



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA**

**EFEITO DO TRATAMENTO MULTIPROFISSIONAL SOBRE A RELAÇÃO DA ESTABILIDADE DE MEMBRANA DE ERITRÓCITOS COM VARIÁVEIS SANGUÍNEAS EM ADOLESCENTES OBE-SOS**

**Estudante:                   Juliana Carla da Costa Huss**

**UBERLÂNDIA, MG  
2012**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA**

**EFEITO DO TRATAMENTO MULTIPROFISSIONAL SOBRE A RELAÇÃO DA ESTABILIDADE DE MEMBRANA DE ERITRÓCITOS COM VARIÁVEIS SANGUÍNEAS EM ADOLESCENTES OBE-SOS**

**Estudante: Juliana Carla da Costa Huss**

**Orientador: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Nadia Carla Cheik**

**Co-orientador: Prof. Dr. Nilson Penha-Silva**

**UBERLÂNDIA, MG  
2012**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

---

- H972e 2012 Huss, Juliana Carla da Costa, 1978-  
Efeito do tratamento multiprofissional sobre a relação da estabilidade de membrana de eritrócitos com variáveis sanguíneas em adolescentes obesos / Juliana Carla da Costa Huss. -- 2012.  
65 f.
- Orientadora: Nadia Carla Cheik.  
Coorientador: Nilson Penha-Silva.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica  
Inclui bibliografia.
1. Bioquímica - Teses. 2. Obesidade - Teses. 3. Membranas (Biologia) - Teses. 4. Eritrócitos - Teses. I Cheik, Nadia Carla. II. Penha-Silva, Nil-son. III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica. IV. Título.

CDU: 577.1

---

Palavras-chave: obesidade; exercício; eritrócitos; estabilidade



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA**

**EFEITO DO TRATAMENTO MULTIPROFISSIONAL SOBRE A RELAÇÃO DA ESTABILIDADE DE MEMBRANA DE ERITRÓCITOS COM VARIÁVEIS SANGUÍNEAS EM ADOLESCENTES OBE-SOS**

**Estudante:                   Juliana Carla da Costa Huss**

**Orientador:                Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Nadia Carla Cheik**

**Co-orientador:          Prof. Dr. Nilson Penha-Silva**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Genética e Bioquímica (Área de Bioquímica)

**UBERLÂNDIA, MG  
2012**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

**EFEITO DO TRATAMENTO MULTIPROFISSIONAL SOBRE A RELAÇÃO DA ESTABILIDADE DE MEMBRANA DE ERITRÓCITOS COM VARIÁVEIS SANGUÍNEAS EM ADOLESCENTES OBE-SOS**

Estudante: **Juliana Carla da Costa Huss**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

Presidente:	Prof <sup>a</sup> Dr <sup>a</sup> <b>Nadia Carla Cheik</b>	[INGEB-UFU]
Examinador:	Prof <sup>a</sup> Dr <sup>a</sup> <b>Ana Raimundo Dâmaso</b>	[UNIFESP]
Examinador:	Prof <sup>a</sup> Dr <sup>a</sup> <b>Ana Graci Madurro</b>	[INGEB-UFU]

Data da Apresentação: 31/07/2012

As sugestões da Comissão Organizadora e as normas do PPGGB para o formato da dissertação foram contempladas.

Professora Dr<sup>a</sup>. **Nadia Carla Cheik**  
(Orientadora)

## DEDICATÓRIA

*Ao meu mestre Nilson Penha-Silva,  
com carinho!*

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, que me ensina a cada dia a buscar forças dentro de mim;

A meu esposo Edson Rene Huss, por estar sempre presente na minha vida, me apoiando, e pela paciência que sempre demonstrou para comigo;

Aos meus pais, Vicente Carlos da Costa e Maria Paulino Dantas da Costa, por incondicionalmente estarem sempre ao meu lado, me apoiando e ensinando, sendo amigos e amáveis comigo. Vocês me conduziram em boa parte desse caminho que hoje trilho;

A minha amiga e orientadora Dr<sup>a</sup> Nádia Carla Cheik, que com muita paciência e compreensão orientou meu mestrado;

Ao meu co-orientador Dr Nilson Penha-Silva, pelos seus ensinamentos e por sua enorme paciência, carinho e dedicação para com seus orientados;

Aos amigos do laboratório, Letícia Ramos de Arvelos, Lucas Moreira da Cunha, Mariana Vaini de Freitas, pelo trabalho, companheirismo e amizade que construímos juntos no Laboratório de Enzimologia;

Ao amigo Leandro Paranhos Lopes, por estar conosco no laboratório em momentos de trabalho;

A todos os colegas colaboradores do projeto “Tratamento Multiprofissional do Adolescente Obeso: Avaliação e Intervenção” e ao grupo de adolescentes que participaram do projeto;

Ao Coordenador de Pós Graduação em Genética e Bioquímica, Dr Mário Antonio Spanó, por sua compreensão;

Ao secretário Gerson Fraissat Mamede Filho e aos docentes do Instituto de Genética e Bioquímica, agradeço pela minha formação.

## SUMÁRIO

	Página
Abreviaturas .....	viii
Lista de Figuras .....	ix
Lista de Tabelas.....	X
<b>Apresentação</b> .....	01
<b>Capítulo 1 [FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA]</b> .....	04
<b>Capítulo 2 [Trabalho experimental]</b> .....	15
Resumo.....	16
Abstract.....	18
Introdução .....	20
Material e métodos .....	22
Resultados .....	26
Discussão .....	59
Conclusões .....	63
Referências .....	64

## ABREVIATURAS

A <sub>1</sub>	Absorvância com percentual máximo de hemólise
A <sub>2</sub>	Absorvância com percentual mínimo de hemólise
A <sub>540 nm</sub>	Absorvância em comprimento de onda de 540 nm
ALB	Albumina
ALT	Aspartato aminotransferase
AST	Alanina aminotransferase
Ca <sup>++</sup>	Cálcio
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CHCM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
CREA	Creatinina
dX	Varição na concentração de NaCl para promover 100% de hemólise
FAL	Fosfatase alcalina
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
FT4	Tiroxina livre
Glu	Glicose
H <sub>50</sub>	Concentração de NaCl capaz de provocar 50% de hemólise
Hb	Hemoglobina
Hb1C	Hemoglobina glicada
HCM	Hemoglobina corpuscular média
HDL-C	Colesterol da lipoproteína de alta densidade
Ht	Hematócrito
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IMC	Índice de massa corporal
K <sup>+</sup>	Potássio
LDL-C	Colesterol da lipoproteína de baixa densidade
LH	Hormônio luteinizante
Na <sup>+</sup>	Sódio
NaCl	Cloreto de sódio
RBC	Células vermelhas do sangue
RDW	Distribuição de volume das células vermelhas do sangue
t-C	Colesterol total plasmático
Tg	Triglicérides
Ur	Ureia
VCM	Volume corpuscular médio
VLDL-C	Colesterol da lipoproteína de muito baixa densidade

## LISTA DE FIGURAS

	Página
<b>Figura 1.</b> Relação dos valores de $H_{50}$ com VCM .....	36
<b>Figura 2.</b> Relação dos valores de $H_{50}$ com os níveis sanguíneos de bilirrubina total (A) e de bilirrubina direta (B) .....	41
<b>Figura 3.</b> Relação dos valores de $H_{50}$ com os níveis sanguíneos de sódio .....	42
<b>Figura 4.</b> Relação dos valores de dX com os níveis sanguíneos de potássio .....	48
<b>Figura 5.</b> Relação dos valores de dX com os níveis sanguíneos de cortisol .....	50
<b>Figura 6.</b> Relação dos valores de $dX/H_{50}$ com RDW. A linha mostra a tendência apresentada pelo conjunto de todos os pontos ( $n=35$ ) .....	52
<b>Figura 7.</b> Relação dos valores de $dX/H_{50}$ com os níveis sanguíneos de triglicérides (A) e de VLDL-C (B) .....	54
<b>Figura 8.</b> Relação dos valores de $dX/H_{50}$ com cortisol. A linha mostra a tendência pelo conjunto de todos os pontos ( $n=36$ ) .....	57

## LISTA DE TABELAS

	Página
<b>Tabela 1.</b> Características antropométricas (média $\pm$ desvio-padrão) dos voluntários submetidos ao programa de atividades do estudo .....	29
<b>Tabela 2.</b> Valores de variáveis hematológicas antes e após o programa de atividades (média $\pm$ desvio padrão) .....	30
<b>Tabela 3.</b> Valores de variáveis bioquímicas antes e após o programa de atividades (média $\pm$ desvio padrão) .....	31
<b>Tabela 4.</b> Valores de variáveis bioquímicas antes e após o programa de atividades (média $\pm$ desvio padrão) .....	32
<b>Tabela 5.</b> Valores de variáveis bioquímicas antes e após o programa de atividades (média $\pm$ desvio padrão) .....	33
<b>Tabela 6.</b> Valores de variáveis hormonais antes e após o programa de atividades (média $\pm$ desvio padrão) .....	34
<b>Tabela 7.</b> Valores de parâmetros de estabilidade de membrana antes e após o programa de atividades (média $\pm$ desvio padrão) .....	35
<b>Tabela 8.</b> Correlações simples entre H <sub>50</sub> e variáveis hematológicas .....	37
<b>Tabela 9.</b> Correlações simples entre H <sub>50</sub> e variáveis bioquímicas .....	38
<b>Tabela 10.</b> Correlações simples entre H <sub>50</sub> e biomarcadores de funções de órgãos e tecidos .....	39
<b>Tabela 11.</b> Correlações simples entre H <sub>50</sub> e variáveis bioquímicas .....	40
<b>Tabela 12.</b> Correlações simples entre H <sub>50</sub> e variáveis hormonais .....	43
<b>Tabela 13.</b> Correlações simples entre dX e variáveis hematológicas .....	44
<b>Tabela 14.</b> Correlações simples entre dX e variáveis bioquímicas .....	45
<b>Tabela 15.</b> Correlações simples entre dX e variáveis bioquímicas .....	46
<b>Tabela 16.</b> Correlações simples entre dX e biomarcadores de funções de órgãos e tecidos .....	47
<b>Tabela 17.</b> Correlações simples entre dX e variáveis hormonais .....	49
<b>Tabela 18.</b> Correlações simples entre dX/H <sub>50</sub> e variáveis hematológicas .....	51
<b>Tabela 19.</b> Correlações simples entre dX/H <sub>50</sub> e variáveis bioquímicas .....	53
<b>Tabela 20.</b> Correlações simples entre dX/H <sub>50</sub> e biomarcadores de funções de órgãos e tecidos .....	55
<b>Tabela 21.</b> Correlações simples entre dX/H <sub>50</sub> e variáveis bioquímicas .....	56
<b>Tabela 22.</b> Correlações simples entre dX/H <sub>50</sub> e variáveis hormonais .....	58

## Resumo

A ingestão de excesso de energia e o sedentarismo são condições associadas ao desenvolvimento de obesidade e de resistência à ação da insulina. A origem desta resistência é explicada por várias teorias, que compreendem a teoria da resistência de membrana, segundo a qual um teor excessivo de colesterol seria um fator determinante de alterações no comportamento dessa barreira celular, particularmente na transdução de sinais hormonais. Essas alterações no comportamento de membrana seriam resultantes do excesso de oferta de colesterol e ocorreriam em todas as células do organismo humano, com maior impacto sobre os miócitos, que são responsáveis por um expressivo consumo da glicose do sangue. A composição e o comportamento da membrana dos eritrócitos também sofre a influência dos níveis sanguíneos de colesterol e glicose, de tal forma que essas células constituem um modelo minimamente invasivo para estudo do comportamento de membranas em situações de quebra da homeostase da energia, como ocorre na obesidade. A estabilidade osmótica do eritrócito constitui uma propriedade representativa do comportamento da membrana dessa célula. Ela pode ser convenientemente estudada pela análise da curva sigmoide de dependência da absorvância de luz da hemoglobina liberada na lise sob gradiente de hipotonicidade. Essa curva pode ser ajustada à equação de Boltzmann, com a determinação da concentração salina no ponto de meia transição ( $H_{50}$ ) e da variação na concentração de sal necessária para promover a transição de lise ( $dX$ ). As variáveis  $H_{50}$  e  $dX$  apresentam relações inversa e direta, respectivamente, com a estabilidade osmótica dos eritrócitos. A razão  $dX/H_{50}$  constitui uma variável combinada que guarda uma relação direta com a estabilidade de membrana de eritrócitos. No presente estudo, a estabilidade de eritrócitos foi avaliada antes e depois de um programa de atividades que compreendia orientação nutricional e psicológica, além de quatro sessões semanais de exercícios resistidos e aeróbios, com duração de até 30 minutos cada sessão, durante cinco meses, em uma população constituída de 44 adolescentes (16 do sexo masculino e 28 do sexo feminino). Para entender as inter-relações do comportamento de eritrócitos com variáveis sujeitas a mudanças durante o programa de treinamento instituído, também foram avaliados parâmetros antropométricos, hematológicos, bioquímicos sanguíneos, hormonais e alguns biomarcadores da função de órgãos e tecidos. O estudo finalizou com 21 adolescentes, 8 do sexo masculino e 13 do sexo feminino. Ao

final do programa de treinamento, houve declínio de todas as variáveis antropométricas consideradas (massa corporal, índice de massa corporal, circunferência abdominal e teor de gordura); aumento de algumas das variáveis hematológicas consideradas [hemoglobina (Hb), hematócrito (Ht), volume corpuscular médio (VCM) e distribuição da largura das células vermelhas (RDW)]; diminuição da lipídemia (colesterol total, VLDL-C e triglicérides); elevação dos níveis sanguíneos de creatinina e sódio e diminuição dos níveis de potássio; elevação das concentrações sanguíneas de bilirrubina total e direta e diminuição da atividade de  $\gamma$ -glutamil-transferase ( $\gamma$ GT); diminuição dos níveis do hormônio estimulante da tireóide (TSH) e elevação dos níveis de tiroxina livre (FT4) e do hormônio folículo-estimulante (FSH); e aumento da estabilidade de eritrócitos. Um tratamento transversal das correlações existentes entre as variáveis de estabilidade e cada uma das variáveis analisadas no estudo mostrou que: 1) os valores de  $H_{50}$  se elevaram com aumento de hemoglobina, hemoglobina corpuscular média (HCM), volume corpuscular médio (VCM), sódio e hormônio luteinizante (LH), e diminuíram com o aumento nos níveis de hemoglobina glicada (Hb1C); 2) os valores de dX diminuíram com aumento de RBC, Hb, HCM, CHCM, VLDL-C, Tg, ureia, creatinina, potássio e cortisol, e aumentaram com aumento de RDW; 3) os valores de  $dX/H_{50}$  mantiveram o mesmo padrão das correlações de dX, exceto para os níveis de ureia e creatinina. Esses resultados sugerem que o aumento na estabilidade de eritrócitos após o programa de treinamento foi dirigido pelo aumento no RDW, já que este foi o único parâmetro que mostrou uma relação direta com  $dX/H_{50}$ , e talvez pela diminuição nos níveis de Hb1C, que foi o único parâmetro que apresentou uma relação inversa com  $H_{50}$ , embora o declínio de Hb1C após o programa de treinamento não tenha sido estatisticamente significativo.

**Palavras-chave:** Obesidade; Exercício; Eritrócitos; Estabilidade.

## Abstract

The intake of energy excess and sedentary lifestyle are conditions associated with the development of obesity and resistance to insulin action. The origin of this resistance is tentatively explained by several theories, which include the theory of membrane resistance, whereby an excessive content of cholesterol would be a determinant of changes in the behavior of this cellular barrier, particularly in the transduction of hormonal signals. These changes in the membrane behavior would result from the excess supply of cholesterol and would occur in all cells of the human organism, with the greatest impact on myocytes, which are responsible for a significant consumption of glucose from the blood. The composition and behavior of the erythrocyte membrane is also influenced blood levels of cholesterol and glucose, such that these cells constitute a minimally invasive model to study the behavior of membranes in situations of energy homeostasis break, as occurs in obesity. The osmotic stability of the erythrocyte represents a representative property of the behavior of the cell membrane. It can be conveniently studied by analyzing the sigmoidal curve of the dependence of light absorbance of hemoglobin released in the lysis produced by a hypotonicity gradient. This curve can be adjusted to the Boltzmann equation, with determination of the salt concentration in the point of half transition ( $H_{50}$ ) and the variation in the concentration of salt required to promote the lysis transition ( $dX$ ). The variables  $H_{50}$  and  $dX$  present inverse and direct relationships, respectively, with the osmotic stability of erythrocytes. The reason  $dX/H_{50}$  is a combined variable that presents a direct relation with the stability of erythrocyte membrane. In this study, the stability of erythrocytes was assessed before and after an activity program that included nutritional and psychological counseling, as well as four weekly sessions of aerobic and resistance exercises, lasting 30 minutes each session, for five months, in a population consisting of 44 adolescents (16 males and 28 females). To understand the interrelationships of the behavior of erythrocytes with variables subject to change during the training program established, were also evaluated anthropometric, hematological, biochemical, hormonal, and some biomarkers of organs and tissues integrity. The study ended with 21 adolescents (8 males and 13 females). At the end of the program of training, there was a decrease in all anthropometric variables considered (body mass, body mass index, waist circumference and fat content); an increase of some of the hematological variables [he-

moglobin (Hb), hematocrit (Ht), mean corpuscular volume (MCV) and distribution width of red blood cells (RDW)]; a reduction in blood lipids (total cholesterol, VLDL-C and triglycerides); elevation in the blood levels of creatinine and sodium and decrease in the potassium levels; elevation in the blood concentrations of total and direct bilirubin and decreased activity of  $\gamma$ -glutamyl transferase ( $\gamma$ GT); decreased levels of thyroid stimulating hormone (TSH) and elevated levels of free thyroxine (FT4) and follicle-stimulating hormone (FSH); and increased stability of erythrocytes. A cross-sectional treatment of the correlations between the variables of stability and each of the variables analyzed in the study showed that: 1) the values of  $H_{50}$  increased with increase in hemoglobin, mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean corpuscular volume (MCV), sodium and luteinizing hormone (LH) and decreased with increasing levels of glycated hemoglobin (Hb1C); 2) the values of dX decreased with increase in RBC, Hb, MCH, MCHC, VLDL-C, Tg, urea, creatinine, potassium and cortisol, and increased with increase in RDW; 3) the values of dX/ $H_{50}$  maintained the same pattern of dX correlations, except for urea and creatinine levels. These results suggest that the increased stability of erythrocytes after the training program was driven by an increase in RDW, since this was the only parameter that showed a direct relationship with dX/ $H_{50}$ , and perhaps by decreasing levels of Hb1C, which was the only parameter that showed an inverse relationship with  $H_{50}$ , although the decline in Hb1C after the training program was not statistically significant.

**Keywords:** Obesity; Exercise; Erythrocytes; Stability.

## APRESENTAÇÃO

Há poucas décadas o maior problema de saúde do Brasil era a fome. Hoje é o excesso de peso, que acomete cerca de 50% da população do país. Isto porque o diabetes mellitus do tipo 2, a aterosclerose, o câncer e a demência, que constituem as principais doenças degenerativas que acometem o ser humano, têm o excesso de peso como importante fator de risco.

Independentemente da grande diversidade de fatores genéticos que predis põem o ser humano à obesidade, esta condição patológica resulta do excesso de ingestão de energia em relação à demanda do organismo para atender às atividades de desenvolvimento, de renovação da estrutura corporal, das necessidades basais de todas as células e, é claro, das atividades mecânicas necessárias para a sobrevivência. O organismo humano foi desenvolvido em condições de limitações sazonais da oferta de energia e da necessidade de um grande dispêndio de energia para atender necessidades regulares e emergenciais de atividade mecânica. A partir da revolução industrial, o mundo mudou e a oferta de alimentos para a população aumentou, ao mesmo tempo em que foi surgindo meios sofisticados de transporte que minimizavam as necessidades energéticas para locomoção, isto num mundo mais seguro, em que a necessidade de energia para fugir dos perigos da natureza foi ficando cada vez menor. Para complicar vieram sistemas de organização político-sociais democráticos que passaram a respeitar mais o indivíduo, não necessariamente por ele ser um cidadão, mas sim por ser um consumidor. O resultado dessa sequência de eventos é a sobra de energia no organismo humano. A obesidade é essencialmente decorrente dessa sobra energética, que necessariamente é convertida em gordura de reserva para atender a uma demanda que não vai existir.

A obesidade é então fruto da quebra da homeostase da energia e acarreta em mudanças corporais que muito provavelmente envolverão a geração de dislipidemia, da incorporação de excesso de colesterol nas estruturas das membranas biológicas em prejuízo de seu funcionamento adequado, o que deve ter implicações como prejuízos à sinalização, desenvolvimento de hiperglicemia e exacerbação da dislipidemia.

O controle e mesmo a reversão da obesidade poderia ocorrer pela interferência na complexa rede genética associada à utilização da energia para a preservação da vida ou simplesmente pela promoção da homeostase da energia.

A promoção da homeostase da energia pode ser feita pela restrição da ingestão energética ou pelo aumento da demanda da energia com a prática de atividade física.

De uma forma ou de outra o organismo deve sofrer alterações em sua composição que compreendem as alterações na composição e, é claro, no comportamento de suas membranas biológicas. A alteração na composição da membrana do miócito é certamente um mecanismo importante na melhora da sensibilidade muscular à ação da insulina.

A utilização de miócitos para estudar este tipo de processo configura uma intervenção muito invasiva, de tal maneira que a utilização de células que possam representar as alterações de composição e função que acometem os miócitos é muito conveniente. É neste sentido que o presente trabalho utiliza os eritrócitos como modelo do comportamento de outras células pós-mitóticas do organismo, já que a obtenção de eritrócitos pode ser feita por processos minimamente invasivos de coleta de sangue.

O capítulo 1 desta dissertação apresenta os fundamentos teóricos necessários para o entendimento das relações entre a composição, a estrutura e a função das membranas biológicas.

O capítulo 2 da dissertação apresenta os resultados experimentais obtidos após um programa multiprofissional de atividades, com cinco meses de duração, aplicado a uma população de voluntários adolescentes obesos. Ele procura avaliar a influência do programa de exercícios sobre diferentes variáveis sanguíneas e as inter-relações entre essas variáveis e a estabilidade de membrana de eritrócitos humanos.

## **CAPÍTULO 1**

### **FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

Em civilizações anteriores, nas quais fatores como escassez alimentar e trabalho intenso faziam parte do cotidiano, a obesidade foi tida como referencial demonstrativo de poder, de riqueza, e neste contexto ditava os padrões de beleza da época [BERNARDES, DAMASO e CHEIK, 2003]. Nos últimos anos a prevalência da obesidade tem aumentado significativamente, ao passo desta doença crônica, cuja etiologia envolve cunho multifatorial, constituir um grave problema de saúde pública, que torna susceptível o desenvolvimento de outras doenças crônicas degenerativas, contribuindo para a diminuição da qualidade de vida [WEISS e KAUFMAN, 2008].

A multifatorialidade de causas da obesidade envolve uma complexa interação dos mesmos, abrangendo desde fatores genéticos (metabólicos e hormonais) até fatores ambientais (comportamentais e socioeconômicos) [KELISHADI, 2007].

Pesquisas realizadas no Brasil, nas últimas três décadas, apontam aumento progressivo de sobrepeso e obesidade em adolescentes. A prevalência de excesso de peso na população adolescente (10-19 anos) passou de 3,7% em 1974-1975 para 21,7% em 2008-2009 para meninos, já para meninas estes índices passaram de 7,6% em 1974-1975 para 19,4% em 2008-2009 [IBGE, 2010].

Esse aumento no número de crianças e adolescentes obesos incrementa o risco para o desenvolvimento de comorbidades como diabetes, hipertensão, doenças cardiovasculares e respiratórias, problemas ortopédicos e câncer [PELONE *et al.*, 2012]. O avanço tecnológico também reduz o esforço físico nas atividades diárias contribuindo para o aumento da adiposidade, pois promove um desequilíbrio entre a ingestão alimentar e o consumo de energia.

Acredita-se que hiperplasia e hipertrofia celular ocorram mais acentuadamente no primeiro ano de vida e na adolescência, em resposta ao crescimento normal. Entretanto, estudos moleculares têm demonstrado modificações na celularidade adiposa, inclusive havendo recrutamento de pré-adipócitos, em condições extremas como em períodos pós-cirúrgicos por lipoaspiração nos casos de obesidade severa, bem como depois de retirada parcial de tecido subcutâneo em ratos e humanos, situação em que foram descritos migração e aumento da capacidade proliferativa em adipócitos do tecido adiposo visceral. Isso evidencia o fato de que tratamentos invasivos podem resultar em alterações na funcionalidade destes depósitos de gordura, dificultando a controle de peso por promover

modificações no metabolismo de lipídios e de carboidratos [BERNARDES, DAMASO e CHEIK, 2003].

A produção e secreção/ação de diferentes hormônios, citocinas e enzimas pelo tecido adiposo regulam a homeostase energética. Essas substâncias podem apresentar ações adipogênicas e lipogênicas, como é o caso da proteína estimuladora de acilação (ASP) e do ácido lisofosfatídico, ou efeitos antilipogênicos, como é o caso do TNF- $\alpha$ , da interleucina 6 (IL-6) e da leptina [BERNARDES, DAMASO e CHEIK, 2003]. Pode haver um aumento ou diminuição na adipogenicidade em decorrência de modificações do padrão alimentar e do exercício.

O aumento da gordura central está relacionado com a resistência à insulina (RI) [WEISS; KAUFMAN, 2008; ROEVER BORGES, 2010], o que acarreta menor utilização da glicose por uma ação insulínica ineficiente [PEREIRA, 2003], devido a alterações em vários pontos, como redução da concentração e da atividade quinase do receptor, da atividade das enzimas intracelulares e da translocação dos transportadores de glicose (GLUT) [PES-SIN e SALTIEL, 2000].

Estas variações na composição corporal podem ser decorrentes de inúmeros fatores, sendo que a adequação nutricional e a atividade física, principalmente na fase de crescimento, podem contribuir de forma significativa para o controle da obesidade. A associação de exercícios à dieta balanceada é a melhor forma de intervenção na prevenção e controle da obesidade, uma vez que promoveram diminuição da adiposidade, do percentual de gordura hepático e do tecido visceral, além de melhora na lipídemia [ZAMBON *et al.*, 2009].

Além de alterações na composição corporal, sabe-se que o treinamento físico promove também alterações fisiológicas capazes de aumentar os níveis de aptidão física. Isto tem sido demonstrado por métodos, invasivos ou não, capazes de mensurar alterações fisiológicas e bioquímicas no organismo para avaliar os níveis de aptidão física de determinado indivíduo. Melhores níveis de aptidão física condizem com uma melhor qualidade de vida.

Segundo Piana e colegas [2012], é possível uma melhora significativa pela adoção de programas multiprofissionais (envolvendo educadores físicos, nutricionistas e psicólogos) para mudança no estilo de vida. A validade destas intervenções multiprofissionais

têm sido evidenciada em vários estudos [CARANTI *et al.*, 2007; PRADO *et al.*, 2009] que são unânimes em apontar a necessidade de se estender a duração do programa por longos prazos para a obtenção de melhores resultados.

A obesidade promove alterações físico-químicas em membranas de eritrócitos, como aumento de produtos de peroxidação lipídica, redução de ácidos graxos  $\omega$ -3, aumento da razão colesterol/fosfolípidios e redução da fluidez das membranas [CAZZOLA *et al.*, 2004]. Elevações na colesterolemia são refletidas na membrana do eritrócito [COOPER *et al.*, 1975; COOPER *et al.*, 1977; SCHICK e SCHICK, 1985] sendo o excesso do colesterol da LDL inserido na membrana celular [MARTINEZ *et al.*, 1996; MARTINEZ *et al.*, 1998; NIKOLIC *et al.*, 2007; BERNADINO NETO, 2011], promovendo diminuição da fluidez e da deformabilidade do eritrócito [COOPER, 1977; MULLER *et al.*, 1990; DWIGHT, MENDES-RIBEIRO e HENDRY, 1996], com conseqüente rigidificação da membrana celular.

Tais diminuições na deformabilidade dos eritrócitos promovem uma menor difusão tecidual de oxigênio [BUCHWALD *et al.*, 2000; DUMAS *et al.*, 1997; RIFKIND; ABUGO, 1994], podendo levar a danos cardiovasculares por hipóxia endotelial e cardíaca. Inversamente, a redução de peso corporal por restrição calórica está associada a efeitos benéficos, como aumento na fluidez da membrana de eritrócitos, redução do colesterol total, do LDL-C, da glicemia e da resistência à ação da insulina em indivíduos com sobrepeso e obesidade leve [CAZZOLA *et al.*, 2011], além de aumento da sensibilidade hepática e da função das células beta pancreáticas em indivíduos portadores de diabetes do tipo 2 [LIM *et al.*, 2011].

As membranas biológicas precisam manter suas estruturas para preservação de suas funções. A integralidade e funcionalidade celulares são garantidas através da manutenção de características de membranas como fluidez e estabilidade, permitindo à célula suportar estresses externos.

Dentre os fatores que afetam a estabilidade das membranas de eritrócitos podemos citar: composição química e estrutural da membrana, volume, tamanho, forma, tipo, quantidade de hemoglobina, viscoelasticidade [PERK, FREI e HERZ, 1964], variações fisiológicas (estado de alimentação pós-prandial) [LE MOS *et al.*, 2011], condições patológicas (hemoglobinopatias, presença de hematozoários, uremia, cirrose, processos autoimunes, hepatopatias, insuficiência renal) [JAIN, 1973; STASIW *et al.*, 1977], além de outros fato-

res como pequenas alterações no pH, temperatura, quantidade de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> [SUESS *et al.*, 1948], idade [PENHA-SILVA *et al.*, 2007], além de vários tipos de drogas [SEEMAN, 1966; AKI e YAMAMOTO, 1991; DE FREITAS *et al.*, 2010], praguicidas [FONSECA, 2010] e mesmo produtos naturais [DE FREITAS *et al.*, 2008].

Dieta, exercícios físicos [CAZZOLA *et al.*, 2004; CAZZOLA *et al.*, 2011] e ingestão de etanol também promovem alterações na estrutura, composição e comportamento da membrana celular de eritrócitos [GOUVÊA-E-SILVA, 2006; PENHA-SILVA *et al.*, 2007] que de certo modo refletem processos que também estariam ocorrendo em diversos outros lugares no organismo. Por refletir estas alterações, e devido a sua disponibilidade, as membranas de eritrócitos têm sido utilizadas frequentemente como modelo de estudo [ARVELOS, 2011].

Este modelo é muito prático para estudo da estabilidade de membranas biológicas devido ao fato de sua lise promover a liberação de hemoglobina, que pode ser quantificada por espectrofotometria visível [NELSON e COX, 2008]. O estudo da estabilidade de membranas contra choque hipotônico [JAIN, 1986; CUNHA *et al.*, 2007; PENHA-SILVA *et al.*, 2007; DE FREITAS *et al.*, 2008; DE FREITAS *et al.*, 2010; BERNARDINHO-NETO, 2011] e ação de solutos estabilizantes (como glicerol e sorbitol) [FINOTTI, 2006; BERNARDINO NETO, 2006; DE FREITAS REIS, 2007; LEMOS *et al.*, 2011] e caotrópicos (como o etanol, ureia, hidrocloreto de guanidina e SDS) [ARVELOS, 2007; ARVELOS, 2010; ARVELOS, 2011; CUNHA *et al.*, 2007; DE FREITAS *et al.*, 2010, FONSECA *et al.*, 2010; GOUVÊA-E-SILVA, 2006; PENHA-SILVA *et al.*, 2008] tem sido muito útil no entendimento do conjunto de fatores estruturais e ambientais que afetam o comportamento de membranas [BERNARDINO NETO, 2011; DE FREITAS *et al.*, 2010; FONSECA *et al.*, 2010; MANSUR, 2010; PENHA-SILVA, 2007].

## REFERÊNCIAS

ARVELOS, C.C.C. **Efeitos do glicerol sobre a dependência térmica da estabilidade de eritrócitos humanos**. Uberlândia, 2007, 40f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica, Nilson Penha-Silva (Orientador).

ARVELOS, C.C.C. **Influência de combinações de diferentes caotrópicos no espectro visível da hemoglobina e na estabilidade de membrana de eritrócitos**. Uberlândia, 2011. 83f. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica. Nilson Penha-Silva (Orientador).

ARVELOS, L.R. **Efeitos de combinações de hidrocloreto de guanidina, etanol, calor e hipotonicidade na estabilidade de membrana de eritrócitos humanos**. Uberlândia, 2010. 62f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica. Nilson Penha-Silva (Orientador).

BERNARDES, D., DÂMASO, A.R., CHEIK, N.C. Regulação do metabolismo lipídico no tecido adiposo. Cap. 13. In: Dâmaso, A.R. *Obesidade*. São Paulo, Editora Medsi, 590 p, 2003.

BERNARDINO NETO, M. **Análises de correlações entre estabilidade de membrana de eritrócitos, níveis séricos de lipídeos e variáveis hematimétricas**. Uberlândia, 2011, 100f. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica, Nilson Penha-Silva (Orientador).

BERNARDINO NETO, M. **Origem da Estabilização de Eritrócitos por Sorbitol**. Uberlândia, 2006. 66f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica. Nilson Penha-Silva (Orientador).

BUCHWALD, H., O'DEA, T. J., MENCHACA, H. J., MICHALEK, V. N., RHODE, T. D. Effect of plasma cholesterol on red blood cell oxygen transport. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, 2000, 27: 951-955.

CARANTI, D.A., MELLO, M. T., PRADO, W.L., TOCK, L., SIQUEIRA, K.O., PIANO, A., LOFRANO, M. C., CRISTOFALO, D.M.J., LEDERMAN, H., TUFIK, S., DAMASO, A. R. Short- and long-term beneficial effects of a multidisciplinary therapy for the control of metabolic syndrome in obese adolescents. **Metabolism Clinical and Experimental**, 2007, 56: 1293-1300.

CARVALHO, C.N.M. ; OLIVEIRA, C.L. ; Rodrigues, C.S.C . Adiposidade Central e Componentes Metabólicos na Infância. **Ceres, Nutrição & Saúde**, 2006, 01: 19-28.

CAZZOLA R, RONDANELLI M, RUSSO-VOLPE S, FERRARI E, CESTARO B. Decreased membrane fluidity and altered susceptibility to peroxidation and lipid composition in overweight and obese female erythrocytes. **The Journal Lipid Research**, 2004, 45: 1846-1851.

CAZZOLA R, RONDANELLI M, TROTTIC R, CESTARO B. Effects of weight loss on erythrocyte membrane composition and fluidity in overweight and moderately obese women. **Journal of Nutritional Biochemistry**, 2011, 22: 388-392.

COLLI, A. Conceito de adolescência. In: MARCONDES E. **Pediatria básica**. 8ª ed. São Paulo: Sarvier; 1992.

COOPER, R.A. Abnormalities of cell-membrane fluidity in the pathogenesis of disease. **Seminars in Medicine of the Beth Israel hospital**. 1977, 297:71-377.

COOPER, R.A.; ARNER, E.C.; WILEY, J.S.; SHATTIL, S.J. Modification of red cell membrane structure by cholesterol-rich lipid dispersions: a model of primary spur-cell defect. **The Journal of Clinical Investigation**, 1995, 55: 115-126.

CUNHA C.C.; ARVELOS, L.R.; COSTA, J.O.; PENHA-SILVA, N. Effects of glycerol on the thermal dependence of the stability of human erythrocytes. **Journal of Bioenergetics and Biomembranes**, 2007, 39: 341-347.

DE FREITAS REIS, F.G. **Influência de Glicerol e Sorbitol Sobre a Dependência Térmica da Estabilização e Desestabilização in Vitro de Eritrócitos Humanos**. 2007. 74f. Tese (Doutorado), Universidade Federal de Uberlândia, 2007. Nilson Penha-Silva (Orientador).

DE FREITAS, M.V., DE OLIVEIRA, M.R., DOS SANTOS, D.F., MASCARENHAS-NETTO R.C., FENELON, S.B., PENHA-SILVA, N. Influence of the use of statin on the stability of erythrocyte membranes in multiple sclerosis. **Journal of Membrane Biology**, 2010; 233: 127-134.

DE FREITAS, M.V., NETTO, RDE C., DA COSTA HUSS, J.C., DE SOUZA, T.M., COSTA, J.O., FIRMINO, C.B., PENHA-SILVA, N. Influence of aqueous crude extracts of medicinal plants on the osmotic stability of human erythrocytes. **Toxicology in Vitro**, 2008, 22, 219-24, 2008.

DUMAS D., MULLER S., GOUIN F., BAROS F., VIRIOT M.-L., STOLTZ J.-F. Membrane Fluidity and Oxygen Diffusion in Cholesterol-Enriched Erythrocyte Membrane. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 1997, 341:34-39

DWIGHT, J.F., MENDES-RIBEIRO A.C., HENDRY, B.M. Effects of HMG-CoA reductase inhibition on erythrocyte membrane cholesterol and acyl chain composition. **Clinica Chimica Acta**, 1996, 256: 53-63.

FINOTTI, C.J. **Dependência Térmica da Osmoestabilização de Eritrócitos por Glicerol**. 2006. 59f. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica, Nilson Penha-Silva (Orientador).

FONSECA, L.C. **Efeito da atrazina e do douodecil sulfato de sódio sobre a estabilidade de eritrócitos humanos**. 2010. 72f. Tese (doutorado), Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica, Nilson Penha-Silva (Orientador).

FONSECA, L. C., ARVELOS, L. R., NETTO, R. C. M., LINS, A. B., GARROTE-FILHO, M. S., PENHA-SILVA, N. Influence of the albumin concentration and temperature on the lysis of human erythrocytes by sodium dodecyl sulfate. **Journal of Bioenergetics and Biomembranes**. 2010, 42: 413-418.

GOUVÊA-E-SILVA, L.F. **Caracterização da Estabilização de Eritrócitos por Etanol**. Uberlândia, 2006, 53f. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica, Nilson Penha-Silva (Orientador).

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) - Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009. **Antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil**. Rio de Janeiro, 2010.

JAIN, N.C. Osmotic fragility of erythrocytes of dogs and cats in health and in certain hematologic disorders. **Cornell Veterinarian**, 1973, 63: 411-423.

JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986, p. 1221.

KELISHADI R. Childhood overweight, obesity, and the metabolic syndrome in developing countries. **Epidemiologic Reviews**, 2007, 3: 1-15.

LEMOS, G.S.D., MÁRQUEZ-BERNARDES, L. F.; ARVELOS, L.R.; PARAÍSO, L.F., PENHA-SILVA, N. Influence of glucose concentration on the membrane stability of human erythrocytes. **Cell Biochemistry and Biophysics**, 2011, 61: 531-537.

LIM, E.L., HOLLINGSWORTH, K.G., ARIBISALA, B.S., CHEN, M.J., MATHERS, J.C., TAYLOR, R. Reversal of type 2 diabetes: normalisation of beta cell function in association with decreased pancreas and liver triacylglycerol. **Diabetologia**, 2011, 54: 2506-2514.

MANSUR, P.H.G., CURY, L.K.P., LEITE, J.O.B., PEREIRA, A.A., PENHA-SILVA, N., ANDRADE, A.O. The approximate entropy of the electromyographic signals of tremor correlates with the osmotic fragility of human erythrocytes. **BioMedical Engineering OnLine**, 2010, 9: 1-12.

MARTINEZ, M.; VAYA, A.; GIL, L.; MARTI, R.; DALMAU J.; AZNAR, J. The cholesterol/phospholipid ratio of the erythrocyte membrane in children with familial hypercholesterolemia. Its relationship with plasma lipids and red blood cell aggregability. **Clinical Hemorheology and Microcirculation**, 1998, 18: 259-263.

MARTINEZ, M.; VAYA, A.; MARTI, R.; GIL, L.; LUCH, J.; CARMENA, R.; AZNAR, J. Erythrocyte membrane cholesterol/phospholipid changes and haemorheological modifications in familial hypercholesterolemia treated with lovastatin. **Thrombosis Research**, 1996, 83: 375-388.

MULLER, S.; ZIEGLER, O.; DONNER, M.; DROUIN, P.; STOLTZ, J.F. Rheological properties and membrane fluidity of red blood cells and platelets in primary hyperlipoproteinemia. **Atherosclerosis**, 1990, 83: 231-237.

NELSON, D.L.; COX, M.M. **Lehninger Principles of Biochemistry**, 5<sup>th</sup> ed., New York: Freeman, 2008.

NIKOLIC, M.; STANIC, D.; BARICEVIC, I.; JONES, D.R.; NEDIC, O.; NIKETIC, U. Efflux of cholesterol and phospholipids derived from the haemoglobin-lipid adduct in human red blood cells into plasma. **Clinical Biochemistry**, 2007, 40: 305-309.

PELEGRINI, A.; COQUEIRO, R.S.; GAYA, A.C.A. Overweight and obesity in brazilian school-children aged 10 to 15 years: data from a Brazilian sports project. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, 2008, 58: 343-349.

PELONE F, SPECCHIA ML, VENEZIANO MA, CAPIZZI S, BUCCI S, MANCUSO A, RICCIARDI W, BELVIS AG. Economic impact of childhood obesity on healthsystems: a systematic review. **Obesity Reviews**, 2012, 13: 431–440.

PENHA-SILVA, N., ARVELOS, L.R., CUNHA, C.C., AVERSI-FERREIRA, T.A., GOUVÊA-SILVA, L.F., GARROTE-FILHO, M.S., FINOTTI, C.J., BERNARDINO-NETO, M., DE FREITAS REIS, F.G. Effects of glycerol and sorbitol on the thermal dependence of the lysis of human erythrocytes by ethanol. **Bioelectrochemistry**, 2008, 73: 23-29.

PENHA-SILVA, N., FIRMINO, C.B., DE FREITAS REIS, F.G., HUSS, J.C.C., DE SOUZA, T.M.T., DE FREITAS, M.V., NETTO, R.C.M. Influence of age on the stability of human erythrocyte membranes. **Mechanisms of Ageing and Development** 2007, 128: 444-449.

PEREIRA, L.O., FRANCISCHI, R.P., LANCHA JUNIOR, A.H. Obesidade: Hábitos Nutricionais, Sedentarismo e Resistência à Insulina. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, 2003, 47: 111-127.

PERK, K., FREI, Y.F., HERZ, A. Osmotic fragility of red blood cells of young and mature domestic and laboratory animals. **American Journal Veterinary Research**, 1964, 25: 1241-1248.

PESSIN JE, SALTIEL AR. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. **Journal of Clinical Investigation**, 2000, 106: 165-169.

PIANA, N., BATTISTINI, D., URBANI, L., ROMANI, G., FATONE, C., PAZZAGLI, C., LAGHEZZA, L., MAZZESCHI, C. P., DE FEO, C. Multidisciplinary lifestyle intervention in the obese: Its impact on patients' perception of the disease, food and physical exercise. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, 2012 [Epub ahead of print], doi: 10.1016/j.numecd.2011.12.008.

PRADO, W. L.; SIEGFRIED, A.; DAMASO, A.R.; CARNIER, J.; PIANO, A.; SIEGFRIED, W. Effects of long-term multidisciplinary in patient therapy on body composition of severely obese adolescents. **Jornal de Pediatria**, 2009, 85: 243-248.

RIFKIND, J. M., ABUGO, O. O. Alterations in erythrocyte deformability under hypoxia: implication for impaired oxygen transport. In: Oxygen Transport to Tissue. M. C. Hogan, editor. Plenum Press, New York. 1994, 345-351.

ROEVER BORGES, L. S. **Gordura visceral, subcutânea e peri-renal: estudo de correlação com fatores de risco para aterotrombose utilizando ultra-sonografia**. 2008. 85f. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Elmiro Santos Resende (Orientador).

SCHICK, B.P., SCHICK, P.K. Cholesterol exchange in platelets, erythrocytes and megakaryocytes. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1985, 833: 281-290.

SUESS, J; LIMENTANI, D; DAMESHEK, W; DOLLOFF, M. A quantitative method for the determination and charting of the erythrocyte hypotonic fragility. **Blood**, 1948, 3: 1290-1303.

TANNER, J.M., WHITEHOUSE, R.H. Clinical longitudinal standards for height, weight velocity and stages of puberty. **Archives Disease Childhood**, 1976, 51: 170-179.

WEISS, R., KAUFMAN, F.R. Metabolic complications of childhood obesity: identifying and mitigating the risk. **Diabetes Care**, 2008, 31: 310-316.

ZAMBON, L., DUARTE, F.O., FREITAS, L. F., SCARMAGNANI, F.R.R., DÂMASO, A, DUARTE, A.C.G.O., SENE-FIORESE, M. Effects of two different types of swimming exercise on adiposity and lipid profile in rats with exogenous obesity. **Revista de Nutrição**, 2009, 22: 707-715.

## **CAPÍTULO 2**

### **TRABALHO EXPERIMENTAL**

## RESUMO

### [EFEITO DO TRATAMENTO MULTIPROFISSIONAL SOBRE AS RELAÇÕES DA ESTABILIDADE DE MEMBRANA DE ERITRÓCITOS COM VARIÁVEIS SANGUÍNEAS EM ADOLESCENTES OBE-SOS]

A ingestão de excesso de energia e o sedentarismo são condições associadas ao desenvolvimento de obesidade e de resistência à ação da insulina. A origem desta resistência é explicada por várias teorias, que compreendem a teoria da resistência de membrana, segundo a qual um teor excessivo de colesterol seria um fator determinante de alterações no comportamento dessa barreira celular, particularmente na transdução de sinais hormonais. Essas alterações no comportamento de membrana seriam resultantes do excesso de oferta de colesterol e ocorreriam em todas as células do organismo humano, com maior impacto sobre os miócitos, que são responsáveis por um expressivo consumo da glicose do sangue. A composição e o comportamento da membrana dos eritrócitos também sofre a influência dos níveis sanguíneos de colesterol e glicose, de tal forma que essas células constituem um modelo minimamente invasivo para estudo do comportamento de membranas em situações de quebra da homeostase da energia, como ocorre na obesidade. A estabilidade osmótica do eritrócito constitui uma propriedade representativa do comportamento da membrana dessa célula. Ela pode ser convenientemente estudada pela análise da curva sigmoide de dependência da absorvância de luz da hemoglobina liberada na lise sob gradiente de hipotonicidade. Essa curva pode ser ajustada à equação de Boltzmann, com a determinação da concentração salina no ponto de meia transição ( $H_{50}$ ) e da variação na concentração de sal necessária para promover a transição de lise ( $dX$ ). As variáveis  $H_{50}$  e  $dX$  apresentam relações inversa e direta, respectivamente, com a estabilidade osmótica dos eritrócitos. A razão  $dX/H_{50}$  constitui uma variável combinada que guarda uma relação direta com a estabilidade de membrana de eritrócitos. No presente estudo, a estabilidade de eritrócitos foi avaliada antes e depois de um programa de atividades que compreendia orientação nutricional e psicológica, além de quatro sessões semanais de exercícios resistidos e aeróbios, com duração de até 30 minutos cada sessão, durante cinco meses, em uma população constituída de 44 adolescentes (16 do sexo masculino e 28 do sexo feminino). Para entender as inter-relações do comportamen-

to de eritrócitos com variáveis sujeitas a mudanças durante o programa de treinamento instituído, também foram avaliados parâmetros antropométricos, hematológicos, bioquímicos sanguíneos, hormonais e alguns biomarcadores da função de órgãos e tecidos. O estudo finalizou com 21 adolescentes, 8 do sexo masculino e 13 do sexo feminino. Ao final do programa de treinamento, houve declínio de todas as variáveis antropométricas consideradas (massa corporal, índice de massa corporal, circunferência abdominal e teor de gordura); aumento de algumas das variáveis hematológicas consideradas [hemoglobina (Hb), hematócrito (Ht), volume corpuscular médio (VCM) e distribuição da largura das células vermelhas (RDW)]; diminuição da lipídemia (colesterol total, VLDL-C e triglicérides); elevação dos níveis sanguíneos de creatinina e sódio e diminuição dos níveis de potássio; elevação das concentrações sanguíneas de bilirrubina total e direta e diminuição da atividade de  $\gamma$ -glutamyl-transferase ( $\gamma$ GT); diminuição dos níveis do hormônio estimulante da tireóide (TSH) e elevação dos níveis de tiroxina livre (FT4) e do hormônio folículo-estimulante (FSH); e aumento da estabilidade de eritrócitos. Um tratamento transversal das correlações existentes entre as variáveis de estabilidade e cada uma das variáveis analisadas no estudo mostrou que: 1) os valores de  $H_{50}$  se elevaram com aumento de hemoglobina, hemoglobina corpuscular média (HCM), volume corpuscular médio (VCM), sódio e hormônio luteinizante (LH), e diminuíram com o aumento nos níveis de hemoglobina glicada (Hb1C); 2) os valores de  $dX$  diminuíram com aumento de RBC, Hb, HCM, CHCM, VLDL-C, Tg, ureia, creatinina, potássio e cortisol, e aumentaram com aumento de RDW; 3) os valores de  $dX/H_{50}$  mantiveram o mesmo padrão das correlações de  $dX$ , exceto para os níveis de ureia e creatinina. Esses resultados sugerem que o aumento na estabilidade de eritrócitos após o programa de treinamento foi dirigido pelo aumento no RDW, já que este foi o único parâmetro que mostrou uma relação direta com  $dX/H_{50}$ , e talvez pela diminuição nos níveis de Hb1C, que foi o único parâmetro que apresentou uma relação inversa com  $H_{50}$ , embora o declínio de Hb1C após o programa de treinamento não tenha sido estatisticamente significativo.

**Palavras-chave:** Obesidade; Exercício; Eritrócitos; Estabilidade.

## ABSTRACT

[EFFECT OF A MULTIPROFESSIONAL TREATMENT ON THE RELATIONS OF STABILITY MEMBRANE OF ERYTHROCYTE WITH BLOOD VARIABLES IN OBESE ADOLESCENTS]

The intake of energy excess and sedentary lifestyle are conditions associated with the development of obesity and resistance to insulin action. The origin of this resistance is tentatively explained by several theories, which include the theory of membrane resistance, whereby an excessive content of cholesterol would be a determinant of changes in the behavior of this cellular barrier, particularly in the transduction of hormonal signals. These changes in the membrane behavior would result from the excess supply of cholesterol and would occur in all cells of the human organism, with the greatest impact on myocytes, which are responsible for a significant consumption of glucose from the blood. The composition and behavior of the erythrocyte membrane is also influenced blood levels of cholesterol and glucose, such that these cells constitute a minimally invasive model to study the behavior of membranes in situations of energy homeostasis break, as occurs in obesity. The osmotic stability of the erythrocyte represents a representative property of the behavior of the cell membrane. It can be conveniently studied by analyzing the sigmoidal curve of the dependence of light absorbance of hemoglobin released in the lysis produced by a hypotonicity gradient. This curve can be adjusted to the Boltzmann equation, with determination of the salt concentration in the point of half transition ( $H_{50}$ ) and the variation in the concentration of salt required to promote the lysis transition ( $dX$ ). The variables  $H_{50}$  and  $dX$  present inverse and direct relationships, respectively, with the osmotic stability of erythrocytes. The reason  $dX/H_{50}$  is a combined variable that presents a direct relation with the stability of erythrocyte membrane. In this study, the stability of erythrocytes was assessed before and after an activity program that included nutritional and psychological counseling, as well as four weekly sessions of aerobic and resistance exercises, lasting 30 minutes each session, for five months, in a population consisting of 44 adolescents (16 males and 28 females). To understand the interrelationships of the behavior of erythrocytes with variables subject to change during the training program established, were also evaluated anthropometric, hematological, biochemical, hormonal, and some biomarkers of organs and tissues integrity. The study ended with 21 adoles-

cents (8 males and 13 females). At the end of the program of training, there was a decrease in all anthropometric variables considered (body mass, body mass index, waist circumference and fat content); an increase of some of the hematological variables [hemoglobin (Hb), hematocrit (Ht), mean corpuscular volume (MCV) and distribution width of red blood cells (RDW)]; a reduction in blood lipids (total cholesterol, VLDL-C and triglycerides); elevation in the blood levels of creatinine and sodium and decrease in the potassium levels; elevation in the blood concentrations of total and direct bilirubin and decreased activity of  $\gamma$ -glutamyl transferase ( $\gamma$ GT); decreased levels of thyroid stimulating hormone (TSH) and elevated levels of free thyroxine (FT4) and follicle-stimulating hormone (FSH); and increased stability of erythrocytes. A cross-sectional treatment of the correlations between the variables of stability and each of the variables analyzed in the study showed that: 1) the values of  $H_{50}$  increased with increase in hemoglobin, mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean corpuscular volume (MCV), sodium and luteinizing hormone (LH) and decreased with increasing levels of glycated hemoglobin (Hb1C); 2) the values of dX decreased with increase in RBC, Hb, MCH, MCHC, VLDL-C, Tg, urea, creatinine, potassium and cortisol, and increased with increase in RDW; 3) the values of dX/ $H_{50}$  maintained the same pattern of dX correlations, except for urea and creatinine levels. These results suggest that the increased stability of erythrocytes after the training program was driven by an increase in RDW, since this was the only parameter that showed a direct relationship with dX/ $H_{50}$ , and perhaps by decreasing levels of Hb1C, which was the only parameter that showed an inverse relationship with  $H_{50}$ , although the decline in Hb1C after the training program was not statistically significant.

**Keywords:** Obesity; Exercise; Erythrocytes; Stability.

## INTRODUÇÃO

A nutrição é um fator importante na determinação da saúde e da capacidade funcional do indivíduo, exercendo um alto impacto no bem estar físico e psicológico. O estado nutricional do indivíduo expressa o grau em que as necessidades nutricionais estão sendo atendidas, pois visa manter a composição e a funcionalidade orgânica [JEEJEE-BHOY; DETSKY; BAKER, 1990].

A composição das membranas biológicas depende da nutrição, especialmente quanto aos teores de ácidos graxos poliinsaturados essenciais [WISEMAN, 1996]. As membranas celulares são responsáveis por dividir os compartimentos aquosos (interno e externo) e permitir uma permeabilidade seletiva, criando um ambiente favorável a diversos processos metabólicos. Nas membranas estão contidas proteínas transportadoras, receptores de sinais extracelulares e um conjunto de proteínas especializadas na promoção ou na catálise de processos celulares [ALBERTS *et al.*, 2002; CAMPBELL, 2000; NELSON; COX, 2002; VOET *et al.*, 2002].

Alterações na composição da membrana celular podem promover desequilíbrio na homeostase desses processos celulares. Alguns autores relacionaram a alimentação hiperlipídica com as alterações na captação de glicose, resultando em diminuição na ação da insulina no tecido muscular, quando relacionada à alta ingestão de ácidos graxos saturados [HUNNICULTT *et al.*, 1994; PARKER *et al.*, 1993] em resposta a uma modificação no perfil lipídico da membrana celular onde a resistência à ação da insulina está diretamente relacionada com o grau de saturação dos fosfolipídeos da membrana muscular [STORLIEN *et al.*, 1996]. Outros estudos demonstraram que o grau de obesidade está diretamente relacionado ao grau saturação da membrana muscular [PAN *et al.*, 1995].

A análise da estabilidade de membrana de eritrócitos é aplicada em estudos de permeabilidade de membrana, nas alterações no processo de destruição dessas células, em caracterização de substâncias hemolíticas e em diagnóstico de doenças [SUESS *et al.*, 1948; DE FREITAS *et al.*, 2008].

Desta forma, analisar o impacto do tratamento multiprofissional na estabilidade de membrana pode resultar em evidências importantes visando encontrar o melhor tra-

tamento para o controle da obesidade e suas comorbidades, uma vez que é de consenso na literatura científica que a obesidade central ou visceral está mais associada ao desenvolvimento da síndrome metabólica que outros fatores de riscos, o que aumentaria substancialmente a morbidade e mortalidade nestes grupos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **População**

Após aprovação prévia do Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de Uberlândia (498/10), o recrutamento dos voluntários foi realizado por divulgação do projeto na mídia (jornais e telejornais regionais). Inicialmente 200 adolescentes com idade entre 14 e 19 anos foram cadastrados. Estes passaram por uma triagem de acordo com o seguinte critério de inclusão: idade entre 15-19 anos, serem pós-pubescentes de acordo com a classificação de Tanner por estágios [TANNER; WHITEHOUSE, 1976] e apresentarem obesidade (IMC > percentil 95 da curva proposta pelo *Center of Diseases Control* – CDC). Foram critérios de exclusão: identificação de doenças genéticas, metabólicas ou endócrinas, uso prévio de drogas e existência de problemas físicos que impedissem o treinamento. Finalmente o Consentimento Livre e Esclarecido foi obtido de todos os sujeitos e de seus pais para participação neste estudo.

Feita a triagem, o estudo foi iniciado com 44 adolescentes, 16 do sexo masculino e 28 do sexo feminino. Os voluntários passaram por avaliações clínicas, psicológicas, nutricionais, físicas e laboratoriais, realizadas no início do tratamento e refeitas após 20 semanas (5 meses) de intervenção. Houve desistências e exclusões (por faltas), totalizando 23 indivíduos. O estudo finalizou com 21 adolescentes, 8 do sexo masculino e 13 do sexo feminino.

Durante as 20 semanas de intervenção os voluntários foram submetidos a quatro sessões de treinamento semanais com duração de até 30 minutos. Foram realizados exercícios resistidos e aeróbios.

Os adolescentes tiveram encontros semanais com nutricionistas e psicólogos. Nos encontros com nutricionistas foram abordados temas como: pirâmide alimentar; porções alimentares; alimentos *diet* e *light*; alimentação antes, durante e após o exercício; lanches rápidos; educação alimentar; dentre outros. Foi feito obrigatoriamente um encontro individual com cada voluntário, no entanto, sempre que necessário, os nutricionistas e psicólogos atendiam individualmente.

### **Coleta das amostras de sangue humano**

Após jejum noturno de 12 horas, amostras de sangue foram coletadas, por punção venosa, em tubos evacuados contendo anticoagulantes específicos para cada dosagem. O procedimento ocorreu no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas da Universidade de Uberlândia.

### **Reagentes e equipamentos**

O NaCl utilizado (Labsynth, Diadema, SP, Brasil), tinha um grau de pureza de 99,5%, o qual foi devidamente corrigido no preparo das soluções. As medidas de massa foram feitas em uma balança digital analítica da marca Shimadzu, modelo AW220 (Japão). As determinações de volume foram feitas em buretas de vidro refratário ou pipetas automáticas (Labsystems). As incubações foram feitas em banho ultratermostatizado da Marconi, modelo MA 184 (Piracicaba, SP, Brasil). As leituras de absorvância realizadas em espectrofotômetro digital da marca Shimadzu, modelo UV-1650 (Japão). As centrifugações foram realizadas em centrífuga modelo Hitachi Koki CF15RX II (Japão). O hemograma foi feito com a utilização de sistema automatizado (Cell-Dyn 3700, Abbott Diagnostics, Illinois, EUA). As análises bioquímicas foram feitas em analisador automático (Architect C 8000, Abbott Diagnostics, Illinois, EUA).

### **Dosagens laboratoriais**

As análises das variáveis bioquímicas [colesterol total (t-C), LDL-C, HDL-C, VLDL-C, glicemia (Glu), triglicérides (Tg), albumina (ALB), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FAL), bilirrubina total, bilirrubina direta, bilirrubina indireta, Gama GT, uréia (Ur), creatinina (CREA), ácido úrico, sódio (Na<sup>+</sup>), potássio (K<sup>+</sup>), cálcio (Ca<sup>++</sup>)], hematológicas (hemograma completo) e hormonais (TSH, FT4, LH, FSH e cortisol), foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas do HC-UFU.

Os valores de referência das variáveis bioquímicas, hematológicas e hormonais utilizados foram aqueles considerados pelo HC-UFU: hemácias (mulheres:  $4,1-5,1 \times 10^6$  mm<sup>3</sup> e homens:  $4,5-5,3 \times 10^6$  mm<sup>3</sup>), hemoglobina (mulheres: 12-16 g% e homens: 13-16 g%), hematócrito (mulheres: 36-46% e homens: 37-49%), VCM (mulheres: 78-102 fL e homens: 78-98 fL), HCM (mulheres e homens: 25-45 pg), CHCM (31-36%), RDW (11,5-15,5%), HDL-C (baixo:  $\leq 35$  mg/dL, bom:  $\geq 35$  mg/dL), LDL-C (ótimo:  $< 100$  mg/dL, desejá-

vel: 100-129 mg/dL, alto: >160 mg/dL), VLDL (<40 mg dL), colesterol total (ótimo: < 200 mg/dL, alto ≥ 239 mg/dL), glicose de jejum (70-90 mg/dL), triglicérides (baixo: ≤130 mg/dL, alto: > 130 mg/dL), ureia (10-40 mg/dL), creatinina (0,7-1,2 mg/dL), sódio (135-145 mEq/L), albumina (3,5-5,5 mg/dL), cortisol livre (5-55 µg/dL), FSH (2,4-13,3 mUI/mL dependendo do ciclo), LH (0,2-71,8 mUI/mL dependendo do ciclo), T4 livre (0,75-1,80 ng/dL), hemoglobina glicada (normal: 4%-6%, bom controle < 7%, faixa intermediária: 7% à 8%, inadequada: > 8%), cálcio (8,5-10,4 mg/dL), ácido úrico (mulheres: 2,4-6,0 mg/dL, homens: 3,4-7,0 mg/dL), potássio (3,7-5,6 mEq/L), bilirrubina (direta: até 0,4 mg/dL, indireta: até 0,8 mg/dL e total: 1,0 mg/dL), TSH (0,3-5,0 mUI/mL), ALT (0-32 U/L), GGT (6-42 U/l), fosfatase alcalina (40-390 U/L, dependendo da faixa etária) e AST (0-32 U/L).

### **Determinação de estabilidade de membrana de eritrócitos humanos contra choque hipotônico**

A uma série de tubos de polietileno (Eppendorff®), em duplicata, contendo 1,0 mL de solução de NaCl em concentrações crescentes de 0,1 a 1,5 g.dL<sup>-1</sup>, pré-incubadas a 37 °C por 10 minutos, foram adicionadas alíquotas de 10 µL de sangue. Após homogeneização, os tubos eram incubados por 30 minutos e depois centrifugados por 10 minutos a 1600 x g. Durante as incubações os tubos permaneceram fechados. As absorbâncias dos sobrenadantes foram lidas em 540 nm (A<sub>540</sub>) contra água (controle).

### **Determinação das curvas de transição de lise dos eritrócitos**

A dependência de A<sub>540</sub> com a concentração de NaCl (X) foi ajustada por uma linha de regressão sigmoide, dada pela equação de Boltzmann,

$$A_{540} = \frac{A_1 - A_2}{1 + e^{(X-H_{50})/dX}} + A_2 \quad (1),$$

em que A<sub>1</sub> e A<sub>2</sub> representam os valores máximo e mínimo de hemólise, H<sub>50</sub> é a concentração de NaCl que causa 50 % de hemólise e dX é a variação na concentração de NaCl responsável pela transição entre os eritrócitos íntegros (A<sub>2</sub>) e lisados (A<sub>1</sub>).

Um maior valor de dX significa uma maior estabilidade celular, pois é necessária uma maior variação na concentração de NaCl para que ocorra lise total. Por outro lado,

um maior valor de  $H_{50}$  significa menor estabilidade de eritrócitos, pois a lise ocorre a uma menor diluição da concentração salina isotônica em relação ao sangue humano. Neste trabalho foi também utilizada a razão  $dX/H_{50}$ , que apresenta uma relação direta com a estabilidade de eritrócitos.

### **Análises estatísticas**

As análises estatísticas foram realizadas usando o aplicativo Origin 8.0 (Microcal, Northampton, Massachusetts, USA). Para análises de comparação entre os períodos foi utilizado o teste t de Student para dados pareados. As correlações entre mudanças nas variáveis foram testadas utilizando a correlação simples, com  $p < 0,05$  indicando relações estatisticamente significantes.

## RESULTADOS

O presente estudo foi realizado com 21 adolescentes obesos com média de idade de  $16,16 \pm 1,46$  anos submetidos a um tratamento multiprofissional. Os sujeitos foram avaliados antes e após cinco meses de treinamento físico.

A **Tabela 1** apresenta média das medidas antropométricas (massa corporal, IMC, circunferência abdominal, percentagem de gordura corporal e percentagem de redução de peso) dos adolescentes submetidos ao treinamento multiprofissional. O IMC, a massa corporal e a circunferência abdominal diminuíram significativamente após o treinamento. A variação da percentagem de gordura corporal não apresentou significância estatística.

A **Tabela 2** apresenta a média dos resultados das variáveis hematológicas: eritrócitos (RBC), hemoglobina (Hb), hematócrito (Ht), volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e *Red Cell Distribution Width* (RDW). Após o treinamento houve um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) das variáveis Ht, VCM e RDW e diferença limítrofe ( $p < 0,10$  e  $> 0,05$ ) com Hb.

As variáveis bioquímicas que diminuíram significativamente ( $p < 0,05$ ) com o programa multiprofissional foram: colesterol total (t-C), VLDL-colesterol (VLDL-C), triglicérides (Tg) (**Tabela 3**), Gama-GT (**Tabela 4**) e potássio ( $K^+$ ) (**Tabela 5**). E as variáveis: bilirrubina total, bilirrubina direta (**Tabela 4**) e sódio ( $Na^+$ ) (**Tabela 5**) mostraram aumento significativo ( $p < 0,05$ ) entre os dois momentos do estudo.

As variáveis LDL-colesterol (LDL-C), HDL-colesterol (HDL-C), glicose (Glu), hemoglobina glicada, albumina (**Tabela 3**), bilirrubina indireta, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FAL) (**Tabela 4**), uréia (Ur), ácido úrico e cálcio (**Tabela 5**) não sofreram variação significativa com o programa de atividades.

A **Tabela 6** apresenta os valores de variáveis hormonais: hormônio estimulante da tireóide (TSH), tiroxina (FT4), hormônio luteinizante (LH), hormônio folículo estimulante (FSH) e cortisol. Houve aumento significativo ( $p < 0,05$ ) nos níveis plasmáticos de FT4 e FSH após o programa de atividades.

Em relação às variáveis associadas à estabilidade de eritrócitos, após o programa de atividades, houve diminuição de  $H_{50}$  e aumento de  $dX$  e  $dX/H_{50}$ , com significância estatística ( $p < 0.05$ ) em todas as três situações (**Tabela 7**).

Os valores de  $H_{50}$ , parâmetro referencial de estabilidade de membrana de eritrócitos por choque hipotônico, mostraram dependência significativa positiva somente com a variável hematológica VCM (**Figura 1**) e correlação limítrofe positiva com Ht e HCM (**Tabela 8**). As demais variáveis hematológicas, RBC, Hb, CHCM e RDW não apresentaram correlação significativa com  $H_{50}$  (**Tabela 8**).

Em relação às variáveis bioquímicas, o parâmetro  $H_{50}$  apresentou correlação limítrofe negativa com hemoglobina glicada (**Tabela 9**) e correlações significantes positivas com bilirrubina total, bilirrubina direta (**Tabela 10**) e sódio (**Tabela 11**). Entretanto, as correlações obtidas com a bilirrubina total e a bilirrubina direta foram fortemente influenciadas por pontos 'outlier' (**Figura 2**) que, uma vez objurgados da análise, acarretaram em perda da significância de ambas as correlações, diferentemente da correlação com o sódio, cuja significância é visível no diagrama de dispersão dos pontos (**Figura 3**).

$H_{50}$  não apresentou nenhuma dependência significativa com as variáveis bioquímicas t-C, LDL-C, HDL-C, VLDL-C, Tg, Glu, albumina (**Tabela 9**), AST, ALT, bilirrubina indireta, gama-GT, FAL (**Tabela 10**), Ur, Creatinina, ácido úrico,  $K^+$  e  $Ca^+$  (**Tabela 11**).

Em relação às variáveis hormonais estudadas,  $H_{50}$  apresentou correlação significativa (positiva) somente o LH. As demais variáveis hormonais consideradas (cortisol, FSH, TSH e FT4) não apresentaram correlação com  $H_{50}$  (**Tabela 12**).

Os valores de  $dX$  apresentaram correlação linear negativa com RBC, Hb, HCM, CHCM e positiva com RDW (**Tabela 13**) e relações não significantes com Ht e VCM (**Tabela 14**).

Com relação às variáveis bioquímicas,  $dX$  apresentou dependências negativas significantes com TG e VLDL-C (**Tabela 14**), Ur e  $K^+$  e correlação negativa limítrofe com os níveis sanguíneos de creatinina (**Tabela 15**). Não houve correlações significantes entre  $dX$  e as demais variáveis bioquímicas consideradas neste estudo (**Tabela 16**). A **Figura 4** ilustra a correlação inequívoca existente entre  $dX$  e os níveis plasmáticos de potássio.

Dentre as variáveis hormonais estudadas, houve correlação significativa (negativa) de  $dX$  somente o cortisol (**Tabela 17**) (**Figura 5**).

A variável combinada de estabilidade,  $dX/H_{50}$ , mostrou relações lineares negativas limítrofes com RBC, Ht e HCM (**Tabela 18**) e significantes com Hb e CHCM, além de uma correlação linear positiva significantes com RDW (**Figura 6**).

Em relação às variáveis bioquímicas,  $dX/H_{50}$  apresentou correlação negativa significativa somente com VLDL-C e Tg (**Tabela 19**) (**Figura 7**), uma ausência completa de relação os marcadores bioquímicos da **Tabela 20** e uma correlação limítrofe negativa com os níveis de potássio (**Tabela 21**).

A variável combinada de estabilidade  $dX/H_{50}$  também apresentou dependência linear negativa o cortisol (**Figura 8**), mas não com as demais variáveis hormonais estudadas (**Tabela 22**).

**Tabela 1:** Características antropométricas (média  $\pm$  desvio-padrão) dos voluntários submetidos ao programa de atividades do estudo

	Antes	Depois	p
Massa corporal (kg)	97,35 $\pm$ 15,38 (n=21)	93,82 $\pm$ 14,37 (n=21)	0,0043 *
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	34,77 $\pm$ 3,65 (n=21)	33,56 $\pm$ 3,78 (n= 21)	0,0054 *
Circunferência abdominal (cm)	113,12 $\pm$ 9,41 (n=21)	109,06 $\pm$ 8,68 (n=21)	0,0000 *
% de gordura	32,92 $\pm$ 5,14 (n= 17)	33,60 $\pm$ 4,38 (n=17)	0,5156

\*p < 0,05 indicando diferenças estatisticamente significantes entre os dois momentos considerados (teste t de Student para dados pareados).

**Tabela 2:** Valores de variáveis hematológicas antes e após o programa de atividades (média ± desvio padrão)

Variáveis	Intervenção multiprofissional		
	Antes	Após	p
Hemácias (milhões/mm <sup>3</sup> )	5,07 ± 0,53 (n=15)	4,84 ± 0,47 (n=15)	0,1112
Hemoglobina (g%)	14,28 ± 1,21 (n=15)	14,61 ± 1,42 (n=15)	0,0925 §
Hematócrito (%)	42,50 ± 3,29 (n=15)	43,73 ± 3,79 (n=15)	0,0270 *
VCM (fL)	84,09 ± 5,69 (n=15)	85,24 ± 5,55 (n=15)	0,0038 *
HCM (pg)	28,27 ± 2,24 (n=15)	28,52 ± 2,25 (n=15)	0,1717
CHCM (g/dL)	33,59 ± 0,68 (n=15)	33,41 ± 0,79 (n=15)	0,2532
RDW (%)	14,98 ± 1,56 (n=15)	15,71 ± 1,01 (n=15)	0,0088 *

\*p < 0,05 indicando diferenças estatisticamente significantes entre os dois momentos considerados no estudo (teste t de Student para dados pareados)

§ p < 0,10 e > 0,05 indicando correlação limítrofe

**Tabela 3:** Valores de variáveis bioquímicas antes e após o programa de atividades (média  $\pm$  desvio padrão)

Variáveis	Intervenção multiprofissional		
	Antes	Após	p
Colesterol total (mg/dL)	188,47 $\pm$ 38,40 (n=16)	170,06 $\pm$ 30,85 (n=16)	0,0181 *
LDL-C (mg/dL)	114,04 $\pm$ 35,20 (n=16)	104,49 $\pm$ 28,55 (n=16)	0,1408
HDL-C (mg/dL)	46,26 $\pm$ 10,83 (n=16)	44,57 $\pm$ 8,35 (n=16)	0,3172
VLDL-C (mg/dL)	27,99 $\pm$ 19,36 (n=16)	21,45 $\pm$ 10,76 (n=16)	0,0404 *
Triglicérides (mg/dL)	139,94 $\pm$ 96,79 (n=16)	107,25 $\pm$ 53,80 (n=16)	0,0404 *
Glicose (mg/dL)	82,81 $\pm$ 12,47 (n=16)	80,19 $\pm$ 5,66 (n=16)	0,3440
Hemoglobina glicada (%)	5,41 $\pm$ 0,31 (n=14)	5,32 $\pm$ 0,48 (n=14)	0,5921
Albumina (mg/dL)	4,19 $\pm$ 0,28 (n=17)	4,08 $\pm$ 0,32 (n=17)	0,2436

\*p < 0,05 indicando diferenças estatisticamente significantes entre os dois momentos considerados (teste t de Student para dados pareados),

**Tabela 4:** Valores de variáveis bioquímicas antes e após o programa de atividades (média  $\pm$  desvio padrão)

Variáveis	Intervenção multiprofissional		
	Antes	Após	p
Uréia (mg/dL)	23,59 $\pm$ 4,14 (n=17)	25,24 $\pm$ 5,41 (n=16)	0,1911
Creatinina (mg/dL)	0,70 $\pm$ 0,09 (n=17)	0,75 $\pm$ 0,09 (n=16)	0,0068 *
Acido úrico (mg/dL)	5,99 $\pm$ 1,49 (n=17)	5,84 $\pm$ 1,67 (n=17)	0,2818
Sódio (mEq/L)	138,94 $\pm$ 1,34 (n=16)	140,38 $\pm$ 2,06 (n=16)	0,0177 *
Potássio (mEq/L)	4,25 $\pm$ 0,20 (n=15)	4,13 $\pm$ 0,18 (n=15)	0,0314 *
Cálcio (mg/dL)	9,48 $\pm$ 0,42 (n=14)	9,65 $\pm$ 0,32 (n=14)	0,1092

\*p < 0,05 indicando diferenças estatisticamente significantes entre os dois momentos (teste t de Student para dados pareados),

**Tabela 5:** Valores de variáveis bioquímicas antes e após o programa de atividades (média  $\pm$  desvio padrão)

Variáveis	Intervenção multiprofissional		
	Antes	Após	p
Bilirrubina total (mg/dL)	0,62 $\pm$ 0,41 (n=14)	0,81 $\pm$ 0,44 (n=14)	0,0053 *
Bilirrubina direta (mg/dL)	0,25 $\pm$ 0,13 (n=14)	0,36 $\pm$ 0,3033 (n=14)	0,0514 *
Bilirrubina indireta (mg/dL)	0,38 $\pm$ 0,29 (n=14)	0,45 $\pm$ 0,21 (n=14)	0,2915
Aspartato aminotransferase (U/L)	14,13 $\pm$ 3,29 (n=15)	14,20 $\pm$ 2,71 (n=15)	0,9103
Alanina aminotransferase (U/L)	35,13 $\pm$ 21,58 (n=15)	30,53 $\pm$ 14,36 (n=15)	0,1046
Fosfatase alcalina (U/L)	171,78 $\pm$ 97,29 (n=15)	168,78 $\pm$ 92,49 (n=15)	0,8935
Gama-GT	32,75 $\pm$ 24,77 (n=15)	25,66 $\pm$ 15,86 (n=15)	0,0483 *

\*p < 0,05 indicando diferenças estatisticamente significantes entre os dois momentos (teste t de Student para dados pareados),

**Tabela 6:** Valores de variáveis hormonais antes e após o programa de atividades (média  $\pm$  desvio padrão)

Variáveis	Intervenção multiprofissional		
	Antes	Após	p
Cortisol ( $\mu\text{g/dL}$ )	16,69 $\pm$ 7,09 (n=17)	13,56 $\pm$ 4,20 (n=17)	0,1090
FSH (mUI/mL)	3,45 $\pm$ 1,52 (n=16)	4,21 $\pm$ 1,97 (n=16)	0,0112 *
FT4 (ng/dL)	1,07 $\pm$ 0,14 (n=17)	1,16 $\pm$ 0,17 (n=17)	0,0479 *
LH (mUI/mL)	4,40 $\pm$ 2,46 (n=16)	4,38 $\pm$ 2,33 (n=16)	0,9659
TSH ( $\mu\text{UI/mL}$ )	2,58 $\pm$ 1,38 (n=17)	2,07 $\pm$ 1,00 (n=17)	0,0983 §

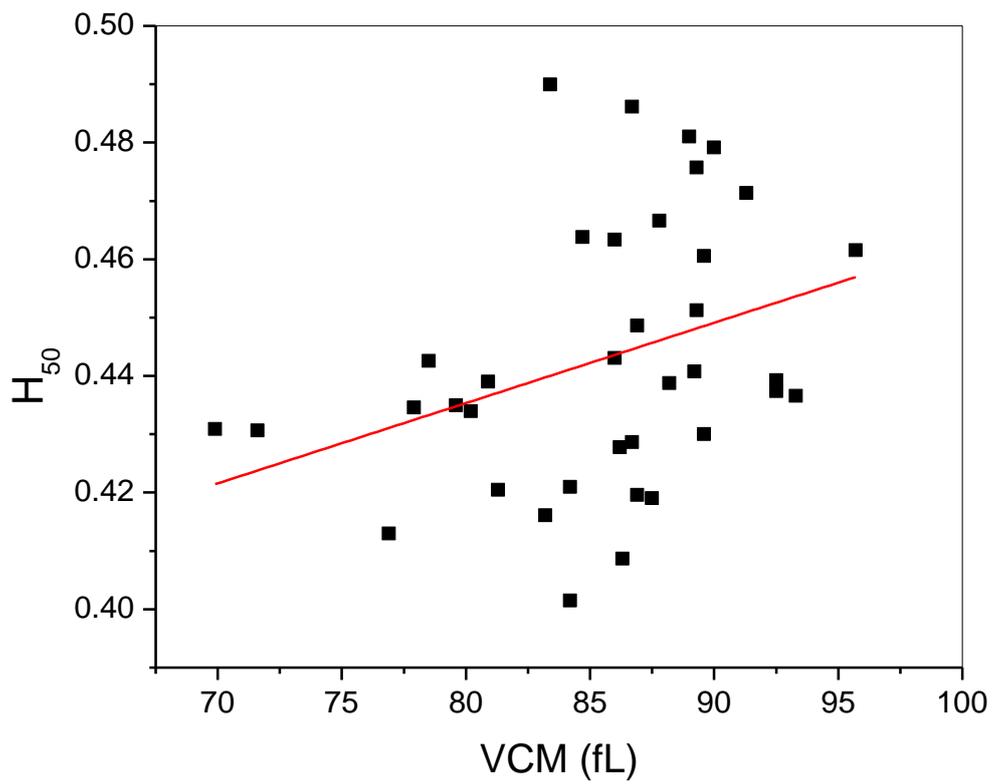
\*p < 0,05 indicando diferenças estatisticamente significantes entre os dois momentos do estudo (teste t de Student para dados pareados)

§ p < 0,10 e > 0,05 indicando correlação limítrofe

**Tabela 7:** Valores de parâmetros de estabilidade de membrana antes e após o programa de atividades (média  $\pm$  desvio padrão)

Variáveis	Intervenção multiprofissional			p
	Antes	Após		
H <sub>50</sub> (g/dL NaCl)	0,450 $\pm$ 0,0195 (n=19)	0,438 $\pm$ 0,024 (n=19)	0,0084	*
dX (g/dL NaCl)	0,015 $\pm$ 0,0028 (n=19)	0,017 $\pm$ 0,0034 (n=19)	0,0040	*
dX/H <sub>50</sub>	0,034 $\pm$ 0,0065 (n=19)	0,040 $\pm$ 0,009 (n=19)	0,0033	*

\* p < 0,05 indicando diferenças estatisticamente significantes entre os dois momentos do estudo (teste t de Student para dados pareados),



**Figura 1.** Relação dos valores de  $H_{50}$  com VCM. A reta representa a linha de regressão apresentada pelo conjunto de todos os pontos experimentais ( $n=37$ ).

**Tabela 8:** Correlações simples entre H<sub>50</sub> e variáveis hematológicas

Variável	H <sub>50</sub>			
	n	R <sup>2</sup>	p	
Hemácias (milhões/mm <sup>3</sup> )	37	(+) 0.0031	0.3527	
Hemoglobina (g%)	37	(+) 0.0677	0.0656	§
Hematócrito (%)	37	(+) 0.0269	0.1665	
VCM (fL)	37	(+) 0.0923	0.0378	*
HCM (pg)	37	(+) 0.0707	0.0612	§
CHCM (g/dL)	37	(+) 0.0236	0.6838	
RDW (%)	37	(-) 0.0045	0.3663	

\* p < 0,05 indicando correlação estatisticamente significativa

§ p < 0.10 e > 0.05 indicando correlação limítrofe

**Tabela 9:** Correlações simples entre H<sub>50</sub> e variáveis bioquímicas

Variável	H <sub>50</sub>		
		R <sup>2</sup>	p
Colesterol total (mg/dL)	38	(-) 0.0042	0.2893
LDL-C (mg/dL)	38	(-) 0.0213	0.1873
HDL-C (mg/dL)	38	(+) 0.0198	0.5994
VLDL-C (mg/dL)	37	(-) 0.0286	0.9876
Triglicérides (mg/dL)	37	(-) 0.0286	0.9876
Glicose (mg/dL)	37	(+) 0.0168	0.5287
Hemoglobina glicada (%)	34	(-) 0.0597	0.0880
Albumina (mg/dL)	38	(-) 0.0230	0.6831

<sup>§</sup> p < 0.10 e > 0.05 indicando correlação limítrofe

**Tabela 10:** Correlações simples entre H<sub>50</sub> e biomarcadores de funções de órgãos e tecidos

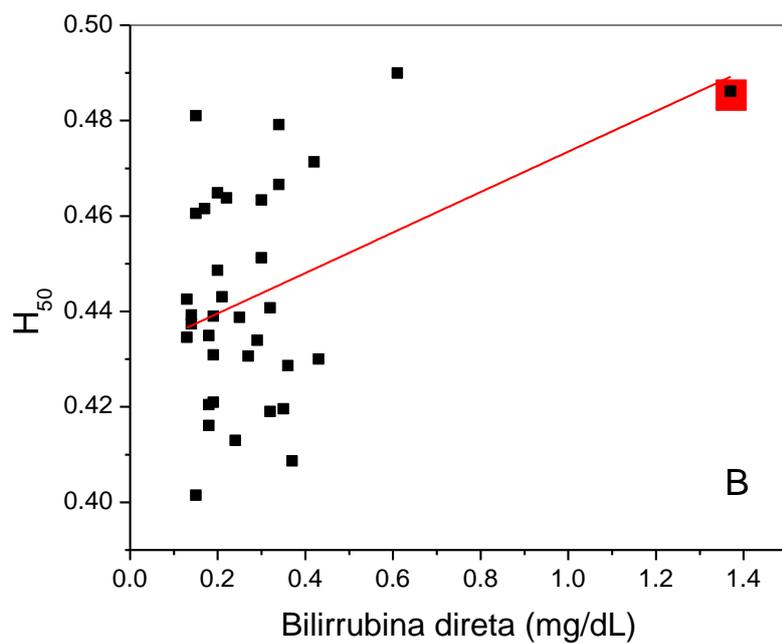
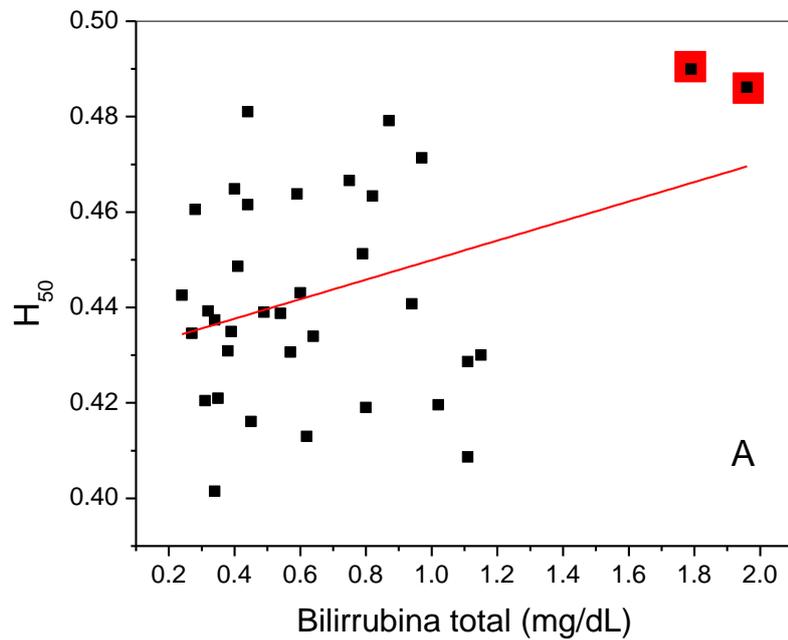
Variável	H <sub>50</sub>		
		R <sup>2</sup>	p
AST (U/L)	36	(+)0.0293	0.9653
ALT (U/L)	36	(+)0.0169	0.2141
Bilirrubina total (mg/dL)	35	(+)0.1029	0.0339 *
Bilirrubina direta (mg/dL)	35	(+)0.1349	0.0172 *
Bilirrubina indireta (mg/dL)	35	(+)0.0324	0.1531
Gama GT (U/L)	36	(+)0.0219	0.6210
Fosfatase alcalina (U/L)	36	(-) 0.0073	0.3933

\* p < 0,05 indicando correlação estatisticamente significativa

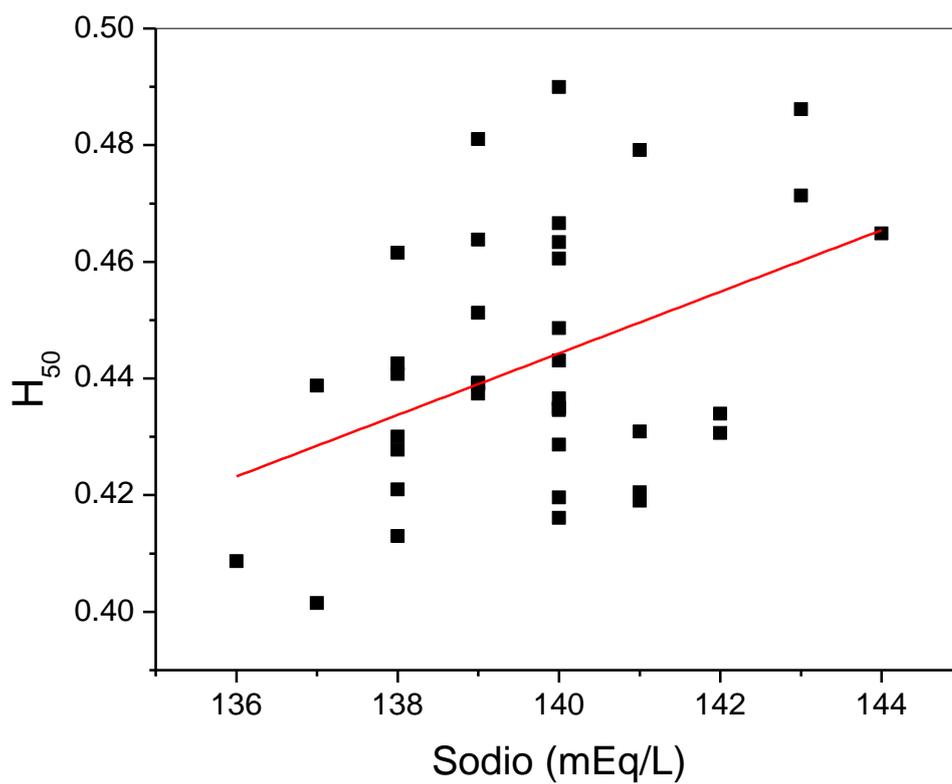
**Tabela 11:** Correlações simples entre H<sub>50</sub> e variáveis bioquímicas

Variável	H <sub>50</sub>			
	r	R <sup>2</sup>	p	
<b>Uréia</b> (mg/dL)	38	(-) 0.0251	0.7628	
<b>Creatinina</b> (mg/dL)	38	(-) 0.0092	0.4214	
<b>Acido úrico</b> (mg/dL)	38	(-) 0.0126	0.4672	
<b>Potássio</b> (mEq/L)	36	(-) 0.0418	0.1212	
<b>Sódio</b> (mEq/L)	37	(+) 0.1454	0.0114	*
<b>Cálcio</b> (mg/dL)	35	(-) 0.0154	0.4917	

\* p < 0,05 indicando correlação estatisticamente significativa.



**Figura 2.** Relação dos valores de  $H_{50}$  com os níveis sanguíneos de bilirrubina total (A) e de bilirrubina direta (B). As linhas de regressão mostradas representam as tendências apresentadas pelo conjunto de todos os pontos e foram ambas largamente influenciadas pelos pontos 'outlier' assinalados ( $n=35$ ).



**Figura 3:** Relação dos valores de  $H_{50}$  com os níveis sanguíneos de sódio. As linhas de regressão mostradas representam as tendências apresentadas pelo conjunto de todos os pontos experimentais ( $n=37$ ).

**Tabela 12:** Correlações simples entre H<sub>50</sub> e variáveis hormonais

Variável	H <sub>50</sub>		
	n	R <sup>2</sup>	p
<b>CORTISOL</b> (µg/dL)	38	(+) 0.0139	0.2254
<b>FSH</b> (mUI/mL)	37	(+) 0.0014	0.3363
<b>FT4</b> (ng/dL)	38	(+) 0.0213	0.6353
<b>LH</b> (mUI/mL)	37	(+) 0.1016	0.0307
<b>TSH</b> (µUI/mL)	38	(+) 0.0087	0.2570

\* p < 0,05 indicando correlação estatisticamente significativa.

**Tabela 13:** Correlações simples entre dX e variáveis hematológicas

Variável	dX		
		R <sup>2</sup>	p
Hemácias (milhões/mm <sup>3</sup> )	36	(-) 0.0845	0.0475 *
Hemoglobina (g%)	36	(-) 0.0848	0.0471 *
Hematócrito (%)	36	(-) 0.0255	0.1751
VCM (fL)	36	(-) 0.0491	0.1031
HCM (pg)	36	(-) 0.0961	0.0368 *
CHCM (g/dL)	36	(-) 0.1624	0.0086 *
RDW (%)	36	(+) 0.1822	0.0055 *

\* p < 0,05 indicando correlação estatisticamente significativa.

**Tabela 14:** Correlações simples entre dX e variáveis bioquímicas

Variável	dX		
		R <sup>2</sup>	p
Colesterol total (mg/dL)	37	(-) 0.0138	0.4792
LDL-C (mg/dL)	37	(-) 0.0270	0.8171
HDL-C (mg/dL)	37	(+) 0.0045	0.2893
VLDL-C (mg/dL)	36	(-) 0.0968	0.0363 *
Triglicérides (mg/dL)	36	(-) 0.0968	0.0363 *
Glicose (mg/dL)	36	(+) 0.0018	0.3100
Hemoglobina glicada (%)	33	(-) 0.0380	0.1424
Albumina (mg/dL)	38	(-) 0.0246	0.7400

\* p < 0,05 indicando correlação estatisticamente significativa.

**Tabela 15:** Correlações simples entre dX e variáveis bioquímicas

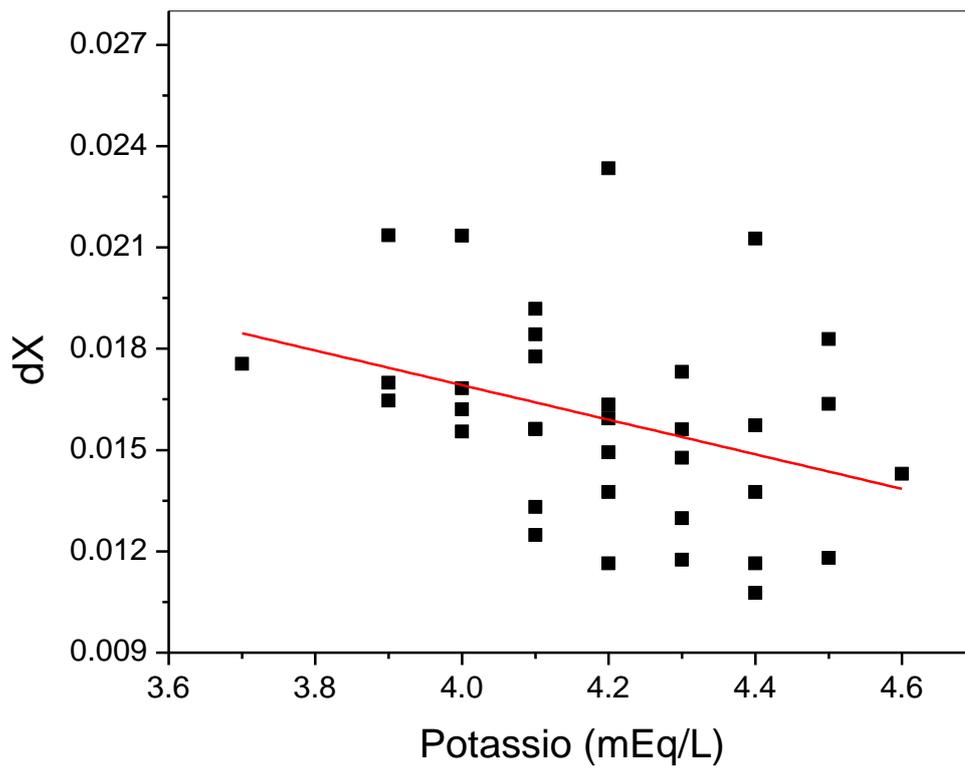
Variável	dX			
		R <sup>2</sup>	p	
Uréia (mg/dL)	37	(-) 0.0883	0.0414	*
Creatinina (mg/dL)	37	(-) 0.0574	0.0826	§
Acido úrico (mg/dL)	37	(-) 0.0246	0.7149	
Potássio (mEq/L)	35	(-) 0.0922	0.0425	*
Sódio (mEq/L)	36	(+) 0.0212	0.6038	
Cálcio (mg/dL)	34	(-) 0.0268	0.1768	

\* p < 0,05 indicando correlação estatisticamente significativa

§ p < 0.10 e > 0.05 indicando correlação limítrofe

**Tabela 16:** Correlações simples entre dX e biomarcadores de funções de órgãos e tecidos

Variável	dX		
		R <sup>2</sup>	p
AST (U/L)	35	(+) 0.0197	0.2037
ALT (U/L)	35	(+) 0.0046	0.2900
Bilirrubina total (mg/dL)	34	(+) 0.0273	0.7281
Bilirrubina direta (mg/dL)	34	(+)0.0265	0.7024
Bilirrubina indireta (mg/dL)	34	(+) 0.0293	0.8092
Gama-GT (U/L)	35	(-) 0.0215	0.5981
Fosfatase alcalina (U/L)	35	(+) 0.0015	0.3368

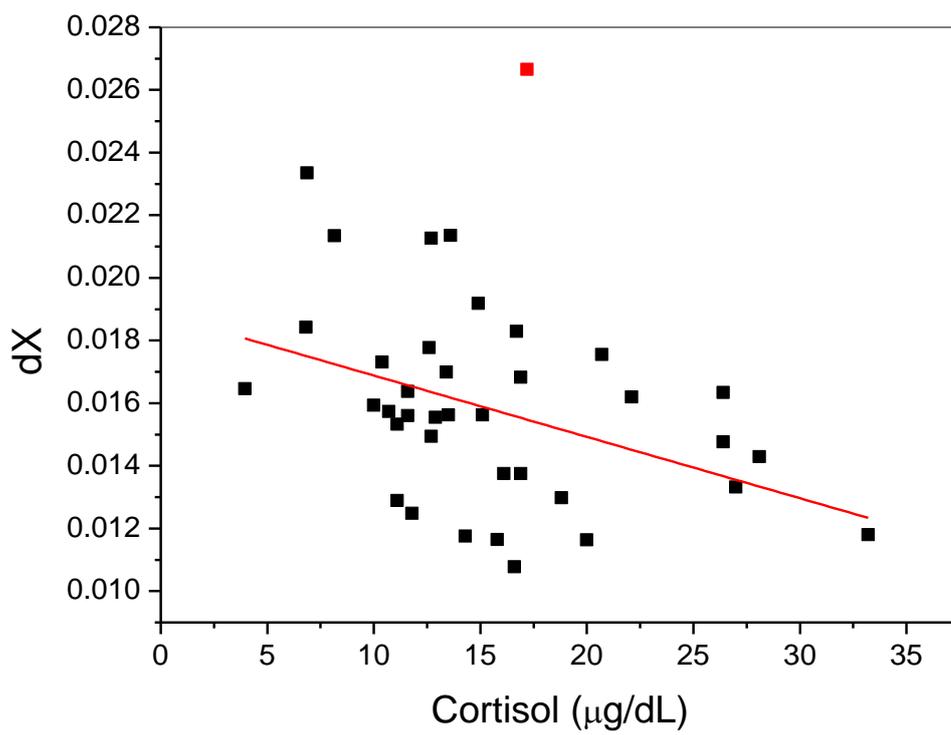


**Figura 4:** Relação dos valores de dX com os níveis sanguíneos de potássio. A linha de regressão mostrada representam a tendência apresentada pelo conjunto de todos os pontos experimentais (n=35).

**Tabela 17:** Correlações simples entre dX e variáveis hormonais

Variável	dX			
	n	R <sup>2</sup>	p	
Cortisol (µg/dL)	37	(-) 0.1533	0.0096	*
FSH (mUI/mL)	36	(+) 0.0432	0.1176	
FT4 (ng/dL)	37	(+) 0.0277	0.8665	
LH (mUI/mL)	36	(+) 0.0182	0.5453	
TSH (µUI/mL)	37	(-) 0.0220	0.6389	

\* p < 0,05 indicando correlação estatisticamente significativa



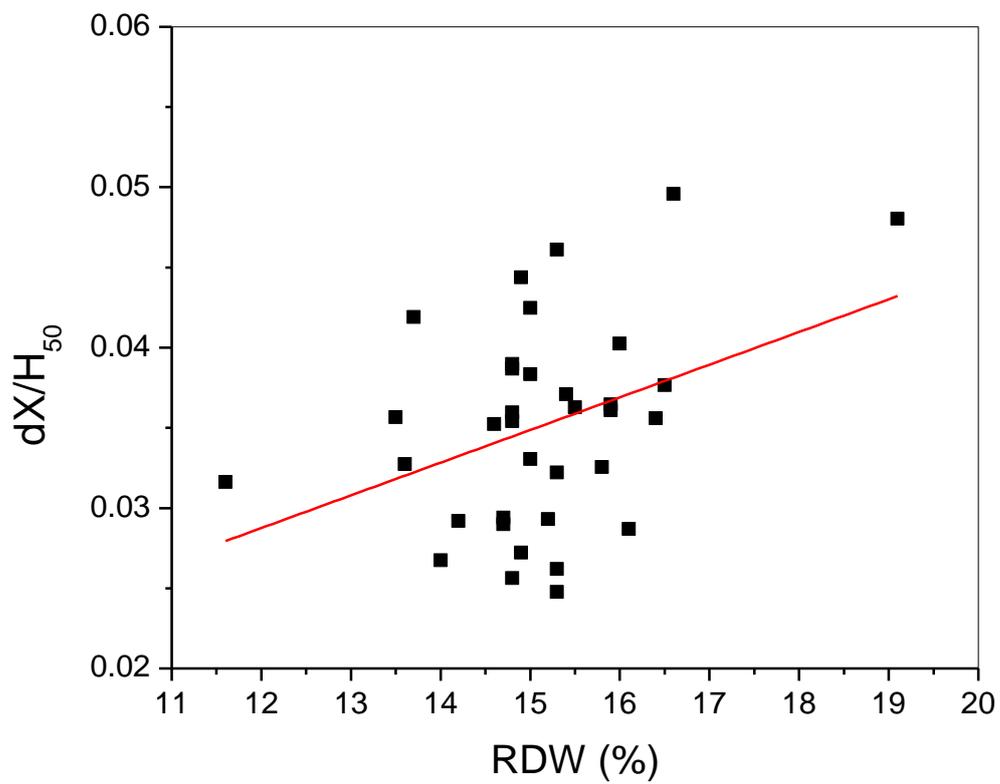
**Figura 5.** Relação dos valores de dX com os níveis sanguíneos de cortisol. A linha mostra a tendência apresentada pelo conjunto de todos os pontos experimentais.

**Tabela 18:** Correlações simples entre dX/H<sub>50</sub> e variáveis hematológicas

Variável	dX/H <sub>50</sub>			
		R <sup>2</sup>	p	
Hemácias (milhões/mm <sup>3</sup> )	35	(-) 0.0839	0.0507	§
Hemoglobina (g%)	35	(-) 0.1135	0.0270	*
Hematócrito (%)	35	(-) 0.0642	0.0769	§
VCM (fL)	35	(-) 0.0432	0.1209	
HCM (pg)	35	(-) 0.0823	0.0524	§
CHCM (g/dL)	35	(-) 0.1166	0.0253	*
RDW (%)	35	(+) 0.1175	0.0248	*

\* p < 0,05 indicando correlação estatisticamente significativa

§ p < 0.10 e > 0.05 indicando correlação limítrofe

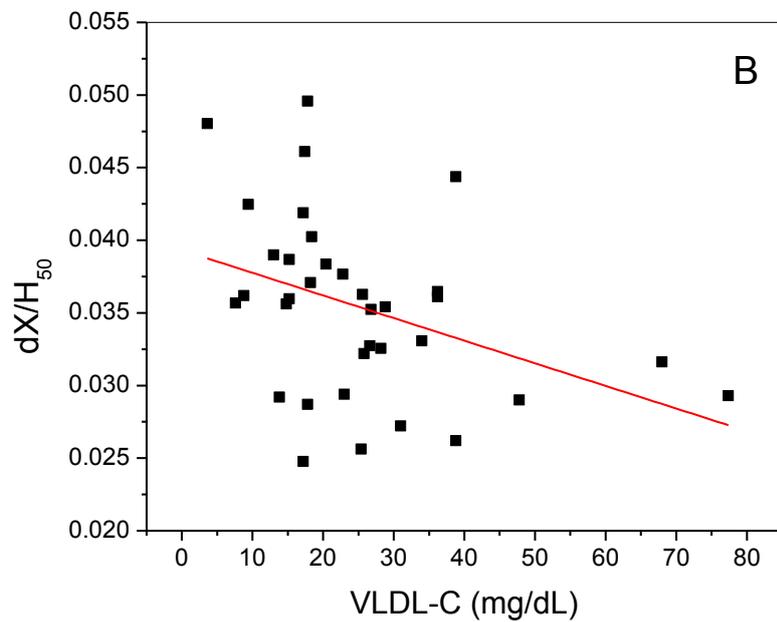
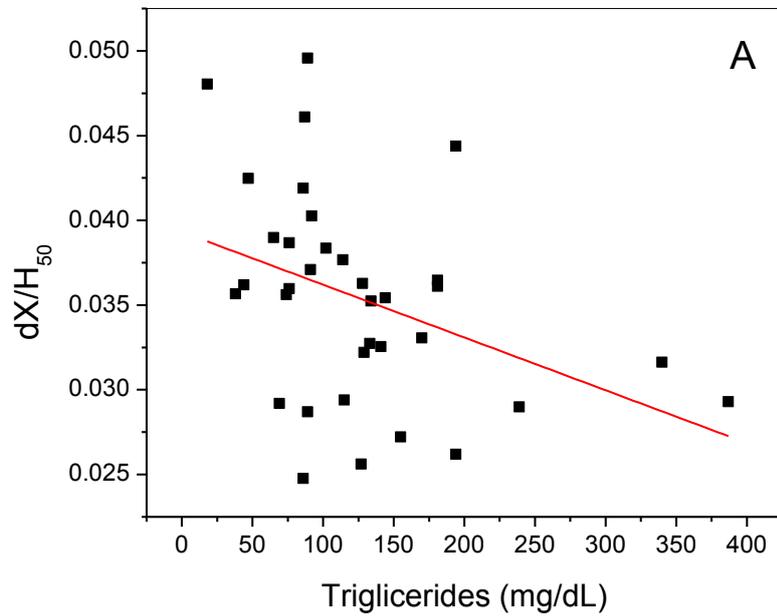


**Figura 6.** Relação dos valores de  $dX/H_{50}$  com RDW. A linha mostra a tendência apresentada pelo conjunto de todos os pontos (n=35).

**Tabela 19:** Correlação simples entre dX/H<sub>50</sub> e variáveis bioquímicas

Variável	dX/H <sub>50</sub>			
		R <sup>2</sup>	p	
Colesterol total (mg/dL)	36	(-) 0.0287	0.8820	
LDL-C (mg/dL)	36	(+) 0.0269	0.7753	
HDL-C (mg/dL)	36	(+) 0.0484	0.1046	
VLDL-C (mg/dL)	35	(-) 0.1236	0.0218	*
Triglicérides (mg/dL)	35	(-) 0.1236	0.0218	*
Glicose (mg/dL)	35	(+) 0.0215	0.1955	
Hemoglobina glicada (%)	32	(-) 0.0125	0.4379	
Albumina (mg/dL)	37	(-) 0.0286	0.9968	

\* p < 0,05 indicando correlação estatisticamente significativa



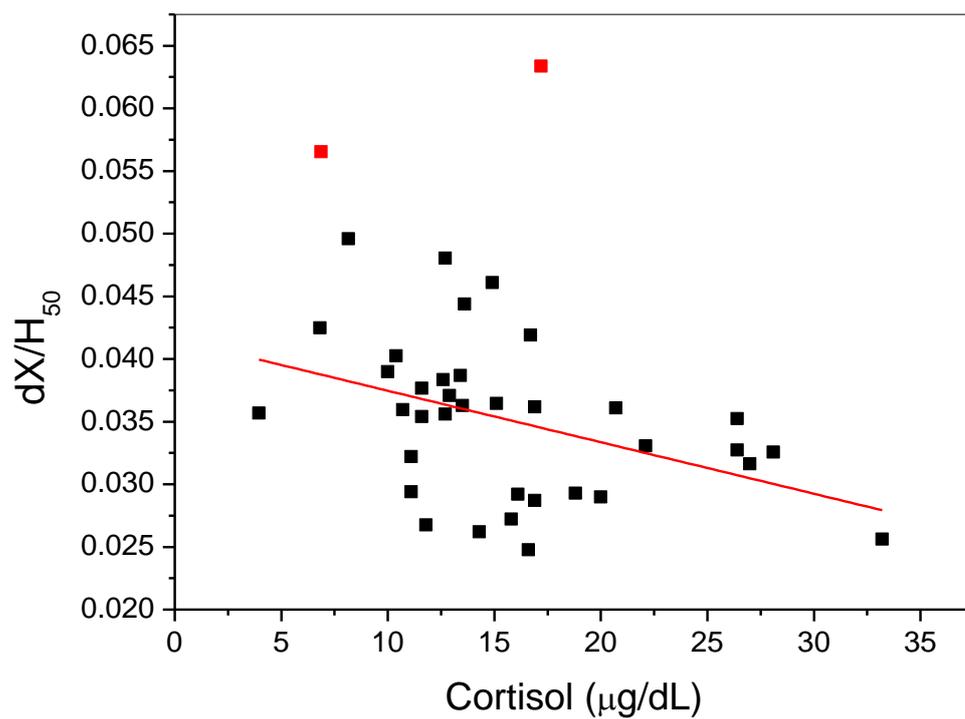
**Figura 7.** Relação dos valores de  $dX/H_{50}$  com os níveis sanguíneos de triglicérides (A) e de VLDL-C (B). As linhas mostram as tendências apresentadas pelo conjunto de todos os pontos (n=35).

**Tabela 20:** Correlações simples entre dX/H<sub>50</sub> e biomarcadores de funções de órgãos e tecidos

Variável	dX/H <sub>50</sub>		
		R <sup>2</sup>	p
AST (U/L)	34	(-) 0.0030	0.3497
ALT (U/L)	34	(-) 0.0176	0.5164
Bilirrubina total (mg/dL)	33	(-) 0.0323	0.9598
Bilirrubina direta (mg/dL)	33	(-) 0.0320	0.9352
Bilirrubina indireta (mg/dL)	33	(-) 0.0322	0.9914
Gama GT (U/L)	34	(-) 0.0262	0.6949
PCR (mg/dL)	31	(-) 0.0156	0.4685
Fosfatase alcalina (U/L)	34	(+)0.0239	0.6356

**Tabela 21:** Correlações simples entre dX/H<sub>50</sub> e variáveis bioquímicas

Variável	dX/H <sub>50</sub>		
	r	R <sup>2</sup>	p
Uréia (mg/dL)	36	(-)0.0059	0.2795
Creatinina (mg/dL)	36	(-) 0.0012	0.3143
Acido úrico (mg/dL)	36	(-) 0.0201	0.5815
Potássio (mEq/L)	34	(-) 0.0572	0.0927
Sódio (mEq/L)	35	(+) 0.0251	0.6857
Cálcio (mg/dL)	33	(-) 0.0050	0.3664



**Figura 8.** Relação dos valores de  $dX/H_{50}$  com cortisol. A linha mostra a tendência pelo conjunto de todos os pontos ( $n=36$ ).

**Tabela 22:** Correlações simples entre dX/H<sub>50</sub> e variáveis hormonais

Variável	dX/H <sub>50</sub>			
	n	R <sup>2</sup>	p	
Cortisol (mcg/dl)	36	(-) 0.1480	0.0118	*
FSH(mUI/mL)	35	(+) 0.0038	0.2952	
LH(mUI/mL)	35	(+) 0.0302	0.9687	
TSH (μU/mL)	36	(-) 0.0266	0.7605	
FT4(ng/dL)	36	(-) 0.0289	0.8963	

\* p < 0,05 indicando correlação estatisticamente significativa

<sup>§</sup> p < 0.10 e > 0.05 indicando correlação limítrofe

## DISCUSSÃO

No presente estudo, a estabilidade de eritrócitos foi avaliada antes e depois de um programa multiprofissional de atividades que compreendia aconselhamento nutricional e psicológico e quatro sessões semanais de exercícios resistidos e aeróbios, com duração de até 30 minutos cada sessão, durante cinco meses, em uma população constituída de 44 adolescentes (16 do sexo masculino e 28 do sexo feminino).

Para entender as inter-relações do comportamento de eritrócitos com variáveis sujeitas a mudanças durante o programa de treinamento instituído, também foram avaliados parâmetros antropométricos, hematológicos, bioquímicos sanguíneos, hormonais e alguns biomarcadores da função de órgãos e tecidos.

O estudo finalizou com 21 adolescentes, 8 do sexo masculino e 13 do sexo feminino. Ao final do programa de treinamento, houve declínio estatisticamente significativo de todas as variáveis antropométricas consideradas (massa corporal, índice de massa corporal, circunferência abdominal e teor de gordura), o que atesta o sucesso do programa, embora a perda de peso tenha sido de apenas 3,55 kg e confirma a necessidade apontada na literatura de se estender a duração deste tipo de programa por prazos mais longos para a obtenção de resultados mais expressivos [CARANTI *et al.*, 2007; PRADO *et al.*, 2009]. Entretanto, apesar da mudança discreta nas variáveis antropométricas, o programa foi associado a muitas alterações significantes dentre as variáveis sanguíneas consideradas.

Houve aumento de algumas variáveis hematológicas consideradas (hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio e distribuição da largura das células vermelhas ou RDW).

No grupo do lipidograma, houve diminuição desejável e esperada nos níveis de colesterol total, de VLDL-C e de triglicérides, embora os níveis de HDL-C tenham-se mantido inalterados.

Houve elevação das concentrações sanguíneas de bilirrubina total e direta, e diminuição da atividade de  $\gamma$ -glutamyl-transferase, o que possivelmente indique que a elevação de bilirrubina não foi associada a algum tipo de agressão hepática, já que não houve aumento dos níveis de ALT, AST e  $\gamma$ -GT, os níveis de  $\gamma$ -GT até diminuíram. Adicionalmente o fato do aumento da bilirrubina total estar associado ao aumento da bilirrubina direta e não da indireta, indica que houve boa atividade de captação e conjugação da bilirrubina não-conjugada.

Restaria saber a origem da elevação dos níveis de bilirrubina. Uma hipótese plausível seria a elevação da taxa de hemólise, que poderia ocorrer por aumento da tensão de cisalhamento dos elementos figurados do sangue com a parede dos vasos sanguíneos, condição comumente encontrada em decorrência de excesso de atividade física. Outra hipótese seria o aumento da taxa de liberação de bilirrubina conjugada, que tem reconhecidas propriedades anti-oxidantes [STOCKER,1987], em resposta ao programa de atividade física [SWIFT, 2012].

Vale ressaltar o que constituía o principal objetivo do mais específico do trabalho, houve aumento na estabilidade de eritrócitos ao final dos cinco meses do programa multiprofissional de atividades. A alteração nesta propriedade físico-química da membrana deve certamente refletir mudanças intrínsecas e extrínsecas à membrana do eritrócito.

As mudanças intrínsecas devem refletir alterações na composição da membrana, em função da alteração nos níveis de oferta de colesterol, principalmente, mas também da natureza e teor de ácidos graxos para síntese dos fosfolípidos de membrana. A composição de membrana do eritrócito é influenciada pelas condições plasmáticas de lipídios [CAZZOLA *et al.*, 2004; CAZZOLA *et al.*, 2011] e a mudança na composição de ácidos graxos dessas células, que são facilmente acessíveis, pode refletir mudanças nos fosfolípidos de outras células [ENRIQUEZA *et al.*, 2004]. A incorporação na membrana de ácidos graxos saturados através dos fosfolípidos diminui sua fluidez e aumenta a estabilidade, o que explicaria a diminuição da fragilidade osmótica constatada pelos parâmetros  $H_{50}$ ,  $dX$  e  $dX/H_{50}$  após os cinco meses de treinamento.

Uma busca pela influência de fatores extrínsecos, ambientais, foi feita através da pesquisa da existência de correlações entre as variáveis representativas da estabilidade de membrana com as variáveis sanguíneas analisadas neste estudo. Um tratamento transversal das correlações existentes entre as variáveis de estabilidade ( $H_{50}$ ,  $dX$  e  $dX/H_{50}$ ) e cada uma das variáveis analisadas no estudo levou a achados relevantes: 1) os valores de  $H_{50}$  se elevaram com aumento de hemoglobina, hemoglobina corpuscular média (HCM), volume corpuscular médio (VCM), sódio e hormônio luteinizante (LH), e diminuíram com o aumento nos níveis de hemoglobina glicada (Hb1C); 2) os valores de  $dX$  diminuíram com aumento de RBC, Hb, HCM, CHCM, VLDL-C, Tg, ureia, creatinina, potássio e cortisol, e aumentaram com aumento de RDW; e 3) os valores de  $dX/H_{50}$  mantiveram o mesmo padrão das correlações de  $dX$ , exceto para os níveis de ureia e creatinina.

De todas as variáveis avaliadas nestas análises de correlação, as únicas variáveis que mostraram um padrão influência sobre a estabilidade eritrócitos compatível com os efeitos do programa de atividades foram o RDW e a Hb1C. Isto sugere que o aumento na estabilidade de eritrócitos após o programa de treinamento foi dirigido pelo aumento no RDW, já que este foi o único parâmetro que mostrou uma relação direta com  $dX/H_{50}$ , e talvez pela diminuição nos níveis de Hb1C, que foi o único parâmetro que apresentou uma relação inversa com  $H_{50}$ , embora o declínio de Hb1C após o programa multiprofissional não tenha sido estatisticamente significativo.

Uma análise mais conclusiva desta questão, com o estabelecimento de inequívocas relações de causa e efeito, somente poderá ser possível com a utilização de estatística multivariada, particularmente com análise de trilha. Infelizmente, a evasão de voluntários no estudo não permitiu que a dimensão necessária da população para a execução deste tipo de análise fosse preservada. Mas certamente, estes estudos confirmariam a influência do RDW, que têm uma conhecida relação do tipo causa e efeito com a estabilidade de membrana de eritrócitos [BERNARDINO NETO, 2011].

## CONCLUSÕES

Após 5 meses de tratamento multiprofissional, os adolescentes obesos apresentaram aumento na estabilidade de eritrócitos dirigido pelo aumento de RDW, uma vez que esta variável apresentou correlação direta com  $dX/H_{50}$ , e possivelmente pela diminuição nos níveis de Hb1C, que foi a única variável que apresentou uma relação inversa com  $H_{50}$ , embora o declínio de Hb1C após o programa de treinamento não tenha sido estatisticamente significativo.

## REFERÊNCIAS

ALBERTS, B; JOHNSON, A; LEWIS, J; RAFF, M; ROBERTS, K; WALTER, P. Membrane Structure. In: ALBERTS, B. (ed) *Molecular Biology of the Cell*. 4nd. ed. New York, Garland Publishing Inc, 1616pp, 2002.

ARVELOS, C.C.C. **Efeitos do glicerol sobre a dependência térmica da estabilidade de eritrócitos humanos**. 2007. 39f. Dissertação (Mestrado em Genética e Bioquímica) – Instituto de Genética e Bioquímica, UFU, Uberlândia, 2007. Nilson Penha-Silva (Orientador).

BERNARDINO NETO, M. **Análises de correlações entre estabilidade de membrana de eritrócitos, níveis séricos de lipídeos e variáveis hematimétricas**. Uberlândia, 2011, 100f. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica, Nilson Penha-Silva (Orientador).

BRITO, M. A., SILVA R. F.M., BRITES D. Bilirubin toxicity to human erythrocytes: A review. **Clinica Chimica Acta** 374 (2006) 46–56.

CAMPBELL, M. K. *Bioquímica*. 3ª ed. Artmed. São Paulo: 752p. 2000.

CARANTI, D.A., MELLO, M. T., PRADO, W.L., TOCK, L., SIQUEIRA, K.O., PIANO, A., LOFRANO, M. C., CRISTOFALO, D.M.J., LEDERMAN, H., TUFIK, S., DAMASO, A. R. Short- and long-term beneficial effects of a multidisciplinary therapy for the control of metabolic syndrome in obese adolescents. **Metabolism Clinical and Experimental**, 2007, 56: 1293-1300.

CAZZOLA R, RONDANELLI M, RUSSO-VOLPE S, FERRARI E, CESTARO B. Decreased membrane fluidity and altered susceptibility to peroxidation and lipid composition in overweight and obese female erythrocytes. **Journal of Lipid Research**. 2004; 45: 1846-1851.

CAZZOLA R, RONDANELLI M, TROTTIC R, CESTARO B. Effects of weight loss on erythrocyte membrane composition and fluidity in overweight and moderately obese women. **J Nutritional Biochemistry**. 2011; 22: 388-392.

DE FREITAS, M. V; NETTO, R. C. M; HUSS, J. C. C; DE SOUZA, T. M. T; COSTA, J. O; FIRMINO, C. B; PENHA-SILVA, N. Influence of aqueous crude extracts of medicinal plants on the osmotic stability of human erythrocytes. **Toxicology in Vitro**, 2008; 22: 219-224.

ENRIQUEZAY. R., GIRIBM., ROTTIERSBR., CHRISTOPHEA. Fatty acid composition of erythrocyte phospholipids is related to insulin levels, secretion and resistance in obese type 2 diabetics on Metformin. **Clinica Chimica Acta**. 2004; 346: 145–152.

HUNNICUTT, J. W; HARDY, R. W; WILLIFORD, J; MCDONALD, J. M. Saturated fatty acid-induced insulin resistance in rat adipocytes. **Diabetes**. 1994; 34:540-545.

JEEJEBHOY, K.N; DETSKY, A. S; BAKER, J. P. Assessment of nutritional status. JPEN. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**. 1990; 14: 193-196.

NELSON, D. L; COX, M. M. Lehninger Principles of Biochemistry. 5<sup>th</sup> ed. New York: Freeman, 1216 pp, 2005.

PAN, D. A; LILLIOJA, S; MILNER, M.R; KRIKETOS, A.D; BAUR, L. A; BOGARDUS, C, *ET AL*. Skeletal muscle membrane lipid composition is related to adiposity and insulin action. **The Journal of Clinical Investigation**. 1995; 96:2802-2808.

PENHA-SILVA, N; ARVELOS, L.R; CUNHA, C.C, AVERSI-FERREIRA T.A; GOUVÊIA-E-SILVA, L.F; GARROTE-FILHO, M.S; FINOTTI, C.J; BERNARDINO-NETO, M; DE FREITAS REIS, F.G. Effects of glycerol and sorbitol on the thermal dependence of the lysis of human erythrocytes by ethanol. **Bioelectrochemistry**. 2008; 73: 23-29.

PRADO, W. L.; SIEGFRIED, A.; DAMASO, A.R.; CARNIER, J.; PIANO, A.; SIEGFRIED, W. Effects of long-term multidisciplinary in patient therapy on body composition of severely obese adolescents. **Jornal de Pediatria**, 2009, 85: 243-248.

STOCKER, R.; YAMAMOTO Y.; MCDONAGH A.F.; GLAZER, A. N.; AMES, B. N. Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. **Science**. 1987; 235: 1043-1046.

STORLIEN, L. H; PAN, D. A; KRIKETOS, A. D; O'CONNOR, J; CATERSON, I.D; COONEY, G. J; *ET AL*. Skeletal muscle membrane lipids and insulin resistance. **Lipids**. 1996, 31:261-265.

SUESS, J; LIMENTANI, D; DAMESHEK, W; DOLLOFF, M. A quantitative method for the determination and charting of the erythrocyte hypotonic fragility. *Blood*. v.3, p.1290-1303, 1948.

SWIFT, D. L; JOHANNSEN, N. M; EARNET, C. P; BLAIR, S.N; CHURCH, T.S. Effect of different doses of aerobic exercise training on total bilirubin leves. **Medicine Science Sports and Exercise**. 2012; 49: 1258-1262.

VOET, D; VOET, J. G; PRATT, C. W. Fundamentos de Bioquímica. 1ª ed. Artmed editora. São Paulo: 932P, 2002.

WISEMAN, H. Dietary influences on membrane function: importance in protection against oxidative damage and disease. **The Journal of Nutritional biochemistry**. 1996; 7:2-15.