também, vias de metabolismo de lípidos que contribuem para o controle da dislipidemia diabética. Na vigência de resistência periférica à ação da insulina, observa-se aumento da lipólise de triglicérides do tecido adiposo, graças à atividade da lipase hormônio - sensível. O suprimento elevado de ácidos graxos ao fígado, juntamente com a diminuição da degradação intra-hepática de apolipoproteína B (apoB), favorece a síntese de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL). Além disso, face à resistência à insulina, que acarreta

prejuízo na atividade da enzima lipoproteína lipase, reduz-se o catabolismo dos quilomícrons (QM), VLDL e lipoproteínas de densidade intermediária (IDL). O aumento resultante da trigliceridemia condiciona a formação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) pequenas e densas, as quais são muito aterogênicas, bem como a redução na concentração plasmática de lipoproteínas de alta densidade (HDL).

Em conjunto, as alterações no metabolismo das lipoproteínas, características da dislipidemia diabética, contribuem sobremaneira para o elevado risco de aterosclerose em estado de resistência à insulina e no DM 2 (Krentz AJ, 2003; Taskinen MR, 2003; Krauss RM, 2004).

1.2. Metabolismo das HDL

As HDL compreendem um grupo heterogêneo de partículas que variam em composição, densidade, mobilidade eletroforética e propriedades funcionais (Asztalos BF et al. 2005a). Duas maiores subpopulações podem ser obtidas por ultracentrifugação convencional do plasma: as HDL₂ (d = 1,063 g/mL a 1,125 g/mL) e as HDL₃ (d = 1,125 g/mL a 1,21 g/mL). As HDL₂ são partículas maiores, ricas em lípidos e, portanto de menor densidade, além de possuírem, predominantemente, apolipoproteína A-I em sua estrutura. As HDL₃ são mais densas e menores, tendo como componentes protéicos principais a apolipoproteína A-I e A-II, além de serem ricas em fosfolípidos (Nambi V, Ballantyne CM, 2005).

Por meio de sua mobilidade eletroforética, as frações de HDL podem ser, genericamente, subdivididas em pré β 1, pré β 2, pré α , α -1, α -2 e α -3.

As frações α -2 e as α -3 HDL contêm apolipoproteína A-I e A-II em sua composição, e as outras subclasses contêm somente apolipoproteína A-I.

Diferentemente das demais lipoproteínas, as HDL originam-se em diversos locais no organismo. O fígado contribui com grande parte da produção de apolipoproteínas A-I que são secretadas em associação a lípidos. Além dele, o intestino contribui com cerca de 30% do total das HDL lançadas, diretamente, à circulação (Brunham LR et al., 2006).

Por meio da metabolização das VLDL e dos QM, pela lipoproteína lipase, projetam-se componentes de superfície destas lipoproteínas, como colesterol livre, fosfolípidos e apolipoproteínas. Tais componentes desprendem-se da partícula, dando origem a uma estrutura lamelar, denominada pré- β HDL. As pré- β HDL são as partículas nascentes de HDL que interagem com componentes celulares, removendo o excesso de colesterol das membranas. Este processo constitui a primeira etapa do transporte reverso de colesterol, o qual dirige colesterol da periferia para o fígado, onde o mesmo pode ser eliminado na bile.

O colesterol é removido das células, pelas pré- β HDL ou apolipoproteínas A-I dissociadas, graças à interação com os receptores de membrana ABCA-1 ("ATP binding cassette transporter A-1") e SR-BI ("scavenger receptor class B type I"). A seguir, é esterificado pela enzima lecitina colesterol aciltransferase (LCAT), localizada na estrutura das HDL. Isto favorece a acomodação do colesterol esterificado no núcleo da partícula que, gradativamente, aumenta seu tamanho, passando a ser designada de HDL₃. À medida que recebem triglicérides, advindo das lipoproteínas que

contêm apolipoproteína B (QM, VLDL e LDL), pela ação da proteína de transferência de colesterol esterificado (CETP), as HDL tornam-se, ainda maiores, e passam a serem designadas de HDL₂. Nesta etapa, as VLDL e LDL enriquecidas em colesterol esterificado proveniente das HDL, podem ser captadas pelos receptores B/E do fígado. Além disso, as HDL₂, ricas em triglicérides, são metabolizadas pela lipoproteína lipase hepática o que favorece a subsequente remoção seletiva do colesterol esterificado de seu núcleo, pelos receptores SR-BI. Os componentes remanescentes das HDL, principalmente, apolipoproteínas, retornam ao interstício, reiniciando o ciclo de retirada de colesterol celular (Sviridov D, Nestel P, 2002).

A interconversão das diferentes subpopulações, a favor da formação de grandes partículas de HDL que dirigem colesterol ao fígado, é inerente ao transporte reverso de colesterol. Assim, embora a concentração total de HDL colesterol possa não variar, a distribuição de suas subfrações pode refletir eficiência ao longo deste transporte.

1.3. Exercício físico e HDL

A insulina é o principal estimulador da síntese e atividade da lipoproteína lipase. Por melhorar a sensibilidade à insulina, como também por estimular, diretamente, a expressão e atividade da lipase, o exercício físico contribui para o catabolismo das lipoproteínas ricas em triglicérides. Isto favorece a redução da trigliceridemia e da concentração de LDL pequenas e densas (Duncan GE et al., 2003; Kraus WE et al., 2002),

embora poucos estudos tenham demonstrado redução na concentração de LDL colesterol no plasma (Duncan GE et al., 2003).

O aumento da concentração das HDL foi observado em função da frequência e intensidade do exercício aeróbio (Couillard C et al., 2001; Kraus WE et al., 2002). Tal evento advém do estímulo à lipoproteína lipase, considerando-se que a geração de partículas de HDL é um processo inerente ao metabolismo das lipoproteínas ricas em triglicérides (Ferguson MA et al., 1998; Despres JP et al., 1999), bem como da redução no catabolismo da apolipoproteína A-I (Thompson PD et al., 1988), e diminuição da atividade da proteína de transferência de colesterol esterificado (CETP) (Ferguson et al MA., 1998).

Sviridov D et al. (2003) e Jafari M et al. (2003) demonstraram maior geração de partículas nascentes de HDL, após sessão aguda de exercício. Este evento foi resultante da produção de novas partículas de HDL pelo músculo, evidenciada pela diferença no gradiente artério-venoso desta lipoproteína (Sviridov D et al., 2003).

No entanto, o papel do exercício sobre a elevação da concentração plasmática de HDL parece estar condicionado a diversos fatores, tais como: melhora na resistência à insulina, redução de peso corporal e trigliceridemia, sexo, idade, perfil lipídico prévio e polimorfismos genéticos de enzimas e proteínas envolvidas no metabolismo das HDL (Ardern CI et al., 2004; Thompson PD, Rader DJ, 2001). Tais fatores são responsáveis pela grande variabilidade da resposta do HDL colesterol, frente ao exercício físico. Além disso, nos diversos estudos da literatura, há grande diversidade nas

populações estudadas, bem como no tipo, duração e intensidade do exercício (Kraus WE et al., 2002).

1.4. Propriedade antioxidante das HDL

Embora a oxidação da LDL seja considerada o evento primário que desencadeia o acúmulo de colesterol esterificado e formação de células espumosas na parede arterial (Steinberg D et al., 1989; Navab M et al., 2004), estudos populacionais demonstram que, independentemente dos valores de LDL colesterol, indivíduos que possuem concentrações elevadas de HDL apresentam risco reduzido de desenvolvimento de DAC (Kwiterovich PO Jr. 1998). Este efeito está relacionado à participação da HDL no transporte reverso de colesterol e às suas propriedades antioxidantes, antiinflamatórias, antiagregantes e vasodilatadoras (Kwiterovich PO Jr. 1998; Barter PJ et al., 2004).

O balanço entre pró e antioxidantes plasmáticos e teciduais é determinante para minimizar o insulto oxidativo das LDL, considerado como um dos eventos primários na gênese da aterosclerose (Rauramaa R et al., 2004). Durante o processo de oxidação, por radicais livres (ânion superóxido, peróxido de hidrogênio, radical hidroxila), ácidos graxos poliinsaturados que formam os fosfolípidos das LDL são clivados, produzindo peróxidos lipídicos. Aldeídos altamente reativos, como malonildialdeído, modificam, covalentemente, a estrutura da apolipoproteína B, pela interação com resíduos de aminoácidos carregados positivamente (Thomas MJ, 2000, Boullier A et al., 2001). Além da oxidação de ácidos

graxos e apolipoproteína B, o colesterol também é oxidado, contribuindo para o potencial citotóxico e aterogênico das LDL oxidadas.

A medida da oxidação de LDL "in vitro" é um processo delicado, por envolver a formação de diferentes produtos lábeis de oxidação, além de ser dependente de diversos fatores inerentes à partícula de LDL (composição lipídica e protéica, vitaminas antioxidantes, entre outros) e às condições do meio (temperatura, luminosidade, concentração de oxidantes e antioxidantes, entre outros). Diversas metodologias são descritas na literatura, envolvendo métodos colorimétricos e estudos cinéticos, ambos na presença de oxidantes, além de incubação com sistemas celulares e métodos imunquímicos.

Quando incubadas "in vitro" com solução de sulfato de cobre (CuSO_4), as partículas de LDL sofrem oxidação que pode ser monitorada ao longo do tempo. Ao ser acompanhado por espectrometria, essa oxidação gera variações na absorbância ao longo do tempo, transcrevendo uma curva sigmoidal com três fases distintas. Na primeira fase, "lag time", é consumido o conteúdo antioxidante da partícula, e o tempo despendido nesta etapa caracteriza sua resistência à oxidação. A segunda fase, de propagação, caracteriza-se por um aumento abrupto na absorbância, e representando a formação de produtos de peroxidação lipídica, principalmente os dienos conjugados. Após o pico na absorbância ocorre um breve platô, seguido por redução lenta na absorbância. Nesta fase final, fase de decomposição, ocorre a degradação dos dienos conjugados (Esterbauer H et al., 1989).

A HDL é a maior transportadora de hidroperóxidos lipídicos no plasma, tanto em animais quanto em humanos (Bowry VW et al., 1992; Barter PJ et al., 2004). Em particular, partículas menores e mais densas possuem uma atividade antioxidante maior (Kontush A et al., 2003) A apolipoproteína A-I é capaz de remover hidroperóxidos lipídicos das LDL, minimizando sua modificação oxidativa (Navab M et al., 2000a,b).

A HDL transporta enzimas que hidrolisam produtos de oxidação (Aviram M, Rosenblat M, 2004), como a paraoxonase 1 e 3, a glutathione fosfolípide peroxidase, a PAF-acetilhidrolase (Barter PJ et al., 2004) e a lecitina colesterol aciltransferase (LCAT).

A paraoxonase foi, inicialmente, identificada pela hidrólise de ésteres carboxílicos aromáticos e inseticidas organofosforados. Seu nome reflete a habilidade de hidrolisar o paraoxon, um metabólito do inseticida paration (Cabana VG et al., 2003). Nos mamíferos, a família gênica da paraoxonase inclui três membros: PON-1, PON-2 e PON-3. A PON-1, que se encontra ligada à HDL, é o membro mais estudado desta família e possui dois polimorfismos principais: leucina/metionina na posição 55 e glutamina/arginina na posição 192. Na PON-2 há dois sítios polimórficos: alanina/glicina na posição 148 e cisteína/serina na posição 311. Sua atuação antioxidante limita-se ao âmbito celular. Já para a PON-3, foram identificados dois polimorfismos PON 3-1 e PON 3-3 (Pasdar A et al., 2006). Assim como a PON-1, a PON-3 também se encontra ligada, principalmente, à HDL (Aviram M, Rosenblat M, 2004) e são as principais responsáveis pela atividade antioxidante desta lipoproteína.

Demonstra-se aumento na atividade da PON-1, logo após uma sessão de exercício físico, voltando a valores basais 24 h após o término da mesma (Tomas M et al., 2002). Após um período de 16 sem de treinamento, as variações na atividade da PON-1 são dependentes do seu polimorfismo (Tomas M et al., 2002). No entanto, estudo que analisou a regulação da atividade da PON-1 em 388 indivíduos, demonstrou pouca interferência da atividade física sobre a variação da PON-1 (Ferre N et al., 2003).

Propõe-se que a paraoxonase evite a formação de células espumosas e atenuo o processo aterosclerótico por quatro diferentes mecanismos. São eles: 1) hidrólise de lípidos oxidados de macrófagos; 2) redução da oxidação da LDL mediada pelos macrófagos; 3) diminuição da concentração de LDL oxidada, pela hidrólise dos lípidos oxidados e 4) redução da captação de LDL oxidada pelos receptores *scavenger* de macrófagos, resultante da hidrólise de lípidos oxidados próximos à área do receptor (Aviram M, Rosenblat M, 2004). A PON-1 ligada à HDL também inibe a biossíntese de colesterol e incrementa o efluxo de colesterol, mediado pelo ABCA-1 (Aviram M, Rosenblat M, 2004).

No diabete melito mal compensado ocorre marcada redução da atividade da paraoxonase. Invariavelmente, tal situação decorre da redução da concentração sérica de apolipoproteína A-I, bem como de modificações químicas sofridas pela HDL na vigência de hiperglicemia (glicação e glicoxidação) ou acúmulo de ácidos graxos livres (Abbott CA et al., 1995; Hedrick CC et al., 2000; Ferreti G et al., 2001).

1.5. Exercício físico, estresse oxidativo e aterosclerose

A elevação do consumo de oxigênio, durante o exercício físico aeróbio intenso, está associada ao aumento do estresse oxidativo plasmático e tecidual, pela geração de espécies reativas de oxigênio. Tal evento é refletido sobre a concentração de peróxidos lipídicos no plasma, eletronegatividade das partículas de LDL e aumento da suscetibilidade de tais partículas à oxidação "in vitro", com redução no "lag time" de formação de dienos conjugados (Sanchez-Quesada JL et al., 1995; Shern-Brewer R et al., 1998; Liu ML et al., 1999; Tomas M et al., 2002; Benítez S et al., 2002; Husain K, Hazelrigg SR, 2002). Não obstante, atletas em treinamento possuem perfil de antioxidantes plasmáticos maior do que indivíduos controles sedentários (Brites FD et al., 1999; Evelson P et al., 2002).

Liu ML et al. (1999) demonstraram que o aumento da suscetibilidade das LDL à oxidação não é, apenas, um evento agudo e transiente visto que, em maratonistas, persiste após 4 d da corrida. Segundo Benítez S et al. (2002), o aumento da eletronegatividade das partículas de LDL, em decorrência de maior concentração de ácidos graxos livres (NEFA), apóia o aumento do estresse oxidativo em maratonistas.

Meilhac O et al. (2001) observaram aumento do estresse oxidativo plasmático, induzido pelo exercício físico aeróbio em camundongos hiperlipidêmicos, o qual, no entanto, foi acompanhado por elevação das defesas antioxidantes na parede arterial, em particular, as enzimas catalase e óxido nítrico sintase. Em consequência, o desenvolvimento de lesão aterosclerótica foi menor nos animais treinados.

Em ratos, a despeito do tratamento com inibidor da óxido nítrico sintase, o treinamento físico atenuou o insulto oxidativo tecidual, graças ao progresso das defesas antioxidantes no coração (Husain K, Hazelrigg SR, 2002).

Indivíduos portadores de DM 2 que foram submetidos à intervenção de dieta e exercício apresentaram redução no estresse oxidativo (Roberts CK et al., 2006). Além disso, após exercício físico intenso também é documentado aumento de antioxidantes plasmáticos e celulares, como óxido nítrico sintase, ácido ascórbico, ácido úrico, bilirrubina, alfa-tocoferol, retinol, superóxido dismutase, catalase e glutathione (Shern-Brewer R et al., 1998; Sanchez-Quesada JL et al., 1997; Vasankari T et al., 2000; Covas MI et al., 2002; Meilhac O et al., 2001).

A oxidação das lipoproteínas parece ser amenizada pela redução na trigliceridemia e redistribuição das subclasses de LDL a favor de partículas maiores e menos densas. O aumento das concentrações de HDL atua, simultaneamente, minimizando o dano oxidativo das LDL na parede arterial.

Não existem dados conclusivos sobre a indução de estresse oxidativo por atividade física intensa, seu reflexo sobre a composição de lipoproteínas e metabolismo plasmático e arterial. A grande variação frente aos diferentes estudos da literatura parece depender do grau de condicionamento físico inicial dos indivíduos analisados e do tempo de treinamento no qual são realizadas as medidas. É possível que o estresse oxidativo, causado pelo exercício físico, esteja limitado à atividade intensa por curto prazo, enquanto

mecanismos de defesa antioxidante prevaleçam ao longo prazo (Shern-Brewer R et al., 1998).

Ramachandran S et al. (2005) demonstraram, pela primeira vez, que o exercício físico é capaz de reduzir área de lesão aterosclerótica pré-estabelecida em camundongos. Após fase de indução de aterosclerose, por dieta rica em gordura, os animais foram divididos em grupo sedentário e praticante de exercício físico em esteira, por 6 sem. Em ambos os grupos, com colesterolemia semelhante, observou-se redução da área de lesão aterosclerótica, sendo esta, entretanto, maior no grupo treinado.

Em camundongos treinados em esteira, por duas semanas, verificou-se maior expressão hepática dos receptores de LDL (B/E) e SR-BI, condicionando maior remoção de lipoproteínas que contêm apo B pelo fígado, bem como maior fluxo ao longo do transporte reverso. (Wei C et al, 2005). Entretanto, o papel exato do exercício físico sobre as diferentes etapas que modulam o transporte reverso e seu reflexo sobre o desenvolvimento de lesão aterosclerótica não está totalmente esclarecido na literatura.

Assim sendo, os benefícios do treinamento físico aeróbio sobre a prevenção do desenvolvimento e progressão da aterosclerose parecem envolver a ação conjunta do mesmo sobre o perfil de lípides plasmáticos e sobre o balanço entre pró e antioxidantes plasmáticos e teciduais.

Embora elevações no HDL colesterol no plasma não sejam descritas em todos os estudos da literatura, é possível que o exercício físico confira benefícios sobre as propriedades antiaterogênicas das HDL. Estas,

conforme já salientado, refletem-se, principalmente, em sua ação no transporte reverso de colesterol e papel antioxidante, contribuindo, diretamente, para o balanço de colesterol na parede arterial.

2. OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi avaliar, em pacientes portadores de diabetes melito tipo 2 e em indivíduos saudáveis, o efeito agudo e crônico do exercício físico aeróbio intenso sobre o insulto oxidativo e defesas antioxidantes plasmáticas, bem como o reflexo sobre a habilidade das HDL na inibição da oxidação das LDL. Assim sendo, foram avaliados:

- o perfil de lípides e lipoproteínas plasmáticas, glicemia e insulinemia;
- a inibição, conferida pelas subfrações de HDL (HDL₂ e HDL₃), sobre a oxidação “in vitro” das LDL;
- a formação de peróxidos lipídicos e o perfil de antioxidantes totais no plasma;
- a atividade sérica de paraoxonase.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Casuística

O presente estudo foi aberto, longitudinal, prospectivo e de intervenção.

Vinte e seis indivíduos sedentários dentre os quais quatorze portadores de diabetes melito tipo 2 (7 homens e 7 mulheres) e doze controles saudáveis (5 homens e 7 mulheres) foram recrutados no Ambulatório e na Liga de Diabetes do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP e no Ambulatório de Clínica Médica do Hospital Universitário da USP.

Todos os indivíduos foram informados sobre o protocolo de estudo e forneceram seu consentimento, por escrito, de acordo com as normas do Conselho de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da FMUSP (nº 044/03), Instituto do Coração (nº SDC 2215/03/09) e do Hospital Universitário da USP (nº 426/03).

Foram incluídos pacientes de ambos sexos, até 65 anos de idade, índice de massa corporal menor ou igual a 35 kg/m², LDL colesterol inferior a 190 mg/dL, triglicérides inferior a 400 mg/dL, glicose inferior a 140 mg/dL e hemoglobina glicada (HbA_{1c}) até 1,5% acima do limite de normalidade (valor de referência igual ou inferior a 6,5%).

Todos os indivíduos passaram por um período de acompanhamento de 2 m, para realização de exames clínicos gerais e dosagens bioquímicas de rotina, garantindo adequação do controle glicêmico e condições

satisfatórias para iniciar o treinamento físico. A orientação foi fornecida visando manutenção de dieta isocalórica fracionada (55% carboidratos, 30% gorduras, 15% proteínas), de acordo com o NCEP – ATP III (Stone NJ et al., 2005) e realização de exercício, apenas nos dias agendados, de modo a evitar diferenças de gasto energético e variação de peso corporal.

Durante todo o período de estudo foram mantidas as drogas para o controle da glicemia, com ajustes realizados na dosagem, apenas quando necessário.

Não foram incluídos no protocolo de estudo indivíduos em uso de medicação hipolipemizante, com diagnóstico de neuropatia autonômica periférica, hipotireoidismo descompensado, insuficiência renal, insuficiência cardíaca congestiva, hipertensão arterial sistêmica superior 140/90 mmHg, macroalbuminúria, etilistas e mulheres em uso de terapia de reposição hormonal ou contraceptivos.

Os pacientes foram orientados a não fazer uso de suplementos vitamínicos, aminoácidos ou fármacos (antiinflamatórios, ácido acetilsalicílico) que pudessem interferir no balanço entre pró e antioxidantes.

3.2. Teste de esforço máximo

Os participantes selecionados realizaram teste ergométrico em cicloergômetro eletromagnético (Medfit), seguindo protocolo de rampa com incremento de carga, calculado pela carga máxima predita menos 10% e dividida por 10 min, mantendo-se velocidade de 60 rotações por min até a

exaustão. Este teste foi realizado antes e após as 18 sem de treinamento físico.

Durante o teste de esforço, os pacientes foram monitorados por eletrocardiografia (eletrocardiógrafo Cardiosoft), com 12 derivações simultâneas (conforme ECG de repouso). A frequência cardíaca (FC) foi registrada em repouso, com o indivíduo posicionado no cicloergômetro, ao final de cada min do teste de esforço e no 1^o, 2^o, 4^o e 6^o min do período de recuperação. A pressão arterial foi aferida em repouso nos 30 s finais a cada 2 estágios do exercício e no 1^o, 2^o, 4^o e 6^o min do período de recuperação. Simultaneamente ao teste de esforço, o participante foi conectado a um ergoespirômetro computadorizado (SensorMedics - Vmax Series modelo Vmax 229 Pulmonary Function/Cardiopulmonary Exercise Testing Instrument), por meio de um sistema de válvula e sensor, onde foram medidas a ventilação pulmonar (VE), as concentrações de O₂ e CO₂. A partir destas informações, foram determinados o VO₂ e a produção de CO₂.

Considera-se pico de VO₂, o consumo de O₂ obtido no pico do exercício, quando o indivíduo não consegue manter a velocidade do pedal da bicicleta em 60 rpm. Foram determinados os limiares ventilatórios, a partir dos quais foi estabelecida a intensidade do treinamento físico.

O LA (limiar aeróbio) foi considerado no min em que o sujeito apresentou valores de equivalente ventilatório O₂ (VE/VO₂) e pressão parcial de O₂ no final da expiração (PetO₂) mais baixos, antes de iniciarem um

aumento progressivo, e incremento do valor de razão de troca respiratória (RER) e VE não lineares.

O PCR (ponto de compensação respiratória) foi considerado no mínimo em que o participante apresentou valores de equivalente ventilatório de CO₂ (VE/VCO₂) mais baixos, antes de iniciar um aumento progressivo, e pressão parcial de CO₂ no final da expiração (PetCO₂) mais alto, antes de começar a diminuir, bem como aumento não linear na VE (Wasserman K et al., 1973).

Os participantes treinaram em uma intensidade indicada pela faixa de frequência cardíaca compreendida entre o LA e PCR. A frequência cardíaca medida no pulso e a aferição da pressão arterial e determinação de cansaço subjetivo, permitiram adequar a intensidade do exercício e a evolução da carga, ao longo do treinamento.

3.3. Protocolo de treinamento físico

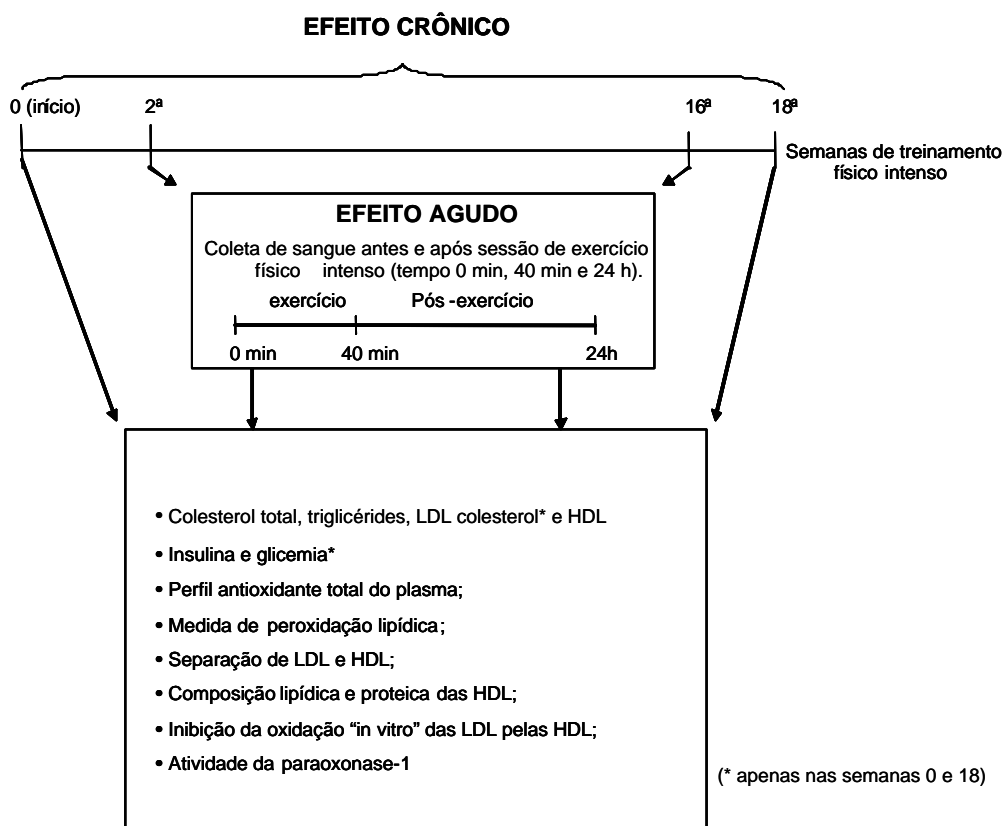
Após as avaliações iniciais, os indivíduos foram submetidos a 18 semanas de treinamento físico monitorado, sendo as 3 primeiras semanas destinadas à adaptação da intensidade do exercício físico e as demais com a intensidade proposta. A frequência foi de 3 sessões semanais, com duração de 60 min, assim distribuídos:

- 5 min de alongamento;
- 40 min exercício aeróbio em bicicleta ergométrica;
- 10 min de exercícios localizados;
- 5 min de relaxamento.

A coleta de amostras para realização dos ensaios descritos abaixo foi realizada no início do protocolo e ao final deste. Neste último caso, as amostras foram obtidas após dois dias da realização da última sessão de exercício, objetivando-se evitar influência da última sessão de exercício. Os participantes realizaram os exames após jejum de 12 h.

Na avaliação do efeito agudo do exercício, foi seguido o protocolo de uma sessão de treinamento físico com coletas de sangue antes (0 min), imediatamente após o término (40 min) e 24 h após a sessão de exercício (**Figura 1**). No jantar do dia que precedeu o teste, no café da manhã e jantar do dia em que o teste foi realizado, os indivíduos foram orientados a seguir uma dieta padrão, a fim de evitar possível interferência da alimentação sobre as variáveis analisadas. Os indivíduos receberam indicação de cardápio e foram lembrados quanto ao consumo da dieta no dia anterior do teste programado.

Figura 1 - Protocolo experimental



3.4. Obtenção das lipoproteínas

Sangue venoso dos indivíduos, em jejum de 12 h (exceto no teste agudo), foi coletado em tubos contendo EDTA 10% e, imediatamente, centrifugado a 3000 rpm, por 25 min, a 4°C. Ao plasma, foram adicionados os seguintes conservantes ($\mu\text{L}/\text{mL}$ de plasma): 20 μL de cloranfenicol/gentamicina (0,25%), 10 μL de azida sódica (5%) ; 5 μL de benzamidina (2mM), 5 μL de aprotinina (0,5%) e 0,5 μL de PMFS (fluoreto de fenil metila sulfonila) diluído em 30mM de DMSO (dimetilsulfóxido).

Amostras de sangue para determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico ("TBARS"), isoprostanos, atividade de paraoxonase e perfil de antioxidantes no plasma foram colhidas e processadas no escuro, sob gelo.

As lipoproteínas (LDL e subfrações de HDL) foram isoladas do plasma, por ultracentrifugação em gradiente descontínuo de densidade (Havel RJ et al., 1955). Todas as lipoproteínas foram dialisadas contra solução de tampão fosfato (PBS), contendo EDTA, pH = 7,4, esterilizadas em filtro 0,22 μm e estocadas a -70° C.

3.5. Dosagens bioquímicas

O plasma total e as frações de lipoproteínas tiveram seu conteúdo de colesterol total (CHOD-PAP, Roche Diagnostics Corp., Indianápolis, IN) triglicérides (GPO-PAP, Roche Roche Diagnostics Corp.) e fosfolípidos (Wako Pure Chemical, Osaka, Japão) medidos por métodos enzimáticos

colorimétricos, por meio de sistema automatizado (COBAS MIRA, Roche Diagnostics - Mannheim, Alemanha). A concentração de proteína total foi determinada pelo método de Lowry (Lowry OH et al., 1951). Apo -A-I e apo B foram determinadas por imunoturbidimetria (Wako Pure Chemical, Osaka, Japão). Colesterol de HDL foi medido após precipitação das lipoproteínas que contêm apoB (VLDL e LDL), por meio de solução de sulfato de dextrana 1M / cloreto de magnésio 1M.

A concentração de insulina foi determinada no soro, por radioimunoensaio (LINCO Research, MO, EUA). A glicemia foi determinada no período máximo de 24 h após a coleta do sangue, por kit enzimático colorimétrico (Labtest do Brasil, Minas Gerais, Brasil).

3.6. Efeito inibitório da HDL sobre a oxidação das LDL "in vitro"

Lipoproteínas de baixa densidade (LDL), isoladas do plasma, foram dialisadas contra PBS sem EDTA e, a seguir, diluídas para obter uma concentração de 40 µg de proteína de LDL em 500 µL de H₂O desionizada. Logo após, adicionou-se 80 µg de proteína de HDL₃ ou HDL₂, seguido de 1 mL de solução de CuSO₄ 10 µmol/L (concentração final), a 37°C. O tubo branco consistiu de incubação de LDL e cobre, apenas. A cinética de formação de dienos conjugados foi determinada pela variação na absorvância, monitorada continuamente em 234 nm, durante 4 h, em intervalos de 3 min. Calculou-se o tempo (min) de resistência das LDL à oxidação ("lag time") entre o início da reação e a intersecção do tempo com

a reta extrapolada da fase de propagação, e a razão máxima de formação de dienos conjugados, determinada pela absorbância máxima / min (Esterbauer et al., 1989). O "lag time" de oxidação das LDL representa o tempo em que estas lipoproteínas resistem à oxidação. Ele é determinado pelo ponto onde o incremento linear da absorbância cruza com a linha do tempo. Quanto maior o "lag time", maior é o tempo que essas LDL resistem à oxidação. Já a razão máxima de formação de dienos conjugados é representada pela divisão da absorbância máxima pelo tempo em que ela ocorreu. Quanto menor este valor, mais lenta é a produção de dienos conjugados em LDL.

3.7. Atividade sérica da paraoxonase-1 (PON-1)

A atividade de PON-1, indicada pela hidrólise do substrato acetato de fenila, foi determinada pela incubação de acetato de fenila (1,0 mmol/L) com tampão Tris-HCl (20 mmol/L) contendo CaCl_2 (2,0 mmol/L), pH = 8,0 (Gan KN et al., 1991). O substrato foi adicionado ao tampão instantes antes do início da reação e a cinética aferida em cubetas de quartzo, contendo 10 μL de soro aos quais foram adicionados 1,5 mL da mistura tampão/substrato. As amostras foram lidas em duplicata e o branco constituído pelo tampão Tris-HCl/ CaCl_2 /acetato de fenila sem o soro com leituras feitas a cada 30 s, durante 3 min com comprimento de onda de 270 nm, a 25°C. A atividade foi apresentada em U/mL e representa a quantidade de enzima que hidrolisa 1 μmol de acetato de fenila. Exemplo $\text{U} / \text{mL} = (\Delta\text{abs.} / \Delta t) * (1 / \Delta) * (\text{vol.}$

total/vol. amostra) * 1000 * diluição (40x). Δ abs. / Δ t foi dado pela média de cada min e o tempo em min. O coeficiente de extinção molar (Δ) utilizado foi de $1310 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. A atividade da PON-1, inferida pela hidrólise de acetato de fenila, não sofre interferência dos polimorfismos da PON-1 e representa a massa da enzima.

3.8. Medida do perfil de antioxidantes totais no plasma

A determinação do perfil de antioxidantes totais no plasma (Randox Laboratories Ltd, UK) foi obtida por meio da incubação de ABTS[®] ("2,2'-azino-diethyl benzothiazoline sulfonic acid") com peroxidase e peróxido de hidrogênio, resultando na produção do radical cátion ABTS⁺, que é detectado com comprimento de onda de 600 nm. As substâncias antioxidantes, presentes na amostra, impedem a reação. Assim, a redução da intensidade de cor é proporcional à concentração de antioxidantes totais no plasma (Miller NJ et al., 1993).

3.9. Medida de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico ("TBARS")

A concentração de substâncias reativas ao ácido foi realizada como indicativa de peroxidação lipídica plasmática, por método colorimétrico. Duzentos microlitros de plasma foram diluídos em 800 μL de água destilada. Imediatamente, adicionou-se 1 mL de ácido tricloroacético (TCA) 17,5%,

seguindo-se 1 mL de ácido tiobarbitúrico 0,6%, pH 2. As amostras foram colocadas em banho de água fervente por 15 min e a seguir resfriadas. Após este procedimento, foi adicionado às amostras 1 mL de TCA 70%, com incubação por 20 min. As amostras foram centrifugadas por 15 min a 2000 rpm e a densidade óptica do sobrenadante lida em espectrofotômetro com comprimento de onda de 543 nm contra reagente branco.

A concentração dos produtos da peroxidação lipídica foi calculada, utilizando-se coeficiente de extinção molar equivalente para malonildialdeído (equivalentes de MDA) de $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (utilizado para o complexo malonildialdeído e ácido tiobarbitúrico). A concentração de "TBARS" no plasma foi expressa em nmol/mL (Ohkawa H et al., 1979; Walker PD, Shah S, 1990; Romero F et al., 1999; Vaziri ND et al., 2002; Wardle EM, 2005).

3.10. Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa GraphPad INSTAT™, versão 4.00 (GraphPad Softweres, USA). Os dados são apresentados como média \pm DP. As variáveis cardiorrespiratórias, antropométricas e bioquímicas foram analisadas pelo teste t de *Student* pareado e não pareado (entre grupos C e DM 2). As análises de correlação foram feitas pelo teste de Spearman. Para análises dos tempos do teste agudo (0 min, 40 min e 24h) entre os grupos foi utilizada análise de variância de dois fatores. Foram consideradas significantes todas as situações nas quais o nível descritivo de significância foi inferior a 5% ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS

Concluíram o estudo 26 indivíduos, 14 portadores de diabetes melito tipo 2 (grupo DM 2) e 12 saudáveis (grupo C). Entre os portadores de diabetes melito: 9 indivíduos faziam uso de sulfoniluréia, 9 de biguanidas, 1 de insulina, 4 de fluoxetina e 6 de inibidores da enzima conversora de angiotensina. Todos os participantes mantiveram aderência e adaptação satisfatórias ao programa de treinamento físico, com um percentual de presença em aulas acima de 75% do total estabelecido. Durante todo o período de estudo, não foram referidas queixas físicas que impossibilitassem a realização dos exercícios.

As medidas antropométricas e os dados bioquímicos dos indivíduos encontram-se na **tabela 1**. O grupo DM 2 apresentou tempo médio de doença de 9,3 anos e média de idade superior a do grupo C.

A circunferência da cintura (CC) foi semelhante entre os grupos antes do treinamento físico aeróbio (TFA). Após o treinamento, observou-se uma redução desta medida, tanto no grupo C quanto no grupo DM 2.

O índice de massa corporal (IMC), quando comparado antes e após o treinamento, não apresentou diferenças nos grupos avaliados. No entanto, quando comparado os valores entre os grupos, o valor de IMC do grupo C foi menor que o valor do grupo DM 2, somente após o treinamento.

Não se observou variação significativa de peso, altura, triglicérides plasmáticos, HDL colesterol (HDL-c), relação colesterol total/apoB, insulina e índice HOMA entre os grupos, tampouco após o treinamento físico. O TFA não alterou a HbA_{1c} no grupo DM 2.

Antes do período de TFA, o colesterol total (CT) plasmático do grupo C foi maior que o do grupo DM 2 diferença que não se manteve após o período de treinamento físico. Após TFA, o CT no plasma manteve-se similar no grupo C e aumentou no grupo DM 2.

O LDL colesterol (LDL-c) do grupo C, antes do TFA, foi maior do que o do grupo DM 2, diferença que desapareceu ao final do estudo. Assim como os valores de CT, o LDL-c plasmático, após o período de TFA, manteve-se similar no grupo C e aumentou no grupo DM 2.

O “non HDL colesterol” do grupo C foi maior que o do grupo DM 2, antes do TFA. Após o mesmo, manteve-se similar no grupo C e no grupo DM 2.

A concentração plasmática de apolipoproteína B (apoB), após o período de TFA, manteve-se similar no grupo C e no grupo DM 2. Antes do TFA, a apoB do grupo C foi maior do que a do grupo DM 2 e se manteve maior após o TFA no grupo C se comparado ao grupo DM 2.

A glicemia foi maior no grupo DM 2 antes e após período de TFA, não havendo redução da mesma ao final do estudo.

Tabela 1 – Dados antropométricos e bioquímicos dos grupos C e DM 2 antes e após treinamento físico (semanas 0 e 18, respectivamente)

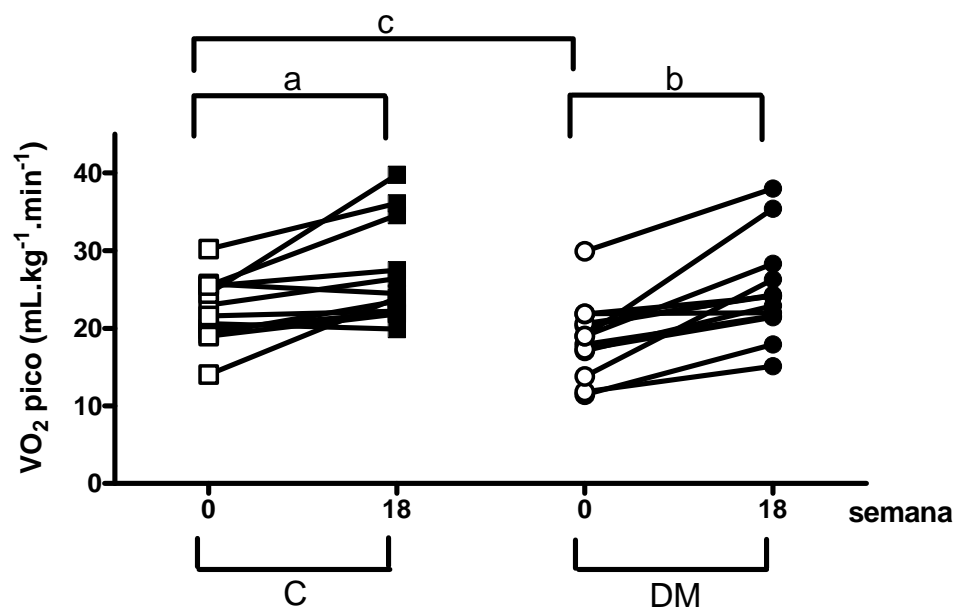
Semana	C (n = 12)		DM 2 (n = 14)	
	0	18	0	18
tempo de DM (anos)	-	-	9 ± 4	-
idade (anos)	48 ± 8	-	55 ± 8 ^a	-
peso (Kg)	71,4 ± 11,4	71,5 ± 11,1	73,6 ± 9,2	73,1 ± 8,4
IMC (Kg/m ²)	26,3 ± 1,9	26,2 ± 1,9	28,2 ± 2,6	28 ± 2,1 ^a
CC (cm)	90,8 ± 7,5	89,1 ± 7,3 ^c	95,9 ± 7,2	94,3 ± 7,2 ^b
CT (mg/dL)	217 ± 52	218 ± 63	171 ± 38	196 ± 54 ^b
TG (mg/dL)	137 ± 69	172 ± 148	149 ± 75	141 ± 66
HDL-c (mg/dL)	42 ± 14	38 ± 15	40 ± 9	37 ± 10
LDL-c (mg/dL)	143 ± 43	149 ± 44	97 ± 33 ^a	128 ± 48 ^b
apoB (mg/dL)	107 ± 21	104 ± 21	80 ± 14 ^a	81 ± 19 ^e
“non HDL-c”	171 ± 56 ^a	185 ± 59	125 ± 33	154 ± 58
CT/apoB	2 ± 0,3	2,1 ± 0,5	2,1 ± 0,7	2,5 ± 0,9
glicose (mg/dL)	101 ± 9	101 ± 10	152 ± 34 ^d	130 ± 42 ^b
insulina (μU/mL)	14,4 ± 6	16,9 ± 6	22,2 ± 12	21,3 ± 10
HOMA-IR	1,8 ± 0,8	2,0 ± 0,6	2,8 ± 1,3	2,6 ± 1,0
HbA1c (%)	-	-	7 ± 1,0	6,7 ± 1,0

^a p < 0,05 comparando-se os grupos C e DM 2 ; ^b p < 0,05 comparando-se as semanas 0 e 18; ^c p < 0,005 comparando-se as semanas 0 e 18; ^d p < 0,0005 comparando-se as semanas 0 e 18; ^e p < 0,005 comparando-se os grupos C e DM 2. IMC = índice de massa corporal; CC = circunferência da cintura; CT = colesterol total; TG = triglicérides

A faixa de treinamento físico foi controlada pela frequência cardíaca atingida entre 60% do VO_2 e o PCR, aproximando-se mais deste último, de modo a caracterizar exercício predominantemente aeróbio intenso (Fletcher GF et al., 2001). Tal faixa foi atingida por volta da 3ª semana de treinamento em todos os indivíduos.

Na **figura 2** encontram-se os valores individuais de VO_2 pico, atingidos no teste ergoespirométrico. Após o período de treinamento, a média de VO_2 para o grupo C foi 20% maior quando comparado aos valores prévios ao TFA. Assim como para o grupo C, o VO_2 pico do grupo DM 2 sofreu incremento significativo em 21%, em comparação com os valores basais. Após treinamento, os valores de VO_2 pico entre os grupos C e DM 2 foram semelhantes.

Figura 2. Valores individuais de VO₂ pico atingidos no teste ergoespirométrico dos grupos C e DM 2, antes e após o período de treinamento físico (semanas 0 e 18 respectivamente).

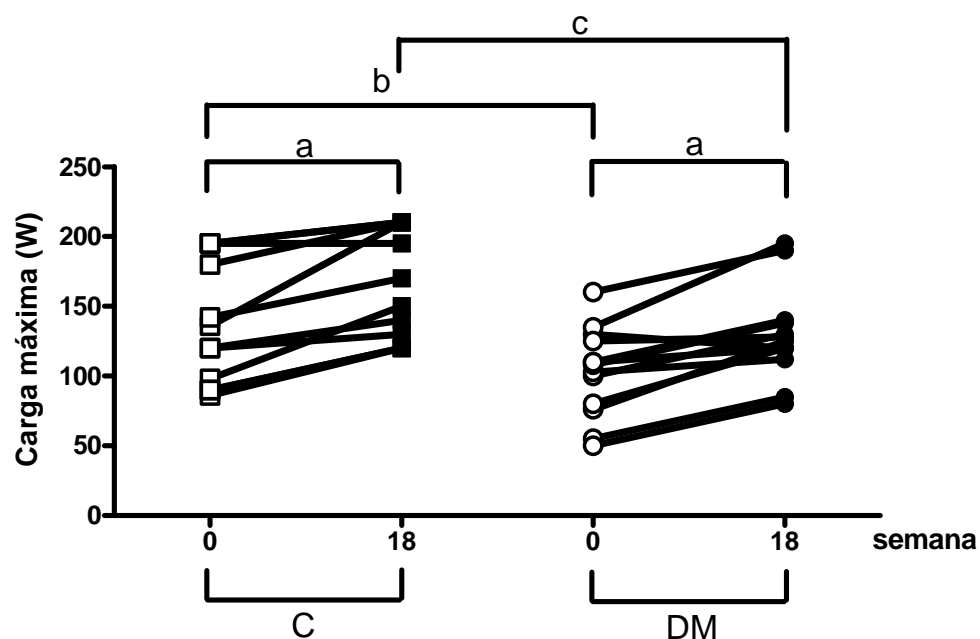


	C (n = 12)		DM 2 (n = 13)	
Semana	0	18	0	18
VO ₂ pico (mL.kg ⁻¹ .min ⁻¹)	22,4 ± 4,2	26,9 ± 6,4 ^a	17,8 ± 3,9 ^c	21,5 ± 3,1 ^b

^a p < 0,01 comparando-se as semanas 0 e 18, no grupo C; ^b p < 0,0005 comparando-se as semana 0 e 18 no grupo DM 2; ^c p < 0,05 comparando-se semana 0 entre os grupos C e DM 2.

O valor médio de carga máxima atingida no teste ergoespiométrico (**figura 3**), anterior ao início do treinamento físico, foi 25,5% menor no grupo DM 2 quando comparado com o grupo C. Após o treinamento físico, houve elevação na carga máxima atingida no grupo DM 2 em 28,4% e no grupo C em 20,4%. Ao término do período de treinamento físico, a carga máxima atingida pelo grupo C manteve-se maior (20,6%) quando comparada com o grupo DM 2.

Figura 3. Valores individuais de carga máxima (W) atingidos no teste ergoespirométrico dos grupos C e DM 2, antes e após o período de treinamento físico (semanas 0 e 18, respectivamente).



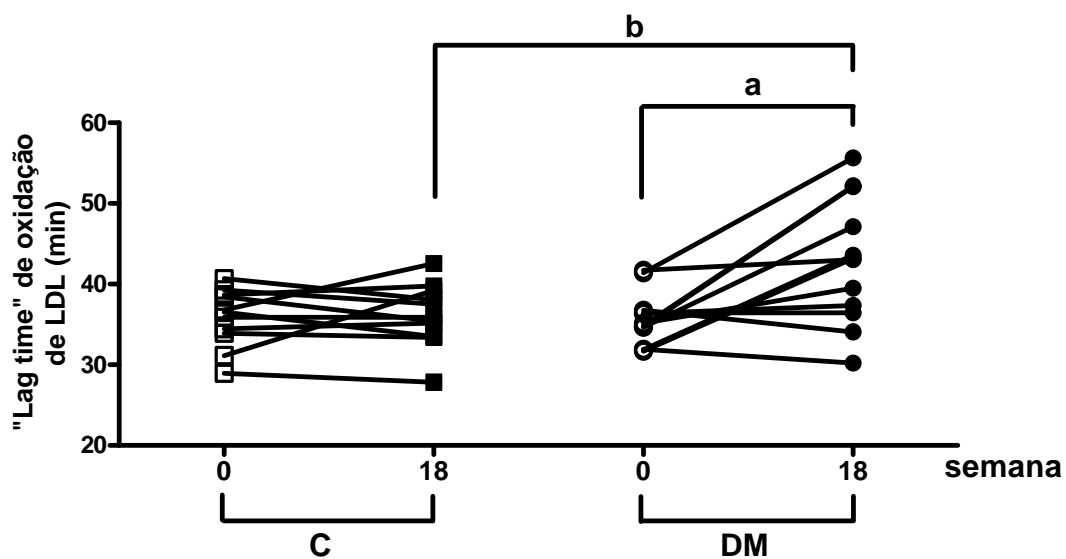
	C (n = 12)		DM 2 (n = 13)	
Semana	0	18	0	18
Carga Máxima (W)	137 ± 44	165 ± 39 ^a	102 ± 30 ^b	131 ± 32 ^{a,c}

^a $p < 0,0005$ comparando-se as semanas 0 e 18, nos grupos C e DM 2; ^b $p < 0,05$ comparando-se semana 0 entre os grupos C e DM 2; ^c $p < 0,05$ comparando-se semana 18 entre os grupos C e DM 2.

Neste estudo, foi avaliado o efeito inibitório das subfrações de HDL sobre a oxidação das LDL. A suscetibilidade das LDL ("pool" controle) à oxidação "in vitro" foi determinada pelo tempo de resistência da LDL à oxidação ("lag time") e pela razão máxima de formação de dienos conjugados, na presença de subfrações de HDL₃ e HDL₂, isoladas antes e após o treinamento físico aeróbio (semanas 0 e 18, respectivamente).

Observa-se na **figura 4** que o treinamento físico favoreceu aumento de 19,4% na capacidade antioxidante das HDL₃ do grupo DM 2. O "lag time" de oxidação de LDL, determinado na presença de HDL₃ isoladas antes do treinamento físico, foi similar entre os dois grupos experimentais. No entanto, após treinamento, as HDL₃ dos indivíduos portadores de DM 2 apresentaram maior capacidade de retardar a oxidação das LDL, quando comparadas às HDL₃ isoladas dos indivíduos do grupo C.

Figura 4. "Lag time" (em min) de oxidação de LDL ("pool" controle), na presença de HDL₃ isoladas do grupo C e DM 2, antes e após treinamento físico (semanas 0 e 18, respectivamente).

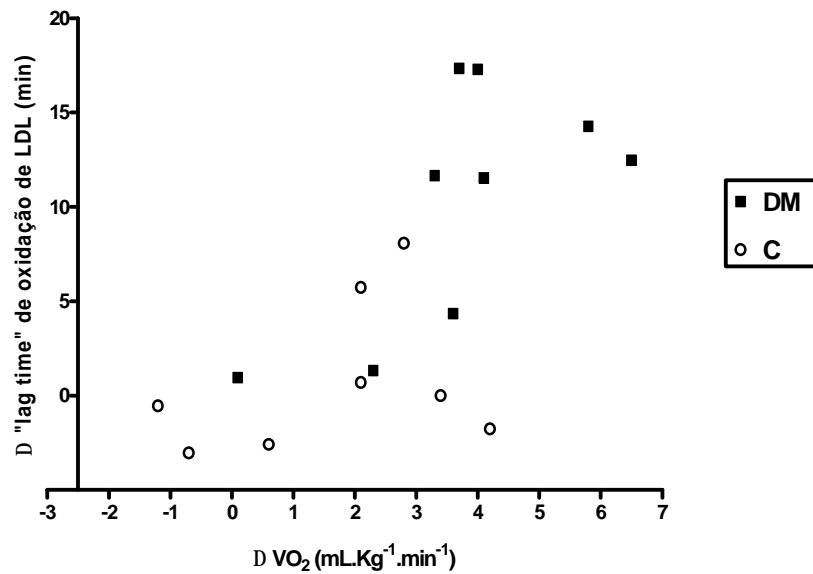


	C (n = 12)		DM 2 (n = 13)	
Semana	0	18	0	18
"Lag time" de oxidação de LDL (min)	35,9 ± 3,5	36,2 ± 3,9	35,6 ± 3,2	42,9 ± 7,8 ^{a, b}

^a p < 0,01 comparando-se as semanas 0 e 18 no grupo DM 2; ^b p < 0,05 comparando-se a semana 18 entre os grupos C e DM 2.

Houve uma correlação positiva ($p < 0,01$; $r = 0,64$) entre o Δ de VO_2 pico e o Δ de "lag time" de oxidação de LDL, considerando-se os dois grupos experimentais conjuntamente (**figura 5**). Assim sendo, quanto maior o VO_2 pico atingido maior o benefício conferido pelas HDL_3 contra a oxidação das LDL, no grupo DM 2.

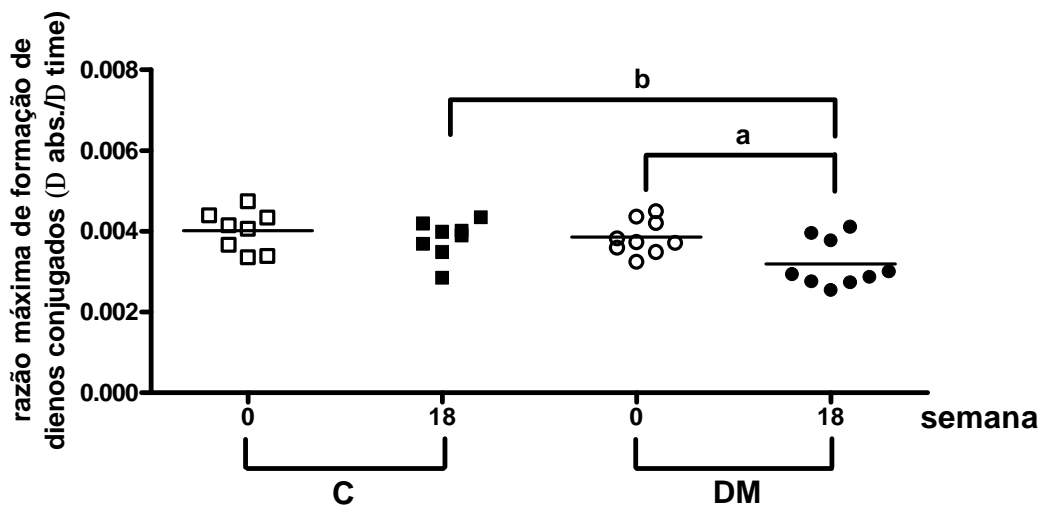
Figura 5. Correlação entre Δ de VO_2 pico e Δ de "lag time" de oxidação em LDL ("pool" controle), na presença de HDL_3 isoladas do grupo C e DM 2, antes e após treinamento físico (semanas 0 e 18, respectivamente).



$p < 0,01$; $r = 0,6352$

Apenas no grupo DM 2 (**figura 6**), houve redução na geração de dienos conjugados após treinamento físico ($p = 0,005$).

Figura 6. Razão máxima de formação de dienos conjugados em LDL (“pool” controle), na presença de HDL₃ isoladas do grupo C e DM 2, antes e após treinamento físico (semanas 0 e 18, respectivamente).

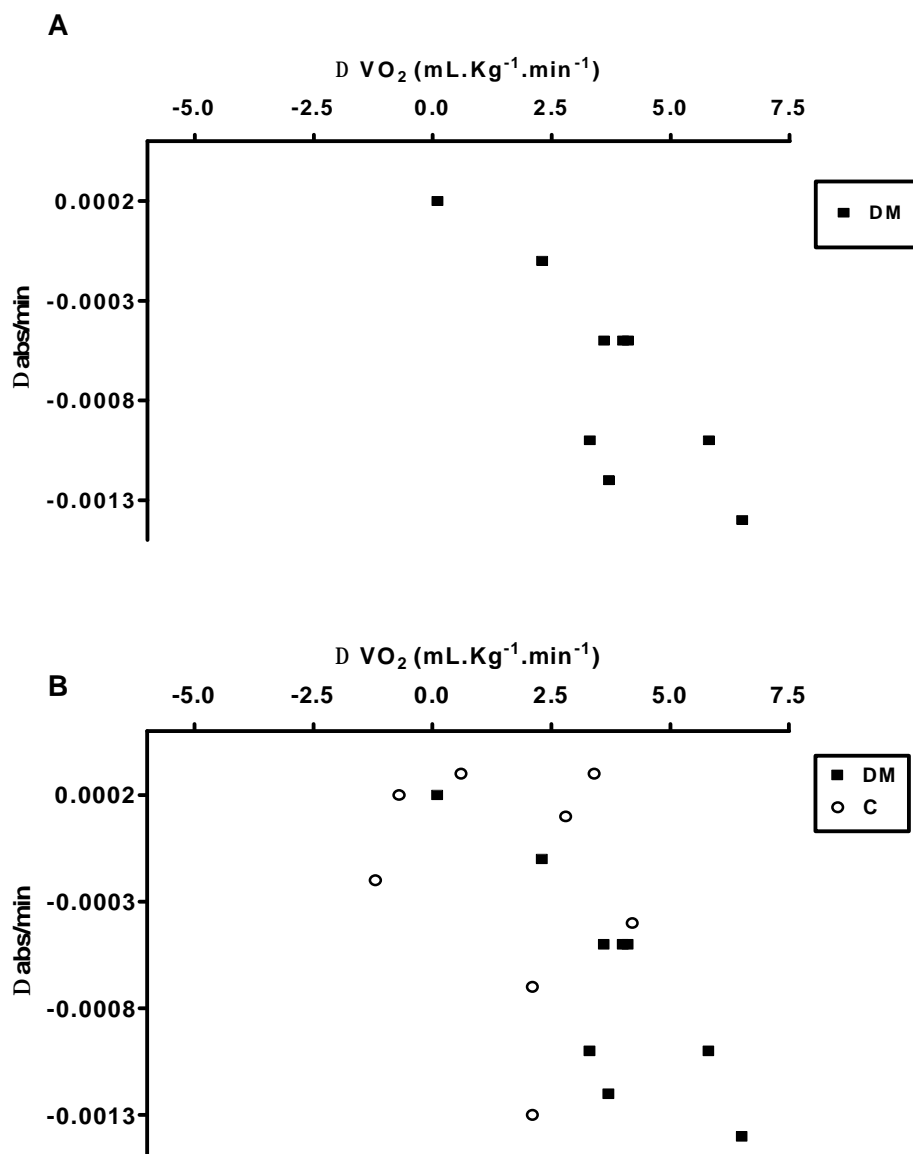


	C (n = 12)		DM 2 (n = 13)	
Semana	0	18	0	18
Razão máxima de formação de dienos conjugados (média)	$4,0 \times 10^3$	$3,8 \times 10^3$	$3,85 \times 10^3$	$3,2 \times 10^3$ ^{a, b}
DP	$0,5 \times 10^3$	$0,5 \times 10^3$	$0,4 \times 10^3$	$0,6 \times 10^3$

^a $p = 0,005$ comparando-se as semanas 0 e 18 no grupo DM 2; ^b $p < 0,05$ comparando-se a semana 18 entre os grupos C e DM 2.

Houve uma correlação negativa ($p = 0,032$; $r = -0,52$) entre o % de VO_2 e o % de formação de dienos conjugados, considerando-se os dois grupos experimentais conjuntamente (**figura 7, painel A**), ou apenas o grupo DM 2 ($p < 0,05$; $r = -0,69$; **figura 7, painel B**). De encontro ao observado com o "lag time", demonstra-se que quanto maior o VO_2 pico atingido, menor a formação máxima de dienos conjugados nas LDL, na presença de HDL_3 .

Figura 7 - Correlação entre Δ de VO_2 pico e Δ de razão máxima de formação de dienos conjugados (A e B) em LDL ("pool" controle), na presença de HDL_3 isoladas do grupo C e DM 2, antes e após treinamento físico.



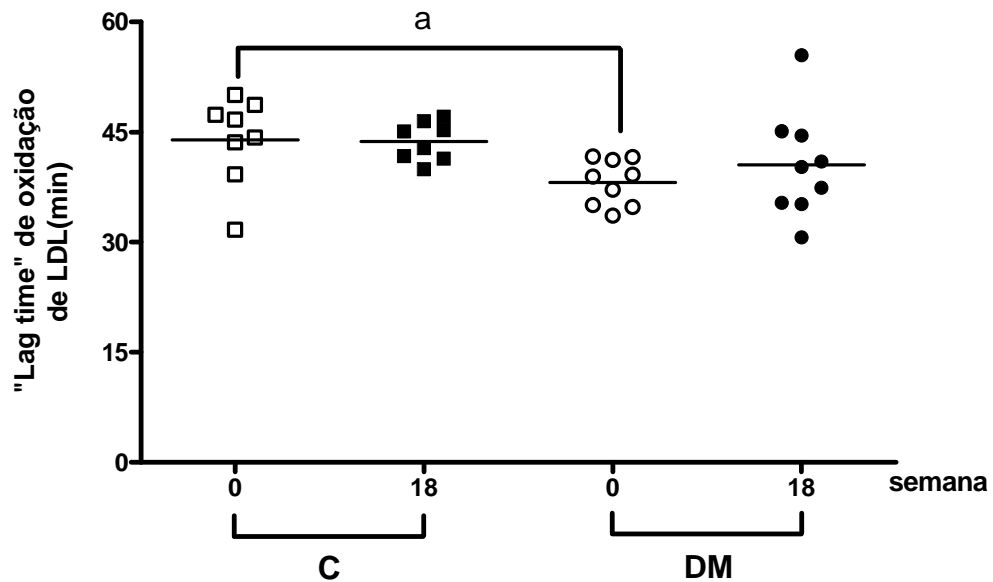
A influência do treinamento físico sobre a capacidade antioxidante das HDL frente à sessão aguda de exercício físico foi avaliada por meio do isolamento de subfrações de HDL antes de uma sessão de exercício (0 min), logo após seu término (40 min) e 24 h após a realização da mesma, nas semanas 3 e 16. Não se observou diferença entre os grupos C e DM 2, em todos os tempos analisados. Não houve diferença entre os valores de "lag time" do grupo C quando comparadas as semanas 3 e 16. Este resultado também foi observado para o grupo DM 2 (**tabela 2**).

Tabela 2. "Lag time" (em min) de oxidação de LDL ("pool" controle), na presença de HDL₃ isoladas do grupo C e DM 2, nos tempos 0, 40 min e 24 h após sessão de exercício, nas semanas 3 e 18.

	Semana 3			Semana 16		
	0 min	40 min	24h	0 min	40 min	24h
C	45 ± 7	47 ± 6	46 ± 6	45 ± 4	46 ± 3	49 ± 2
DM 2	41 ± 12	40 ± 7	40 ± 9	43 ± 7	44 ± 14	44 ± 11

Quando a oxidação de LDL foi realizada na presença de HDL₂, não se observou variação no "lag time" entre a semana 0 e 18 nos grupos C e DM 2. Na semana 0, a proteção conferida pela HDL₂ contra a oxidação de LDL foi maior para o grupo C quando comparado com o mesmo período no grupo DM 2 (**Figura 8**). No entanto, após as 18 semanas de treinamento físico essa diferença entre os grupos desapareceu.

Figura 8. "Lag time" (em min) de oxidação de LDL (*pool*/ controle), na presença de HDL₂ isoladas do grupo C e DM 2, antes e após treinamento físico (semanas 0 e 18, respectivamente).



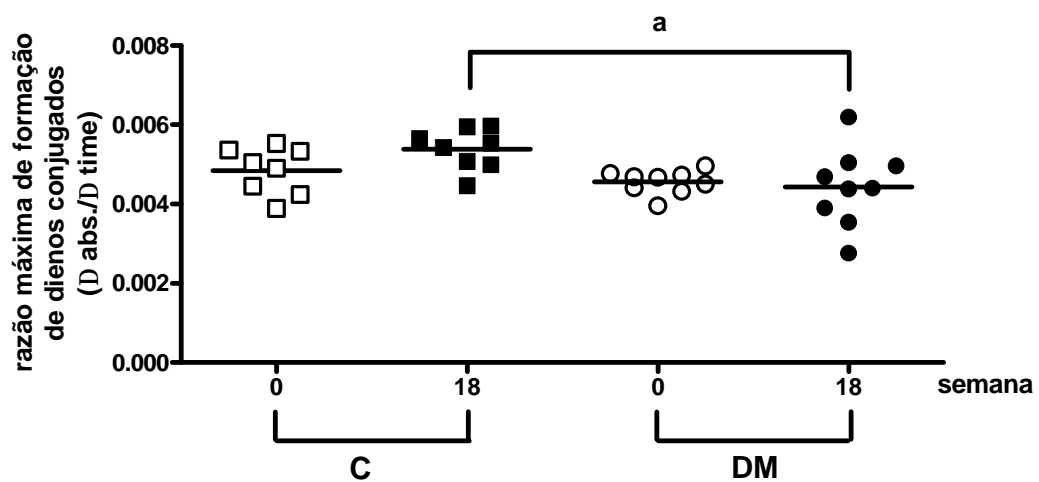
Semana	C (n = 8)		DM 2 (n = 9)	
	0	18	0	18
"Lag time" de oxidação de LDL (min)	44 ± 6	44 ± 3	38 ± 3 ^a	40 ± 7

^a p < 0,05 comparando-se a semana 0 entre os grupos C e DM 2.

Em relação à formação máxima de dienos conjugados em LDL, na presença de HDL₂ (**Figura 9**), não houve diferença no grupo DM 2, entre a semana 0 e a semana 18 e tampouco no grupo C. No entanto, a razão

máxima de formação de dienos conjugados foi menor no grupo DM 2, se comparado com o grupo C na semana 18.

Figura 9. Razão máxima de formação de dienos conjugados em LDL (“pool” controle), na presença de HDL₂ isoladas do grupo C e DM 2, antes e após treinamento físico (semanas 0 e 18, respectivamente).



	C (n = 8)		DM 2 (n = 9)	
Semana	0	18	0	18
Razão máxima de formação de dienos conjugados (média)	$4,8 \times 10^3$	$5,3 \times 10^3$	$4,5 \times 10^3$	$4,4 \times 10^3$ ^a
DP	$0,5 \times 10^3$	$0,5 \times 10^3$	$0,2 \times 10^3$	$0,9 \times 10^3$

^a p < 0,05 comparando-se a semana 18 entre os grupos C e DM 2.

Não houve influência do treinamento físico sobre a capacidade antioxidante das HDL₂, avaliada nas semanas 3 e 16, em sessão aguda de exercício físico, em ambos os grupos experimentais (**tabela 3**).

Tabela 3. “Lag time” (em min) de oxidação de LDL (“pool” controle), na presença de HDL₂ isoladas do grupo C e DM 2, nos tempos 0, 40 min e 24 h após sessão de exercício, nas semanas 3 e 16.

	semana 3			semana 16		
	0 min	40 min	24h	0 min	40 min	24h
C	20 ± 9	19 ± 9	21 ± 9	16 ± 4	16 ± 5	17 ± 4
DM 2	14 ± 3	14 ± 3	14 ± 4	14 ± 4	14 ± 3	14 ± 3

A concentração plasmática de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (“TBARS”), indicativa da formação de peróxidos lipídicos, foi semelhante entre os grupos C e DM 2 antes do TFA (**Tabela 4**). Após o mesmo, não houve alteração no grupo C. No entanto, se observou uma redução de 30% nos valores de “TBARS” do grupo DM 2 após o período de TFA.

Tabela 4. Atividade plasmática de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (“TBARS”) nos grupos C e DM 2.

semana	C (n = 8)		DM 2 (n = 10)	
	0	18	0	18
“TBARS” (nmol*TBARS ⁻¹ *mL ⁻¹)	1,8 ± 0,7	1,7 ± 1,0	2,0 ± 0,7	1,6 ± 0,4 ^a

^a p < 0,05 comparando-se as semanas 0 e 18 no grupo DM 2.

Após sessão aguda de exercício (**Tabela 5**), na semana 3, não houve diferença nas concentrações plasmáticas de “TBARS” entre os tempos 0 min, 40 min e 24 h, tanto no grupo C como no grupo DM 2. Também não foram observadas diferenças entre os grupos nesses períodos. Após o TFA, apenas no grupo DM 2, observou-se uma redução na concentração plasmática de “TBARS” entre os tempos 0 e 24 h (42%) e 40 min e 24 h (46%).

Tabela 5. Concentração plasmática de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (nmol.TBARS⁻¹.mL⁻¹) nos tempos 0 min, 40 min e 24 h após sessão aguda de exercício, nas semanas 3 e 16, nos grupos C e DM 2.

	semana 3			semana 16		
	0 min	40 min	24h	0 min	40 min	24 h
C	2,7 ± 0,7	2,8 ± 0,3	2,8 ± 0,8	2,0 ± 0,3	2,6 ± 0,6	2,5 ± 0,4
DM 2	1,8 ± 0,4	1,9 ± 0,9	1,8 ± 0,6	2,4 ± 0,8	2,6 ± 0,6	1,4 ± 0,4 ^{a b}

^a p < 0,05 comparando-se os tempos 0 e 24 h no grupo DM 2 pós TFA; ^b p < 0,05 comparado-se os tempos 40 min e 24 h no grupo DM 2 pós TFA.

O perfil de antioxidantes totais no plasma ("TAS") não foi diferente comparando -se os períodos pré e pós-treinamento físico, tanto no grupo C quanto no grupo DM 2. Também não foi observada diferença ao se comparar o grupo C com o DM 2 (**Tabela 6**).

Tabela 6. Perfil de antioxidantes totais no plasma (mmol/L) nos grupos C e DM 2.

semana	C (n = 11)		DM 2 (n = 13)	
	0	18	0	18
"TAS" (mmol/L)	1,12 ± 0,17	1,23 ± 0,14	1,16 ± 0,19	1,32 ± 0,44

Nos testes agudos, realizados na semana 3 e 16, também não houve diferença entre os tempos, em ambos os grupos (**Tabela 7**).

Tabela 7. Perfil de antioxidantes totais no plasma (mmol/L), após sessão aguda de exercício, nas semanas 3 e 16, nos grupos C e DM 2.

	semana 3			semana 16		
	0 min	40 min	24h	0 min	40 min	24h
C	1,05 ± 0,11	1,06 ± 0,12	1,10 ± 0,07	1,04 ± 0,12	1,07 ± 0,12	1,06 ± 0,11
DM 2	1,05 ± 0,12	1,04 ± 0,13	1,02 ± 0,08	1,01 ± 0,11	1,06 ± 0,14	1,01 ± 0,09

O conteúdo de colesterol total, triglicérides, fosfolípidos e apolipoproteína A-I nas partículas de HDL₃ foi semelhante entre C e DM 2 e não variou após o período de 18 semanas de treinamento físico aeróbico em ambos (Tabela 8).

Tabela 8. Composição das partículas de HDL₃ (mg/dL de fração) nas semanas 0 e 18, nos grupos C e DM 2.

semana	C		DM 2	
	0	18	0	18
CT	30 ± 6	30 ± 7	28 ± 8	27 ± 9
TG	14 ± 5	36 ± 55	13 ± 6	21 ± 19
FL	81 ± 18	80 ± 18	76 ± 21	76 ± 20
Apo A-I	113 ± 14	115 ± 21	113 ± 18	108 ± 20

Colesterol total (CT), triglicérides (TG), fosfolípidos (FL), apolipoproteína A-I (apo A-I).

Nas partículas de HDL₂, o conteúdo de colesterol total foi maior no grupo C do que no DM 2. Após o treinamento físico, essa diferença desapareceu. Não foram observadas variações após o período de

treinamento no conteúdo de triglicérides, fosfolípides e apolipoproteína A-I em ambos os grupos. Tampouco foram observadas alterações quando comparados os grupos C e DM 2, em ambos os períodos experimentais (**Tabela 9**).

Tabela 9. Composição das partículas de HDL₂ (mg/dL de fração) nas semanas 0 e 18 nos grupos C e DM 2.

semana	C		DM 2	
	0	18	0	18
CT	56 ± 14	55 ± 13	43 ± 10 ^a	46 ± 13
TG	14 ± 7	19 ± 15	9 ± 6	14 ± 18
FL	100 ± 39	95 ± 28	79 ± 23	82 ± 23
apoA-I	80 ± 28	79 ± 24	73 ± 24	76 ± 19

^a p < 0,05 comparando os grupos C e DM 2 na semana 0.
 Colesterol total (CT), triglicérides (TG), fosfolípides (FL), apolipoproteína A-I (apoA-I).

A atividade sérica da paraoxonase-1 (PON-1), medida por meio da hidrólise do acetato de fenila, foi similar entre os grupos C e DM 2 no início e final do estudo e não variou em função do treinamento físico (**Tabela 10**).

Tabela 10. Atividade sérica da PON-1 nos grupos C e DM 2.

semana	C (n = 11)		DM 2 (n = 10)	
	0	18	0	18
PON-1 (U/mL)	102 ± 26	105 ± 26	109 ± 38	106 ± 49

5. DISCUSSÃO

A prática regular de exercício reduz a incidência de diabetes melito e a mortalidade por doença arterial coronariana (Knowler WC et al., 2002; Lindstrom J et al., 2003; Li G et al., 2002). Por outro lado, o exercício aeróbio intenso é relacionado com o aumento do estresse oxidativo plasmático e tecidual, embora, alguns estudos demonstrem, ao longo prazo prevalência de defesas antioxidantes. O exercício físico exerce importantes ações sobre o perfil lipídico a favor de um estado antiaterogênico. Essas ações refletem-se, principalmente, na redução da trigliceridemia, aumento do tamanho de LDL e elevação do HDL colesterol (Duncan GE et al., 2003; Kraus WE et al., 2002; Couillard C et al., 2001). Embora incrementos no HDL colesterol plasmático, frente ao exercício físico, sejam variáveis e nem sempre referidos na literatura, é possível que mudanças qualitativas na partícula de HDL confirmam maior benefício à sua ação antiaterogênica.

Neste estudo, avaliou-se a influência do treinamento físico aeróbio sobre o perfil oxidante e antioxidante plasmático total e a capacidade antioxidante das subfrações de HDL, frente ao exercício crônico e sessão aguda de exercício.

O treinamento aeróbio foi efetivo em aumentar o condicionamento físico dos participantes, determinado pelo incremento no VO_2 pico observado em ambos os grupos experimentais. No período basal, o grupo C apresentou maior valor de VO_2 pico em relação ao grupo DM 2. A maior faixa etária do grupo DM 2, bem como possíveis complicações associadas ao DM 2 que confirmam prejuízo no transporte e/ou utilização do oxigênio podem relacionar-

se ao evento observado (Jackson AS et al.,1996; Brandenburg SL et al., 1999). Por outro lado, após o período de 18 semanas de treinamento não se verificou diferença entre o VO_2 atingido pelos dois grupos, indicando maior incremento no consumo de oxigênio no grupo DM 2, de modo a se igualar aquele do grupo C. Assim como os resultados de VO_2 pico, a carga máxima atingida pelo grupo DM 2 foi menor do que a do grupo C no início do estudo. Embora, ela tenha se elevado após o treinamento físico em ambos os grupos, permaneceu mais elevada no grupo C.

Conforme descrito por outros autores (Wong SL et al., 2004) observou-se redução na circunferência da cintura, após treinamento físico. O exercício físico reduz o risco de doença cardiovascular por diminuir os depósitos de gordura visceral. De fato, indivíduos submetidos a condicionamento físico intenso, independentemente de mudanças no IMC, apresentam redução da circunferência de cintura e adiposidade visceral e subcutânea.

Lee S et al. (2005) demonstraram que o exercício físico correlaciona-se, inversamente, com as concentrações séricas de triglicérides e, positivamente, com as de HDL, independentemente da gordura visceral ou subcutânea. No presente estudo não foi observada redução da trigliceridemia, possivelmente ocasionado pelo fato da resistência periférica à insulina do grupo DM 2 ser semelhante ao grupo C, limitando o aparecimento da dislipidemia diabética, o que é confirmado pelos valores normais de triglicérides no plasma (Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2001).

Em estudo de revisão realizado por Durstine JL et al. (2002) demonstra-se redução da trigliceridemia, após treinamento físico, em grande número de estudos. Neles, as maiores reduções foram obtidas em grupos de indivíduos previamente sedentários e com valores basais de triglicérides elevados. Além disso, a melhora no perfil lipídico é, freqüentemente, relatada em associação à queda de peso corporal, o que não foi observado no presente estudo.

Também não foram evidenciadas modificações na concentração plasmática de HDL colesterol, após 18 semanas de treinamento aeróbio, em ambos os grupos experimentais. Tal evento associa-se com a manutenção do peso corporal, uma vez que a redução do mesmo é um dos fatores que proporcionam o aumento do HDL colesterol (Williams PT et al., 1983). Outro possível motivo para a manutenção dos valores de HDL colesterol é a característica do treinamento físico realizado, que embora fosse aeróbio e intenso, pode não ter sido de volume suficiente (Krauss RM, 2004). Não obstante, a propriedade antioxidante das subfrações de HDL foi melhorada, apenas no grupo DM 2.

Trabalho recente de nosso laboratório demonstrou que o treinamento físico aeróbio em pacientes portadores de DM 2, nas mesmas condições deste estudo, favoreceu a interconversão das pequenas partículas nascentes de HDL (pré- β HDL) em partículas maduras, enriquecidas em triglicérides. Tais partículas dão continuidade ao transporte de colesterol dos tecidos periféricos ao fígado, garantindo a eficiência do transporte reverso de

colesterol (Ribeiro ICD et al., 2006), mesmo na ausência de variação quantitativa de HDL no plasma.

Trabalhos como o de Krentz AJ (2003) e de Krauss RM (2004) referem que a dislipidemia diabética leva a modificações no perfil das HDL, favorecendo a redução das partículas maiores e de menor densidade em detrimento das menores e mais densas.

Estudo recente demonstrou que a concentração das partículas grandes de HDL (α_1 e α_2 , contendo apolipoproteína A-I e A-II, respectivamente), é inversamente correlacionada com doença arterial coronariana. Por outro lado, a concentração de HDL pequenas que contêm apolipoproteína A-I, principalmente a pré- β_1 , é positivamente associada com a doença arterial coronariana em estudos de prevenção primária e secundária (Asztalos BF et al., 2005b). Indivíduos com doença arterial coronariana instalada, apresentavam diminuição e aumento significativo de α_1 e pré- β_1 , respectivamente. (Asztalos BF et al., 2004). Na Doença de Tangier, na qual é observado prejuízo na remoção de lípidos celulares, por mutações no receptor de HDL, ABCA-1, há predomínio de pequenas partículas de HDL (pré- β HDL) no plasma (Asztalos BF et al., 2001). Em tal doença, a manifestação de aterosclerose precoce é prevalente.

Uma pequena elevação no colesterol total plasmático no grupo DM 2 foi observada após o período de treinamento físico. No entanto, os valores mantiveram-se similares ao do grupo controle e abaixo dos valores de referência (Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2001). A concentração de LDL colesterol encontrava-se menor no grupo DM 2 quando comparada ao

grupo C. No entanto, após o TFA, houve aumento no LDL colesterol apenas no grupo DM 2. Essa elevação equiparou os valores de LDL colesterol do grupo DM 2 com o grupo C. Como não foi observado aumento na concentração de apoB, que caracteriza aumento no número de partículas de VLDL e LDL ("colesterol não HDL"), tem-se a evidência de aumento no conteúdo de colesterol nas partículas de LDL, caracterizando partículas maiores e, por consequência, menos aterogênicas.

As partículas de HDL₃ do grupo DM 2, isoladas antes do TFA, apresentaram uma capacidade de inibir a oxidação de LDL ("pool" controle) semelhante àsquelas isoladas do grupo C. De modo análogo, Gowry MS et al. (1999) não demonstraram diferença na capacidade antioxidante das subfrações de HDL isoladas de portadores de diabetes melito tipo 2 e controles, ambos sedentários, através da inibição da oxidação de LDL mediada por macrófagos. Por outro lado, Nobécourt E et al. (2005) demonstraram que a capacidade antioxidante das partículas de HDL₃, isoladas de indivíduos portadores de diabetes melito, está reduzida quando comparada a de indivíduos não diabéticos. Tal evento foi associado à maior trigliceridemia do grupo de portadores de diabetes melito e a uma possível interferência desta sobre a ação de antioxidantes presentes na partícula de HDL. Além disso nesse estudo foi observada correlação entre a glicemia de jejum e a redução da capacidade antioxidante das partículas de HDL₃

Embora o perfil lipídico e o grau de resistência à insulina não tenham sido modificados, observou-se, após o período de 18 semanas de treinamento físico aeróbio intenso, um aumento de 20,5% na capacidade

antioxidante das partículas de HDL₃, juntamente com uma redução na razão máxima de formação de dienos conjugados em LDL. Interessante observar que tal evento ocorreu mesmo na ausência de modificação na composição lipídica (colesterol total, livre e esterificado, triglicérides e fosfolípidos) e protéica (apolipoproteína A-I) da partícula de HDL₃.

As partículas de HDL₂ do grupo DM 2 apresentaram capacidade de inibir a oxidação de LDL ("pool" controle) reduzida em cerca de 13,2%, quando comparada às do grupo C. Esta mesma observação já havia sido feita por Gowry MS et al. (1999), embora não tenha sido confirmada por Nobécourt E et al. (2005), ambos avaliando portadores de diabetes melito tipo 2 e controles sedentários. Diferenças no perfil dos grupos analisados, assim como variações nas metodologias utilizadas, podem levar à variação nos resultados encontrados no presente estudo e nos da literatura.

Não obstante, após treinamento físico, houve correção do efeito antioxidante das partículas de HDL₂ do grupo DM 2, equiparando seus valores ao grupo controle. De modo semelhante às HDL₃, não se verificou alteração na composição de colesterol, triglicérides, fosfolípidos e apoA-I das partículas de HDL₂, após o período de TFA.

A capacidade antioxidante das HDL advém de sua principal apolipoproteína, a apoA-I (Navab M et al., 2000a,b), assim como de enzimas que hidrolisam produtos de oxidação (Aviram M, Rosenblat M, 2004), como a paraoxonase 1 e 3, a glutathione fosfolípide peroxidase, a PAF-acetilhidrolase (Barter PJ et al., 2004) e a lecitina colesterol aciltransferase (Vohl MC et al., 1999). É possível, no entanto, que grande

parte de tais moléculas desprendam-se das partículas de HDL, durante o processo de ultracentrifugação. Frente à atividade física aeróbia intensa são descritas alterações nas concentrações séricas de citocinas, marcadores inflamatórios e proteínas de fase aguda (Margeli A et al., 2005). Tais componentes são, em grande parte, carregados na circulação pelas HDL, de modo a deslocarem apo A-I da lipoproteína e, possivelmente, interferirem com sua ação antioxidante (Barter PJ et al., 2004; Rohrer L et al., 2004).

Pouco é sabido sobre a variação na atividade e concentração da paraoxonase após exercício físico e a relação com o tipo, intensidade e duração do mesmo. Tomas M et al., (2002) demonstraram que o treinamento físico crônico não altera a concentração e atividade da paraoxonase. Neste mesmo estudo, redução na atividade da enzima foi observada apenas após sessão aguda de exercício, o qual foi acompanhado por aumento na formação de peróxidos lipídicos na LDL. Neste sentido, Aviram M e Rosenblat M (2004) demonstraram diminuição na atividade da paraoxonase pela LDL oxidada, o que foi prevenido pelo tratamento com antioxidantes.

Considerando-se que a composição lipídica e protéica das subfrações de HDL não foi afetada, é possível que modificações na atividade intrínseca da paraoxonase ligada à HDL₃ ou HDL₂, ou aumento de sua massa sejam responsáveis pelo incremento na capacidade antioxidante das HDL (Tomas M et al., 2002; Aviram M, Rosenblat M, 2004; Nobécourt E et al., 2005). Além disso, modificação na conformação da apo A-I na superfície da partícula de HDL também poderia favorecer a atividade de outras enzimas antioxidantes.

"In vivo", a suscetibilidade de oxidação das LDL na parede arterial - considerada crítica para a gênese da aterosclerose - advém do balanço entre pró-oxidantes e defesas na parede arterial, em grande parte, conferidas pelas HDL. Além de modificações diretamente associadas à estrutura das HDL e da expressão de antioxidantes na parede arterial, o estresse oxidativo sofrido pelas LDL pode decorrer de alterações em sua própria composição. No presente estudo, a medida da cinética de oxidação das LDL, apresentou grande variabilidade e não permitiu a inferência do estresse oxidativo da partícula em função do treinamento físico ou sessão aguda de exercício. Isso decorre, em grande parte, da variação na composição individual das LDL, bem como, de suas condições de armazenamento e estoque em laboratório.

Por meio da determinação da concentração plasmática de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico ("TBARS"), que é um marcador de peroxidação lipídica, e do perfil de antioxidantes totais no plasma ("TAS"), pôde-se avaliar, neste estudo, as alterações no equilíbrio entre pró e antioxidantes plasmáticos (estado redox). As concentrações de "TBARS" e "TAS" foram semelhantes entre os grupos C e DM 2, antes do período de treinamento físico. Nourooz-Zadeh J et al. (1995) encontraram resultados semelhantes.

Após o período de 18 semanas de treinamento, houve redução nos valores de "TBARS" no grupo DM 2, sem que se tenha verificado alteração no perfil de antioxidantes totais no plasma. Estes resultados apontam para o

estabelecimento de um novo estado redox, com diminuição do insulto oxidativo.

Estudo comparando ciclistas e indivíduos sedentários demonstrou que os ciclistas, embora possuíssem perfil de antioxidantes totais no plasma similar aos sedentários, apresentavam menor concentração de anticorpos contra LDL oxidada (marcador de peroxidação lipídica) (García-Unzueta MT et al., 2003). Em outro estudo, Elosua R et al. (2003) demonstraram, em indivíduos saudáveis e previamente sedentários, redução plasmática de LDL oxidada e elevação da enzima antioxidante glutatona redutase. Quando foi aferida a concentração de "TBARS" no teste agudo, não foi observada nenhuma variação antes, imediatamente após e 24h depois do término da sessão de exercício, em ambos os grupos experimentais. Mesmo após as 18 semanas de TFA estes resultados mantiveram-se iguais, indicando que 40 min de exercício físico realizado entre 60% do VO_2 pico e o PCR, não provocam incremento nos valores plasmáticos de "TBARS". Estes dados do efeito agudo do exercício sobre os valores de "TBARS" divergem de alguns estudos que demonstraram aumento na produção de marcadores de peroxidação lipídica e ácidos graxos circulantes, após sessão aguda de exercício (Sanchez-Quesada JL et al., 1997; Liu ML et al., 1999). No entanto esses trabalhos foram realizados, em sua maioria, com atletas em provas de longa duração, como maratonas e triatlon. Além disso, não houve controle efetivo sobre a intensidade do exercício durante o transcorrer da atividade. Deve-se considerar, também, que tais atividades podem estar associadas com o estabelecimento e desenvolvimento de lesões musculares que

levariam a alteração de fatores inflamatórios (Aoi W et al., 2004) sistema xantina oxidase (provocada por depleção de ATP). Tais alterações, de maneira individual ou concomitantemente, podem interferir no balanço entre substâncias pró e antioxidantes plasmáticas e teciduais (Ji LL, 1999).

As ações seletivas do exercício físico no grupo DM 2, em detrimento ao grupo C, não foram esclarecidas no presente estudo. Neste aspecto, drogas utilizadas para o tratamento do DM 2 estão, diretamente, implicadas na melhora do perfil antioxidante e podem ter sua ação potencializada pelo exercício físico. De fato, a metformina está relacionada com a inativação de espécies reativas de oxigênio (Bonfont-Rousselot D et al., 2003) e com a regulação do balanço entre peróxidos e defesa antioxidante, em ratos com dieta rica em frutose (Srividhya S et al., 2002). A glicazida, pertencente à classe das sulfoniluréias, inibe a degradação de lípidos e proteínas, graças à redução de espécies reativas de oxigênio, além de aumentar o perfil antioxidante plasmático (Fava D et al., 2002; Noda Y et al., 1997). Outra família de hipoglicemiantes orais, as tiazolidinedionas ou glitazonas, diminuem a suscetibilidade das LDL à oxidação (Iida KT et al., 2003; Crawford RS et al., 1999; Tack CJ et al., 1998), embora nenhum dos pacientes incluídos neste estudo estivesse em uso de tais drogas. Ação sinérgica do exercício físico com drogas antioxidantes e vasodilatadoras é descrita na literatura, contribuindo para redução de área de lesão aterosclerótica em camundongos hiperlipidêmicos (Napoli C et al., 2004).

O estresse oxidativo plasmático está, invariavelmente, associado ao descontrole glicêmico. Em particular, a modificação de macromoléculas por

glicação, favorece a subsequente modificação oxidativa. Além disso, redução na atividade de antioxidantes endógenos, como superóxido dismutase e glutatona, também é descrita no diabetes melito (Sundaram RK et al., 1996). Menor atividade da paraoxonase (Ferretti G et al 2001) e da lecitina colesterol aciltransferase (Passarelli M et al., 1997) é, de fato, observada frente ao descontrole glicêmico e à modificação dessas enzimas ou lipoproteínas por glicação e oxidação. Não obstante, altera-se a cinética de metabolização das lipoproteínas e o fluxo de colesterol dos tecidos periféricos ao fígado, por meio do transporte reverso de colesterol.

Neste estudo, demonstrou-se que, mesmo na ausência de melhora da sensibilidade à insulina ou de elevação do HDL colesterol, o treinamento físico aeróbio favorece o papel antioxidante das HDL e reduz o estresse oxidativo plasmático. Nenhuma alteração nos parâmetros analisados foi observada frente à sessão aguda de exercício. Tais achados são importantes para prevenção e terapêutica do diabetes melito tipo 2 e da aterosclerose.

6. CONCLUSÃO

Em indivíduos portadores de diabetes melito tipo 2, o treinamento físico aeróbio, por 18 semanas, aumentou a capacidade antioxidante das HDL₃ e corrigiu a das HDL₂, além de reduzir a peroxidação de lípidos plasmáticos. Estes eventos foram independentes de melhora na sensibilidade à insulina e de variação na concentração plasmática e na composição das partículas de HDL.

7. REFERÊNCIAS

Abbott CA, Mackness MI, Kumar S, Boulton AJ, Durrington PN. Serum paraoxonase activity, concentration, and phenotype distribution in diabetes mellitus and its relationship to serum lipids and lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995; 15(11):1812-8.

Aoi W, Naito Y, Takanami Y, Kawai Y, Sakuma K, Ichikawa H, Yoshida N, Yoshikawa T. Oxidative stress and delayed-onset muscle damage after exercise. *Free Radic Biol Med.* 2004; 37(4):480-7.

Ardern CI, Katzmarzyk PT, Janssen I, Leon AS, Wilmore JH, Skinner JS, Rao DC, Despres JP, Rankinen T, Bouchard C. Race and sex similarities in exercise-induced changes in blood lipids and fatness. *Med Sci Sports Exerc.* 2004; 36(9):1610-5.

Asztalos BF, Brousseau ME, McNamara JR, Horvath KV, Roheim PS, Schaefer EJ. Subpopulations of high density lipoproteins in homozygous and heterozygous Tangier disease. *Atherosclerosis.* 2001;156(1):217-25.

Asztalos BF, Cupples LA, Demissie S, Horvath KV, Cox CE, Batista MC, Schaefer EJ. High-density lipoprotein subpopulation profile and coronary heart disease prevalence in male participants of the Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004; 24(11):2181-7.

Asztalos BF, Collins D, Cupples LA, Demissie S, Horvath KV, Bloomfield HE, Robins SJ, Schaefer EJ. Value of high-density lipoprotein (HDL) subpopulations in predicting recurrent cardiovascular events in the Veterans Affairs HDL Intervention Trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005a; 25(10):2185-91.

Asztalos BF, Demissie S, Cupples LA, Collins D, Cox CE, Horvath KV, Bloomfield HE, Robins SJ, Schaefer EJ. LpA-I, LpA-I:A-II HDL and CHD-risk: The Framingham Offspring Study and the Veterans Affairs HDL Intervention Trial. *Atherosclerosis.* 2005b; Nov 17 [Epub ahead of print].

Asztalos BF, de la Llera-Moya M, Dallal GE, Horvath KV, Schaefer EJ, Rothblat GH. Differential effects of HDL subpopulations on cellular ABCA1- and SR-BI-mediated cholesterol efflux. *J Lipid Res.* 2005c; 46(10):2246-53, 2005.

Aviram M, Rosenblat M. Paraoxonases 1, 2, and 3, oxidative stress, and macrophage foam cell formation during atherosclerosis development. *Free Radic Biol Med.* 2004;1;37(9):1304-16.

Barnard RJ, Jung T, Inkeles SB. Diet and exercise in the treatment of NIDDM. The need for early emphasis. *Diabetes Care.* 1994;17(12):1469-72.

Barter PJ, Nicholls S, Rye KA, Anantharamaiah GM, Navab M, Fogelman AM. Antiinflammatory properties of HDL. *Circ Res*. 2004; 15;95(8):764-72.

Benitez S, Sanchez-Quesada JL, Lucero L, Arcelus R, Ribas V, Jorba O, Castellvi A, Alonso E, Blanco-Vaca F, Ordonez-Llanos J. Changes in low-density lipoprotein electronegativity and oxidizability after aerobic exercise are related to the increase in associated non-esterified fatty acids. *Atherosclerosis*. 2002; 160(1):223-32.

Bonnefont-Rousselot D, Raji B, Walrand S, Gardes-Albert M, Jore D, Legrand A, Peynet J, Vasson MP. An intracellular modulation of free radical production could contribute to the beneficial effects of metformin towards oxidative stress. *Metabolism*. 2003; 52(5):586-9.

Boullier A, Bird D A, Chang M K, Dennis E A, Friedman P, Gillotte-Taylor K, Hörkkö S, Palinski W, Quehenberger O, Shaw P, Steinberg D, Terpstra V, Witztum J L Scavenger receptors, oxidized LDL, and atherosclerosis. *Ann N Y Acad Sci*. 2001; 947:214-22.

Bowry VW, Stanley KK, Stocker R. High density lipoprotein is the major carrier of lipid hydroperoxides in human blood plasma from fasting donors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992; 89(21):10316-20.

Brandenburg SL, Reusch JE, Bauer TA, Jeffers BW, Hiatt WR, Regensteiner JG. Effects of exercise training on oxygen uptake kinetic responses in women with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 1999; 22(10):1640-6.

Brites FD, Evelson PA, Christiansen MG, Nicol MF, Basilico MJ, Wikinski RW, Llesuy SF. Soccer players under regular training show oxidative stress but an improved plasma antioxidant status. *Clin Sci (Lond)*. 1999; 96(4):381-5.

Brunham LR, Kruit JK, Iqbal J, Fievet C, Timmins JM, Pape TD, Coburn BA, Bissada N, Staels B, Groen AK, Hussain MM, Parks JS, Kuipers F, Hayden MR. Intestinal ABCA1 directly contributes to HDL biogenesis in vivo. *J Clin Invest*. 2006; 116(4):1052-62.

Cabana VG, Reardon CA, Feng N, Neath S, Lukens J, Getz GS. Serum paraoxonase: effect of the apolipoprotein composition of HDL and the acute phase response. *J Lipid Res*. 2003; 44(4):780-92.

Couillard C, Despres JP, Lamarche B, Bergeron J, Gagnon J, Leon AS, Rao DC, Skinner JS, Wilmore JH, Bouchard C. Effects of endurance exercise training on plasma HDL cholesterol levels depend on levels of triglycerides: evidence from men of the Health, Risk Factors, Exercise Training and Genetics (HERITAGE) Family Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001; 21(7):1226-32.

Covas MI, Elosua R, Fito M, Alcantara M, Coca L, Marrugat J. Relationship between physical activity and oxidative stress biomarkers in women. *Med Sci Sports Exerc.* 2002; 34(5):814-9.

Crawford RS, Mudaliar SR, Henry RR, Chait A. Inhibition of LDL oxidation in vitro but not ex vivo by troglitazone. *Diabetes.* 1999; 48(4):783-90.

Despres JP, Gagnon J, Bergeron J, Couillard C, Leon AS, Rao DC, Skinner JS, Wilmore JH, Bouchard C. Plasma post-heparin lipase activities in the HERITAGE Family Study: the reproducibility, gender differences, and associations with lipoprotein levels. Health, Risk factors, exercise Training and Genetics. *Clin Biochem.* 1999; 32(3):157-65.

Duncan GE, Perri MG, Theriaque DW, Hutson AD, Eckel RH, Stacpoole PW. Exercise training, without weight loss, increases insulin sensitivity and postheparin plasma lipase activity in previously sedentary adults. *Diabetes Care.* 2003; 26(3):557-62.

Durstine JL, Grandjean PW, Cox CA, Thompson PD. Lipids, lipoproteins, and exercise. *J Cardiopulm Rehabil.* 2002; 22(6):385-98.

Elosua R, Molina L, Fito M, Arquer A, Sanchez-Quesada JL, Covas MI, Ordóñez-Llanos J, Marrugat J. Response of oxidative stress biomarkers to a 16-week aerobic physical activity program, and to acute physical activity, in healthy young men and women. *Atherosclerosis.* 2003; 167(2):327-34.

Esterbauer H, Striegl G, Puhl H, Rotheneder M. Continuous monitoring of in vitro oxidation of human low density lipoprotein. *Free Radic Res Commun.* 1989; 6(1):67-75.

Evelson P, Gambino G, Travacio M, Jaita G, Verona J, Maroncelli C, Wikinski R, Llesuy S, Brites F. Higher antioxidant defences in plasma and low density lipoproteins from rugby players. *Eur J Clin Invest.* 2002; 32(11):818-25.

Fagard RH. Exercise characteristics and the blood pressure response to dynamic physical training. *Med Sci Sports Exerc.* 2001;33(6 Suppl):S484-92.

Fava D, Cassone-Faldetta M, Laurenti O, De Luca O, Ghiselli A, De Mattia G. Gliclazide improves anti-oxidant status and nitric oxide-mediated vasodilation in Type 2 diabetes. *Diabet Med.* 2002;19(9):752-7.

Ferguson MA, Alderson NL, Trost SG, Essig DA, Burke JR, Durstine JL. Effects of four different single exercise sessions on lipids, lipoproteins, and lipoprotein lipase. *J Appl Physiol.* 1998; 85(3):1169-74.

- Ferre N, Camps J, Fernandez-Ballart J, Arijia V, Murphy MM, Ceruelo S, Biarnes E, Vilella E, Tous M, Joven J. Regulation of serum paraoxonase activity by genetic, nutritional, and lifestyle factors in the general population. *Clin Chem*. 2003; 49(9):1491-7.
- Ferretti G, Bacchetti T, Marchionni C, Caldarelli L, Curatola G. Effect of glycation of high density lipoproteins on their physicochemical properties and on paraoxonase activity. *Acta Diabetol*. 2001; 38(4):163-9.
- Fletcher GF, Balady GJ, Amsterdam EA, Chaitman B, Eckel R, Fleg J, Froelicher VF, Leon AS, Pina IL, Rodney R, Simons-Morton DA, Williams MA, Bazzarre T. Exercise standards for testing and training: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation*. 2001; 104(14):1694-740.
- Gan KN, Smolen A, Eckerson HW, La Du BN. Purification of human serum paraoxonase/arylesterase. Evidence for one esterase catalyzing both activities. *Drug Metab Dispos*. 1991; 19(1):100-6.
- Garcia-Unzueta MT, Gutierrez-Sanchez JB, de Mier I, Amado JA, Berrazueta JR. Autoantibodies against oxidized LDL and serum total antioxidant status in active cyclists and ex-cyclists. *Horm Metab Res*. 2003; 35(9):541-5.
- Goodyear LJ, Kahn BB. Exercise Glucose Transport, and Insulin Sensitivity. *Annu Rev Med*. 1998; 49:235-61.
- Gowri MS, Van der Westhuyzen DR, Bridges SR, Anderson JW. Decreased protection by HDL from poorly controlled type 2 diabetic subjects against LDL oxidation may be due to the abnormal composition of HDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999; 19(9):2226-33.
- Havel RJ, Eder HA, Bragdon JH. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J Clin Invest*. 1955; 34(9):1345-53.
- Hedrick CC, Thorpe SR, Fu MX, Harper CM, Yoo J, Kim SM, Wong H, Peters AL. Glycation impairs high-density lipoprotein function. *Diabetologia*. 2000; 43(3):312-20.
- Helmrich SP, Ragland DR, Leung RW, Paffenbarger RS Jr. Physical activity and reduced occurrence of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1991; 325(3):147-52.
- Holloszy JO. Exercise-induced increase in muscle insulin sensitivity. *J Appl Physiol*. 2005; 99(1):338-43.
- Husain K, Hazelrigg SR. Oxidative injury due to chronic nitric oxide synthase inhibition in rat: effect of regular exercise on the heart. *Biochim Biophys Acta*. 2002; 1587(1):75-82.

- Iida KT, Kawakami Y, Suzuki M, Shimano H, Toyoshima H, Sone H, Shimada K, Iwama Y, Watanabe Y, Mokuno H, Kamata K, Yamada N. Effect of thiazolidinediones and metformin on LDL oxidation and aortic endothelium relaxation in diabetic GK rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003; 284(6):E1125-30.
- Jackson AS, Wier LT, Ayers GW, Beard EF, Stuteville JE, Blair SN. Changes in aerobic power of women, ages 20-64 yr. *Med Sci Sports Exerc.* 1996; 28(7):884-91.
- Jafari M, Leaf DA, Macrae H, Kasem J, O'conner P, Pullinger C, Malloy M, Kane JP. The effects of physical exercise on plasma prebeta-1 high-density lipoprotein. *Metabolism.* 2003; 52(4):437-42.
- Jessen N, Goodyear LJ. Contraction signaling to glucose transport in skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 2005; 99(1):330-7.
- Ji LL. Antioxidants and oxidative stress in exercise. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1999; 222(3):283-92.
- Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM, Walker EA, Nathan DM. Diabetes Prevention Program Research Group. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med.* 2002; 346(6):393-403.
- Kontush A, Chantepie S, Chapman MJ. Small, dense HDL particles exert potent protection of atherogenic LDL against oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003; 23(10):1881-8.
- Kraus WE, Houmard JA, Duscha BD, Knetzger KJ, Wharton MB, McCartney JS, Bales CW, Henes S, Samsa GP, Otvos JD, Kulkarni KR, Slentz CA. Effects of the amount and intensity of exercise on plasma lipoproteins. *N Engl J Med.* 2002; 347(19):1483-92.
- Krauss RM. Lipids and lipoproteins in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2004; 27(6):1496-504.
- Krentz AJ. Lipoprotein abnormalities and their consequences for patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab.* 2003; 5(Suppl 1):S19-27.
- Kwiterovich PO Jr. The antiatherogenic role of high-density lipoprotein cholesterol. *Am J Cardiol.* 1998; 82(9A):13Q-21Q.
- Lee S, Kuk JL, Katzmarzyk PT, Blair SN, Church TS, Ross R. Cardiorespiratory fitness attenuates metabolic risk independent of abdominal subcutaneous and visceral fat in men. *Diabetes Care.* 2005; 28(4):895-901.

Li G, Hu Y, Yang W, Jiang Y, Wang J, Xiao J, Hu Z, Pan X, Howard BV, Bennett PH. DA Qing IGT and Diabetes Study. Effects of insulin resistance and insulin secretion on the efficacy of interventions to retard development of type 2 diabetes mellitus: the DA Qing IGT and Diabetes Study. *Diabetes Res Clin Pract.* 2002; 58(3):193-200.

Lindstrom J, Louheranta A, Mannelin M, Rastas M, Salminen V, Eriksson J, Uusitupa M, Tuomilehto J. Finnish Diabetes Prevention Study Group. The Finnish Diabetes Prevention Study (DPS): Lifestyle intervention and 3-year results on diet and physical activity. *Diabetes Care.* 2003; 26(12):3230-6.

Liu ML, Bergholm R, Makimattila S, Lahdenpera S, Valkonen M, Hilden H, Yki-Jarvinen H, Taskinen MR. A marathon run increases the susceptibility of LDL to oxidation in vitro and modifies plasma antioxidants. *Am J Physiol.* 1999; 276(6 Pt 1):E1083-91.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951; 193(1):265-75.

Margeli A, Skenderi K, Tsironi M, Hantzi E, Matalas AL, Vrettou C, Kanavakis E, Chrousos G, Papassotiriou I. Dramatic elevations of interleukin-6 and acute-phase reactants in athletes participating in the ultradistance foot race spartathlon: severe systemic inflammation and lipid and lipoprotein changes in protracted exercise. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; Jul;90(7):3914-8.

Meilhac O, Ramachandran S, Chiang K, Santanam N, Parthasarathy S. Role of arterial wall antioxidant defense in beneficial effects of exercise on atherosclerosis in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 21(10):1681-8.

Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci (Lond).* 1993; 84(4):407-12.

Nambi V, Ballantyne CM. Fat, fit, and leading the charge: the evolution of measuring high-density lipoprotein subpopulations. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005; 25(10):2013-5.

Napoli C, Williams-Ignarro S, De Nigris F, Lerman LO, Rossi L, Guarino C, Mansueto G, Di Tuoro F, Pignalosa O, De Rosa G, Sica V, Ignarro LJ. Long-term combined beneficial effects of physical training and metabolic treatment on atherosclerosis in hypercholesterolemic mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004; 101(23):8797-802.

Navab M, Hama SY, Cooke CJ, Anantharamaiah GM, Chaddha M, Jin L, Subbanagounder G, Faull KF, Reddy ST, Miller NE, Fogelman AM. Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein: step 1. *J Lipid Res.* 2000a; 41(9):1481-94.

Navab M, Hama SY, Anantharamaiah GM, Hassan K, Hough GP, Watson AD, Reddy ST, Sevanian A, Fonarow GC, Fogelman AM. Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein: steps 2 and 3. *J Lipid Res.* 2000b; 41(9):1495-508.

Navab M, Anantharamaiah GM, Reddy ST, Van Lenten BJ, Ansell BJ, Fonarow GC, Vahabzadeh K, Hama S, Hough G, Kamranpour N, Berliner JA, Lusis AJ, Fogelman AM. The oxidation hypothesis of atherogenesis: the role of oxidized phospholipids and HDL. *J Lipid Res.* 2004; 45(6):993-1007.

Nobécourt E, Jacqueminet S, Hansel B, Chantepie S, Grimaldi A, Chapman MJ, Kontush A. Defective antioxidative activity of small dense HDL₃ particles in type 2 diabetes: relationship to elevated oxidative stress and hyperglycaemia. *Diabetologia.* 2005; 48(3):529-38.

Noda Y, Mori A, Packer L. Gliclazide scavenges hydroxyl, superoxide and nitric oxide radicals: an ESR study. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol.* 1997; 96(2):115-24.

Nourooz-Zadeh J, Tajaddini-Sarmadi J, McCarthy S, Betteridge DJ, Wolff SP. Elevated levels of authentic plasma hydroperoxides in NIDDM. *Diabetes.* 1995; 44(9):1054-8.

Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.* 1979; 95(2):351-8.

Pasdar A, Ross-Adams H, Cumming A, Cheung J, Whalley L, St Clair D, MacLeod MJ. Paraoxonase gene polymorphisms and haplotype analysis in a stroke population. *BMC Med Genet.* 2006; 21;7:28.

Passarelli M., Catanozi S, Nakandakare ER, Rocha JC, Shimabukuro AFM, Morton RE, Quintão ECR. Plasma lipoproteins from poorly controlled diabetic subjects and "in vitro" glycation of lipoproteins enhance the transfer rate of cholesteryl ester from HDL to apoB-containing lipoproteins. *Diabetologia.* 1997; 40:1085-93.

Ramachandran S, Penumetcha M, Merchant NK, Santanam N, Rong R, Parthasarathy S. Exercise reduces preexisting atherosclerotic lesions in LDL receptor knock out mice. *Atherosclerosis.* 2005; 178(1):33-8.

Ratner R, Goldberg R, Haffner S, Marcovina S, Orchard T, Fowler S, Temprowa M. Diabetes Prevention Program Research Group. Impact of intensive lifestyle and metformin therapy on cardiovascular disease risk factors in the diabetes prevention program. *Diabetes Care*. 2005; 28(4):888-94.

Rauramaa R, Halonen P, Vaisanen SB, Lakka TA, Schmidt-Trucksass A, Berg A, Penttila IM, Rankinen T, Bouchard C. Effects of aerobic physical exercise on inflammation and atherosclerosis in men: the DNASCO Study: a six-year randomized, controlled trial. *Ann Intern Med*. 2004; 40(12):1007-14.

Ribeiro ICD R.T.Iborra, M.Q.T.S.Neves, S.A.Lottenberg, A.M.Charf, V.S. Nunes, C.E.Negrão, E.C.R.Quintão, E.R.Nakandakare, M.Passarelli. Aerobic exercise training reduces the pre-beta 1 HDL plasma levels and enhances the HDL₃ antioxidant role in type 2 diabetes mellitus subjects. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*. 2006; 50(Suppl 2): S144 (Apresentado no VII Congresso Paulista de Diabetes e Metabolismo; 4-7 maio 2006; Guarujá, Brasil. Abstracts).

Roberts CK, Won D, Pruthi S, Lin SS, Barnard RJ. Effect of a diet and exercise intervention on oxidative stress, inflammation and monocyte adhesion in diabetic men. *Diabetes Res Clin Pract*. 2006; Apr 6 [Epub ahead of print].

Rohrer L, Hersberger M, von Eckardstein A. High density lipoproteins in the intersection of diabetes mellitus, inflammation and cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol*. 2004;15(3):269-78.

Romero F, Rodriguez-Iturbe B, Parra G, Gonzalez L, Herrera-Acosta J, Tapia E. Mycophenolate mofetil prevents the progressive renal failure induced by 5/6 renal ablation in rats. *Kidney International*. 1999; 55:945-955.

Sanchez-Quesada JL, Homs-Serradesanferm R, Serrat-Serrat J, Serra-Grima JR, Gonzalez-Sastre F, Ordonez-Llanos J. Increase of LDL susceptibility to oxidation occurring after intense, long duration aerobic exercise. *Atherosclerosis*. 1995;118(2):297-305.

Sanchez-Quesada JL, Ortega H, Payes-Romero A, Serrat-Serrat J, Gonzalez-Sastre F, Lasuncion MA, Ordonez-Llanos J. LDL from aerobically-trained subjects shows higher resistance to oxidative modification than LDL from sedentary subjects. *Atherosclerosis*. 1997; 132(2):207-13.

Shern-Brewer R, Santanam N, Wetzstein C, White-Welkley J, Parthasarathy S. Exercise and cardiovascular disease: a new perspective. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998; 18(7):1181-7.

Sociedade Brasileira de Cardiologia. Resumo das III diretrizes brasileiras sobre dislipidemias e diretriz de prevenção da aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2001; 77(Suppl 3):1-4.

Steinberg D, Carew TE, Fielding C, Fogelman AM, Mahley RW, Sniderman AD, Zilversmit DB. Lipoproteins and the pathogenesis of atherosclerosis. *Circulation*. 1989; 80(3):719-23.

Stone NJ, Bilek S, Rosenbaum S. Recent National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III update: adjustments and options. *Am J Cardiol*. 2005; 96(4A):53E-59E.

Sundaram RK, Bhaskar A, Vijayalingam S, Viswanathan M, Mohan R, Shanmugasundaram KR. Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus with and without complications. *Clin Sci (Lond)*. 1996; 90(4):255-60.

Sviridov D, Nestel P. Dynamics of reverse cholesterol transport: protection against atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2002; 161:245-54.

Sviridov D, Kingwell B, Hoang A, Dart A, Nestel P. Single session exercise stimulates formation of pre beta 1-HDL in leg muscle. *J Lipid Res*. 2003; 44(3):522-6.

Srividhya S, Ravichandran MK, Anuradha CV. Metformin attenuates blood lipid peroxidation and potentiates antioxidant defense in high fructose-fed rats. *J Biochem Mol Biol Biophys*. 2002; 6(6):379-85.

Tack CJ, Smits P, Demacker PN, Stalenhoef AF. Troglitazone decreases the proportion of small, dense LDL and increases the resistance of LDL to oxidation in obese subjects. *Diabetes Care*. 1998; 21(5):796-9.

Taskinen MR. Diabetic dyslipidaemia: from basic research to clinical practice. *Diabetologia*. 2003; 46(6):733-49.

Thomas MJ. Physiological aspects of low-density lipoprotein oxidation. *Curr Opin Lipidol* 2000; 11(3):297-301.

Thompson PD, Cullinane EM, Sady SP, Flynn MM, Bernier DN, Kantor MA, Saritelli AL, Herbert PN. Modest changes in high-density lipoprotein concentration and metabolism with prolonged exercise training. *Circulation*. 1988; 78(1):25-34.

Thompson PD, Rader DJ. Does exercise increase HDL cholesterol in those who need it the most? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001; 21(7):1097-8.

Tomas E, Zorzano A, Ruderman NB. Exercise effects on muscle insulin signaling and action. Exercise and insulin signaling: a historical perspective. *J Appl Physiol*. 2002; 93:765-72.

Tomas M, Elosua R, Senti M, Molina L, Vila J, Anglada R, Fito M, Covas MI, Marrugat J. Paraoxonase1-192 polymorphism modulates the effects of regular and acute exercise on paraoxonase1 activity. *J Lipid Res*. 2002; 43(5):713-20.

Vasankari T, Lehtonen-Veromaa M, Mottonen T, Ahotupa M, Irjala K, Heinonen O, Leino A, Viikari J. Reduced mildly oxidized LDL in young female athletes. *Atherosclerosis*. 2000; 151(2):399-405.

Vaziri ND, Ni Z, Oveisi F, Liang K, Pandian R. Enhanced nitric oxide inactivation and protein nitration by reactive oxygen species in renal insufficiency. *Hypertension*. 2002; 39(1):135-41.

Vohl MC, Neville TA, Kumarathasan R, Braschi S, Sparks DL. A novel lecithin-cholesterol acyltransferase antioxidant activity prevents the formation of oxidized lipids during lipoprotein oxidation. *Biochemistry*. 1999; 11;38(19):5976-81.

Walker PD, Shah S. Reactive oxygen metabolites in endotoxin-induced acute renal failure in rats. *Kidney International*. 1990; 38:1125-1132.

Wannamethee SG, Shaper AG, Alberti KG. Physical activity, metabolic factors, and the incidence of coronary heart disease and type 2 diabetes. *Arch Intern Med*. 2000; 160(14):2108-16.

Wardle EN. Cellular oxidative processes in relation to renal disease. *Am J Nephrol*. 2005; 25(1):13-22.

Wasserman K, Whipp BJ, Koysl SN, Beaver WL Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise. *J Appl Physiol*. 1973; 35(2):236-43.

Wei C, Penumetcha M, Santanam N, Liu YG, Garelnabi M, Parthasarathy S. Exercise might favor reverse cholesterol transport and lipoprotein clearance: potential mechanism for its anti-atherosclerotic effects. *Biochim Biophys Acta*. 2005; 723(1-3):124-7.

Williams PT, Wood PD, Krauss RM, Haskell WL, Vranizan KM, Blair SN, Terry R, Farquhar JW. Does weight loss cause the exercise-induced increase in plasma high density lipoproteins? *Atherosclerosis*. 1983; 47(2):173-85.

Wing RR, Hill JO. Successful weight loss maintenance. *Annu Rev Nutr*. 2001; 21:323-41.

Wong SL, Katzmarzyk P, Nichaman MZ, Church TS, Blair SN, Ross R. Cardiorespiratory fitness is associated with lower abdominal fat independent of body mass index. *Med Sci Sports Exerc.* 2004; 36(2):286-91.

Dados antropométricos individuais

	idade	peso		IMC		CC	
semana		0	18	0	18	0	18
Controle							
ETO	44	86,1	84,0	27	26	101,0	97,0
ERA	56	58,0	59,7	24	24	79,0	79,5
IAP	46	67,3	67,5	28	28	89,5	85,0
JCC	47	61,2	59,2	26	25	83,0	80,0
MAS	47	58,0	59,0	25	25	84,0	83,5
NCR	49	69,2	71,5	27	28	89,5	86,5
VSN	39	92,7	92,4	31	31	99,5	97,0
CEL	44	75,6	76,1	26	26	94,0	94,2
MQT	69	62,3	61,5	26	25	83,0	82,0
JFC	48	75,5	74,0	26	25	93,0	92,0
SRM	40	67,5	68,3	24	24	92,0	91,0
MSL	44	84,0	84,7	27	27	102,0	101,5

	idade	peso		IMC		CC	
semana		0	18	0	18	0	18
DM 2							
IDC	63	65,7	68,5	27	28	94,0	93,0
LAB	61	67,3	66,6	30	30	99,0	97,0
HSC	51	93,8	87,0	30	28	98,0	89,0
WDN	51	68,7	69,5	27	27	88,0	87,0
MCS	46	87,3	87,1	30	29	107,0	106,0
MCO	51	67,3	66,5	28	28	87,0	86,0
MFC	57	78,3	78,3	30	30	104,0	102,5
MAL	62	70,0	73,3	25	26	84,0	84,0
LAK	51	81,8	84,4	27	28	99,0	97,7
NOH	43	73,0	67,0	33	30	97,0	96,5
MSF	52	66,5	68,0	28	28	94,0	94,0
BAS	65	67,5	67,2	25	25	91,0	89,0
DYS	70	63,0	62,0	25	24	88,0	87,5
SIN	54	80,5	78,8	32	32	108,0	107,0

Dados bioquímicos individuais

semana	Glicemia		insulinemia		HOMA-IR	
	0	18	0	18	0	18
Controle						
ETO	90	112	18,5	13,5	2,4	1,8
ERA	105	103	8,5	10,7	1,1	1,4
IAP	108	115	14,6	16,3	2	2,2
JCC	110	113	5,2	6,0	0,7	0,8
MAS	100	110	5,7	13,4	0,8	1,8
NCR	118	92	16,9	20,1	2,3	2,6
VSN	99	86	22,3	20,8	2,9	2,6
CEL	96	98				
MQT	98	97	11,0	20,0	1,5	2,6
JFC			22,4	30,6		
SRM			11,2	15,2		
MSL	91	91	21,7	19,6	2,8	2,5

semana	Glicemia		insulinemia		HOMA-IR	
	0	18	0	18	0	18
DM 2						
IDC	185	178	9,5	15,1	1,4	2,2
LAB	131	132	18,8	14,7	2,6	2,1
HSC	134	109	32,4	19,1	4,4	2,5
WDN	164	155	10,4	14,7	1,5	2,1
MCS	118	75	22,1	13,5	3	1,6
MCO	114	108	10,7	16,9	1,5	2,3
MFC	163	179	21,8	21,8	3,2	3,2
MAL	148	171	6,6	6,5	1	1
LAK	206	200				
NOH	98	95	46,4	42,4		
MSF	138	115	26,6	30,6	3,7	4
BAS	206	107	35,5	33,0	5,3	4,3
DYS	171	73	25,3	27,3	3,7	3,2
SIN						

Valores individuais de VO₂pico e carga máxir

semana	VO ₂ pico		carga máxima	
	0	18	0	18
Controle				
8	25,4	27,5	195	210
9	19,3	23,5	86	120
10	20,6	19,9	120	130
11	23,0	26,4	98	150
12	19,9	22,0	90	120
13	19,0	21,8	120	140
15	21,6	22,2	136	210
19	25,7	24,5	142	170
20	14,0	23,9	90	120
21	30,2	36,1	180	210
22	24,5	39,8	195	210
23	25,5	34,6	195	195

semana	VO ₂ pico		carga máxima	
	0	18	0	18
DM 2				
3	11,4	17,9	55	85
1	11,8	15,1	50	80
2	17,9	21,6	100	130
16	20,3	24,3	130	120
7	20,6	24,2	135	195
17	17,1	22,9	76	125
6	17,3	21,4	103	112
4	21,8	24,1	108	138
18	21,9	22,0	125	128
24	19,0	35,4	110	140
25	13,8	26,3	80	120
26	29,9	38,0	160	190
27	19,0	28,3	110	120
28				

Perfil oxidativo e antioxidante

semana	"lag time" HDL3		razão máxima HDL3		"lag time" HDL2		razão máxima HDL2		"TBARS"		"TAS"	
	0	18	0	18	0	18	0	18	0	18	0	18
Controle												
ETO	34,49	35,19	0,00475	0,004018	50,04	45,27	0,005333	0,005077	0,961538	0,769231	0,94	1,385
ERA	39,29	37,53	0,004342	0,003992	44,25	41,37	0,004452	0,00543			1,34	1,29
IAP	38,43	35,4	0,003667	0,003904	48,72	47,09	0,005042	0,005538				
JCC	35,87	35,87	0,004061	0,004352	43,61	41,73	0,00536	0,004462	1,346154	1,538462	0,765	1,365
MAS	36,83	42,56	0,004148	0,002848	47,37	45,07	0,003887	0,00597			1,345	1,285
NCR	31,15	39,23	0,00336	0,003492	39,25	39,93	0,00553	0,005649			1,295	1,455
VSN	40,68	38,1	0,003393	0,003691	46,67	42,81	0,004902	0,004991	2,820513	3,141026	1,075	1,16
CEL	33,9	33,37	0,0044	0,004194	31,72	46,49	0,004242	0,005947	2,948718	3,589744	1,11	1,26
MQT	38,68	39,79	0,00708	0,00694					1,666667	0,833333	1,1	1,2
JFC	36,53	33,51	0,00681	0,00825					1,858974	1,474359	1,19	1,04
SRM	28,96	27,84	0,00746	0,0081					1,282051	1,025641	1,04	1,03
MSL									1,602564	1,410256	1,12	1,05

semana	"lag time" HDL3		razão máxima HDL3		"lag time" HDL2		razão máxima HDL2		"TBARS"		"TAS"	
	0	18	0	18	0	18	0	18	0	18	0	18
DM 2												
IDC	34,65	47,12	0,004362	0,002944	37,14	35,37	0,004732	0,003902	1,795	1,282	1,155	0,97
LAB	31,9	43,57	0,003829	0,002875	39,18	35,2	0,004409	0,005043	3,718	2,051	1,285	1,73
HSC	34,76	52,1	0,003739	0,00255	34,78	37,4	0,004689	0,006198				
WDN	34,88	52,17	0,003248	0,002766	35,06	40,99	0,004963	0,004964			1,47	1,45
MCS	35,18	39,53	0,004505	0,003965	38,95	40,23	0,004769	0,004405			1,355	1,305
MCO	41,4	55,66	0,003714	0,002742	41,61	44,51	0,004504	0,004692	2,21	1,82	1,385	1,34
MFC	31,67	43,21	0,00349	0,003008	41,22	55,5	0,004325	0,002762	1,731	1,282	1,295	2,59
MAL	41,72	43,04	0,004209	0,004119	33,62	30,66	0,003955	0,004383	2,01	1,95	1,235	1,31
LAK	36,38	37,34	0,003595	0,003775	41,65	45,12	0,004675	0,003542	2,14	1,6	0,92	1,13
NOH									2,37	1,6	1,04	1,25
MSF	31,91	30,2	0,00652	0,00778					1,76	1,44	0,89	0,96
BAS	36,76	34,08	0,00639	0,00746					1,795	1,667	1,17	1,05
DYS	36,45	36,45							0,513	0,833	1,09	1,13
SIN											0,85	0,9

Composição das HDL₃

semana	Composição HDL ₃							
	CT		TG 0		Apo-A1		PL	
	0	18	0	18	0	18	0	18
Controle								
ETO	30	20	23	30	94	94	98	68
ERA	43	43	14	17	143	149	94	62
IAP	31	30	23	25	119	117	81	70
JCC	37	32	10	8	100	93	86	71
MAS	36	24	10	11	111	76	104	78
NCR	33	30	12	17	114	132	103	112
VSN	26	39	15	32	103	130	78	108
CEL	23	20	10	30	116	127	69	91
MQT	27	23	9	13	131	99	79	59
JFC	29	37	17	32	114	133	80	87
SRM	23	29	14	14	93	105	42	58
MSL	26	29	17	209	113	125	60	93

semana	Composição HDL ₃							
	CT		TG 0		Apo-A1		PL	
	0	18	0	18	0	18	0	18
DM 2								
IDC	32	25	10	18	128	110	109	95
LAB	21	30	11	19	82	92	56	87
HSC	31	28	17	12	120	96	81	69
WDN	24	26	11	13	85	88	68	78
MCS	35	50	9	17	123	163	67	110
MCO	28	24	23	22	118	111	74	57
MFC	31	19	26	19	102	94	71	53
MAL	42	34	13	14	133	114	96	66
LAK	33	28	5	10	124	107	101	89
NOH	20	17	18	9	106	107	72	76
MSF	40	32	9	5	146	135	108	113
BAS	16	16	15	70	97	89	52	51
DYS	21	22	9	14	104	100	59	73
SIN	23	22	10	57	112	104	45	54

Composição das HDL2

semana	Composição HDL2							
	CT		TG 0		Apo-A1		PL	
	0	18	0	18	0	18	0	18
Controle								
ETO	73	44	19	37	25	53	36	56
ERA	58	72	8	10	74	109	95	138
IAP	60	55	19	37	96	84	168	116
JCC	63	71	15	15	89	100	106	115
MAS	52	40	12	14	70	54	89	80
NCR	65	48	19	22	94	78	130	81
VSN	47	76	26	48	88	77	94	111
CEL	48	46	14	25	77	92	102	100
MQT	76	57	15	0	140	105	153	115
JFC	24	47	0	8	42	30	49	50
SRM	66	64	8	12	86	92	108	110
MSL	45	37	11	3	78	69	66	65

semana	Composição HDL2							
	CT		TG 0		Apo-A1		PL	
	0	18	0	18	0	18	0	18
DM 2								
IDC	49	39	10	17	76	62	76	55
LAB	46	45	15	17	86	86	102	92
HSC	41	57	19	12	63	70	69	100
WDN	42	57	9	15	61	88	59	90
MCS	47	46	5	21	118	95	120	104
MCO	64	70	20	70	38	68	50	74
MFC	30	38	15	15	44	63	56	78
MAL	32	29	3	5	48	49	65	53
LAK	42	48	7	10	77	76	73	82
NOH	40	42	11	5	104	99	104	110
MSF	57	61	1	0	96	113	111	115
BAS	41	35	7	1	75	74	86	78
DYS	30	27	1	1	57	51	62	37
SIN								

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO TERMO DE CONSENTIMENTO
LIVRE E ESCLARECIDO**

(Instruções para preenchimento no verso)

I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME DO PACIENTE:

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO: M () F ()

DATA NASCIMENTO: / /

ENDEREÇO: Nº: APTO:

BAIRRO:

CIDADE:

CEP:

TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL

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

DOCUMENTO DE IDENTIDADE: SEXO: M () F ()

DATA NASCIMENTO: / /

ENDEREÇO: Nº: APTO:.....

.....

BAIRRO:

CIDADE:

CEP:

TELEFONE: DDD ()

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA:

Efeito do treinamento físico aeróbio intenso, em indivíduos portadores de diabetes melito tipo 2, sobre a oxidação de lipoproteínas (*in vivo* e *in vitro*) e a remoção de lípidos celulares, mediada por HDL

2. PESQUISADOR: Rodrigo Tallada Iborra [Coordenação: Dra. Marisa Passarelli]

CARGO/FUNÇÃO: Professor de Educação Física

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 7427/G

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

SEM RISCO () RISCO MÍNIMO (X) RISCO MÉDIO ()

RISCO BAIXO () RISCO MAIOR ()

(em virtude da necessidade de coletas de sangue)

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : – 3 anos

III –REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA, CONSIGNADA

1. justificativa e os objetivos da pesquisa; 2.. procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais; 3. desconfortos e riscos esperados; 4. benefícios que poderão ser obtidos; 5. procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo.

- Exercício físico diminui o risco de doença cardíaca, com o qual o diabetes está muito relacionado. Neste estudo queremos verificar se o exercício físico protege contra o desenvolvimento de doença cardíaca.
- O exercício físico será realizado em bicicleta ergométrica, 3 vezes por semana, durante 4 meses, sob a orientação de um professor de Educação Física. Será feito um teste de avaliação de capacidade funcional, que indica o quanto de esforço um indivíduo pode realizar. Um dia antes deste teste não será permitido ingerir café e fazer exercícios físicos ou atividade extenuante, deverá dormir e se alimentar bem. Não deverá ser consumida bebida alcoólica por 3 dias antes do teste.
- Antes e depois dos 4 meses de exercício físico intenso serão colhidas amostras de sangue para as medidas de colesterol, triglicérides, glicose, insulina e estresse oxidativo.
- As mesmas medidas serão feitas em testes com a bicicleta ergométrica (igual a uma aula do condicionamento físico).
- Deverá ser mantida a dieta e a medicação habitual, de acordo com recomendação médica.
- Ao longo de todo o período de estudo o paciente será supervisionado por um médico, professores de educação física e nutricionista.
- Depois dos 4 meses espera-se que os pacientes apresentem melhora no controle do colesterol, da glicemia e também de alguns fatores que causam a doença cardíaca..

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA

O sujeito da pesquisa tem o direito de acesso a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas, assim como a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência. O mesmo terá salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade.

Toda a assistência médica será realizada pela equipe do ambulatório de Dislipidemias do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP. Não cabe indenização pelo fato do estudo apresentar risco mínimo à saúde.

V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

Dra Marisa Passarelli e Dra Edna Regina Nakandakare
Laboratório de Lípidos da Faculdade de Medicina da USP.
Av. Dr. Arnaldo, 455 - 3º andar sala 3317 fone: 3066-7263

VI. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:

VII. CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIMENTO

Declaro que, após ter sido convenientemente esclarecido pelo pesquisador, e ter entendimento o que me foi explicado consinto em participar do presente; Protocolo de Pesquisa

São Paulo, de de 2006

assinatura do sujeito ou responsável legal

**assinatura do pesquisador
(carimbo ou nome Legível)**