

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:
FISIOLOGIA

CARLOS HENRIQUE DE LEMOS MULLER

**EFEITO DO DESEQUILÍBRIO METABÓLICO, EXERCÍCIO AGUDO
AERÓBIO E TREINAMENTO DE FORÇA SOBRE AS PROTEÍNAS DE
CHOQUE TÉRMICO (HSP70), INFLAMAÇÃO E ESTRESSE OXIDATIVO EM
HUMANOS**

PORTO ALEGRE, 2023

CARLOS HENRIQUE DE LEMOS MULLER

**EFEITO DO DESEQUILÍBRIO METABÓLICO, EXERCÍCIO AGUDO
AERÓBIO E TREINAMENTO DE FORÇA SOBRE AS PROTEÍNAS DE
CHOQUE TÉRMICO (HSP70), INFLAMAÇÃO E ESTRESSE OXIDATIVO EM
HUMANOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia, do Departamento de Fisiologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), como requisito para obtenção do grau de Doutor em Fisiologia.

Orientador: Dr. Mauricio da Silva Krause

PORTO ALEGRE, 2023

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e a minha irmã, que sempre me incentivaram a seguir o caminho dos estudos, ao apoio nas minhas escolhas e a paciência durante todos esses anos.

À minha namorada, Helena, pelo carinho, pela paciência e pelo apoio incondicional durante todos esses anos. Além de ser uma pessoa maravilhosa, é uma pesquisadora extremamente inteligente. Agradeço imensamente pelas conversas e pela ajuda durante o trabalho. Sem isso, ele não seria possível.

Ao meu orientador, Maurício Krause, pelo incentivo, aprendizado, dedicação e orientação durante todos esses anos. Agradeço pela oportunidade de fazer parte do laboratório e da confiança em mim depositada desde o momento que comecei o mestrado.

Ao professor Paulo Ivo, pelos ensinamentos, pelas conversas e por ser exemplo na pesquisa científica.

A Inês pela ajuda, ensinamentos e carinho durante todos esses anos.

Aos colegas de laboratório pelo companheirismo e dedicação no desenvolvimento desse trabalho.

Aos órgãos de fomento de pesquisa: ao CNPq, que financiou minhas bolsas de estudo no mestrado e doutorado, e a FAPERGS pelo apoio financeiro a este trabalho de pesquisa.

RESUMO

Justificativa: As proteínas de choque térmico de 70 kDa no meio intracelular (iHSP70) auxiliam na proteostase celular e também possuem ação anti-inflamatória. Quando liberada de maneira aguda (ex: exercício) no meio extracelular (eHSP72), essa proteína inicialmente ativa o sistema imunitário gerando uma resposta frente ao estresse celular. No entanto, quando cronicamente elevada, ela possui ação pró-inflamatória e se correlaciona positivamente com diversas doenças crônicas, induzindo disfunção celular, resistência à insulina e atrofia muscular. Tanto as desordens metabólicas (obesidade, síndrome metabólica e diabetes tipo 2) quanto o envelhecimento estão relacionados com a inflamação crônica de baixo grau, que parece atenuar a expressão de iHSP70 e está associada com elevação crônica de eHSP72. O exercício agudo parece aumentar a eHSP72, indicando uma resposta adequada frente ao estresse gerado pelo exercício. Já o treinamento crônico parece aprimorar os níveis de iHSP70 e reduzir os níveis basais de eHSP72, o que seria importante para atenuar a inflamação crônica associada ao envelhecimento.

Objetivos: (ARTIGO 1) Sintetizar os dados relacionados com os níveis de HSP70 (intra e extracelular) em sujeitos com desordens metabólicas (obesos, síndrome metabólica - SM e Diabetes Mellitus Tipo 2 - DM2) em comparação com sujeitos saudáveis, por meio de uma revisão sistemática e metanálise; (ARTIGO 2) Avaliar a influência da composição corporal e capacidade cardiorrespiratória (VO_{2max}) na concentração plasmática de eHSP72, noradrenalina, insulina e glicose, em resposta a uma sessão de exercício aeróbico de intensidade moderada; (ARTIGO 3) Investigar o efeito de um protocolo de treinamento de força na expressão de iHSP70, concentração plasmática de eHSP72, na resposta ao choque térmico (HSR), na inflamação, estresse oxidativo, parâmetros de força, na massa muscular e na capacidade funcional de sujeitos de meia-idade. **Metodologia:** (ARTIGO 1) Estudos observacionais e dados basais de estudos experimentais que avaliassem iHSP70 e/ou eHSP72 em adultos com desordens metabólicas e sujeitos saudáveis foram incluídos. Para a busca de estudos elegíveis foram usadas as bases de dados PubMed, Embase, Scopus and Web of Science. O risco de viés foi avaliado pela escala de Newcastle-Ottawa. Na metanálise a eHSP72 foi estimada usando a diferença média e para iHSP70 a diferença média padronizada. (ARTIGO 2) Foram recrutados sujeitos sedentários com sobrepeso, eutróficos sedentários e eutróficos fisicamente ativos. Os voluntários realizaram uma sessão aguda de exercício aeróbico na esteira em 70% of VO_2 pico. Amostras de sangue foram coletadas antes do exercício, imediatamente e 1 hora após o exercício. (ARTIGO 3) Voluntários com idade entre 40 e 59 anos foram alocados em dois grupos: Treinado (n = 7), que realizaram 12 semanas de treinamento de força; ou Controle (n = 9), que não realizaram nenhum tipo de exercício. Antes e depois das 12 semanas, composição corporal, massa e força muscular, capacidade funcional e amostra de sangue foram coletadas para avaliação de perfil lipídico, insulina, glicemia, dano oxidativo, TNF- α e HSP70. **Resultados:** (ARTIGO 1) Não houve diferença na eHSP72 entre sujeitos com desordens metabólicas e controles (MD = 0.11; 95% confidence interval (CIs) = -0.05 to 0.27; $I^2 = 95\%$). Análise de subgrupos mostrou maiores níveis de eHSP72 em sujeitos com DM2 do que saudáveis (MD = 0.32; 95% confidence interval (CIs) = 0.17 to 0.47; $I^2 = 92\%$). Para iHSP70 não foi encontrada diferença entre grupos (SMD = -0.24; 95% confidence interval (CIs) = -1.62 to 1.15; $I^2 = 86\%$). (ARTIGO 2) No estado pré-treino alimentado, os níveis plasmáticos de eHSP72 não são afetados pelo IMC ou nível de atividade física, mas o IMC influencia a resposta da insulina e glicemia em uma sessão de exercício. Nos sujeitos com

sobrepeso o aumento de noradrenalina plasmática pode indicar elevada atividade simpática, ao passo que nos sujeitos fisicamente ativos a reduzida concentração de noradrenalina pode indicar uma aprimorada atividade simpática. **(ARTIGO 3)** Sujeitos de meia-idade possuem a HSR (resposta ao choque térmico) preservada, independente do treinamento. O treinamento de força aprimorou parâmetros de força, massa muscular e capacidade funcional. Ainda que não tenha ocorrido alterações nas defesas antioxidantes avaliadas, houve redução da peroxidação lipídica em virtude do treinamento. **Conclusão:(ARTIGO 1)** Níveis plasmáticos de eHSP72 não diferem entre sujeitos com desordem metabólica e saudáveis, mas parecem ser afetados pela condição clínica do indivíduo, particularmente a presença de diabetes. A iHSP70 não é diferente entre os dois grupos. **(ARTIGO 2)** No estado pré-treino alimentado, os níveis plasmáticos de eHSP72e sua resposta ao exercício não são afetados pelo IMC ou nível de atividade física. No entanto, o grau elevado de adiposidade parece impactar no perfil metabólico e na atividade simpática. Por outro lado, a elevada capacidade cardiorrespiratória parece atenuar atividade simpática. **(ARTIGO 3)** Sujeitos de meia-idade, sem complicações metabólicas, possuem a HSR preservada, não sendo essa modificada pelo treinamento de força. O treinamento de força reduz a peroxidação lipídica e pode retardar as perdas de força e massa muscular associadas ao envelhecimento.

ABSTRACT

Hypothesis: The heat shock proteins of 70 kDa in the intracellular milieu (iHSP70) collaborates in the cellular homeostasis and also have anti-inflammatory properties. In situations that this protein is released to the extracellular environment (eHSP72) acutely (e.g. exercise), the eHSP72 activates the immune system to overcome the cellular stress. However, when chronically elevated, this chaperone possesses pro-inflammatory properties and is related with many chronic diseases, generating cellular dysfunction, insulin resistance and muscle atrophy. As metabolic disorders (obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes), aging is also related with chronic low-grade inflammation, which seems to attenuate the iHSP70 expression and is associated with chronic increase of eHSP72. Acute exercise seems to increase the eHSP72, producing an adequate response in face of the stress produced during exercise. Moreover, the exercise training seems to improve the iHSP70 levels and reduce basal levels of eHSP72, which is important to attenuate the chronic inflammation associated with aging. **Aims:(STUDY 1)** to summarize the existing data related to the levels of HSP70 in adult people (young, middle age, older) with and without metabolic disorders (obesity, T2DM, MS), producing a systematic review and meta-analysis; **(STUDY 2)** To assess the influence of body composition and cardiorespiratory fitness on plasma heat shock protein 72 kDa (HSP72), norepinephrine (NE), insulin and glucose responses to an acute aerobic exercise bout in the fed state; **(STUDY 3)** To assess the effects of resistance training on heat shock response (HSR), intra and extracellular HSP70, oxidative stress, inflammation, body composition and metabolism in middle-aged subjects. **METHODS:(STUDY 1)** Observational and basal data of experimental studies that assess iHSP70 and/or eHSP72 in adults with metabolic disorders and healthy subjects were included. PubMed, Embase, Scopus and Web of Science databases were used to search potential eligible studies. The risk of bias was assessed using the Newcastle-Ottawa scale. In the meta-analysis, the eHSP72 was estimated using the mean difference and for iHSP70 standardized mean difference. **(STUDY 2)** Twenty-four healthy male adults were recruited and allocated into three groups: overweight sedentary (n=8), normal weight sedentary (n=8) and normal weight active (n=8). The volunteers performed an acute moderate exercise session on a treadmill at 70% of VO₂ peak. Blood samples were drawn at baseline, immediately post-exercise and at 1 hour post-exercise. **(STUDY 3)** Sixteen volunteers (40 – 59 years) were allocated in two groups: trained group (n = 7), that performed 12-weeks of RT; or sedentary control (n = 9) group, that did not perform any type of exercise. Before and after the intervention, body composition, muscle mass, strength, functional capacity and blood sample measurements (lipid profile, glucose, insulin, oxidative damage, TNF- α and HSP70) were performed. **RESULTS: (STUDY 1)** There was no difference in eHSP72 between metabolic disorders and healthy controls (MD = 0.11; 95% confidence interval (CIs) = -0.05 to 0.27; I² = 95%). Subgroup analysis showed higher levels of eHSP72 in T2DM than healthy ones (MD = 0.32; 95% confidence interval (CIs) = 0.17 to 0.47; I² = 92%). For iHSP70 no difference was found (SMD = - 0.24; 95% confidence interval (CIs) = - 1.62 to 1.15; I² = 86%). **(STUDY 2)** The plasma levels of HSP72 were not affected by body mass index or physical fitness, but body mass index has effect in insulin and glycemic response in an acute exercise session. In overweight subjects the norepinephrine increase may indicate elevated sympathetic activity while in physically active subjects the reduced norepinephrine concentration may indicate an improved sympathetic activity. **(STUDY 3)** The HSR (heat shock response) analysis

demonstrated that this response is maintained at normal levels in middle-aged people and that RT did not cause any improvement. Also, resistance training increased muscle mass, strength and functional capacity. Despite no additional changes of RT on the antioxidant defenses, lipid peroxidation was diminished by RT. **Conclusion:(STUDY 1)** Levels of eHSP72 in the circulation were not different between subjects with metabolic disorders and healthy controls, but are dependent of metabolic condition, especially the presence of diabetes. There is no difference in iHSP70 between groups. **(STUDY 2)** The plasma levels of eHSP72 and the exercise response were not affected by body mass index and physical fitness. However, the degree of adiposity seems to impact the metabolic profile and sympathetic activity. On the other hand, the elevated cardiorespiratory fitness seems to attenuate sympathetic activity. **(STUDY 3)** HSR is preserved in middle-aged subjects without metabolic complications. In addition, RT reduces lipid peroxidation and can retard muscle mass and strength loss-related to aging process.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Desenho experimental do estudo 2.

Figura 2 – Desenho experimental do estudo 3.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGL – ácidos graxos livres

DM2 – diabetes mellitus 2

EROS – espécies reativas de oxigênio

HSPs – proteínas de choque térmico

HSP70 – proteína de choque térmico de 70 kDa

HSP73 – forma constitutiva da proteína de choque térmico de 70 kDa

HSP72 – forma induzível da proteína de choque térmico de 70 kDa

HSR – resposta ao choque térmico

IGT – intolerância à glicose

I κ B – inibidor kinase B

I κ k – B - inhibitor of nuclear factor- κ B kinase-B

IL – 6 – interleucina - 6

IMC – índice de massa corporal

IRS-1 – substrato do receptor de insulina 1

JNK - c-Jun amino-terminal kinase

MURF – 1 - Muscle RING-finger protein-1

NF κ B – B - nuclear factor- κ B

PAS – pressão arterial sistólica

RE – retículo endoplasmático

RI – resistência à insulina

SM – síndrome metabólica

TA – tecido adiposo

TG – triglicerídeos

TLR 2/4 – receptores do tipo toll 2 e 4

TNF – α – tumor necrosis factor – α

Sumário

1.	APRESENTAÇÃO DA TESE	11
2.	INTRODUÇÃO	11
2.1.	Inflamação nas desordens metabólicas.....	11
2.3.	Proteínas de choque térmico (HSPs)	15
2.4.	Exercício Físico e indução da HSP70	16
3.	HIPÓTESES.....	17
4.	OBJETIVOS	18
4.1	Objetivo geral.....	18
4.2.	Objetivos específicos.....	18
5.	ARTIGO 1.....	20
6.	ARTIGO 2.....	54
7.	ARTIGO 3.....	73
8.	DISCUSSÃO GERAL	98
9.	CONCLUSÃO	102
10.	REFERÊNCIAS	103
11.	ANEXOS.....	108
11.1	Manuscrito aceito para publicação na revista Cell Stress and Chaperones.....	108
11.2	Termo de consentimento livre e esclarecido	110
11.3	Parecer consubstanciado do comitê de ética em pesquisa.....	112
12.	ARTIGOS ADICIONAIS DURANTE O DOUTORADO	114

1. APRESENTAÇÃO DA TESE

A presente tese foi organizada contemplando os seguintes pontos: i) uma introdução abordando os tópicos gerais que nortearam o desenvolvimento do trabalho (desordens metabólicas, processo de envelhecimento, proteína de choque térmico de 70 kDa (HSP70), e a indução de HSP70 pelo exercício físico no envelhecimento); ii) três capítulos apresentando, cada um deles, um estudo diferente; iii) uma discussão geral relacionando os três estudos e, por fim, iv) as conclusões.

O **CAPÍTULO I** apresenta uma revisão sistemática e metanálise que buscou investigar se sujeitos com desordens metabólicas possuem níveis diferentes de HSP70 (intra e extracelular) em comparação com indivíduos saudáveis (**artigo 1**). O **CAPÍTULO II** refere-se ao estudo que avaliou a influência da composição corporal e capacidade cardiorrespiratória nos níveis plasmáticos de HSP72 (forma induzível da família da HSP70), noradrenalina, insulina e glicemia em resposta a uma sessão de exercício aeróbio moderado no estado pré-treino alimentado (**artigo 2**). O **CAPÍTULO III** descreve o estudo que investigou o efeito do treinamento de força sobre a iHSP70, eHSP72 e a resposta ao choque térmico em indivíduos de meia-idade (**artigo 3**).

2. INTRODUÇÃO

2.1. Inflamação nas desordens metabólicas

As desordens metabólicas, como obesidade, diabetes do tipo II (DM2) e síndrome metabólica (SM), estão relacionadas com hiperglicemia, dislipidemia, hipertensão e obesidade abdominal (Alberti, 2009). A inatividade física e o elevado consumo de calorias são aspectos importantes para o desenvolvimento dessas doenças (Newsholme et al., 2014). Segundo dados do estudo GLOBAL BURDEN DISEASE (2018), há um aumento da prevalência desses fatores de risco metabólicos na população mundial. Nesse sentido, o estudo identificou que pressão arterial sistólica (PAS), glicemia de jejum e índice de massa corporal (IMC) estão entre os principais fatores de risco para qualquer causa de morte e para anos vividos com incapacidade (Stanawey et al., 2018). Por consequência, o aumento desses fatores de risco na população adulta também

influência a prevalência das desordens metabólicas. Estudos investigando essas desordens no Brasil estimam que 36 % da população adulta tenha sobrepeso e 21,5 % seja obesa (Ministério da Saúde, 2022), 33% da população adulta brasileira tenha SM (de Siqueira Valadares et al., 2022) e 10, 5% tenha DM2 (IDF, 2021).

Tem-se discutido, na literatura, que a expansão do tecido adiposo abdominal possui um papel fundamental no desenvolvimento da resistência à insulina (RI), SM e DM2 (Romacho et al., 2014). De fato, o aumento do TA visceral e subcutâneo está relacionado com a secreção de insulina (Musert et al., 2018; Van Vliet et al., 2020) e com a RI (Musert et al., 2018), que são condições envolvidas na progressão do DM2 (Weir & Bonner-Weir, 2004). Em sujeitos com obesidade, o aumento da secreção de insulina acontece mesmo na ausência de RI (Van Vliet et al., 2020). Essa secreção aumentada torna-se reduzida quando indivíduos com obesidade possuem intolerância a glicose (IGT) e continua diminuindo à medida que os sujeitos evoluem para um quadro de DM2, indicando disfunção das células β do pâncreas. Devido a menor capacidade de insulina inibir a lipólise, há um aumento dos ácidos graxos livres (AGL) no plasma, demonstrando um quadro de RI no TA (Gastaldelli et al., 2017).

Para o desenvolvimento da RI, são necessárias alterações na configuração do TA abdominal. Inicialmente, o TA expande pela necessidade de acomodar uma quantidade maior de triglicerídeos (TG), acarretando em modificações estruturais nos adipócitos (Klein et al., 2022). Em pessoas com obesidade, esse remodelamento no TA está relacionado com a hipertrofia dos adipócitos, aumento da infiltração de macrófagos e da liberação de citocinas pró-inflamatórias por essas células imunitárias (Romacho et al., 2014). Além disso, a maior demanda pela síntese de proteínas, devido à sobrecarga de nutrientes, também acarreta estresse do retículo endoplasmático (RE) (Mohan et al., 2019). Isso está relacionado com a perda da homeostase de proteínas ‘proteostasis’ identificada na SM e, por consequência, na progressão do DM2 (Jaisson & Gellery, 2014). O estresse do RE também acarreta a produção acentuada de espécies reativas de oxigênio (EROS) que ativa cinases do estresse (Hostamisligil, 2006). Essas cinases, como c-Jun amino-terminal cinase (JNK) e IKK- β (inibitor of nuclear factor- κ B (NF- κ B) cinase- β), inibem a sinalização da insulina (Hostamisligil, 2006). A IKK- β também atua degradando I κ - β (inibidor específico do NF- κ B) permitindo que o NF- κ B se transloque ao núcleo para promover a produção de compostos pró-inflamatórios e pró-oxidantes (De Toda & De La Fuente, 2015). Estudos têm identificado concentrações

aumentadas de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α (tumor necrosis factor alfa) e IL-6 (interleucina – 6), no TA subcutâneo de indivíduos com obesidade (Tiss et al., 2014; Kunz et al., 2021) e na circulação (Kunz et al., 2021).

O aumento de citocinas pró-inflamatórias na circulação e de AGL pelos adipócitos leva a disfunção metabólica em outros tecidos (Santoro et al. 2021). Como o TA torna-se incapaz de se expandir para acomodar mais TG, ocorre acúmulo de lipídios no fígado que, em conjunto com a sinalização inflamatória, acarreta a RI nesse tecido (Klein et al., 2022). Por conta disso, a insulina não consegue inibir a produção endógena de glicose, gerando um estado de hiperglicemia (Pal et al., 2016). Esse quadro aumenta o risco para o desenvolvimento da doença do fígado gorduroso não alcoólico (Palmer and Kirkland, 2016). Da mesma forma que no tecido hepático, deposição de lipídios no músculo esquelético está envolvido na RI em doenças metabólicas (Goodpaster et al., 2000). O acúmulo de lipídios se torna cada vez maior à medida que a condição metabólica se agrava (normoglicêmico não obeso \rightarrow diabético obeso). Nesse estudo, níveis aumentados de lipídios musculares foram associados com TA visceral e subcutâneo, níveis plasmáticos elevados de TG, colesterol e com hiperglicemia (Kiefer et al., 2021). No músculo esquelético, hiperlipidemia e hiperglicemia aumentam a produção de EROS e, por consequência, ativa vias inflamatórias que acarretam na fosforilação do substrato do receptor de insulina (IRS1) em serina, interferindo na sinalização da insulina (Turner et al., 2014). Além disso, o acúmulo de intermediários lipídicos (diacilglicerol e ceramidas) está envolvido no comprometimento da sinalização desse hormônio (Turner et al., 2013). Esse ambiente pró-inflamatório associado a RI também promove alteração da estrutura mitocondrial (Houzelle et al., 2020), reduz a capacidade oxidativa do músculo (Kunz et al., 2021) e diminui a expressão de proteínas contráteis, como titina e troponina, gerando atrofia muscular (Pellegrini et al., 2015). Portanto, a RI em tecidos metabólicos, como TA, fígado e músculo esquelético, em conjunto com a ativação de vias inflamatórias desencadeiam disfunções nesses tecidos que se perpetuam pela inflamação crônica, gerando um ciclo vicioso. Desta forma a composição corporal dos indivíduos parece ser um fator muito importante para a definição do estado inflamatório e metabólico.

Além da contribuição da composição corporal, o processo inflamatório crônico de baixo grau, comum às desordens metabólicas, também está associado ao processo de envelhecimento, nesse caso conhecido como “*inflamm-aging*” (do inglês: inflamm =

inflamação + aging = envelhecimento) (Franceschi et al., 2000). Também no envelhecimento, o principal contribuidor para esse quadro inflamatório crônico parece ser a expansão do TA visceral (Palmer and Kirkland, 2016). Entretanto, no envelhecimento, o TA subcutâneo perde sua capacidade de armazenar TG, ocasionando uma expansão mais pronunciada do TA visceral (Pérez et al., 2016). Ao mesmo tempo que ocorre a hipertrofia dos adipócitos para armazenar mais TG, os pré-adipócitos se tornam menos capazes de se diferenciar em adipócitos, reduzindo, a partir de um certo momento, a capacidade desse tecido armazenar lipídios. Isso acarreta em acúmulo de lipídios em outros tecidos, como o músculo esquelético (Palmer et al., 2016). O acúmulo de intermediários lipídicos no músculo em conjunto com ativação de vias inflamatórias acarreta na RI (Cleasby et al., 2016). Essa condição também é exacerbada pela formação aumentada de EROS na mitocôndria, levando à disfunção mitocondrial (Sakellariou et al., 2016). Com a RI ocorre uma redução na síntese de proteínas e um aumento na proteólise muscular devido à incapacidade da insulina estimular a síntese e, ao mesmo tempo, inibir a proteólise (Cleasby et al., 2016). Assim, a RI está diretamente relacionada com a perda de massa muscular e, por consequência, desenvolvimento da sarcopenia (Cleasby et al., 2016).

Vários estudos têm demonstrado associação entre o aumento de citocinas inflamatórias na circulação, principalmente IL-6, TNF- α e Proteína C-reativa, com redução da capacidade funcional, força e massa muscular (Fabbri et al., 2015; Kuo et al., 2006; Visser et al., 2002). No músculo esquelético a ligação do TNF- α ao seu receptor ativa a via de sinalização IKK β /NF κ - β /MURF-1 que induz atrofia muscular via ativação exacerbada do sistema ubiquitina-proteassoma, que é um dos sistemas que controla homeostase de proteínas (proteostasis) (Cai et al., 2004). Essa desregulação dos sistemas relacionados à 'proteostasis' também pode levar à disfunção muscular pela formação de agregados proteicos nas unidades motoras devido ao aumento da produção de EROS (Vasilaski et al., 2016). Isso acarreta dano oxidativo às proteínas, contribuindo para degeneração da junção neuromuscular, desnervação parcial do músculo e redução das unidades motoras (Vasilaski et al., 2016). Essas alterações nas unidades motoras, na força e massa muscular e na capacidade funcional contribuem para o desenvolvimento da síndrome de fragilidade do idoso que aumenta o risco de hospitalização e morte (Roubenoff et al., 2003). De fato, sujeitos com essa síndrome

possuem menor capacidade funcional e força muscular do que idosos sem ela (Casas-Herrero et al., 2013).

Fatores relacionados com o processo de envelhecimento, como perda de unidades motoras, força e massa muscular, não são verificadas apenas em idosos, mas sujeitos de meia idade (40 – 59 anos) já demonstram essas alterações (Aagaard et al., 2000; Clark and Manini. 2008). Além disso, a expansão do TA visceral também é percebida em sujeitos de meia-idade (Tchkonina et al., 2010). Portanto, estratégias que possam atenuar essas perdas seriam importantes para retardar o processo de envelhecimento em sujeitos de meia-idade.

2.3. Proteínas de choque térmico (HSPs)

Como já mencionados, os sistemas relacionados com a ‘proteostasis’, como ubiquitina-proteassoma e autofagia, são importantes para manutenção da integridade das proteínas e, portanto, da massa muscular. Além desses, outro importante mecanismo de proteção celular são as proteínas de choque térmico (HSPs). Essas proteínas são estimuladas em situações de estresse, como hipertermia, jejum, estresse oxidativo e exercício físico (Krause et al., 2015b). Entre as diferentes classes de HSP, a família da HSP de 70 kDa (HSP70) é uma das mais abundantes e também uma das mais estudadas (Noble et al., 2008). A família da HSP70 possui uma forma constitutiva (HSP73 ou HSPA8) e uma forma induzível (HSP72 ou HSPA1A), que apresentam mecanismos de ação similares (Kampinga et al., 2009). A ativação da HSP70 intracelular (iHSP70) é fundamental para a recuperação de proteínas danificadas, impedindo a agregação das mesmas no citoplasma (Noble et al., 2008). Além disso, trabalhos têm apontado essa chaperona como uma reguladora essencial para processos de reparo tecidual e controle da síntese proteica (Senf, 2013). Também tem se verificado que essa proteína possui ação anti-inflamatória aprimorando a sensibilidade à insulina, reduzindo a hiperinsulinemia e a hiperglicemia (Henstridge et al., 2014). A melhora na sinalização da insulina acontece porque a iHSP70 inibe cinases do estresse, como JNK e IKK β (Geiger e Gupte, 2011). Além disso, está envolvida na melhora da capacidade oxidativa e da função mitocondrial no músculo esquelético (Drew et al., 2013; Henstridge et al., 2014). Da mesma forma, sujeitos diabéticos possuem menor expressão de HSP72 no músculo esquelético que sujeitos saudáveis e isso parece ser associado com RI (Kurucz

et al., 2002), conteúdo intramuscular de TG e atividade de enzimas oxidativas (Bruce et al., 2003).

Contudo, quando esta proteína está presente cronicamente no plasma (eHSP72), apresenta função pró-inflamatória, pró-apoptótica e inibe a própria expressão de iHSP70 (Krause et al., 2015b). Essas afirmações estão baseadas, por exemplo, em estudos que encontraram relação entre a eHSP72 e o aumento da inflamação verificada na obesidade (Rodrigues-Krause et al., 2012), com a duração do diabetes tipo II (Nakhjavani et al., 2010) e correlação dessa chaperona com RI (Krause et al., 2014). Apesar de sua ação deletéria quando cronicamente elevada no plasma, a eHSP72 atua de uma maneira diferente quando aumentada em uma condição de estresse agudo. Esse aumento da proteína no plasma seria induzido pela ligação da noradrenalina a receptores alfa-1 nas células imunes (Ortega et al., 2006). Nesse caso, a HSP72 na circulação poderia ter um efeito protetor nos motoneurônios, reduzindo o dano oxidativo (Krause & Rodrigues-Krause et al., 2011) e exercendo um efeito anti-inflamatório através de um mecanismo dependente de ligação com Toll like receptors 2 e 4 (TLR2 e TLR4) (Asea et al., 2002). Também poderia auxiliar na homeostase metabólica em tecidos com baixo conteúdo de iHSP70 resistentes à insulina (Archer et al., 2018).

Como mencionado, a HSP70 (intra e extracelular) pode gerar diferentes respostas que, aparentemente, podem ser modificadas em virtude da condição metabólica do indivíduo – obesidade e diabetes, por exemplo. Entretanto, isso ainda não está totalmente claro.

2.4. Exercício Físico e indução da HSP70

Estudos têm verificado que a resposta ao choque térmico (heat shock response, em Inglês), que é a capacidade das células responderem ao estresse expressando iHSP70, está reduzida tanto em sujeitos de doenças de origem metabólica (De Lemos Muller et al., 2018), quanto em idosos (Njemini et al., 2002; Rao et al., 1999). Isso parece estar associado à inflamação crônica de baixo grau (De Lemos Muller et al., 2019). Nesse sentido, níveis basais de eHSP72 foram associados com citocinas inflamatórias (Krause et al., 2014) e níveis diminuídos com a longevidade (Terry et al., 2015). Considerando que essa chaperona tem ação anti-inflamatória e está envolvida na manutenção da função muscular, estratégias, como o exercício físico, que induzam sua expressão poderiam atenuar os declínios fisiológicos e clínicos associados ao envelhecimento.

Estudos têm demonstrado aumento da iHSP70 em leucócitos após uma meia-maratona (Fehrenbach et al., 2000) e na circulação após uma sessão de exercício (Ogawa et al., 2010; Peake et al., 2005). A elevação na expressão da proteína em células imunes parece importante para contrapor o dano oxidativo causado pelo estresse celular (Fehrenbach et al., 2000) e sua liberação é importante para modular a resposta imune (Asea et al., 2002). Em relação ao efeito do treinamento de força, seis semanas de intervenção aumentaram a produção de iHSP70 em monócitos e linfócitos em resposta ao choque térmico (Bautmans et al., 2005), indicando aprimoramento da resposta ao estresse. Ademais, sujeitos com sarcopenia reduziram os níveis de eHSP72 após 16 semanas de intervenção, sugerindo redução da inflamação sistêmica associada a sarcopenia (Perrault et al., 2016).

Entretanto, ainda não foi investigado se sujeitos de meia-idade, que já sofrem com alterações funcionais associadas ao envelhecimento, se beneficiariam do treinamento de força atenuando a inflamação sistêmica por meio do aprimoramento da iHSP70 e da eHSP72. Além disso, ainda não está totalmente claro como, a condição metabólica do indivíduo, pode afetar a resposta da HSP70 (intra e extracelular). Bem como, não se sabe o comportamento dessa proteína nas diferentes composições corporais e capacidades cardiorrespiratórias após uma sessão de exercício.

3. HIPÓTESES

Artigo 1: sujeitos com desordens metabólicas apresentarão menor conteúdo de iHSP70 e maior concentração basal da eHSP72 em comparação com sujeitos saudáveis.

Artigo 2: Em comparação com indivíduos eutróficos e fisicamente ativos, os com elevada composição corporal e baixa capacidade cardiorrespiratória apresentarão maiores concentrações de eHSP72 basal e elevação plasmática reduzida dessa proteína induzida pelo exercício.

Artigo 3: Sujeitos de meia-idade, após o treinamento de força, possuirão menor imunoc conteúdo de iHSP70 em leucócitos e, da mesma forma, da concentração plasmática de eHSP72 basal. Em relação a resposta ao choque térmico (HSR), nesses indivíduos haverá um aprimoramento no imunoc conteúdo de iHSP70 em leucócitos e na capacidade dessas células exportarem essa proteína (eHSP72) para a circulação.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Artigo 1: Sintetizar os dados relacionados com os níveis de HSP70 em sujeitos com distúrbios metabólicos (obesos, SM e DM2) em comparação com sujeitos saudáveis por meio de uma revisão sistemática e metanálise.

Artigo 2: Avaliar a influência da composição corporal e capacidade cardiorrespiratória na eHSP72, noradrenalina, insulina e glicose em resposta a uma sessão de exercício aeróbico.

Artigo 3: Investigar o efeito de um protocolo de treinamento de força na iHSP70, eHSP72, na HSR, na inflamação, estresse oxidativo, parâmetros de força, na massa muscular e na capacidade funcional em sujeitos de meia-idade.

4.2. Objetivos específicos

Artigo 1:

- Comparar os níveis de iHSP70 entre sujeitos com distúrbios metabólicos e saudáveis;
- Comparar os níveis de eHSP72 entre sujeitos com distúrbios metabólicos e saudáveis.

Artigo 2:

Avaliar os valores para:

- Composição corporal;
- Consumo de oxigênio de pico (VO_{2pico});
- Frequência cardíaca de repouso;
- Frequência cardíaca máxima em um teste incremental de esforço;
- Glicemia, insulina e suas áreas sobre as curvas (AUC) de uma sessão de exercício aeróbico;
- índice HOMA-IR;
- Triglicerídeos, colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL) e lipoproteína de baixa intensidade (LDL);
- HSP70 extracelular (eHSP72) e sua AUC de uma sessão de exercício aeróbico;
- Noradrenalina e sua AUC de uma sessão de exercício aeróbico.

Artigo 3:

Avaliar os valores para:

- Glicemia, insulina e índice HOMA-IR;
- Triglicerídeos, colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL) e lipoproteína de baixa intensidade (LDL);
- O teste de 1RM de força;
- Os testes funcionais de sentar e levantar em 30 segundos e subir um lance de escadas;
- A espessura muscular do quadríceps femoral;
- A espessura do tecido adiposo visceral (VAT) e subcutâneo (SAT);
- HSP70 intracelular, em leucócitos, e extracelular, no plasma;
- Os níveis plasmáticos de TNF- α ;
- Peroxidação lipídica, em soro, pelo método de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS);
- Atividade antioxidante por meio da análise da superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e sulfidrilas, em soro.
- Imunoconteúdo de glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GRd) e CAT, em leucócitos.

5. ARTIGO 1

Título: Intra and extra cellular HSP70 levels in adults with and without metabolic disorders: a systematic review and meta-analysis

Periódico: Cell stress and chaperones (ISSN: 1466-1268)

Situação: Em revisão.

6. ARTIGO 2

Título: Influence of body composition and cardiorespiratory fitness on plasma HSP72, norepinephrine, insulin and glucose responses to an acute aerobic exercise bout performed in fed state

Periódico: Cell stress and chaperones (ISSN: 1466-1268)

Situação: Aceito para publicação.

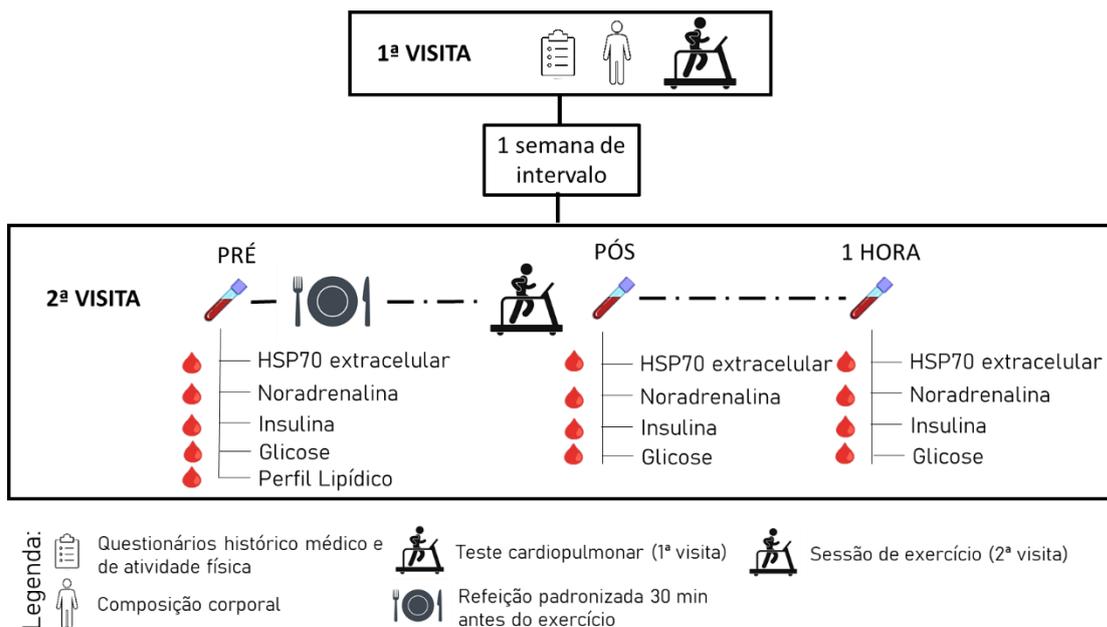


Fig. 1. Desenho experimental do artigo2.

7. ARTIGO 3

Título: Effects of resistance training on heat shock response (HSR), HSP70 expression, oxidative stress, inflammation and metabolism in middle-aged people

Periódico: Journal of Physiology and Biochemistry (ISSN: 1877-8755)

Situação: Em revisão.

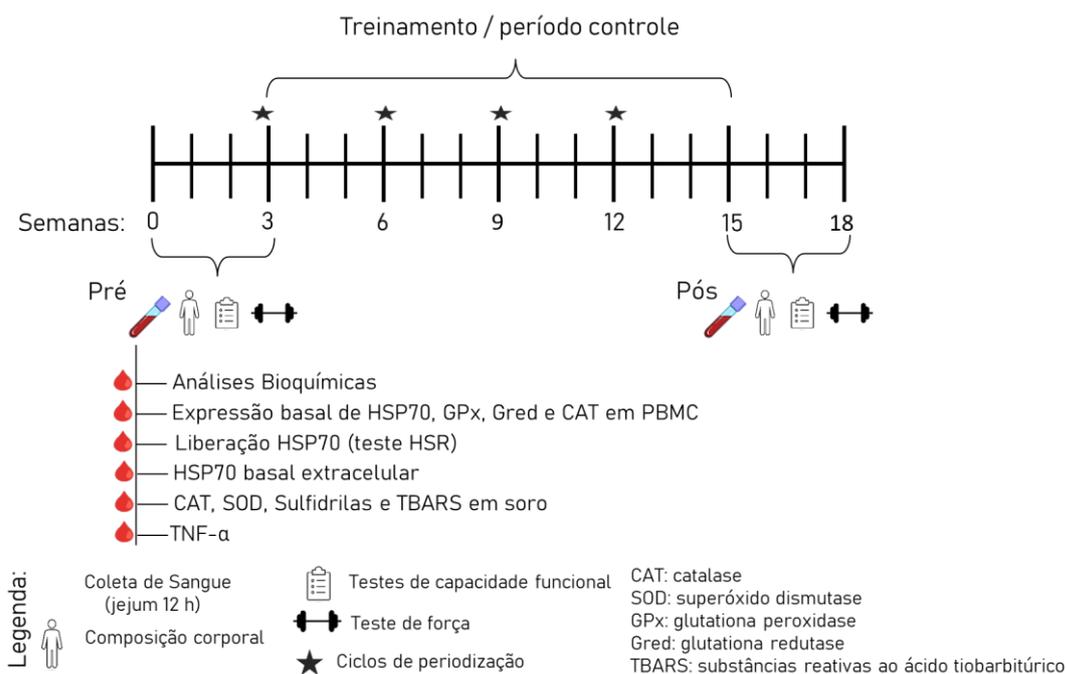


Fig. 2. Desenho experimental do estudo 3.

8. DISCUSSÃO GERAL

Essa tese buscou avaliar a resposta da iHSP70 e da eHSP72 em diferentes grupos de indivíduos (sujeitos com desordens metabólicas, diferentes capacidades cardiorrespiratórias, sobrepeso e meia-idade) e o efeito do exercício aeróbio agudo (de intensidade moderada) e do treinamento de força sobre a resposta de indução e liberação dessa proteína. Inicialmente, a ideia de estudar esses grupos era pelo fato de que acreditávamos que compartilhavam, em algum grau, de alterações metabólicas e de um processo inflamatório crônico.

No primeiro estudo (**ARTIGO 1**) verificamos, por meio de uma revisão sistemática e metanálise, que a condição metabólica (SM, DM2 ou obesidade) parece impactar nas concentrações plasmáticas de eHSP72 e, em sujeitos com DM2, a duração da doença também parece afetar as concentrações plasmáticas dessa proteína. Em relação a iHSP70, os resultados não mostraram diferença entre sujeitos saudáveis e com desordens metabólicas. No segundo estudo (**ARTIGO 2**), observamos que, no estado pré-treino alimentado, a liberação de eHSP72 não foi induzida de forma significativa em resposta a uma sessão de exercício aeróbio moderado, tampouco foi modulada pela composição corporal ou capacidade cardiorrespiratória. Finalmente, no terceiro estudo (**ARTIGO 3**), a resposta ao choque térmico (HSR) permanece intacta em sujeitos de meia-idade, mas o treinamento de força não alterou a expressão de iHSP70, em leucócitos, e eHSP72, no plasma.

Em nossa revisão sistemática e metanálise, consideramos como desordens metabólicas a obesidade, SM e o DM2. A ideia era verificar se em condições associadas ao desenvolvimento de uma inflamação crônica de baixo grau, que modula os níveis dessa chaperona, existiria diferença na eHSP72 e iHSP70, quando comparado a sujeitos saudáveis. Os resultados demonstraram que sujeitos com DM2 possuem maior concentração plasmática de eHSP72 que sujeitos saudáveis e que essa situação parece ser afetada pelo tempo da doença. Entretanto, tanto na comparação SM (2 estudos incluídos) quanto obesos (1 estudo incluído), os valores de eHSP72 não foram maiores que em sujeitos saudáveis. Sobre a iHSP70, não houve diferença entre o grupo com desordens metabólicas e sujeitos saudáveis. Esse resultado pode estar relacionado com a alta heterogeneidade entre os estudos, visto que os estudos utilizaram diferentes métodos de análise da iHSP70 e verificaram diferentes tecidos.

As concentrações de eHSP72 serem maiores em sujeitos com DM2 do que em sujeitos saudáveis pode ser explicada pelo ambiente pró-inflamatório imposto quando a doença está instaurada. Níveis elevados dessa proteína no plasma estão associados com citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α e Proteína-C reativa (Krause et al., 2014). Também está associada com reduzida sensibilidade à insulina (Chinchester et al., 2015). Sabe-se que a liberação crônica dessa chaperona leva à ativação de cinases, como JNK e NF- κ B, que inibem a ação da insulina no músculo esquelético (De Lemos Muller et al., 2019) e levam à disfunção das células- β pancreáticas, reduzindo a secreção de insulina (Krause et al., 2015b).

Além do fato de diabéticos possuírem maiores concentrações de eHSP72, parece que a duração da doença também afeta as concentrações dessa proteína. Esse efeito, além de estar associado a permanente inflamação crônica de baixo grau, inicialmente proveniente da expansão do tecido adiposo, também sofre influência da hiperatividade simpática mediada pela elevada concentração de leptina (Krause et al., 2015b). Dessa forma, o tônus simpático cronicamente elevado estimularia, principalmente as células imunes, a liberar continuamente eHSP72. Isso permite que essa proteína sinalize a perpetuação da inflamação em vários tecidos, mantendo um ciclo vicioso de inflamação e liberação de eHSP72.

Considerando o efeito antagônico da eHSP72 (pró-inflamatória) e da iHSP70 (anti-inflamatória) em condições basais, e que níveis plasmáticos cronicamente elevados de eHSP72 sinalizam para uma redução na expressão de iHSP70 (Krause et al., 2015b), esperávamos que nossa revisão sistemática com metanálise demonstrasse níveis reduzidos de iHSP70 em sujeitos com desordens metabólicas em comparação aos saudáveis. Entretanto, nossos achados não demonstraram diferença entre esses dois grupos na expressão intracelular dessa proteína. Diferenças no tecido/célula analisado (músculo esquelético e células imunes) e nas técnicas empregadas (western blot e citometria de fluxo) para análise da variável podem ajudar a explicar a falta de diferença entre os dois grupos. Além disso, o fato de todos os estudos compararem sujeitos com obesidade (alguns com RI) e sujeitos saudáveis pode, em menor grau, ajudar a explicar a falta de diferença. Estudos em humanos comparando os níveis de HSP70 mRNA entre sujeitos saudáveis e com DM2 verificaram níveis reduzidos dessa proteína no músculo esquelético nos sujeitos com a doença (Kurucz et al., 2002; Bruce et al., 2003). Portanto, a inclusão de estudos apenas com obesos que, diferente de sujeitos com DM2,

não teriam um quadro de inflamação crônica de baixo grau tão bem estabelecido, pode ter limitado o efeito sobre a iHSP70.

Da mesma forma que indivíduos com obesidade, os com sobrepeso possuem risco aumentado para o desenvolvimento de diversas doenças (Kramer et al., 2013) e, em alguns casos, já possuem alterações metabólicas similares às observadas em obesos (Jansen et al., 2004). Portanto, se inicialmente pensávamos que na obesidade os níveis de eHSP72 poderiam estar alterados (ARTIGO 1), qual seria o efeito do sobrepeso na eHSP72 e na liberação dessa proteína em resposta ao exercício agudo realizado no estado alimentado? E será que existe um efeito da capacidade cardiorrespiratória nesta resposta? (ARTIGO 2). O que verificamos nesse estudo foi que os níveis basais desta chaperona, no plasma, não são diferentes entre sujeitos com sobrepeso e eutróficos. Além disso, no estado pré-treino alimentado, não houve aumento da eHSP72 no plasma em resposta ao exercício aeróbio tanto em sujeitos com sobrepeso, quanto em eutróficos; e isso foi independente da capacidade respiratória dos indivíduos. Importante mencionar que em situações de estresse agudo, como o exercício físico, é esperado que ocorra um aumento da liberação de eHSP72 na circulação a fim de sinalizar uma resposta imune (Asea et al., 2002). Em especial, no exercício físico, a eHSP72 parece proteger os motoneurônios de dano oxidativo (Krause e Rodrigues-Krause, 2011) e sua sinalização leva a uma resposta anti-inflamatória (De Toda e De La Fuente, 2015).

Uma possível explicação para a falta de resposta da eHSP72 ao exercício aeróbio, neste estudo, pode estar relacionado com a intensidade e duração do exercício. Nosso protocolo de exercício teve duração de 30 minutos de intensidade moderada (70 % VO₂ pico). Esse protocolo foi utilizado considerando as recomendações do Colégio Americano de Medicina do Esporte (ACSM) para indivíduos adultos saudáveis (Garber et al., 2011). Estudos anteriores, avaliando a liberação dessa proteína em uma sessão de exercício aeróbio, utilizaram protocolos com duração superior a 60 minutos (Febbraio et al., 2002; Walsh et al., 2011). Ademais, parece que o aumento dessa proteína na circulação também seria dependente da intensidade do exercício (Fehrenbach et al., 2005).

Como nas desordens metabólicas, no processo de envelhecimento também ocorre o desenvolvimento de uma inflamação crônica de baixo grau (inflammaging) que parece estar relacionada com as reduções de capacidade funcional, força e massa muscular percebidas nessa condição. O fato dessas alterações funcionais já serem vistas em

sujeitos de meia-idade, levantou a possibilidade do treinamento de força retardar o desenvolvimento da inflamação sistêmica e das alterações funcionais vistas no envelhecimento etambém decorrentes da modulação da expressão basal da iHSP70 (anti-inflamatória), eHSP72 (pró-inflamatória) e da HSR (capacidade das células aumentarem a expressão da iHSP70 e sua liberação (eHSP72) frente ao estresse celular). No caso do efeito do treinamento sobre essa chaperona, esperava-se que houvesse uma redução na expressão basal da iHSP70 e na concentração da eHSP72, e um aprimoramento na HSR, aumentando tanto a expressão de iHSP70 quanto a liberação da eHSP72. Entretanto, nossos resultados demonstraram que o treinamento de força não altera a expressão basal da iHSP70 e não reduz as concentrações basais da eHSP72 em sujeitos de meia-idade. Ademais, esses sujeitos tiveram a HSR preservada, independentemente do treinamento, indicando manutenção da resposta frente ao estresse celular.

A ausência de modulação dessa proteína, em suas diferentes formas, possivelmente deve se ao fato desses sujeitos de meia-idade serem considerados saudáveis. Eles não possuíam resistência à insulina ou eram diabéticos, situações que alteram essa proteína. De fato, a resistência à insulina parece um fator essencial para a redução da iHSP70 no músculo esquelético no envelhecimento (Kavanagh et al., 2012). Da mesma forma, baixa expressão da iHSP70, no músculo esquelético de jovens primatas, seria um preditor do desenvolvimento de RI e de hiperinsulinemia em idades avançadas (Chinchester et al., 2015). Em sujeitos com DM2 a resposta ao choque térmico, nesse caso liberação da eHSP72, está bloqueada, mas o treinamento de força foi capaz de reverter esse quadro, aprimorando a capacidade desses sujeitos responderem a situações de estresse celular (De Lemos Muller et al., 2018). Portanto, em condições nas quais os sujeitos não possuem um quadro de IR ou uma doença estabelecida, nesse caso o DM2, o treinamento de força não altera tanto os valores basais de iHSP70 e eHSP72 quanto a HSR visto que já há uma resposta adequada.

9. CONCLUSÃO

As principais conclusões da tese são:

Sujeitos com DM2 possuem maior concentração plasmática da eHSP72 do que sujeitos saudáveis. Existe a possibilidade que a duração do diabetes interfira nos níveis de eHSP72, mas futuros estudos devem explorar essa hipótese.

A indução da liberação da eHSP72 pelo exercício aeróbio pode ter sido atenuada pela duração e intensidade do exercício. Futuros estudos, no estado alimentado, devem avaliar o efeito do exercício aeróbio em diferentes durações e intensidades para verificar se esses fatores realmente modulam a liberação dessa proteína e qual deles seria o mais importante.

Sujeitos de meia-idade aparentemente saudáveis possuem a HSR íntegra e o treinamento de força não altera a expressão basal de iHSP70, em leucócitos, ou os níveis basais de eHSP72, no plasma. A HSR também não é aprimorada pela intervenção. Novos estudos são necessários para comparar a HSR, os níveis basais de iHSP70 e eHSP72 e o efeito do treinamento de força sobre essas variáveis em sujeitos de meia-idade sem e com RI.

10. REFERÊNCIAS

AAGAARD, Per et al. Role of the nervous system in sarcopenia and muscle atrophy with aging: strength training as a countermeasure. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, v. 20, n. 1, p. 49-64, 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0838.2009.01084.x>.

ALBERTI, Kurt GMM et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the international diabetes federation task force on epidemiology and prevention; national heart, lung, and blood institute; American heart association; world heart federation; international atherosclerosis society; and international association for the study of obesity. *Circulation*, v. 120, n. 16, p. 1640-1645, 2009.

ARCHER, Ashley E.; VON SCHULZE, Alex T.; GEIGER, Paige C. Exercise, heat shock proteins and insulin resistance. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 373, n. 1738, p. 20160529, 2018. <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0529>.

ASEA, Alexzander et al. Novel signal transduction pathway utilized by extracellular HSP70: role of toll - like receptor (TLR) 2 and TLR4. *Journal of Biological Chemistry*, v. 277, n. 17, p. 15028-15034, 2002. <https://doi.org/10.1074/jbc.M200497200>.

BAUTMANS, Ivan et al. Biochemical changes in response to intensive resistance exercise training in the elderly. *Gerontology*, v. 51, n. 4, p. 253-265, 2005. <https://doi.org/10.1159/000085122>.

BRUCE, Clinton R. et al. Intramuscular heat shock protein 72 and heme oxygenase-1 mRNA are reduced in patients with type 2 diabetes: evidence that insulin resistance is associated with a disturbed antioxidant defense mechanism. *Diabetes*, v. 52, n. 9, p. 2338-2345, 2003. <https://doi.org/10.2337/diabetes.52.9.2338>.

CAI, Dongsheng et al. IKK β /NF- κ B activation causes severe muscle wasting in mice. *Cell*, v. 119, n. 2, p. 285-298, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.09.027>.

CASAS-HERRERO, Alvaro et al. Functional capacity, muscle fat infiltration, power output, and cognitive impairment in institutionalized frail oldest old. *Rejuvenation research*, v. 16, n. 5, p. 396-403, 2013. <https://doi.org/10.1089/rej.2013.1438>.

CHICHESTER, Lee et al. Muscle heat shock protein 70 predicts insulin resistance with aging. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*, v. 70, n. 2, p. 155-162, 2015. <https://doi.org/10.1093/gerona/glu015>.

CLARK, Brian C.; MANINI, Todd M. Sarcopenia \neq dynapenia. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, v. 63, n. 8, p. 829-834, 2008.

CLEASBY, Mark E.; JAMIESON, Pauline M.; ATHERTON, Philip J. Insulin resistance and sarcopenia: mechanistic links between common co-morbidities. *J Endocrinol*, v. 229, n. 2, p. R67-R81, 2016. <https://doi.org/10.1530/JOE-15-0533>.

DE LEMOS MULLER, Carlos Henrique et al. Exercise training for the elderly: inflammaging and the central role for HSP70. *Journal of Science in Sport and Exercise*, v. 1, p. 97-115, 2019. <https://doi.org/10.1007/s42978-019-0015-6>.

DE LEMOS MULLER, Carlos Henrique et al. Heat-induced extracellular HSP72 release is blunted in elderly diabetic people compared with healthy middle-aged and older adults, but it is partially restored by resistance training. *Experimental Gerontology*, v. 111, p. 180-187, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2018.07.014>.

DE MUTSERT, Renée et al. Associations of abdominal subcutaneous and visceral fat with insulin resistance and secretion differ between men and women: the Netherlands epidemiology of obesity study. *Metabolic syndrome and related disorders*, v. 16, n. 1, p. 54-63, 2018.

DE SIQUEIRA VALADARES, Letícia Teixeira et al. Prevalence of metabolic syndrome in Brazilian adults in the last 10 years: a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health*, v. 22, n. 1, p. 1-22, 2022.

- DE TODA, I. Martínez; DE LA FUENTE, M. The role of Hsp70 in oxi-inflamm-aging and its use as a potential biomarker of lifespan. *Biogerontology*, v. 16, n. 6, p. 709-721, 2015.
- DREW, Brian G. et al. HSP72 is a mitochondrial stress sensor critical for Parkin action, oxidative metabolism, and insulin sensitivity in skeletal muscle. *Diabetes*, v. 63, n. 5, p. 1488-1505, 2014. <https://doi.org/10.2337/db13-0665>.
- FABBRI, Elisa et al. Aging and the burden of multimorbidity: associations with inflammatory and anabolic hormonal biomarkers. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*, v. 70, n. 1, p. 63-70, 2015. <https://doi.org/10.1093/gerona/glu127>.
- FEBBRAIO, Mark A. et al. Exercise induces hepatosplanchnic release of heat shock protein 72 in humans. *The Journal of physiology*, v. 544, n. 3, p. 957-962, 2002. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2002.025148>
- FEBBRAIO, Mark A. et al. Glucose ingestion attenuates the exercise-induced increase in circulating heat shock protein 72 and heat shock protein 60 in humans. *Cell stress & chaperones*, v. 9, n. 4, p. 390-396, 2004. <https://doi.org/10.1379/CSC-24R1.1>.
- FEHRENBACH, ELVIRA et al. HSP expression in human leukocytes is modulated by endurance exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, v. 32, n. 3, p. 592-600, 2000.
- FEHRENBACH, E. et al. Exercise intensity and duration affect blood soluble HSP72. *International journal of sports medicine*, p. 552-557, 2004. <https://doi.org/10.1055/s-2004-830334>
- FRANCESCHI, Claudio et al. Inflamm-aging: an evolutionary perspective on immunosenescence. *Annals of the new York Academy of Sciences*, v. 908, n. 1, p. 244-254, 2000. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06651.x>.
- GARBER, Carol Ewing et al. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. 2011. <https://doi.org/10.7916/D8CR5T2R>.
- GASTALDELLI, Amalia; GAGGINI, Melania; DEFRONZO, Ralph A. Role of adipose tissue insulin resistance in the natural history of type 2 diabetes: results from the San Antonio Metabolism Study. *Diabetes*, v. 66, n. 4, p. 815-822, 2017.
- GEIGER, Paige C.; GUPTA, Anisha A. Heat shock proteins are important mediators of skeletal muscle insulin sensitivity. *Exercise and sport sciences reviews*, v. 39, n. 1, p. 34, 2011. doi:10.1097/JES.0b013e318201f236.
- GOODPASTER, Bret H.; THAETE, F. Leland; KELLEY, David E. Thigh adipose tissue distribution is associated with insulin resistance in obesity and in type 2 diabetes mellitus. *The American journal of clinical nutrition*, v. 71, n. 4, p. 885-892, 2000.
- HENSTRIDGE, Darren C. et al. Activating HSP72 in rodent skeletal muscle increases mitochondrial number and oxidative capacity and decreases insulin resistance. *Diabetes*, v. 63, n. 6, p. 1881-1894, 2014. <https://doi.org/10.2337/db13-0967>.
- HOTAMISLIGIL, Gökhan S. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*, v. 444, n. 7121, p. 860-867, 2006.
- HOUZELLE, Alexandre et al. Human skeletal muscle mitochondrial dynamics in relation to oxidative capacity and insulin sensitivity. *Diabetologia*, v. 64, p. 424-436, 2021.
- INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. *IDF Diabetes Atlas 10th Edition 2021*.
- JAISSON, Stéphane; GILLERY, Philippe. Impaired proteostasis: role in the pathogenesis of diabetes mellitus. *Diabetologia*, v. 57, p. 1517-1527, 2014.

JANSSEN, Ian; KATZMARZYK, Peter T.; ROSS, Robert. Duration of overweight and metabolic health risk in American men and women. *Annals of epidemiology*, v. 14, n. 8, p. 585-591, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2004.01.007>.

KAMPINGA, Harm H. et al. Guidelines for the nomenclature of the human heat shock proteins. *Cell Stress and Chaperones*, v. 14, n. 1, p. 105-111, 2009. <https://doi.org/10.1007/s12192-008-0068-7>.

KAVANAGH, Kylie et al. Aging does not reduce heat shock protein 70 in the absence of chronic insulin resistance. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*, v. 67, n. 10, p. 1014-1021, 2012. <https://doi.org/10.1093/gerona/gls008>.

KIEFER, Lena S. et al. Distribution patterns of intramyocellular and extramyocellular fat by magnetic resonance imaging in subjects with diabetes, prediabetes and normoglycaemic controls. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, v. 23, n. 8, p. 1868-1878, 2021.

KLEIN, Samuel et al. Why does obesity cause diabetes?. *Cell metabolism*, v. 34, n. 1, p. 11-20, 2022.

KRAMER, Caroline K.; ZINMAN, Bernard; RETNAKARAN, Ravi. Are metabolically healthy overweight and obesity benign conditions? A systematic review and meta-analysis. *Annals of internal medicine*, v. 159, n. 11, p. 758-769, 2013. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-159-11-201312030-00008>.

KRAUSE, Mauricio; DA COSTA RODRIGUES-KRAUSE, Josianne. Extracellular heat shock proteins (eHSP70) in exercise: possible targets outside the immune system and their role for neurodegenerative disorders treatment. *Medical hypotheses*, v. 76, n. 2, p. 286-290, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2010.10.025>.

KRAUSE, Mauricio et al. Elevated levels of extracellular heat-shock protein 72 (eHSP72) are positively correlated with insulin resistance in vivo and cause pancreatic β -cell dysfunction and death in vitro. *Clinical Science*, v. 126, n. 10, p. 739-752, 2014. <https://doi.org/10.1042/CS20130678>.

KRAUSE, Mauricio et al. The chaperone balance hypothesis: the importance of the extracellular to intracellular HSP70 ratio to inflammation-driven type 2 diabetes, the effect of exercise, and the implications for clinical management. *Mediators of inflammation*, v. 2015, 2015a. <https://doi.org/10.1155/2015/249205>.

KRAUSE, Mauricio et al. The regulatory roles of NADPH oxidase, intra- and extra-cellular HSP70 in pancreatic islet function, dysfunction and diabetes. *Clinical Science*, v. 128, n. 11, p. 789-803, 2015b. <https://doi.org/10.1042/CS20140695>.

KUO, Hsu-Ko et al. Linking C-reactive protein to late-life disability in the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999–2002. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, v. 61, n. 4, p. 380-387, 2006. <https://doi.org/10.1093/gerona/61.4.380>.

KUNZ, Hawley E. et al. Adipose tissue macrophage populations and inflammation are associated with systemic inflammation and insulin resistance in obesity. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, v. 321, n. 1, p. E105-E121, 2021.

KURUCZ, Istvan et al. Decreased expression of heat shock protein 72 in skeletal muscle of patients with type 2 diabetes correlates with insulin resistance. *Diabetes*, v. 51, n. 4, p. 1102-1109, 2002. <https://doi.org/10.2337/diabetes.51.4.1102>.

MOHAN, Sreelekshmi et al. Endoplasmic reticulum stress: a master regulator of metabolic syndrome. *European Journal of Pharmacology*, v. 860, p. 172553, 2019.

NAKHJAVANI, Manouchehr et al. Increased serum HSP70 levels are associated with the duration of diabetes. *Cell Stress and Chaperones*, v. 15, n. 6, p. 959-964, 2010. <https://doi.org/10.1007/s12192-010-0204-z>.

NEWSHOLME, Philip; KRAUSE, Mauricio. Diet, obesity, and reactive oxygen species—implications for diabetes and aging. In: *Systems Biology of Free Radicals and Anti-Oxidants*. Springer Verlag, 2014. p. 3361-3374. https://doi.org/10.1007/978-3-642-30018-9_152.

NJEMINI, Rose et al. Age-related decrease in the inducibility of heat-shock protein 70 in human peripheral blood mononuclear cells. *Journal of clinical immunology*, v. 22, p. 195-205, 2002. <https://doi.org/10.1023/A:1016036724386>.

NOBLE, Earl G.; MILNE, Kevin J.; MELLING, CW James. Heat shock proteins and exercise: a primer. *Applied physiology, nutrition, and metabolism*, v. 33, n. 5, p. 1050-1075, 2008. <https://doi.org/10.1139/H08-069>.

OGAWA, Kishiko et al. Plasma adenosine triphosphate and heat shock protein 72 concentrations after aerobic and eccentric exercise. *Exerc Immunol Rev*, v. 17, p. 136-149, 2011.

ORTEGA, E. et al. Role of Hsp72 and norepinephrine in the moderate exercise-induced stimulation of neutrophils' microbicide capacity. *European journal of applied physiology*, v. 98, n. 3, p. 250-255, 2006. <https://doi.org/10.1007/s00421-006-0269-7>.

PAL, Martin; FEBBRAIO, Mark A.; LANCASTER, Graeme I. The roles of c-Jun NH2-terminal kinases (JNKs) in obesity and insulin resistance. *The Journal of physiology*, v. 594, n. 2, p. 267-279, 2016.

PALMER, Allyson K.; KIRKLAND, James L. Aging and adipose tissue: potential interventions for diabetes and regenerative medicine. *Experimental gerontology*, v. 86, p. 97-105, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2016.02.013>.

PEAKE, Jonathan M. et al. Plasma cytokine changes in relation to exercise intensity and muscle damage. *European journal of applied physiology*, v. 95, n. 5-6, p. 514-521, 2005. <https://doi.org/10.1007/s00421-005-0035-2>.

PELLEGRINELLI, Vanessa et al. Human adipocytes induce inflammation and atrophy in muscle cells during obesity. *Diabetes*, v. 64, n. 9, p. 3121-3134, 2015.

PEQUIGNOT, J. M.; PEYRIN, L.; PERES, G. Catecholamine-fuel interrelationships during exercise in fasting men. *Journal of Applied Physiology*, v. 48, n. 1, p. 109-113, 1980. <https://doi.org/10.1152/jappl.1980.48.1.109>.

PÉREZ, Laura M. et al. 'Adipaging': ageing and obesity share biological hallmarks related to a dysfunctional adipose tissue. *The Journal of physiology*, v. 594, n. 12, p. 3187-3207, 2016. <https://doi.org/10.1113/JP271691>.

PERREAULT, K. et al. Sixteen weeks of resistance training decrease plasma heat shock protein 72 (eHSP72) and increase muscle mass without affecting high sensitivity inflammatory markers' levels in sarcopenic men. *Aging clinical and experimental research*, v. 28, n. 2, p. 207-214, 2016. <https://doi.org/10.1007/s40520-015-0411-7>.

RAO, D. Visala; WATSON, Kenneth; JONES, Graham L. Age-related attenuation in the expression of the major heat shock proteins in human peripheral lymphocytes. *Mechanisms of ageing and development*, v. 107, n. 1, p. 105-118, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0047-6374\(98\)00143-2](https://doi.org/10.1016/S0047-6374(98)00143-2).

RODRIGUES-KRAUSE, Josianne et al. Divergence of intracellular and extracellular HSP72 in type 2 diabetes: does fat matter?. *Cell Stress and Chaperones*, v. 17, p. 293-302, 2012. <https://doi.org/10.1007/s12192-011-0319-x>.

ROMACHO, T. et al. Adipose tissue and its role in organ crosstalk. *Acta physiologica*, v. 210, n. 4, p. 733-753, 2014.

ROUBENOFF, Ronenn et al. Cytokines, insulin-like growth factor 1, sarcopenia, and mortality in very old community-dwelling men and women: the Framingham Heart Study. *The American journal of medicine*, v. 115, n. 6, p. 429-435, 2003. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2003.05.001>.

- SAKELLARIOU, Giorgos K. et al. Mitochondrial ROS regulate oxidative damage and mitophagy but not age-related muscle fiber atrophy. *Scientific reports*, v. 6, n. 1, p. 1-15, 2016. DOI: 10.1038/srep33944.
- SANTORO, Anna; MCGRAW, Timothy E.; KAHN, Barbara B. Insulin action in adipocytes, adipose remodeling, and systemic effects. *Cell metabolism*, v. 33, n. 4, p. 748-757, 2021.
- SENF, Sarah M. Skeletal muscle heat shock protein 70: diverse functions and therapeutic potential for wasting disorders. *Frontiers in physiology*, v. 4, p. 330, 2013. <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00330>.
- STANAWAY, Jeffrey D. et al. Global, regional, and national comparative risk assessment of 84 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *The lancet*, v. 392, n. 10159, p. 1923-1994, 2018.
- TERRY, Dellara F. et al. Serum heat shock protein 70 level as a biomarker of exceptional longevity. *Mechanisms of ageing and development*, v. 127, n. 11, p. 862-868, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2006.08.007>.
- TCHKONIA, Tamara et al. Fat tissue, aging, and cellular senescence. *Aging cell*, v. 9, n. 5, p. 667-684, 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2010.00608.x>.
- TISS, Ali et al. Immunohistochemical profiling of the heat shock response in obese non-diabetic subjects revealed impaired expression of heat shock proteins in the adipose tissue. *Lipids in health and disease*, v. 13, n. 1, p. 1-13, 2014.
- TURNER, Nigel et al. Distinct patterns of tissue-specific lipid accumulation during the induction of insulin resistance in mice by high-fat feeding. *Diabetologia*, v. 56, p. 1638-1648, 2013.
- TURNER, Nigel et al. Fatty acid metabolism, energy expenditure and insulin resistance in muscle. *Journal of Endocrinology*, v. 220, n. 2, p. T61-T79, 2014.
- VAN VLIET, Stephan et al. Obesity is associated with increased basal and postprandial β -cell insulin secretion even in the absence of insulin resistance. *Diabetes*, v. 69, n. 10, p. 2112-2119, 2020.
- VASILAKI, Aphrodite et al. Role of nerve–muscle interactions and reactive oxygen species in regulation of muscle proteostasis with ageing. *The Journal of physiology*, v. 595, n. 20, p. 6409-6415, 2017. <https://doi.org/10.1113/JP274336>.
- Vigitel Brasil 2006-2020: estado nutricional e consumo alimentar. Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica do estado nutricional e consumo alimentar nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal entre 2006 e 2020 / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Análise em Saúde e Vigilância de Doenças Não Transmissíveis. – Brasília : Ministério da Saúde, 2022.
- VISSER, Marjolein et al. Relationship of interleukin-6 and tumor necrosis factor- α with muscle mass and muscle strength in elderly men and women: the Health ABC Study. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, v. 57, n. 5, p. M326-M332, 2002. <https://doi.org/10.1093/gerona/57.5.M326>.
- WALSH, R. C. et al. Exercise increases serum Hsp72 in humans. *Cell stress & chaperones*, v. 6, n. 4, p. 386-393, 2001. [https://doi.org/10.1379/1466-1268\(2001\)006<0386:EISHIH>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1379/1466-1268(2001)006<0386:EISHIH>2.0.CO;2).
- WEIR, Gordon C.; BONNER-WEIR, Susan. Five stages of evolving beta-cell dysfunction during progression to diabetes. *Diabetes*, v. 53, n. suppl_3, p. S16-S21, 2004.

11. ANEXOS

11.1 Manuscrito aceito para publicação na revista Cell Stress and Chaperones



Carlos Muller <mullercarlos0@gmail.com>

Fwd: Decision on your manuscript #CSAC-D-23-00061R1 - [EMID:25a9bbae49e30482]

1 mensagem

Maurício Krause <mauricio.krause@ufrgs.br>
Para: Carlos Muller <mullercarlos0@gmail.com>

10 de julho de 2023 às 11:59

Prof. Maurício Krause, PhD
Professor Adjunto - Departamento de Fisiologia
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9814-742X>
Instituto de Ciências Básicas da Saúde
Laboratório de Pesquisa em Inflamação, Metabolismo e Exercício (LAPIMEX)
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre, RS - Brasil
Fone: (051) 3308-2065

----- Mensagem original -----

Assunto:Decision on your manuscript #CSAC-D-23-00061R1 - [EMID:25a9bbae49e30482]
Data:2023-06-19 13:00
De:"Cell Stress and Chaperones" <em@editorialmanager.com>
Para:"Mauricio Krause" <mauricio.krause@ufrgs.br>
Responder para:"Cell Stress and Chaperones" <helen.neumann@uconn.edu>

Dear Dr. Krause:

I am pleased to accept for publication in Cell Stress & Chaperones your manuscript entitled "Influence of body composition and cardiorespiratory fitness on plasma HSP72, norepinephrine, insulin, and glucose responses to an acute aerobic exercise bout performed in the fed state".

Thank you for your careful attention to the comments and suggestion of the reviewers which has strengthened your manuscript.

For queries regarding your accepted paper, please click the following link: <http://www.springer.com/journal/12192>; then click on "Contacts", and then "Production Editor", complete the query form and click "Submit".

Please remember to always include your manuscript number, #CSAC-D-23-00061R1, whenever inquiring about your manuscript.
Thank you.

The electronic version of Cell Stress & Chaperones can now be accessed from our society web site: <http://www.cellstressresponses.org/>.

The electronic version of your paper will be copy edited by Springer and sent to you for approval. Afterward, it will be published in a few weeks with a unique Digital Object Identifier(DOI) in Springer Online First. This DOI will not be removed or replaced and so this fully edited version can be used for referencing, citation, patent claims and any other legal purpose. The print version will appear in a few months, primarily as an archival record and of course this paginated version can be referenced and cited as well, although it is not essential to do so since the DOI uniquely identifies your paper. That said, Springer does a very professional

job preparing the print version and many readers and authors, including myself, still look forward to reading the print issue.

On behalf of the Editorial Board and the members of the Cell Stress Society International, I thank you for your contribution.

Sincerely,

Elizabeth Repasky, PhD

Cell Stress and Chaperones

Please note that this journal is a Transformative Journal (TJ). Authors may publish their research with us through the traditional subscription access route or make their paper immediately open access through payment of an article-processing charge (APC). Authors will not be required to make a final decision about access to their article until it has been accepted.

 Authors may need to take specific actions to achieve compliance with funder and institutional open access mandates. If your research is supported by a funder that requires immediate open access (e.g. according to Plan S principles) then you should select the gold OA route, and we will direct you to the compliant route where possible. For authors selecting the subscription publication route our standard licensing terms will need to be accepted, including our self-archiving policies. Those standard licensing terms will supersede any other terms that the author or any third party may assert apply to any version of the manuscript.

 Find out more about compliance: <https://www.springernature.com/gp/open-research/funding/policy-compliance-faqs>

This letter contains confidential information, is for your own use, and should not be forwarded to third parties.

Recipients of this email are registered users within the Editorial Manager database for this journal. We will keep your information on file to use in the process of submitting, evaluating and publishing a manuscript. For more information on how we use your personal details please see our privacy policy at <https://www.springernature.com/production-privacy-policy>. If you no longer wish to receive messages from this journal or you have questions regarding database management, please contact the Publication Office at the link below.

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Use the following URL: <https://www.editorialmanager.com/csac/login.asp?a=r>). Please contact the publication office if you have any questions.

11.2 Termo de consentimento livre e esclarecido



Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Departamento de Fisiologia

Escola Superior de Educação Física

A Universidade Federal do Rio Grande do Sul agradece sua participação neste importante projeto de pesquisa. Por favor, leia com atenção os seguintes parágrafos os quais explicam nossa pesquisa em detalhe.

Termo de Consentimento Livre e esclarecido

1. Confirmando que recebi as informações e explicações sobre a natureza, duração, efeitos previsíveis, riscos envolvidos e qual será o meu envolvimento neste estudo.
2. Eu estou ciente que os dados coletados durante esse estudo serão mantidos em formato eletrônico em um computador e que minha identidade permanecerá confidencial e não aparecerá junto a nenhum dado publicado.
3. Eu confirmo que tive tempo suficiente para considerar minha participação neste estudo. Minhas dúvidas foram todas respondidas de forma satisfatória e eu recebi uma cópia do Guia de Informação ao Participante.
4. Eu entendi que minha participação neste estudo é voluntária (de minha escolha) e que eu estou livre para abandonar o estudo sem qualquer punição.
5. Eu informei, da melhor maneira possível, os pesquisadores sobre meu antigo e atual estado de saúde, histórico de doenças e medicações, assim como qualquer consulta que tenha realizado com um médico nos últimos quatro meses. Eu também confirmo que não participei de nenhum outro estudo clínico nos últimos quatro meses.
6. Entendo que durante os testes de esforço poderá haver riscos, desconforto e cansaço muscular temporário, havendo possibilidade de mudanças de minha frequência cardíaca e pressão arterial durante os testes e período de treinamento. Entendo que, como em qualquer programa de treinamento físico, há possibilidade de lesões musculó-articulares durante o período de testes e treinamento. Porém, estou ciente que posso interromper os testes e o treinamento a qualquer momento, ao meu critério.
7. Eu confirmo que informarei os pesquisadores imediatamente se eu sofrer de qualquer sintoma incomum ou estranho durante o estudo.
8. Eu concordo em fazer parte deste estudo como participante.

Nome do Participante (em letras maiúsculas) Data Assinatura

Nome do pesquisador responsável: _____

Assinatura do pesquisador responsável: _____

Contatos:

-Prof. Carlos Henrique de Lemos Muller

Telefone: 051 84755400; Email: mullercarlos0@gmail.com

- Prof. Mauricio Krause, PhD:

Telefone: 051 97102122; Email: mauriciokrause@hotmail.com

- Laboratório de Fisiologia Celular da UFRGS: 051 33083151

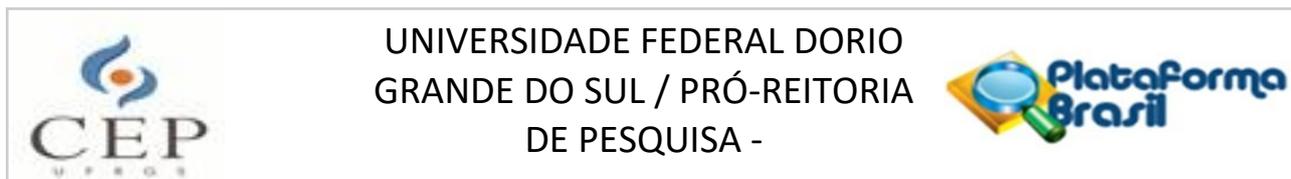
Fomento: CNPq, Processo nº 482398/2013-2

Responsáveis:

Carlos Henrique de Lemos Muller

Prof. Dr. Mauricio da Silva Krause

11.3 Parecer consubstanciado do comitê de ética em pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Resposta ao choque térmico e da razão HSPA1A intra e extracelular em leucócitos de indivíduos idosos e de meia idade submetidos a treinamento de força.

Pesquisador: Mauricio da Silva Krause

Área Temática:

Versão: 2

CAAE:55594416.7.0000.5347

Instituição Proponente: Universidade Federal do Rio Grande do Sul Instituto de Ciências Básicas da

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.614.907

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo quantitativo do tipo longitudinal que se propõe a comparar a relação da HSPA1A extracelular e intracelular em leucócitos e do perfil oxidativo entre indivíduos de meia idade (40-59 anos) e idosos (60-75 anos). Além disso, vamos verificar a influência do treinamento de força sobre estes parâmetros e comparar as respostas destas duas populações. Serão feitas as coletas no LAPEX-UFRGS e as análises no Laboratório de Fisiologia do ICBS-UFRGS.

Objetivo da Pesquisa:

Verificar a influência de um protocolo de treinamento de força na relação da HSPA1A extracelular e intracelular em leucócitos e do dano oxidativo em indivíduos de meia-idade e idosos.

Verificar e comparar a resposta desses participantes a um programa de treinamento de força nos grupos em diferentes momentos e entre os grupos para as seguintes variáveis: HSPA1A intracelular (em leucócitos); HSPA1A extracelular; TBARS; Carbonilas proteicas e atividades da SOD e Catalase no plasma.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os autores descreveram os riscos como mínimos, tais como dores musculares tardias em virtude do exercício que será realizado, náuseas devido à intensidade do exercício, assim como cansaço e dor muscular nos dias seguintes. Também é descrita a possibilidade de sentir um pequeno incômodo com a picada da agulha utilizada nas coletas de sangue. É apresentada a atenção de ter sempre o médico permanente do LAPEX-UFRGS, Dr. Márcio Acosta Maldonado (CREMERS: 026570), que além de realizar os exames iniciais (ECG) e de ser o responsável pela liberação do participante para prática do exercício físico, estará sempre presente nas sessões de coleta de sangue.

Quanto aos benefícios, foi referido que o treinamento físico pode resultar em modificações positivas em termos de composição corporal (perda de gordura e ganho muscular), ganhos de força e saúde em geral.

Além disso, cada participante receberá um relatório contendo o resultado de todos seus testes: físicos, bioquímicos e de composição corporal, antes e depois do treinamento. Esses relatórios serão entregues ao final do treinamento e apenas aos participantes que concluírem o período completo de treinamento. Os participantes incluídos no grupo controle, ou seja, aqueles que não realizarão treinamento físico, também receberão os resultados completos de seus testes físicos, bioquímicos e de composição corporal. Os dados de todos os voluntários da pesquisa permanecerão sob sigilo sendo utilizados apenas para fins científicos.

Desta forma, os autores atenderam às solicitações deste comitê de ética em pesquisa, deixando claro os riscos e benefícios, tanto no projeto quanto no TCLE.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um projeto de pesquisa fundamentado cientificamente e com justificativa social e clínica. Apresenta detalhamento metodológico de sua operacionalização, atendeu às solicitações de ajuste no que se refere aos critérios éticos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos de autorização Institucional foram devidamente apresentados, assim como o TCLE que está adequado na atual versão, contemplando as solicitações de ajuste no que se refere aos riscos e benefícios e às responsabilidades e processos da pesquisa.

Recomendações:

O projeto está adequado e em condições de aprovação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto em condições de aprovação.

Considerações Finais a critério do CEP:

Aprovado.

12. ARTIGOS ADICIONAIS DURANTE O DOUTORADO

Journal of Science in Sport and Exercise
<https://doi.org/10.1007/s42978-019-0015-6>

REVIEW ARTICLE



Exercise Training for the Elderly: Inflammaging and the Central Role for HSP70

Carlos Henrique de Lemos Muller¹ · Jorge Roberto de Matos¹ · Gisele Bettú Grigolo¹ · Helena Trevisan Schroeder¹ · Josianne Rodrigues-Krause² · Mauricio Krause¹

Received: 31 January 2019 / Accepted: 15 May 2019
 © Beijing Sport University 2019

Abstract

Inflammation is a common feature of aging tissues, being involved in most, if not all, age-related diseases. The origin of a low-grade inflammation state in aging (inflammaging) is multifactorial and may involve changes in body composition, immunosenescence, autophagy, microbiota modification and loss of proteostasis. The heat shock response pathway (HSR, and HSP70 expression) plays an important role as a mechanism of resolution of inflammation and proteostasis control. In this review, we sought to discuss the mechanisms that may lead to inflammaging, and the importance of the HSP70 in this process. Besides, we also discuss how physical exercise, particularly resistance training, can improve the HSR and the inflammatory balance of elderly people.

Keywords Aging · Inflammation · Exercise training · Cytokines · Heat shock response · HSP70

Introduction

Population aging is a phenomenon related to the increasing number of elderly people within a country's overall structure [124]. People over 80 years old will represent up to 30% of the industrial countries' population and 12% of the under development ones in 2030 [124]. As such, the so called "2030 problem" represents a challenge in terms of assuring sufficient resources and effective health services by then, when elderly population will be doubled [66]. The economic and social consequences of aging are considerable, particularly regarding the burden of dependence [124].

It is widely known that aging leads to physical, biological and cognitive declines [87]. Aging is a complex process modulated by several factors such as DNA damage/repair,

apoptosis, epigenetic and transcriptional changes, immune response, cellular senescence, oxidative stress, metabolic dysfunction and inflammation [59]. Inflammation, in particular, has been shown as a key player involved in the development of several aging-related diseases, such as sarcopenia, diabetes, insulin resistance, heart disease, neurodegenerative diseases (e.g. Alzheimer's Disease, AD), among others [59].

In fact, inflammation is a consistent feature of aging tissues, being involved in most, if not all, age-related diseases [48]. In the elderly, this condition has been described as "inflamm-aging", a low-grade, chronic, systemic inflammation (in the absence of infection), which is significantly associated to both mortality and morbidity [47, 48, 139]. Studies confirm inflammatory mediators, such as the cytokines interleukin (IL)-6, tumor necrosis factor alpha (TNF)- α , and IL-1 β , are dramatically increased in the bloodstream of healthy elderly in comparison to young people [16]. Also, *in vitro* studies have shown IL-1 β stimulates IL-6 mRNA expression and myotubes proteolysis, which occurs partially through the activation of the nuclear transcriptional factor kappa B (NF- κ B). This is a known trigger for muscle wasting, one of the major issues regarding physiological declines with aging, which is defined as the progressive loss of muscle mass and function (sarcopenia) [82, 85]. NF- κ B is a key inflammatory mediator, its subunits are found abundant in muscle samples from elderly in comparison to young people

✉ Mauricio Krause
mauricio.krause@ufrgs.br

¹ Laboratory of Inflammation, Metabolism and Exercise Research (LAPIMEX) and Laboratory of Cellular Physiology, Department of Physiology, Institute of Basic Health Sciences, Federal University of Rio Grande do Sul, Sarmiento Leite Street, 500, Lab 02, 90050-170 Porto-Alegre, RS, Brazil

² School of Physical Education, Physiotherapy and Dance, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil