



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS CHAPECÓ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

LUÍS ALBERTO GARCIA

**HIPERTROFIA MUSCULAR EM MULHERES ADULTAS PRATICANTES DE
MODALIDADES PRESENCIAIS E *ON-LINE*: UM ESTUDO PILOTO SOBRE O
BI-SET COMPOSTO RESPONSIVO AO SISTEMA PURINÉRGICO**

CHAPECÓ-SC

2024

LUÍS ALBERTO GARCIA

**HIPERTROFIA MUSCULAR EM MULHERES ADULTAS PRATICANTES DE
MODALIDADES PRESENCIAIS E *ON-LINE*: UM ESTUDO PILOTO SOBRE O
BI-SET COMPOSTO RESPONSIVO AO SISTEMA PURINÉRGICO**

Projeto de Pesquisa em nível de mestrado, submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEP) da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) *Campus* Chapecó como requisito para a obtenção da aprovação à realização do Projeto sob parecer e Certificado de Apresentação de Apreciação Ética (CAAE).

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Débora Tavares de Resende e Silva

CHAPECÓ-SC

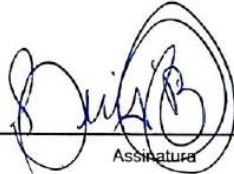
2024

FOLHA DE ROSTO GERADA PELA PLATAFORMA BRASIL



MINISTÉRIO DA SAÚDE - Conselho Nacional de Saúde - Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

1. Projeto de Pesquisa: HIPERTROFIA MUSCULAR EM MULHERES ADULTAS PRATICANTES DE MODALIDADES PRESENCIAIS E ON-LINE: UM ESTUDO PILOTO SOBRE O BI-SET COMPOSTO RESPONSIVO AO SISTEMA PURINÉRGICO			
2. Número de Participantes da Pesquisa: 42			
3. Área Temática:			
4. Área do Conhecimento: Grande Área 4. Ciências da Saúde			
PESQUISADOR			
5. Nome: LUIS ALBERTO GARCIA			
6. CPF: 829.072.000-97		7. Endereço (Rua, n.º): Rua Coroinha Adílio Daronch CENTRO Casa NONOAI RIO GRANDE DO SUL 99600000	
8. Nacionalidade: BRASILEIRO	9. Telefone: 54999525298	10. Outro Telefone:	11. Email: garcia.luis.ppg@gmail.com
Termo de Compromisso: Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Resolução CNS 466/12 e suas complementares. Comprometo-me a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e a publicar os resultados sejam eles favoráveis ou não. Aceito as responsabilidades pela condução científica do projeto acima. Tenho ciência que essa folha será anexada ao projeto devidamente assinada por todos os responsáveis e fará parte integrante da documentação do mesmo.			
Data: 19 / 12 / 2024		 Assinatura	
INSTITUIÇÃO PROPONENTE			
12. Nome: UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL - UFFS		13. CNPJ: 11.234.780/0001-50	
14. Unidade/Órgão:			
15. Telefone: (49) 2049-1478		16. Outro Telefone:	
Termo de Compromisso (do responsável pela instituição): Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Resolução CNS 466/12 e suas Complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, autorizo sua execução.			
Responsável: Sarah Franco Vieira de Oliveira Maciel		CPF: 055.471.029-38	
Cargo/Função: Coordenadora de Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas		Documento assinado digitalmente SARAH FRANCO VIEIRA DE OLIVEIRA MACIEL Data: 19/12/2024 16:35:32-0300 Verifique em https://validar.iti.gov.br	
Data: 19 / 12 / 2024		Assinatura	
PATROCINADOR PRINCIPAL			
Não se aplica.			

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	8
2. JUSTIFICATIVA.....	9
3. OBJETIVOS.....	11
3.1 OBJETIVO GERAL.....	11
3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO.....	11
4. METODOLOGIA.....	12
4.1 EQUIPE DE PESQUISA.....	15
4.2 ASPECTOS ÉTICOS EM PESQUISA COM SERES HUMANOS.....	16
4.3 DESENHO DO ESTUDO.....	17
4.4 AMOSTRA.....	21
4.4.1 Procedimentos para recrutamento da amostra.....	22
4.4.2 Critérios de inclusão para o GTP e GTO.....	23
4.4.3 Critérios de exclusão para o GTP e GTO.....	23
4.5 RISCOS E BENEFÍCIOS DOS PARTICIPES NA PESQUISA.....	23
4.5.1 Riscos para o GTP e GTO.....	23
4.5.2 Benefícios GTP e GTO.....	27
4.6 PROTOCOLO E APLICAÇÃO DE EXERCÍCIOS FÍSICOS RESISTIDOS (EFR) AO GTP E GTO.....	27
4.6.1 Bi-set.....	28
4.6.2 Bi-set Composto.....	29
5. COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO E PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS.....	29
5.1 COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS.....	29
5.1.1 Coletas de sangue.....	29
5.1.1.1 Controle biológico e armazenamento.....	30
5.1.1.2 Determinação do perfil lipídico.....	31
5.2 ANÁLISES RELACIONADAS AO SISTEMA PURINÉRGICO.....	31
5.2.1 Preparação das plaquetas.....	31
5.2.2 Preparação de linfócitos periféricos.....	31
5.2.3 Ensaios enzimáticos.....	32
5.2.3.1 Determinação da atividade da E-NTPDase1 (CD39) - Citometria de fluxo e PCR.....	33
5.2.3.2 Determinação da atividade da E-5'-nucleotidase (CD73) - Citometria de fluxo e PCR..	

5.2.3.3 Quantificação de ATP.....	34
5.2.4 Estudo de agregação plaquetária.....	35
5.2.5 Análise da expressão através de Western Blot.....	35
5.2.6 Análise de expressão gênica através da RT-PCR em tempo real.....	35
5.2.7 Análise dos níveis de citocinas.....	36
5.2.8 Análise dos níveis de nucleotídeos e adenosina circulantes.....	37
5.3 ANÁLISES RELACIONADAS AOS PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO E MEDIDAS DO SISTEMA ANTIOXIDANTES.....	37
5.4. MÉTODO DE DOSAGEM ATRAVÉS DA QUANTIFICAÇÃO DOS MARCADORES DE mTOR e IGF-1 POR ELISA.....	38
6. PROCEDIMENTO DE TRANSPORTE DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS.....	39
7. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	41
8. RESULTADOS ESPERADOS.....	41
8.1 DESFECHOS ESPERADOS.....	42
9. ORÇAMENTO.....	43
10. CRONOGRAMA.....	44
REFERÊNCIAS.....	46
APÊNDICES.....	51
APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para maiores de 18 anos.....	51
APÊNDICE B - Declaração de ciência e concordância da OM3 Academia e Centro de Fitness LTDA.....	55
APÊNDICE C - Declaração de ciência e concordância da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) Campus Chapecó.....	56
APÊNDICE D – Protocolos de treinamento de exercício físico resistido (EFR).....	57
APÊNDICE E - Caracterização da amostra.....	58
APÊNDICE F - Avaliação da função muscular através do teste de força de uma repetição máxima (1RM).....	59
APÊNDICE G - Ficha de treino, com acompanhamento da progressão do desempenho físico e registro de presença as participantes do GTO submetidas a aplicação do bi-set tradicional, disponibilizado as participantes por meio digital.....	60
APÊNDICE H - Ficha de treino, com acompanhamento da progressão do desempenho físico e registro de presença as participantes do GTO submetidas a aplicação do bi-set composto, disponibilizado as participantes por meio digital.....	62

APÊNDICE I - Ficha de treino, com acompanhamento da progressão do desempenho físico e registro de presença as participantes do GTP submetidas a aplicação do bi-set tradicional, disponibilizado a equipe de pesquisa por meio impresso.....	64
APÊNDICE J - Ficha de treino, com acompanhamento da progressão do desempenho físico e registro de presença as participantes do GTP submetidas a aplicação do bi-set composto, disponibilizado a equipe de pesquisa por meio impresso.....	65
APÊNDICE K - Cartaz de divulgação, convidando à participação na pesquisa.....	66
ANEXOS.....	67
ANEXO A - Questionário (Anamnese).....	67
ANEXO B - Parâmetros e critérios de níveis de treinamento.....	68
ANEXO C - Protocolo de validação de transporte de amostras biológicas sob refrigeração, em atenção às regulamentações ANVISA.....	69

RESUMO

Introdução: Partindo da necessidade correlacional dos pilares científicos de ensino, pesquisa e extensão, a temática dos exercícios físicos resistidos (EFR) tem demandado atenção. Devido a variedade de protocolos de treinamento para EFR, se faz relevante a investigação, estudos e análises sobre a aplicação de técnicas de aumento de volume e intensidade, tais como a do bi-set, tri-set, drop-set e outras, as quais se apresentam consistentes e potentes no fator de geração de hipertrofia muscular. Entretanto, conduzir à aplicação de técnica de EFR capaz de produzir melhora substancial na referida finalidade, onde o sistema purinérgico produz respostas, dá guarida à importância de despontar investigações as quais este projeto se constitui piloto: o bi-set composto. Por se tratar de uma técnica original, a literatura é inexistente nesta abordagem e na relação desta com o sistema purinérgico. **Objetivo:** Analisar a hipertrofia de agrupamento muscular específico produzida pelo efeito do EFR bi-set composto em resposta ao sistema purinérgico, em mulheres adultas praticantes de modalidades presenciais ou *on-line*. **Fundamentos teóricos:** Serão basilares para este estudo, os aportes do neurocientista Geoffrey Burnstock do pesquisador Francesco Di Virgilio nas abordagem que adentram o sistema purinérgico, e os aportes do renomado pesquisador em hipertrofia muscular: Belmiro Freitas de Salles, pesquisador da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Além desses autores, outros qualificarão a pesquisa. **Metodologia:** Realizar-se-á um estudo intervencional de caráter analítico e comparativo com 42 mulheres adultas em ambiente interno de academia de musculação localizada na região de abrangência da UFFS: OM3 Academia de Nonoai - Rio Grande do Sul (RS). Espera-se que esta pesquisa irá sugerir o TFR, em aplicação do bi-set composto como um método terapêutico adjuvante à saúde humana, promove uma mudança substancial no perfil inflamatório se comparado a técnicas tradicionais para a hipertrofia muscular, em mulheres praticantes de modalidades presenciais e *on-line*. **Resultados esperados:** O EFR, desenvolvido em médio e longo prazo no contexto do bi-set composto, irá modular adaptações no grupamento muscular esquelético especificado no protocolo de treinamento. É presumido que essas modulações irão aumentar as concentrações de ATP e adenosina, mas desconhece-se em qual nível isso ocorrerá.

Palavras-chave: Hipertrofia muscular. Bi-set composto. Sistema purinérgico. Exercício físico resistido. Saúde.

1. INTRODUÇÃO

A sinalização purinérgica vem sendo estudada por sua interação entre as células presente tanto em compostos neurais quanto não neurais, com acontecimentos de curto e longo período responsivos ao imunológico, ao inflamatório e a dor, por exemplo (Cardoso *et al.*, 2021). Assim, se faz um importante mediador da homeostase. Uma das moléculas sinalizadoras é o ATP (considerado um neurotransmissor), presente em cada uma das células, sendo um nucleotídeo trifosfatado que atua regulando fisiopatologias no ambiente extracelular (Cardoso *et al.*, 2021).

Essa regulação é oriunda do processo de convertimento do nucleotídeo a fim de catalisá-lo à ADO a qual, concentrada no âmbito extracelular, é responsável por efeitos neuromoduladores (Cardoso *et al.*, 2021). Contudo, o importante controle dessas concentrações de ATP e ADO ocorre fundamentalmente pelas ectonucleotidases (CD39 e CD73), basilares na homeostase tanto imunológica quanto plaquetária (Burnstock, 2006; Burnstock, Di Virgilio, 2013; Di Virgilio *et al.*, 2017). Nos tecidos saudáveis ou neoplásicos, salienta-se que essa atividade do CD39 e CD73 tem lugar de destaque na geração de adenosina extracelular (Di Virgilio *et al.*, 2017).

No que tange ao exercício físico, o ATP extracelular sinaliza para a imunoestimulação promotora da inflamação (Di Virgilio, 2005), enquanto o ADO extracelular sinaliza para a imunorregulação promotora da modulação de componentes celulares. Nesse contexto, tanto o CD39 quanto o CD73 contribuem na formação do ADO por meio da hidrólise de ATP. Portanto, os efeitos que danificam os tecidos gerando inflamação e agregação plaquetária, bem como aqueles que são anti inflamatórios e anti agregantes, fundam-se na sinalização purinérgica (Burnstock, 2006; Burnstock *et al.*, 2013).

Em decorrência de danos nessas células, ou dos próprios mecanismos fisiológicos, a liberação (em terminais pré e pós-sinápticos) desse nucleotídeo transmite ou co-transmite operações por meio de purinoreceptores (Burnstock, 2018). E, é para o purinoreceptor advindo da família P2X (receptor ionotrópico) que este projeto se aprofunda, especificamente em um de seus sete membros: o P2X7, que é um regulador dos níveis de ATP extracelular extremamente importante, em consonância ao estudo de Brandão-Burch *et al.* (2012).

No funcionamento metabólico e endócrino, as respostas inflamatórias e imunológicas são desempenhadas por citocinas (proteínas de baixo peso molecular) que atuam em células (linfócitos, macrófagos, killer, mastócitos e estromais) e produzem atividades nos fluidos biológicos (Cristo, 2024). Como biomarcadores, é preciso atentar-se para a alteração de seus

níveis. Outro aspecto importante é a singularidade do EFR, onde o mesmo combina tanto as contrações (fase concêntrica) e distensões (fase excêntrica), tanto estáticas (isométricas) quanto às dinâmicas (maiores variações), a fim de exercer trabalho contra uma resistência (Faria *et al.*, 2020).

Dentro dessa conjuntura, este projeto busca estudar a hipertrofia do agrupamento muscular através de exercício físico resistido em mulheres adultas praticantes de modalidades presenciais e *on-line*, se constituindo como piloto ao abordar o bi-set composto, e analisando as respostas dessa técnica de aumento de volume e intensidade nas respostas ao sistema purinérgico. Para tanto, possui como abordagem comparativa entre mulheres adultas praticantes de modalidades presenciais ou *on-line*.

Dessa forma, esta investigação traz como especificidade a aplicação do bi-set composto o qual se traduz em uma técnica original, potente na caracterização deste projeto como piloto. Técnica original que, tendo como base que um volume de exercício de treinamento resistido (séries por grupamento muscular), passa a ser maior, em quantidade de séries, condiciona também a maiores sinais hipertróficos pelo volume de séries de exercícios, em uma macro periodização. Assim, o bi-set composto é situado por um EFR localizado, submetido duas vezes na mesma série de treinamento, e intercalado com outra série de outro grupo muscular. Em médio e longo prazo, um protocolo elaborado com base nesses princípios tende a direcionar maiores ganhos hipertróficos no grupamento muscular onde foi aplicado essa técnica.

2. JUSTIFICATIVA

Devido a variedade de protocolos para exercícios físicos resistidos, este projeto investiga especificamente a técnica do bi-set de modo a tecer análises comparativas sobre um desdobramento original desse: o bi-set composto. Por se tratar de uma técnica original, a literatura é inexistente nesta abordagem e na relação desta com o sistema purinérgico. No sítio da PubMed, com a expressão de busca bi-set e com ausência de quaisquer filtro, foi localizada apenas uma pesquisa (Callegari, Novaes, Neto *et al.*, 2017) acerca do bi-set tradicional, evidenciando já ser um *locus* não difundido e atestando a inexistência de uma variação original acerca da técnica a qual esse projeto se propõe investigar: o composto.

Essa lacuna explicitada será investigada nos objetivos deste estudo, tendo o bi-set composto como uma técnica original a qual fomentará e despontará novas investigações. Portanto, este estudo se difere ao trazer, além da conjugação das duas séries sequenciais de

exercícios, uma complementação intercalada com outra série de outro grupo muscular. Embora a literatura ainda seja escassa no bi-set tradicional, o desafio é estudar a eficácia do bi-set composto na melhora dos grupamentos musculares onde o mesmo é aplicado, tendo em vista as respostas na sinalização purinérgica.

O interesse se tornou gradativo em razão do destaque da aplicação do bi-set composto, perante outras de EFR existentes no meio contemporâneo. Leandro Twin (2023), um renomado educador físico em âmbito nacional, descreve e trabalha o bi-set tradicional em academias como uma das técnicas avançadas de treinamento à hipertrofia muscular, ampliadora de volume de séries em uma mesma sessão de treinamento, conjugada por duas séries sequenciais de exercícios em músculos sinergistas. Mesmo no tradicional, a singularidade reside em oferecer intensidade, como o próprio aumento de volume ao treino.

Um estudo recente desenvolvido por Qiu *et al.* (2024) salientou que a intensidade vem demonstrando ser um fator importante na melhora do diabetes *mellitus* (DM) e, nesta perspectiva, outros autores (Jansson *et al.*, 2022) indicaram a necessidade de incluir nas investigações medidas de alteração da massa magra (hipertrofia). Desse modo, o bi-set tradicional, estando associado a intensidade e a um aumento de volume durante o treinamento, ao médio e longo prazo, teoricamente propiciará um aumento substancial de massa magra. Todavia, apresenta lacunas de investigação de tais parâmetros, sendo que a sinalização purinérgica é fundante indicador.

A hipertrofia encontra-se contextualizada dentro de um vasto campo que analisa o aumento do tecido muscular estriado esquelético do corpo humano. Este aumento ocorre por meio do trabalho mecânico, produzido pela adenosina trifosfato (ATP) em resposta a estímulos de força, volume e tempo sob tensão, gerados por estímulos externos. Neste contexto, as contribuições do EFR vêm sendo investigadas tanto para a saúde humana quanto para a geração da hipertrofia (Abreu *et al.*, 2017).

Assim, a aplicabilidade de técnicas para aumento de volume e intensidades passam a ser determinantes para os ganhos na referida finalidade e para os efeitos positivos na saúde, e estas estão sendo apreendidas recentemente na comunidade científica. Mas, reiterando, o bi-set composto produz originalidade pela combinação de dois exercícios análogos para um grupamento muscular, juntamente com outro *set* de trabalho de grupamento muscular consonante. Portanto, é considerada uma inovação do autor/educador físico (2024) entrando em contextos de pesquisa piloto no *Stricto Sensu*, em apoio ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas (PPGCB) da UFFS *Campus* Chapecó - Santa Catarina (SC), podendo ser basilar para pesquisas futuras e contundente no campo de atuação.

Se constituindo piloto, os protocolos de treinamento passam a ser descritos pelo autor (2024) a partir do seguinte formato estrutural: Ao ser efetivado um *set* para um determinado grupamento muscular (requisitado pela ordem de exercícios), se intercala um outro *set* de outro grupamento muscular e imediatamente na sequência passa a ser realizado novamente o primeiro *set*, dando ênfase dobrada ao primeiro grupamento muscular e dobrando também o volume de exercício resistido para o grupamento muscular localizado.

Não obstante, há a necessidade de fomentar pesquisas sobre esta temática, viabilizando projetos e intensificando um olhar para com a elaboração de técnicas de treinamento avançado, trabalhadas conjuntamente com a consciência corporal. Essas tratativas podem ser cotejadas com uma equipe multiprofissional de educadores físicos, nutricionistas, psicólogos, médicos, biomédicos, enfermeiros, fisioterapeutas, farmacêuticos e outros dentro da grande área das Ciências da Saúde, visando o alcance proficiente em seus respectivos campos de atuação.

HIPÓTESE

Em mulheres adultas, a técnica de aumento de volume de treinamento denominada bi-set composto aplicada em protocolo de treinamento de EFR por um profissional de educação física, comparada a técnica do bi-set tradicional, promove melhor ganhos hipertróficos em respostas ao sistema purinérgico ao modular adaptações no grupamento muscular esquelético trabalhado em longo e médio prazo após 12 semanas de treinamento em atendimento personalizado presencial e on-line.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a hipertrofia muscular produzida pelo efeito do EFR com a aplicação da técnica bi-set composto nos grupamentos musculares em mulheres adultas praticantes de modalidades presenciais e *on-line*, em resposta ao sistema purinérgico.

3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Caracterizar a amostra com base em parâmetros relacionados à idade, protocolo de perimetria e dados antropométricos (peso, altura, índice de massa corporal - IMC), correlacionando-os com análises de composição corporal realizadas por bioimpedância elétrica (BIA), adipometria com ênfase muscular, e desempenho da função muscular no teste de força de uma repetição máxima (1RM);
- Analisar marcadores biomoleculares associados ao ganho de massa muscular, com ênfase na ativação e regulação da via mTOR, considerando os efeitos moduladores do estímulo produzido pelo EFR na aplicação das técnicas bi-set composto e bi-set tradicional;
- Analisar as alterações nos níveis dos marcadores miostatina, fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1), irisina, leptina, adiponectina e cortisol em mulheres praticantes de modalidades presenciais e *on-line*, antes e após a aplicação da técnicas bi-set composto e bi-set tradicional;
- Analisar os componentes do sistema purinérgico (correlacionando os níveis de ATP extracelular com a expressão e a atividade do receptor P2X7) e sua relação com marcadores de estresse oxidativo;
- Correlacionar os parâmetros bioquímicos (glicose, colesterol, perfil lipídico) e inflamatórios (com ênfase nos níveis de proteína C-reativa (PCR) para avaliar sua associação com a resposta inflamatória e os processos adaptativos relacionados à hipertrofia muscular.

4. METODOLOGIA

O caminho metodológico é composto pela concepção teórica que qualificará o tratamento dos dados e microdados analíticos, e pelos instrumentos que quantificarão a referida pesquisa. Além disso, é composto por procedimentos organizacionais que contribuirão para a cientificidade e a ética no *Stricto Sensu*. Nesta conjuntura, o projeto consiste em um trabalho de campo onde realizar-se-á um estudo intervencional.

Para serem analisados os ganhos de hipertrofia nos grupamentos musculares, produzidos pelos efeitos dos EFR, de acordo com o descrito e objetivado no Apêndice D do bi-set simples e bi-set composto, em mulheres adultas praticantes de modalidades presenciais ou *on-line*, será aplicado a análise de hipertrofia conforme o protocolo formalizado de perimetria descrito no Apêndice E. Cabe salientar que o Apêndice E trás, em seu conteúdo,

um espaço para marcação dos resultados antes e após a aplicação do treinamento, o qual será basilar para a avaliação proposta.

As sessões de treinamento (Apêndice D) serão realizadas em um período de 12 semanas com três sessões cada uma, em duração de 60 minutos. Ensejando uma melhor delimitação da pesquisa, requerer-se-á que os protocolos de treinamento do total amostral sejam divididos em dois grupos: Grupo de treinamento presencial (GTP) e grupo de treinamento *on-line* (GTO), ambos acompanhados em atendimento personalizado individualizado, submetidos as fichas de treino de acordo com os grupos e técnicas aplicadas (as fichas de treino se encontram dispostas nos Apêndices G, H, I, J). O estudo comparativo dar-se-á não somente entre ambos os grupos como também em respostas dos níveis pré e pós intervenção, com análises de parâmetros bioquímicos, componentes do sistema purinérgico e de estresse oxidativo e marcadores de ganho de massa muscular a partir da via da mTOR.

As análises versarão o ganho de massa muscular através de medidas com fita métrica e com balança de bioimpedância; posteriormente, versarão os marcadores de ganho de massa muscular a partir da via da mTOR. Na sequência, o enfoque será no ATP extracelular a fim de quantificar e analisar os níveis nele presentes, em atenção à liberação de ATP, resultante da aplicação da técnica do bi-set composto. Priorizará o mesmo experimentador para a estimulação mecânica e a coleta do meio para medição de ATP, proporcionando calibragem e ausência de erros. Ao final, analisar-se-á as citocinas inflamatórias.

Para o alcance do primeiro objetivo específico, o qual busca *caracterizar a amostra com base em parâmetros relacionados à idade, protocolo de perimetria e dados antropométricos (peso, altura, IMC), correlacionando-os com análises de composição corporal realizadas por BIA, adipometria com ênfase muscular, e desempenho da função muscular no teste de força de 1RM*, serão utilizados o Apêndice E e o Apêndice F. O conteúdo do Apêndice E traz um aspecto organizacional completo, de modo que possibilite ao pesquisador realizar os registros pré-intervenção e pós-intervenção paralelamente. O Apêndice F, por sua vez, possibilitará o registro no teste de esforço de 1RM. O acompanhamento semanal do desempenho da função muscular se dará dentro das fichas de treino (Apêndice G, Apêndice H, Apêndice I, Apêndice J).

Para o alcance do segundo objetivo específico, o qual busca *analisar marcadores biomoleculares associados ao ganho de massa muscular, com ênfase na ativação e regulação da via mTOR, considerando os efeitos moduladores do estímulo produzido pelo EFR na aplicação das técnicas bi-set composto e bi-set tradicional*, serão coletadas amostras sanguíneas em dois momentos definidos (um antes e outro até 48h após a realização dos

protocolos de treinamento). Na análise de biomarcadores, será utilizado ensaios imunoenzimáticos (ELISA) para quantificar os níveis de proteínas associadas à via mTOR (p-mTOR, S6K1). No que tange ao estímulo de treinamento, as participantes serão divididas em dois grupos (um grupo na modalidade presencial e outro na modalidade on-line) e em ambos os grupos, parte delas será submetida à aplicação da técnica bi-set composto e outra parte será submetida a aplicação da técnica de bi-set tradicional.

Para o alcance do terceiro objetivo específico, o qual busca *analisar as alterações nos níveis dos marcadores miostatina, IGF-I, irisin, leptina, adiponectina e cortisol em mulheres praticantes de modalidades presenciais e on-line, antes e após a aplicação da técnicas bi-set composto e bi-set tradicional*, tendo realizadas as coletas sanguíneas e as medições nos mesmos intervalos temporais dos objetivo anteriores, o enfoque será para o método de dosagem através da quantificação dos marcadores por ELISA, assegurando especificidade e sensibilidade para cada analito. O comparativo se dará através da análise das diferenças entre os grupos (presenciais e online) e as técnicas (bi-set composto e tradicional) utilizando análises estatísticas: análise de variância, incluindo testes de normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e de homogeneidade (teste de Hartley); comparação dos dados em relação às variáveis dependentes (paramétrico – ANOVA de medidas repetidas; não paramétrico – teste de Wilcoxon); análise de correlação entre as variáveis, utilizando a correlação de Pearson.

Para o alcance do quarto objetivo específico, o qual busca *analisar os componentes do sistema purinérgico (correlacionando os níveis de ATP extracelular com a expressão e a atividade do receptor P2X7) e sua relação com marcadores de estresse oxidativo*, tendo realizadas as coletas de sangue e plasma, serão utilizados tubos contendo anticoagulantes para a preservação de ATP. No que tange a dosagem de ATP extracelular, será empregada luminometria para medir os níveis de ATP em amostras de plasma. Para a expressão de P2X7, serão realizadas análises de expressão gênica por Transcrição Reversa seguida de Reação em Cadeia da Polimerase (RT-qPCR) em tempo real, avaliando a presença proteica por Western blot. Sobre os marcadores de estresse oxidativo, será quantificado as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), antioxidantes enzimáticos (SOD, CAT) e não enzimáticos (glutathione reduzida).

Para o alcance do quinto e último objetivo específico, o qual busca *correlacionar os parâmetros bioquímicos (glicose, colesterol, perfil lipídico) e inflamatórios (com ênfase nos níveis de PCR para avaliar sua associação com a resposta inflamatória e os processos adaptativos relacionados à hipertrofia muscular*, tendo realizadas as coletas de sangue, garantindo a estabilidade dos analitos, as análises bioquímicas medirão a glicose, colesterol

total, HDL, LDL, triglicérides e PCR. Para a correlação estatística, serão aplicadas análises de correlação (Pearson) entre os níveis bioquímicos e os dados relacionados à hipertrofia e inflamação.

Contudo, será verificado a capacidade e o nível em que o EFR bi-set composto promove mudanças no sistema purinérgico, correlacionando a quantidade de ATP extracelular e o P2X7. Os resultados buscarão verificar esta técnica original como um potencializador substancial de hipertrofia muscular em agrupamento muscular específico.

4.1 EQUIPE DE PESQUISA

O presente Projeto resultará na escrita da dissertação, e é conduzido pelo profissional de Educação Física Luís Alberto Garcia¹, pesquisador responsável e também mestrando pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas (PPGCB) da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) *Campus* Chapecó. Para o desenvolvimento de algumas etapas de pesquisa (como os dois momentos de coletas de sangue, a aplicação do questionário (anamnese) e aplicação do protocolo de EFR), haverá uma equipe de pesquisa e intervenção formada pelos seguintes integrantes:

- Débora Tavares de Resende e Silva², orientadora do Projeto e docente do PPGCB. Graduada em Fisioterapia, possui doutorado em Ciências - Patologia Geral pela Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), com pós-doutorado em Imunologia pela Universidade de São Paulo (USP).
- Vinicius Ansolin³, discente de enfermagem pela UFFS *Campus* Chapecó.
- Josiano Guilherme Puhle⁴, possui quatro graduações: biomédico, bacharel em educação física e pedagogo pelo Centro Universitário Leonardo da Vinci (UNIASSELVI), e licenciado em educação física pela Universidade do Oeste de Santa Catarina (UNOESC). É mestre em Ciências Biomédicas pela UFFS, e discente do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) no nível de Doutorado pela Universidade Comunitária da Região de Chapecó (Unochapecó).
- Adinei Abadio Soares⁵, bacharel em enfermagem e discente de medicina pela UFFS *Campus* Chapecó.

¹ Luís Alberto Garcia. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2983704258919500>.

² Débora Tavares de Resende e Silva. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/6093255618062496>.

³ Vinicius Ansolin. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1517251319797088>.

⁴ Josiano Guilherme Puhle. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1125012795747355>.

⁵ Adinei Abadio Soares. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/8546489496709575>.

4.2 ASPECTOS ÉTICOS EM PESQUISA COM SERES HUMANOS

No Brasil, o ordenamento legal e regulatório da ética em pesquisa envolvendo seres humanos reflete um compromisso com a proteção dos participantes e a integridade da pesquisa. O principal marco é a Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde (CNS), que estabelece diretrizes e normas regulamentadoras para pesquisas em seres humanos. Esta resolução é fundamental para assegurar que todas as pesquisas sigam princípios éticos rigorosos, incluindo respeito à dignidade, ao bem-estar e à autonomia dos participantes (CNS, 2012).

Ademais, a Lei Nº 13.709, de 14 de agosto de 2018 introduziu importantes modificações no campo da ética em pesquisa, especialmente no que se refere à proteção dos dados pessoais dos(as) participantes. Dessa forma, a Lei Geral de Proteção de Dados (LGPD) estabelece regras sobre como os dados devem ser coletados, armazenados e utilizados, reforçando a necessidade do termo de consentimento livre e esclarecido - TCLE (Brasil, 2019).

No contexto acadêmico e científico, as diretrizes da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), que opera sob o CNS, fornecem uma supervisão adicional para assegurar que os projetos de pesquisa sejam revisados e aprovados por comitês de ética locais. Esses comitês, conhecidos como Comitês de Ética em Pesquisa (CEPs), são responsáveis por avaliar a conformidade dos projetos com os princípios éticos e legais estabelecidos (CONEP, 2020).

À vista desse cuidado ético em pesquisa com seres humanos, foi elaborado o TCLE (Apêndice A) à UFFS e aos participantes da pesquisa (que contempla um público maior de 18 anos). No momento em que a pesquisa de campo se iniciar, os procedimentos envolvendo a produção de dados serão acordados e planejados com os partícipes, e o TCLE será entregue às leituras e assinaturas. Ademais, a realização da pesquisa necessita de ciência e concordância das instituições envolvidas, sendo essas: a UFFS (Apêndice C) e a sendo a OM3 Academia (Apêndice B) uma instituição parceira neste estudo.

Diante dessa conjuntura, a pesquisa foi submetida ao CEP da UFFS *Campus* Chapecó, e obteve o Certificado de Apresentação de Apreciação Ética (CAAE) pelo processo nº _____, aprovado em ____/____/2025, sob o parecer nº _____. Desse modo, a pesquisa é conduzida de acordo com os procedimentos estabelecidos para estudos envolvendo seres humanos, em conformidade com as diretrizes legais.

Outrossim, na condução de pesquisas envolvendo seres humanos, a proteção dos dados coletados e a preservação da identidade dos participantes são importantes. O uso de nomes fictícios é uma prática comum, recomendada e aderida nesta pesquisa (a ser apontada no Apêndice E, de caracterização da amostra) para garantir o anonimato e a confidencialidade dos indivíduos envolvidos, em consonância com a legislação e normas éticas do princípio da confidencialidade do CNS (2012).

Portanto, no procedimento para preservação da identidade, serão substituídos os nomes reais das participantes por nomes fictícios. Cabe salientar que esses nomes reais devem ser mantidos em um banco de dados separado e protegido, acessível apenas aos membros da equipe de pesquisa com autorização específica (Brasil, 2019). Para garantir um armazenamento seguro, todos os dados identificáveis serão armazenados utilizando proteção contra acesso não autorizado. A segurança dos dados é fundamental para evitar vazamentos ou acessos indevidos (CONEP, 2020).

No que tange aos relatórios e publicações, os resultados da pesquisa serão divulgados utilizando apenas os nomes fictícios, garantindo que quaisquer informações detalhadas que possam levar à identificação dos participantes sejam omitidas ou generalizadas (CNS, 2016).

Contudo, as participantes escolherão seus nomes fictícios (no Apêndice E) e serão informadas sobre a proteção dos dados durante todo o processo de pesquisa, garantindo a confidencialidade. Ao final do estudo, todo material será mantido em arquivo físico ou digital, por um período de cinco anos. Ao término do estudo, o pesquisador responsável organizará uma reunião para a entrega dos resultados aos participantes, caso a(s) participantes prefira(m), o envio poderá ser via endereço de e-mail ou WhatsApp®. Os resultados serão divulgados em eventos e/ou publicações científicas mantendo sigilo dos dados pessoais.

4.3 DESENHO DO ESTUDO

Exercícios físicos produzem respostas adaptativas para suportar determinado estresse e geram hipertrofia em qualquer treino. Entretanto, a aplicabilidade de técnicas para aumento de volume e intensidades passam a ser determinantes em ganhos substanciais de hipertrofia muscular e em efeitos positivos na saúde. Neste contexto, a originalidade do bi-set composto suscita este estudo piloto que, se confirmado que a eficácia desta técnica melhora substancialmente o grupamento muscular trabalhado nos protocolos, poderá também acarretar contribuições quanto a utilização/aplicabilidade dessa técnica, auxiliando e melhorando um grupamento muscular deficitário. Não só, como também outra relevância para o

desenvolvimento deste Projeto condiz com o fomento à continuidade de pesquisas às Ciências Biomédicas através de indicativos do exercício e/ou dessa técnica como um método terapêutico adjuvante na saúde.

O projeto possui delineamentos quali-quantitativos e é caracterizado como ensaio clínico (investigando a intervenção de treinamento em modalidades presenciais e *on-line*, e comparando duas técnicas de EFR: bi-set tradicional e bi-set composto), constituído de pré e pós testes (Thomas e Nelson, 2002). As intervenções serão realizadas em um período temporal correspondente a abril até julho de 2025, conforme o cronograma previsto, e serão realizadas na OM3 Academia e Centro de Fitness LTDA, sediada na cidade de Nonoai - Rio Grande do Sul (RS).

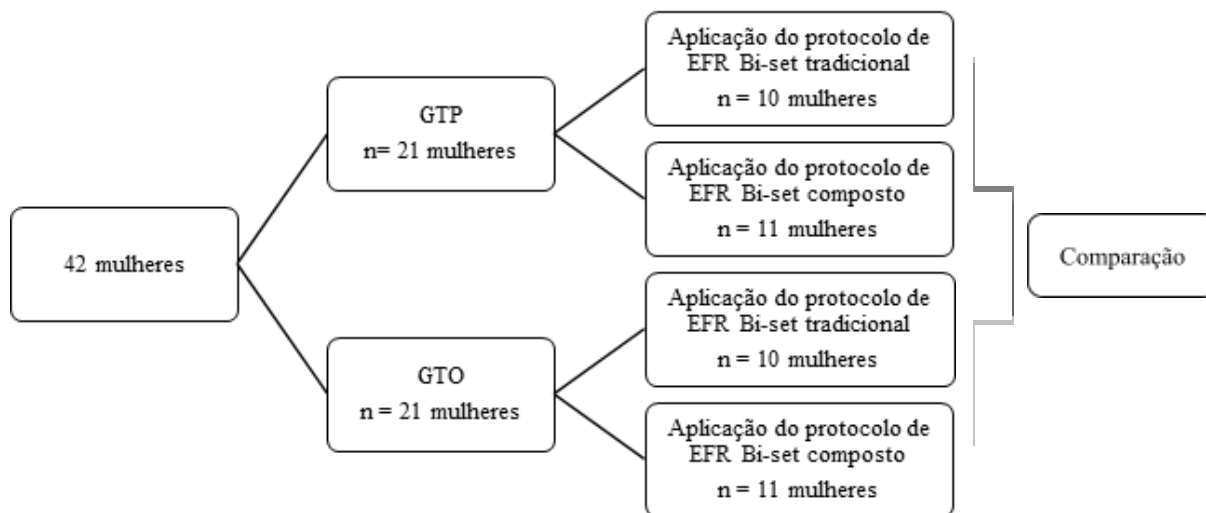
O número de participantes foi determinado por meio de cálculo amostral com erro de 10% e intervalo de confiança de 90%, obtendo uma amostra de 42 participantes. Assim, o quantitativo ideal da população a ser recrutada será 42 mulheres, as quais serão selecionadas com idade entre 18 a 40 anos e com matrícula ativa na OM3 Academia e Centro de Fitness LTDA. Esse recrutamento ocorrerá de forma voluntária, pois o interesse e motivação em aderir a um programa de EFR é de forma pessoal. O convite será divulgado por meio da fixação de cartazes nas dependências da OM3 Academia do município de Nonoai-RS.

Após o recrutamento da amostra, haverá a distribuição do quantitativo total em dois grupos, de forma aleatorizada: Grupo de treinamento presencial (GTP) e grupo de treinamento *on-line* (GTO). Além disso, as intervenções serão divididas em duas técnicas aplicadas em uma subdivisão de ambos os grupos: bi-set tradicional (BST) e bi-set composto (BSC). Todas as participantes serão acompanhadas por atendimento personalizado, devendo passar por aplicação de questionário - anamnese (Anexo A), coleta de sangue, teste de uma repetição máxima (1RM) (Apêndice F), medições antropométricas (Apêndice E) e intervenção de EFR (Apêndice D); cuja realização será na OM3 Academia, instituição parceira do estudo, em salas pré-estabelecidas. O profissional de educação física responsável por este projeto, juntamente com o auxílio da equipe de pesquisa, irá conduzir a execução das referidas etapas.

As intervenções descritas nos protocolos de treinamento do Apêndice D, por sua vez, possuem o aspecto formativo ilustrado pelo Fluxograma 1. Portanto, as 42 participantes serão divididas em: 21 irão compor o GTP e 21 irão compor o GTO. Das 21 mulheres do GTP: 10 serão submetidas a aplicação da técnica de bi-set tradicional (Apêndice I) e 11 serão submetidas a aplicação da técnica de bi-set composto (Apêndice J). Das 21 mulheres do GTO: 10 serão submetidas a aplicação da técnica de bi-set tradicional (Apêndice G) e 11 serão

submetidas a aplicação da técnica de bi-set composto (Apêndice H). Esse procedimento encontra-se ilustrado no Fluxograma 1.

Fluxograma 1 - Aplicação das intervenções de EFR no GTP e no GTO.



Nota: Grupo de treinamento presencial (GTP). Grupo de treinamento on-line (GTO). Exercício físico resistido (EFR). Número de mulheres (n).

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

No que tange ao questionário, uma anamnese (Anexo A) será aplicada para ambos os grupos (GTP e GTO) antes de iniciar a intervenção de EFR, informando questões do histórico familiar e pessoal de doenças crônicas. Nos procedimentos destinados às coletas de sangue, elas serão basilares para os procedimentos de análises bioquímicas. Para tanto, os momentos de coleta sanguínea pré e pós-intervenção ocorrerão da seguinte forma: antes da aplicação do protocolo de EFR e até 48 horas após a última sessão de EFR. Logo, a definição do período/momento de realização da primeira coleta de sangue a ser realizada (antes da aplicação de EFR) ocorrerá para evitar influências nos resultados. Cabe salientar que, como parte dos cuidados protocolares e éticos, após serem realizadas as coletas de sangue as participantes irão receber um lanche para cessar o jejum.

O sangue coletado será encaminhado⁶ para as dependências da UFFS. No laboratório 105 de pesquisa biológica pertencente ao *Campus* Chapecó. Serão devidamente processados e armazenados os materiais biológicos das participantes. Será realizado a separação das amostras por plaquetas, linfócitos, soro, plasma e sangue total, sendo congeladas em freezer a -80°C para as análises sequenciais. Tendo realizado as coletas, a acessibilidade aos documentos impressos será restrita a apenas quem for pesquisador envolvido. Por um tempo

⁶ Mediante detalhamento descrito no tópico 6 deste Projeto.

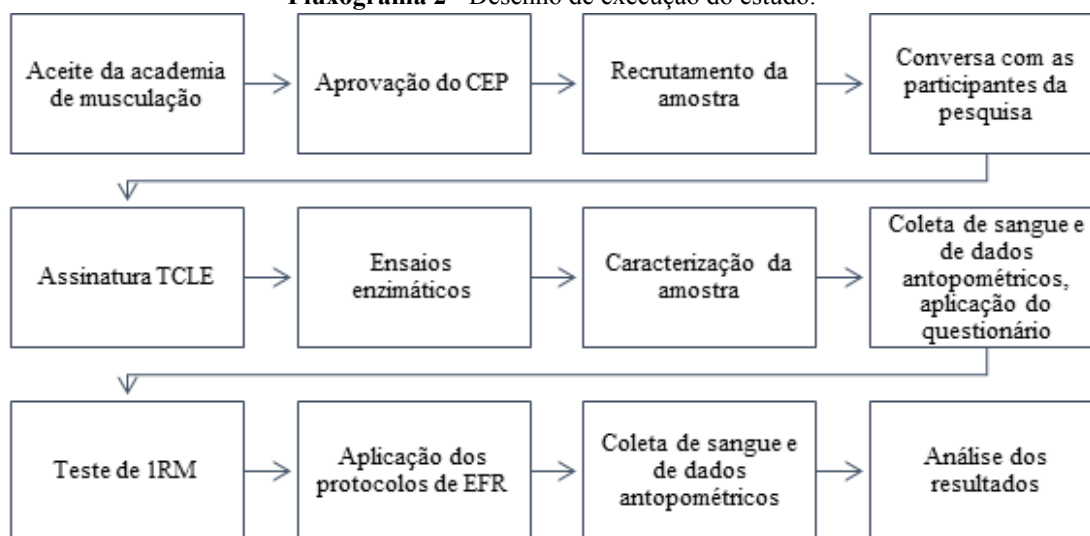
de 5 anos corridos, haverá o arquivamento dos documentos impressos bem como o armazenamento destes documentos em armários com chave, após esse período, o descarte será realizado por incineração.

Será realizada uma intervenção com um protocolo (Apêndice D) de EFR de 12 semanas de treinamento personalizado aplicado tanto ao GTO e ao GTP, a fim de tecer comparativos entre as duas técnicas em ambos os grupos. As faltas serão monitoradas em campo específico dos Apêndices G, H, I e J. Em situação de desistência ou exclusão por faltas, será trabalhado a minimização dos impactos na análise, apresentando transparência sobre as limitações.

Contudo, as participantes escolherão seus nomes fictícios (no Apêndice E) e serão informadas sobre a proteção dos dados durante todo o processo de pesquisa, garantindo a confidencialidade. Ao término do estudo, o pesquisador responsável organizará uma reunião para a entrega dos resultados aos participantes, caso a(s) participantes prefira(m), o envio poderá ser via endereço de e-mail ou WhatsApp®. Os resultados serão divulgados em eventos e/ou publicações científicas mantendo sigilo dos dados pessoais.

Para a aplicação do treinamento na academia, o pesquisador responsável por este Projeto (outorgado como bacharel em educação física) será o responsável por orientar, auxiliar e atender as participantes durante todo o treinamento, O pesquisador responsável será acompanhado pela equipe de pesquisa. A equipe de pesquisa contribuirá na aplicação do questionário - anamnese (Anexo A), caracterização da amostra (Apêndice E) e coletas de sangue. Para a aferição da pressão e glicemia, os integrantes da equipe de pesquisa são capacitados profissionalmente e serão munidos de responsabilidade, havendo a presença do pesquisador responsável em todos os horários de aplicação das etapas. Não haverá recebimento de quaisquer tipo de auxílio aos participantes, para o deslocamento até o local de aplicação dos EFR, destinando a responsabilidade unicamente individual pela logística. Tendo realizado o estudo de campo, haverá a análise estatística dos dados coletados e, após, os dados entre os grupos serão comparados.

O aspecto visual do desenho do estudo é ilustrado através do seguinte fluxograma (Fluxograma 2):

Fluxograma 2 - Desenho de execução do estudo.

Nota: Comitê de Ética em Pesquisa (CEP). Exercício físico resistido (EFR). Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Uma repetição máxima (1RM).

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

4.4 AMOSTRA

Um cálculo amostral foi realizado para determinar a amostra ideal. Para tanto, foi verificado a listagem de alunos ativos do sexo feminino (com idade entre 18 a 40 anos), devidamente matriculados na OM3 Academia (elegida por ser a academia de musculação com melhor custo-benefício da região de abrangência da UFFS, tendo em vista o impacto de uma universidade pública) até a data de 16/12/2024, localizando um quantitativo basilar à população estimada. De acordo com a busca realizada, a academia de musculação integra 105 matrículas ativas à este público. Por conseguinte, o cálculo amostral realizado foi constituído

pela seguinte fórmula: $N = \frac{N \cdot Z^2 \cdot P \cdot (1 - P)}{E^2 \cdot (N - 1) + Z^2 \cdot P \cdot (1 - P)}$, sendo atribuído os valores ao nível de

confiança (Z) de 90% (Z = 1,645), ao erro amostral (E) de $\pm 10\%$ (E = 0,1), ao tamanho da população (N) de 105 mulheres (N = 105) na faixa etária entre 18 a 40 anos residentes de Nonoai-RS, a proporção esperada (P) de 50% (P = 0,5), devido à ausência de dados prévios.

Através de: $N = \frac{105 \cdot 1,645^2 \cdot 0,5 \cdot (1 - 0,5)}{0,1^2 \cdot (105 - 1) + 1,645^2 \cdot 0,5 \cdot (1 - 0,5)}$ foi possível obter uma amostra de 42 participantes.

As 42 participantes representam o tamanho ideal da amostra para garantir que os resultados da pesquisa sejam estatisticamente válidos. Esse número poderá ser reduzido sob duas hipóteses: 1) Há a possibilidade de nem todas as participantes comporem os critérios de inclusão e/ou estarem dentro dos critérios de exclusão; 2) Há a possibilidade de nem todas as

participantes manifestarem interesse em participar da pesquisa. Portanto, caso esse quantitativo amostral não for atingido no recrutamento, será informado uma nova precisão estatística recalculando a margem de erro (E) com o número de participantes que foi possível recrutar. Cabe salientar que, recrutar o número ideal (42 mulheres) é o objetivo, mas em pesquisas com seres humanos, a adesão pode variar. Por isso, caso a adesão for menor, será trabalhado a minimização dos impactos na análise, apresentando transparência sobre as limitações.

As 42 mulheres serão divididas em dois grupos:

- Grupo de Treinamento Presencial (GTP);
- Grupo de Treinamento On-line (GTO).

Além disso, haverá uma segunda divisão composta por duas técnicas de treinamento aplicadas ao GTP e ao GTO, sendo constituída da seguinte forma:

- Bi-set tradicional (BST).
- Bi-set composto (BSC).

Reiterando que a representatividade mapeada da aplicação das intervenções de EFR no GTP e no GTO encontra-se ilustrada no Fluxograma 1, em “desenho do estudo”.

4.4.1 Procedimentos para recrutamento da amostra

Após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEP) da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), o recrutamento da amostra ocorrerá de forma voluntária e dentro das normativas do presente projeto (42 mulheres com idade entre 18 a 40 anos irão compor a amostra) pois o interesse e motivação em aderir a um programa de EFR é de forma pessoal. O projeto será divulgado por meio da fixação de cartazes nas dependências da OM3 Academia do município de Nonoai-RS e instagram, bem como por meio de cartazes (Apêndice K) impressos e fixados na OM3 Academia. Ademais, serão divulgadas chamadas em redes sociais virtuais.

As mulheres interessadas em participar da pesquisa deverão entrar em contato nos endereços de e-mail que serão disponibilizados, de modo a informar seu interesse. Dados como nome completo, data de nascimento e contato telefônico serão solicitados. Na sequência, as mulheres interessadas em participar da pesquisa receberão uma ligação telefônica ou mensagem via WhatsApp®, sendo comunicadas da data que ocorrerão às avaliações na OM3 Academia. No dia estabelecido para ocorrer as avaliações, as participantes deverão apresentar um atestado de liberação médica para a prática de EFR. Será realizado a

leitura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice A), informando-as com detalhes a realização dos procedimentos da pesquisa, concordando em participar através da materialização da concordância pelo TCLE. Após o recrutamento da amostra de 42 mulheres, a distribuição delas ao GTP (21 cada) e GTO (21 cada), será realizada de forma aleatorizada, as quais passarão a ser submetidas a protocolos de treinamento personalizados, conforme o explicitado no Fluxograma 1 e descrito no desenho do estudo.

4.4.2 Critérios de inclusão para o GTP e GTO

- Seres humanos do sexo feminino;
- Estar na faixa etária entre 18 a 40 anos;
- Estar matriculada na OM3 Academia e Centro de Fitness LTDA de Nonoai-RS.
- Assinar o TCLE.

4.4.3 Critérios de exclusão para o GTP e GTO

- Praticar exercício físico (EF) orientado ou não, concomitantemente com o estipulado no presente estudo;
- Fazer uso de medicamentos que possam interferir (como esteróide anabolizante) nos resultados do estudo, exceto os habituais;
- Ultrapassar o número de 4 faltas consecutivas. É necessário que se tenha no mínimo 75% de presença para não ser excluído da pesquisa

4.5 RISCOS E BENEFÍCIOS DOS PARTICÍPIES NA PESQUISA

4.5.1 Riscos para o GTP e GTO

Durante a prática do protocolo de EFR, as participantes poderão sofrer desconfortos musculares, dores articulares e fadiga. Até 48 horas essa dor muscular poderá se estender, e objetivando minimizar esse efeito, haverá orientações direcionadas a alongamentos, exercício de relaxamento e liberação miofascial caso necessário. As participantes poderão ter risco de náuseas e/ou tonturas e/ou desmaios durante as sessões de treinamento de EFR. Nesses casos de náuseas, tontura e/ou desmaios, a participante será devidamente assistida pela equipe profissional.

Para o caso de alguma participante ser diabética, haverá o risco a ocorrência de crises de hipoglicemia, por conseguinte, será solicitado que elas observem a sua ingestão alimentar antecessora ao treino (pré-treino), ressaltando a importância de realizar uma refeição entre 1 hora e 30 minutos antes do treinamento. Essa medida evitará riscos à sua performance de treinamento e de saúde. Ademais, para maior segurança caso as participantes apresentem sintomas, será conduzido um teste de glicemia. Havendo muitas crises de hipoglicemia, como solicitação do pesquisador responsável, a participante deverá conversar com médico responsável explicando a ocorrência e direcionando o ajuste da medicação.

Para o caso de alguma participante ter pressão alta (hipertensão) e vier a ser acometida pelo aumento da pressão durante o treinamento, a mesma será colocada em repouso até que seus níveis pressóricos sejam regulados. Se esse quadro persistir alto, será realizada a comunicação da ocorrência a um familiar próximo. Este familiar será orientado a encaminhar a participante para o pronto socorro, onde medidas específicas ao quadro serão tomadas.

No caso de a participante apresentar sinais de pressão baixa (hipotensão), ela deverá ser deitada em uma maca (cujo local seja fresco e arejado), tendo suas pernas erguidas acima do nível do coração (aproximadamente 45° do chão). Caso a pessoa esteja recuperada, será oferecida água como líquido. Caso permaneça com sintomas hipotensivos, haverá uma comunicação com um familiar próximo de modo a solicitar que o mesmo encaminhe a participante ao pronto socorro, onde as devidas específicas ao quadro serão tomadas.

Caso as participantes não se sintam bem durante o teste, será solicitado que elas comuniquem ao aplicador do teste, o qual será interrompido imediatamente pelo aplicador. Nesta situação, as participantes que comunicaram o estado de mal estar passaram a ser conduzidas para uma maca ou cadeira, onde realizar-se-á a verificação da pressão arterial e glicemia; voltando ao estado de bem estar, as atividades de avaliação serão retomadas. Todo o atendimento será acompanhado por profissionais da educação física da academia e assiduamente pelo pesquisador do estudo.

Outrossim, poderá haver desconforto psicológico por parte das participantes ao relatarem seu estado de saúde, histórico familiar e qualidade de vida na Anamnese (Anexo A). Será oferecida água e lenços de papel quando preciso como meio de minimizar a situação, além de também ser destinado alguns minutos do questionário para as participantes se recuperarem, como medida para danos psicológicos que o mesmo possa ter causado. Será garantido à participante, o direito de não responder qualquer questão, sem necessidade de explicação ou justificativa para tal, podendo também se retirar da pesquisa a qualquer momento. Será garantido à participante, o direito de acesso ao teor do conteúdo do

instrumento (tópicos que serão abordados) antes de responder as perguntas, para uma tomada de decisão informada.

No que tange a realização das coletas de sangue, poderá haver o risco de sofrimentos por desconfortos como ansiedade, dor por conta da picada da agulha, hematoma, sangramento persistente e alergia. Objetivando intervir na diminuição desse desconforto, haverá o acompanhamento de profissionais da enfermagem e autor da pesquisa, para que elas sejam auxiliadas sempre que necessário e para tornar ágeis os processos. Além disso, o profissional que irá coletar o sangue receberá uma instrução cuidadosa para não causar hematomas e alergias nas participantes. No caso de a participante não se sentir bem durante a coleta, a mesma será orientada a comunicar ao coletador, que a conduzirá até uma cadeira ou uma maca (em situações de apresentar sinais de síncope).

O EFR em locais compartilhados pode expor as pacientes a vírus e bactérias. Nestes casos, tanto elas quanto os envolvidos na pesquisa higienizarão as mãos regularmente. Ademais, os equipamentos e superfícies serão desinfetados antes e depois de cada uso, garantindo um ambiente seguro. Cabe salientar que, antes de qualquer atividade, as participantes passarão por uma avaliação médica completa para garantir que estejam fisicamente aptas para participar do estudo. Essa avaliação deve considerar a saúde geral da participante, como meio de garantia de um estado de saúde a qual possibilite uma participação segura.

Nas avaliações antropométricas, poderá ocorrer o risco de constrangimento por parte das participantes. Para sanar possível constrangimento, os testes, exames, procedimentos e avaliações serão todos realizados por profissionais capacitados e treinados, como tampouco serão realizados em local próprio reservado, na sede da OM3 Academia.

Poderá ser fotografado o treinamento e os resultados das participantes antes e após a aplicação dos EFR, somente para a utilização na pesquisa e somente mediante autorização no TCLE (Apêndice A), de modo que seja preservada a identidade da participante. Da mesma forma, poderá ser filmado partes do treinamento, somente para a análise das informações e somente mediante autorização no TCLE (Apêndice A). Os riscos poderão circunscrever o medo da exposição que possa resultar na identificação. Para tanto, será esclarecido e informado a respeito do anonimato e, a participante tem a possibilidade de interromper o processo quando desejar, sem danos e prejuízos à pesquisa e a si próprio; da mesma forma, serão asseguradas a confidencialidade e a privacidade, a proteção da imagem e a não estigmatização, garantindo a não utilização das informações em prejuízo das pessoas e/ou das comunidades, inclusive em termos de auto-estima, de prestígio e/ou econômico – financeiro.

Os riscos que circunscrevem o medo da exposição que possa resultar na identificação poderão ocorrer em arquivos de coleta de dados e outras que forneçam informações. Como medida para evitar este risco, será garantido o zelo pelo sigilo dos dados fornecidos e pela guarda adequada das informações coletadas, havendo o comprometimento de o pesquisador não publicar o nome das participantes (nem mesmo as iniciais) ou qualquer outra forma que permita a identificação individual; para tanto, as participantes terão a liberdade de escolher nomes fictícios a serem substituídos pelos nomes reais.

Será garantido o zelo pelo sigilo dos dados fornecidos e pela guarda adequada das informações coletadas, assumindo também o compromisso de não publicar o rosto das participantes (desfocando qualquer rosto presente em fotografias e cortando a parte da cabeça em filmagens) ou qualquer outra forma que permita a identificação individual. A coleta de fotografias e filmagens durante a pesquisa apresenta riscos que podem violar a privacidade e o bem-estar dos participantes. Quando fotografias e filmagens são utilizadas para análise e divulgação dos resultados, há a possibilidade de exposição indevida, especialmente se os registros capturarem expressões desconfortáveis ou situações que possam comprometer a integridade dos envolvidos. Além disso, o armazenamento inadequado dessas mídias pode resultar em acessos não autorizados ou vazamentos, ampliando os riscos de violação da confidencialidade.

Para minimizar esses riscos, será especificado aos participantes: 1) O propósito da coleta das imagens, sendo importante para o registro visual do efeito da aplicação da técnica bi-set composto no grupamento muscular alvo de trabalho ao longo do período temporal determinado à duração da intervenção; 2) Da não identificação, desfocando rostos presentes nas fotografias e cortando os rostos das filmagens; 3) Dos contextos em que serão utilizados, se tratando de ambientes reconhecidos pela comunidade científica, a fim de utilização na pesquisa; 4) Do período de armazenamento, sendo de cinco anos; 5) De quem terá acesso ao material, estrito ao pesquisador responsável e a equipe de pesquisa. Além disso, será garantido que cada participante tenha o direito de recusar sua participação nas fotografias e filmagens sem qualquer prejuízo à sua inclusão na pesquisa.

Durante a filmagem e a captura de fotos, a equipe de pesquisa deve garantir que os participantes sejam confortáveis, evitando registrar momentos que possam gerar constrangimento, como falhas durante a execução de um exercício ou situações que exponham partes do corpo de maneiras descobertas de vestes. Ademais, o armazenamento das mídias deve ser realizado em um dispositivo eletrônico local, com acesso restrito apenas à equipe de pesquisa responsável. Medidas adicionais, como a utilização do Veracrypt para

viabilizar a criação de pastas criptografadas no dispositivo local. Se houver necessidade de compartilhamento de fotografias, ele deverá ser feito somente mediante solicitação prévia e explícita dos participantes.

A anonimização dos registros deve ser priorizada, desfocando rostos e utilizando nomes fictícios escolhidos por cada uma das participantes para referência, de modo a minimizar os riscos de identificação. Contudo, será garantido aos participantes o direito de revogar o consentimento a qualquer momento, podendo solicitar a exclusão de suas fotografias e filmagens do banco de dados da pesquisa sem qualquer penalização ou exclusão da participação. Essas medidas apresentadas buscam garantir que a coleta e o uso de imagem durante a pesquisa respeitem a total privacidade e os direitos dos envolvidos, além de estarem em plena conformidade com as diretrizes éticas e legais, como as disposições da Lei Geral de Proteção de Dados.

Contudo, todos os riscos às participantes, identificados e descritos, são acompanhados de medidas para minimizar a possibilidade da ocorrência, e sendo também acompanhados de medidas a serem adotadas caso os riscos identificados venham a se concretizar. Para tanto, havendo concretização dos riscos citados neste tópico, o pesquisador responsável entrará em contato com as instituições envolvidas, as quais receberão informe de aviso sobre a ocorrência.

4.5.1.1 Riscos específicos ao GTO

Os riscos descritos acima são os mesmos para ambos os grupos (GTP e GTP) pelas pacientes serem submetidas ao programa de treinamento de EFR (com aplicação do bi-set composto e bi-set tradicional) e demais etapas previstas (anamnese, teste de 1RM, coletas de sangue e coleta de dados antropométricos). Entretanto, na fase do treinamento de EFR, o GTO realizará com acompanhamento personalizado remoto (com acesso livre e editável aos Apêndices G e H). Para tanto, alguns riscos podem acontecer: como desconforto, medo, vergonha, quebra de sigilo; como medida, será garantir o sigilo em relação às respostas, as quais serão tidas como confidenciais e utilizadas apenas para fins científicos. Além disso, será garantido o acesso em um ambiente que proporcione privacidade durante a coleta de dados (acesso restrito com sistema de segurança de permissão de acesso na *nuvem* do Google Drive, e será dado via e-mail após o consentimento do TCLE e a distribuição dos grupos), uma abordagem humanizada (respeitando as especificidades da participante), optando-se sempre

pela escuta atenta e pelo acolhimento, e obtenção de informações apenas no que diz respeito àquelas necessárias para a pesquisa.

Em ambientes virtuais, é enfrentado limitações para assegurar total confidencialidade dos participantes, podendo gerar potenciais riscos de violação. Essas limitações circundam a segurança das plataformas digitais (no caso desta pesquisa, o Google Drive) utilizadas para coleta e armazenamento de dados, tendo em vista que os sistemas online estão sujeitos a ataques cibernéticos, falhas técnicas e acessos não autorizados, havendo o risco de exposição das informações confidenciais. Além disso, os dados armazenados em servidores de terceiros podem ser acessados pelos administradores da plataforma, comprometendo a confidencialidade.

Outro risco é o de rastreabilidade das informações através dos endereços de Protocolo de Internet (IP) (conjunto de regras que define como as informações serão transmitidas entre dispositivos conectados em rede), cookies e metadados, que podem possibilitar a identificação dos participantes mesmo quando há anonimização das respostas. Além das limitações técnicas explicadas, existem desafios éticos e legais envolvendo a legislação de proteção de dados que pode vir a impor restrições ao armazenamento e transferência de informações, requerendo que os pesquisadores estejam atentos às normas vigentes, como a Lei Geral de Proteção de Dados (LGPD) no Brasil e o Regulamento Geral sobre a Proteção de Dados (GDPR) na União Europeia.

Para minimizar esses riscos e atender à LGPD, serão adotadas estratégias dentro dos recursos de segurança nativos do Google Drive, como: 1) Criptografia do Google Drive, a qual os arquivos armazenados no Drive são criptografados tanto em trânsito (TLS) quanto em segurança (AES-256); 2) Configuração de melhorias avançadas, visando restringir o acesso a documentos apenas para usuários específicos e evitar links públicos; 3) Autenticação em dois fatores (2FA), ativando a seleção em duas etapas para todas as contas vinculadas à pesquisa; 4) Gerenciamento de atividades, através do monitoramento de acessos e downloads por meio do painel de atividades do Google Drive.

Para uma maior segurança e minimização dos riscos de violação da confiabilidade, serão utilizados recursos complementares, como: 1) Google Workspace Enterprise, como plataforma que oferece um recurso avançado de segurança denominado Data Loss Prevention (DLP), possibilitando impedir o compartilhamento acidental de informações confidenciais; 2) Cryptomator, como software que permite criptografar arquivos antes de enviá-los ao Google Drive, garantindo que apenas quem possui uma chave descritiva possa acessá-los; 3) Veracrypt, viabilizando a criação de pastas criptografadas no dispositivo local antes de

enviá-las ao Drive; 4) Boxcryptor, que adiciona criptografia de ponta a ponta para arquivos armazenados em nuvem do Google Drive.

Não obstante, serão realizadas práticas adicionais para minimização dos riscos de violação da confiabilidade, como: 1) Uso e recomendação de uso de VPNs confiáveis ao acessar o Google Drive para evitar riscos em redes inseguras; 2) Realização de backups criptografados regularmente para evitar perda ou comprometimento de dados. Cabe salientar que, após a conclusão das 12 semanas de treinamento personalizado *on-line*, o pesquisador responsável fará o download dos dados coletados para um dispositivo eletrônico *hard disk* (HD) externo, apagando todo e qualquer registro do ambiente compartilhado com a participante na *nuvem* do Google Drive.

4.5.2 Benefícios GTP e GTO

Os benefícios abaixo citados são iguais para ambos os grupos. Todas as orientações sobre os benefícios serão dadas aos participantes. Diante do pré-explicitado, os benefícios de adoção de uma vida fisicamente ativa é o principal destaque, decorrentes de alterações responsivas no fisiológicos devido a redução da massa gorda e aumentando massa magra, aumento também a disposição para realizar tarefas de vida diária e melhorando a concentração, equilíbrio, força muscular e aptidão cardiorrespiratória, como também sua auto estima e melhora do sono. As participantes terão acesso a análises bioquímicas detalhadas e acompanhamento físico, sem custos, que podem fornecer informações úteis para sua saúde.

As participantes do GTP e do GTO, também podem se beneficiar com a interação social entre seus colegas participantes da pesquisa. Outrossim, benefícios de ordem psicológica também são atribuídos nesta conjuntura, devido a liberação de hormônios ligados ao estado de felicidade e prazer. Os benefícios que são oferecidos com a prática de EFR, englobam uma forma de prevenção não medicamentosa de doenças, controlando inclusive níveis glicêmicos. Ademais, as participantes serão incentivadas a adotarem uma vida ativa fisicamente e saudável, dando continuidade a realização de exercícios de forma regular.

4.6 PROTOCOLO E APLICAÇÃO DE EXERCÍCIOS FÍSICOS RESISTIDOS (EFR) AO GTP E GTO

Como processo basilar aos protocolos de treinamento de EFR, ter-se-á em vista parâmetros e critérios de níveis de treinamento (Anexo B, utilizado no Apêndice E), e será

realizado a aferição da força individual através do teste de uma repetição máxima (01 RM) - pelo protocolo adaptado de Brown e Weir (2001). Tendo realizado o teste de 01 RM, será utilizado uma faixa de aplicabilidade dos protocolos, versando sobre repetições e sobrecarga de cada exercício proposto, tendo sobrecarga correspondente entre 70% (12 RM) a 80% (08 RM). Desse modo, o arquivo protocolar de EFR é constituído no Apêndice D, estando dividido entre as técnicas de BST e BSC. É importante ressaltar que os Apêndices G, H, I e J contém o protocolo e integra/compila todas as informações para o monitoramento das 12 semanas de treinamento, sendo imprescindíveis para a organização da pesquisa.

A aplicação dos EFR ocorrerão durante 12 semanas correntes, sendo cada semana composta por 3 sessões de treinamento (Treino A corresponde a primeira sessão, o Treino B corresponde a segunda sessão, e o Treino C corresponde a terceira sessão). O treinamento de EFR deverá ser aplicado por profissional capacitado, e o mesmo deverá ser prestado em atendimento personalizado a ambos os grupos (GTP e GTO). Um atendimento personalizado leva em consideração as especificidades de cada pessoa, concebendo-a e respeitando-a como um ser humano único, e garantindo uma abordagem humanizada que opta sempre pela escuta atenta e pelo acolhimento. O protocolo será aplicado nos grupos da seguinte forma:

- Ao GTP, o acompanhamento será presencial. O aplicador terá como material impresso, a ficha de treino (com monitoramento de adesão de presença e possíveis progressões de sobrecarga durante as 12 semanas de aplicação) estruturada no Apêndices I (para as 10 participantes submetidas à técnica de bi-set tradicional), e no Apêndice J (para as 11 participantes submetidas à técnica de bi-set composto).
- Ao GTO, o acompanhamento será remoto, com acesso livre e editável (e restrito a participante em particular, com sistema de segurança de permissão de acesso na *nuvem* do Google Drive, sendo dado via e-mail após o consentimento do TCLE e a distribuição dos grupos) a ficha de treino. A ficha de treino é estruturada no o Apêndices I (para as 10 participantes que forem submetidas à técnica de bi-set tradicional), e no o Apêndice J (para as 11 participantes submetidas à técnica de bi-set composto). O conteúdo desta ficha é pensada em oferecer uma estética boa, com fácil e rápido preenchimento e visualização. Cada participante poderá preencher o campo “observações” com qualquer eventualidade e/ou dificuldade durante o treino. Além disso, cada participante registrou sua presença no campo “presença”. O tempo estimado para isso é de 5 minutos. O restante dos campos da planilha de treino serão preenchidos pelo profissional, e os registros contidos na estruturação delas facultarão o acampamento durante as 12 semanas.

4.6.1 Bi-set

O método bi-set consiste na execução de dois exercícios conjugados (sucessivos) para o mesmo grupo muscular ou parte consonante do corpo. O bi-set é método que normalmente envolve a falha concêntrica em determinado exercício, para depois seguir sem intervalo para outro exercício envolvendo o mesmo grupamento muscular ou consonante (bi-set), porém com características biomecânicas diferentes (planos, comprimento muscular inicial, torques e amplitudes de maior demanda muscular (Belmiro, 2022, p. 87). Sendo assim descrito conceitualmente, o protocolo (Apêndice D) possui adaptação de Tibana e Balsamo (2011), em razão da especificidade deste Projeto.

4.6.2 Bi-set Composto

O bi-set composto é situado por um EFR, submetido duas vezes na mesma série de treinamento, e intercalado com outra série de outro exercício. Dessa forma, o protocolo combina dois exercícios análogos para um EFR, sendo monoarticular ou multi articular, juntamente com outro EFR de grupamento muscular consonante. Por conseguinte o bi-set composto também poderá ser agregado a vários modelos de treinamento de EFR já conhecidos pela literatura por se tratar de técnica de aumento de volume de treinamento, como o protocolo de bi-set, observados nos estudos de Tibana e Balsamo (2011) e (Belmiro, 2022). Tendo afirmando a inexistência de protocolo com bi-set composto, essa técnica se constitui como original do autor (2024) por não existir na literatura tal referencial bibliográfico, sendo objeto de estudo deste presente Projeto, caracterizando-o como piloto.

5. COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO E PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS

5.1 COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS

A utilização dos produtos químicos passam a ser anunciadas no corrente tópico. Sabe-se que a Sigma-Aldrich (St. Louis, MO) se apresenta como referência na aquisição dos nucleotídeos e base Trizma. E que, da mesma forma, Nycomed Pharma (Oslo, Noruega) na aquisição dos Ficoll-Histopaque (Lymphoprep™). Separações e análises dar-se-ão por meio de reagentes puros analíticos (PA). Para que as soluções sejam preparadas e para que as

amostras sejam diluídas, a água a ser utilizada é especificamente ultrapura (MilliQ) ou deionizada.

5.1.1 Coletas de sangue

Para que o sangue seja coletado, será necessário 12 horas de jejum. A quantidade a ser coletada da veia cubital será de 20 mililitros (mL), e será realizada em dois momentos distintos (pré e pós-estudo). O primeiro momento dar-se-á antes de iniciar os protocolos de treinamento. Nesta etapa, tendo em vista o jejum que as participantes estarão mantendo, será oferecido lanche após ter sido findada a coleta. O segundo e último momento de coleta de sangue será realizada em até 48h após a realização da última sessão de treinamento.

5.1.1.1 Controle biológico e armazenamento

A primeira coleta de sangue ocorrerá antes de iniciar os protocolos de treinamento, e ocorrerá no mesmo dia de aplicação do questionário (Anamnese) para facilitar a logística das participantes, conforme o previsto no Cronograma de Pesquisa. E, a segunda coleta ocorrerá em até 48h do término da última sessão de treinamento. A abordagem para a coleta ocorrerá em sala reservada da OM3 Academia. Tendo como normativa basilar para que ocorram adequadamente os procedimentos para controle biológico bem como o armazenamento da amostra, ter-se-á em vista o plano de resíduos dos laboratórios de Chapecó que fora desenvolvido pela UFFS.

Para a segurança do transporte (com detalhamento descrito no tópico 6 deste Projeto) até o armazenamento dos materiais coletados, realizar-se-á mediante horário pré-estabelecido para evitar maior fluxo de pessoas. Além disso, utilizar-se-á cestos ou carrinhos coletores com uso de equipamentos de proteção individual (EPIs) objetivando evitar acidentes. No que tange às especificidades dos recipientes contendo o material coletado, serão utilizados recipientes que sejam estritamente constituídos de material rígido, lavável, impermeável, provido de tampa articulada ao próprio corpo do equipamento, cantos e bordas arredondadas. A coleta de 20ml de sangue total em tubos Vacutainer® será realizada na OM3 Academia (Nonoai-RS), e o sangue será encaminhado para as dependências da UFFS (Chapecó-SC).

Tendo realizado o processamento dos materiais biológicos (plaquetas, linfócitos, soro, plasma e sangue total), os mesmos serão armazenados no laboratório 105 de pesquisa biológica pertencente a UFFS *Campus* Chapecó, e congelados em freezer a -80°C para as

análises posteriores. Para que neste armazenamento não ocorram confusões, a medida a ser tomada é que o material que fora congelado possua identificação com o nome do pesquisador responsável e sua orientadora. Para a retirada do material de seu armazenamento, será preconizado que seja feito sempre por algum membro da pesquisa. Quanto aos materiais perfurocortante (seringas), os mesmos serão descartados separadamente, no local de sua geração e imediatamente após o uso, em recipientes rígidos, resistentes à punctura, ruptura e vazamento, com tampa e devidamente identificados. Depois que os resíduos químicos forem utilizados para que as análises fossem realizadas, eles serão descartados em local apropriado e identificado no laboratório.

5.1.1.2 Determinação do perfil lipídico

O conjunto das determinações de colesterol total (CT), HDL-colesterol (HDL-CT), LDL-colesterol (LDL-CT) e triglicérides (TG) é considerado essencial não somente para a produção de hormônios esteroides, como também para a produção de ácidos biliares e para a constituição das membranas celulares; sendo este conjunto denominado perfil lipídico (Pardini, 2015). O procedimento empregado para a quantificação dos níveis de CT e TG será realizado por meio de um método colorimétrico (Vitros 5.1/FS), utilizando como amostra o sangue. Para a realização deste exame em adultos, é necessário um jejum mínimo de 12 horas, sem ultrapassar 14 horas, a não ser que haja indicação médica específica, além da recomendação de não consumir bebidas alcoólicas nas 72 horas anteriores à coleta. A determinação do HDL – CT será feita utilizando o método acelerador – Detergente seletivo – Vitros 5.1/FS, enquanto o LDL – CT será calculado utilizando a fórmula de Friedewald. Para a análise da Reação em Cadeia da Polimerase (PC-R), será empregado o método de nefelometria, sendo necessário também um jejum de 8 horas. A amostra utilizada para todos os exames é o sangue. Cabe salientar que a avaliação da PC-R é importante para detectar processos inflamatórios, sendo um indicativo relevante para a avaliação do risco de doenças coronarianas, como infarto agudo do miocárdio e acidente vascular encefálico (Oliveira *et al.*, 2012).

5.2 ANÁLISES RELACIONADAS AO SISTEMA PURINÉRGICO

5.2.1 Preparação das plaquetas

O sangue total citratado será submetido à centrifugação a 1400 x g por 15 minutos para a preparação do plasma rico em plaquetas (PRP). O PRP será então centrifugado a 1800 x g por 30 minutos e lavado duas vezes por centrifugação a 1800 x g por 15 minutos, utilizando um tampão HEPES 3,5 mmol/L contendo 142 mmol/L de NaCl, 2,5 mmol/L de cloreto de potássio (KCl) e 5,5 mmol/L de glicose, com o objetivo de remover células residuais. As plaquetas presentes no PRP serão lavadas e ressuspensas em HEPES, sendo mantidas em congelador a -30°C até o momento de seu uso.

5.2.2 Preparação de linfócitos periféricos

Os linfócitos periféricos serão isolados a partir de sangue total coletado com K2-EDTA e separados utilizando gradientes de densidade de Ficoll-Hypaque, conforme descrição prévia (Boyum, 1968). Em seguida, será realizada a avaliação de sua viabilidade por meio da coloração com o corante Azul de Tripán (Strober, 2001). A amostra de linfócitos destinada à análise da expressão gênica será preservada em tampão de conservação do RNA (RNAlater).

5.2.3 Ensaios enzimáticos

A avaliação das enzimas responsáveis pela hidrólise de nucleotídeos e nucleosídeos de adenina em plaquetas e linfócitos será realizada da seguinte forma: a atividade das enzimas NTPDase e 5'-Nucleotidase será avaliada em plaquetas conforme o método descrito por Pilla *et al.* (1996), modificado por Lunkes *et al.* (2003), e a atividade da enzima E-NPP será medida de acordo com o procedimento de Furstenau *et al.* (2006). A atividade da enzima E-NTPDase em linfócitos periféricos será determinada conforme protocolo previamente descrito (Leal *et al.*, 2005), onde a atividade enzimática é medida pela quantidade de fosfato inorgânico (Pi) liberado, utilizando um ensaio colorimétrico. De forma simplificada, 20 µL de amostra serão adicionados ao meio de reação e pré-incubados por 10 minutos a 37°C. A reação será iniciada com a adição do substrato (ATP ou ADP) a uma concentração final de 2 mM e interrompida com ácido tricloroacético (TCA) 10%. Após 10 minutos de resfriamento em gelo, quantificará o conteúdo de Pi liberado (Chan *et al.*, 1986) usando o verde de malaquita como reagente colorimétrico e KH₂PO₄ como padrão. A atividade enzimática será expressa em nanomol de Pi liberado por minuto por miligrama de proteína (nmol de Pi/min/mg de proteína).

A atividade da enzima ADA em plaquetas e linfócitos periféricos será determinada de acordo com o protocolo descrito por Guisti e Galanti (1984). Resumidamente, 50 µL de amostra serão incubados com adenosina 21 mM (pH 6,5) a 37°C por 60 minutos. Este método baseia-se na liberação direta de amônia pela ADA, quando o substrato está em excesso. Os resultados serão expressos em unidades por miligrama de proteína (U/mg de proteína). Uma unidade (1 U) de ADA é definida como a quantidade de enzima necessária para liberar 1 mM de amônia por minuto a partir da adenosina, nessas condições de reação. O conteúdo proteico das amostras será determinado usando albumina sérica bovina como padrão (Bradford, 1976).

5.2.3.1 Determinação da atividade da E-NTPDase1 (CD39) - Citometria de fluxo e PCR

Após a separação dos linfócitos, a atividade da E-NTPDase será determinada seguindo o protocolo descrito por Leal *et al.* (2005). O meio de reação será composto por 0,5 mmol/L de CaCl₂, 120 mmol/L de NaCl, 5 mmol/L de KCl, 6 mmol/L de glicose e 50 mmol/L de Tris-HCl ajustado para pH 8,0, com volume final de 160 µL. Serão adicionados 20 µL de células mononucleares intactas, suspensas em solução salina (com concentração proteica entre 0,1 e 0,2 mg/mL) ao meio de reação, que será pré-incubado por 10 minutos a 37°C. Posteriormente, 20 µL de ATP ou ADP serão introduzidos no sistema, e a incubação continuará por mais 70 minutos a 37°C. A reação será iniciada com a adição do substrato (ATP ou ADP) a uma concentração final de 2,0 mmol/L e será interrompida com a adição de 150 µL de ácido tricloroacético (TCA) a 15%. Após o TCA ser adicionado, para interromper a reação, 20 µL do produto final serão combinados com 200 µL de reagente colorimétrico. A quantidade de fosfato inorgânico (Pi) liberado será quantificada utilizando o verde de malaquita como reagente colorimétrico. Controles serão feitos ao adicionar a preparação enzimática após a aplicação do TCA, corrigindo assim a hidrólise não enzimática dos nucleotídeos.

A análise da expressão gênica dos linfócitos será realizada por PCR, conforme protocolos estabelecidos. O RNA extraído das células será retrotranscrito em cDNA, e a expressão de genes específicos será quantificada usando primers direcionados para genes de interesse. A amplificação dos alvos será realizada em um termociclador, e os produtos amplificados serão analisados por eletroforese em gel de agarose ou utilizando métodos quantitativos como a PCR em tempo real.

A citometria de fluxo também será utilizada para avaliar a expressão de marcadores celulares em linfócitos. Após a separação dos linfócitos e o processo de marcação com

anticorpos fluorescentes específicos, a análise será realizada em um citômetro de fluxo. Este procedimento permitirá a quantificação e análise detalhada da expressão de diferentes proteínas na superfície celular, além da avaliação da viabilidade celular e da heterogeneidade populacional dos linfócitos.

Todas as amostras serão processadas em triplicata, e a atividade enzimática específica será expressa como nmol de Pi liberado/min/mg de proteína. A quantificação dos dados será realizada por absorção utilizando o leitor de microplacas Varioskan (ThermoScientific®), com leitura a 630 nm. Para a PCR e citometria de fluxo, as análises serão feitas com os equipamentos e softwares para obter resultados confiáveis e reprodutíveis.

5.2.3.2 Determinação da atividade da E-5'-nucleotidase (CD73) - Citometria de fluxo e PCR

A atividade da E-5'-nucleotidase/CD73 será determinada conforme o método descrito por Pilla *et al.* (1996), com adaptações de Lunkes et al. (2003). O meio de reação conterá 10 mmol/L de MgCl₂, 120 mmol/L de NaCl, 5 mmol/L de KCl, 6 mmol/L de glicose e 50 mmol/L de Tris-HCl, ajustado para pH 8,0, com volume final de 160 µL. Serão adicionados 20 µL de células mononucleares intactas, suspensas em solução salina (com concentração proteica entre 0,1 a 0,2 mg/mL), ao meio de reação, que será pré-incubado por 10 minutos a 37°C. Após esta incubação inicial, 20 µL de AMP serão adicionados, e a incubação será continuada por mais 70 minutos a 37°C. A reação será iniciada com a adição do substrato (AMP) a uma concentração final de 2,0 mmol/L e será interrompida com a adição de 150 µL de ácido tricloroacético (TCA) a 15%. Após a interrupção da reação com TCA, 20 µL da mistura final serão combinados com 200 µL do reagente colorimétrico para a análise. A quantidade de fosfato inorgânico (Pi) liberado será quantificada utilizando o verde de malaquita como reagente colorimétrico.

Os controles serão realizados adicionando a preparação enzimática após a aplicação do TCA, a fim de corrigir a hidrólise não enzimática dos nucleotídeos. Todas as amostras serão processadas em triplicata, e a atividade enzimática específica será expressa como nmol de Pi liberado/min/mg de proteína. A quantificação dos resultados será realizada por espectrofotometria, utilizando o leitor de microplacas Varioskan (ThermoScientific®), com leitura a 630 nm.

Para análise mais detalhada dos linfócitos, será realizada citometria de fluxo para avaliar a expressão de marcadores celulares. Após a separação das células mononucleares e marcação com anticorpos fluorescentes, a análise será conduzida em um citômetro de fluxo,

permitindo a quantificação de proteínas de superfície celular e a caracterização da população celular. Além disso, a PCR será utilizada para estudar a expressão gênica nos linfócitos. O RNA extraído será convertido em cDNA, e a expressão de genes de interesse será quantificada através da amplificação do cDNA com primers. A amplificação será realizada em termocicladores, e os resultados serão analisados utilizando PCR em tempo real, permitindo uma avaliação precisa da expressão gênica.

5.2.3.3 Quantificação de ATP

A determinação da quantidade de ATP será feita no soro, utilizando o kit ATP Determination (Invitrogen®), conforme as orientações fornecidas pelo fabricante. Além disso, a análise fotométrica será realizada no leitor de microplacas Varioskan (ThermoScientific®) com leitura a 560 nm. Os resultados serão apresentados em nM.

5.2.4 Estudo de agregação plaquetária

A avaliação da agregação plaquetária será conduzida no plasma rico em plaquetas, de acordo com o método descrito por Born (1962), utilizando agonistas como o ADP nas concentrações de 2,5 μ M, 5 μ M e 10 μ M, e colágeno nas concentrações de 2,5 μ g/ml, 5,0 μ g/ml e 7,5 μ g/ml.

5.2.5 Análise da expressão através de Western Blot

Os linfócitos e as plaquetas do sangue periférico serão incorporados ao tampão de lise RIPA e homogeneizados em um microtubo com a ajuda de esferas de vidro. As amostras serão submetidas à centrifugação a 10.000 g por 20 minutos a 4°C. Após a determinação da concentração proteica (Bradford, 1976), 25 μ g de proteínas do sobrenadante serão misturados ao tampão Laemmli 2X e analisados por eletroforese em gel de SDS-PAGE. Após a corrida eletroforética, as proteínas serão transferidas para uma membrana de PVDF por 2 horas em tanque. Em seguida, a membrana será bloqueada com leite 5% por 1 hora e lavada três vezes em TBS-T. Posteriormente, será incubada com o anticorpo primário a 4°C durante a noite (NTPDase, E-NPP, ecto-5'-Nucleotidase, ADA, P2X7). No dia seguinte, será adicionado o anticorpo secundário conjugado com peroxidase de rábano (HRP). A visualização será realizada após a incubação das membranas com reagente de quimiluminescência e exposição

a filmes de raio-X (Kodak). A análise das bandas (densitometria) será feita utilizando o software "ImageJ".

5.2.6 Análise de expressão gênica através da RT-PCR em tempo real

Para a extração do RNA, os linfócitos serão retirados do tampão RNAlater e ressuspensos em 1 mL de Trizol. A extração do ácido ribonucleico (RNA) total será realizada conforme as orientações do fabricante (Life Technologies, USA). Após a extração, as amostras de RNA serão diluídas em 20 µL de água deionizada ultrapura livre de RNase e DNase. A qualidade e integridade do RNA serão avaliadas em gel de agarose a 1%, corado com brometo de etídio a 0,5 µg/mL, e visualizado sob luz ultravioleta (UV), utilizando um padrão de RNA de cadeia simples como marcador. Em seguida, as amostras de RNA serão tratadas com DNase I, conforme as instruções do fabricante (Life Technologies, USA). O RNA será então convertido em cDNA por transcrição reversa utilizando a enzima transcriptase reversa M-MLVRT (Moloney Murine Leukemia Virus Reverse Transcriptase), conforme o protocolo do fabricante (Life Technologies, USA).

A quantificação da expressão gênica será realizada por meio da Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (qPCR). As condições para amplificação serão as seguintes: 10 µL de cDNA diluído 100 vezes ou água livre de RNase e DNase como controle negativo; primers a 0,2 µM de concentração final; 0,2 mM de desoxirribonucleotídeos trifosfatados; 1,5 a 3 mM de MgCl₂; tampão 1x de PCR sem Mg; 0,05 U/µL de Taq DNA Polimerase; e 0,01x de SYBR Green. O protocolo de ciclagem será: ativação da Taq DNA Polimerase a 95°C por 3 minutos, seguida de 40 ciclos com 95°C por 15 segundos (desnaturação), 58°C a 62°C por 15 segundos (anelamento) e 72°C por 15 segundos (extensão). O limiar de fluorescência (threshold) será determinado manualmente utilizando o programa StepOne Software v2.0 (Applied Biosystems, NY).

A leitura da fluorescência do SYBR Green e a geração dos valores de C_q serão feitas no StepOne Software v2.0 (Applied Biosystems, NY). Os genes a serem analisados incluem: NTPDase1 (CD39), ecto-5'-nucleotidase (CD73), adenosina desaminase (ADA) e P2X7. Os genes GAPDH e RPL30 serão utilizados como controles endógenos de referência. Os primers serão desenhados utilizando o programa Primer3 v4.0.4 (<http://frodo.wi.mit.edu/primer3/>), com base nas sequências genéticas publicadas no GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). Os resultados serão apresentados em termos de expressão relativa, que será calculada normalizando a expressão dos genes de interesse em

relação à expressão dos genes de controle endógeno, utilizando a fórmula $2^{-\Delta\Delta Cq}$ (Livak e Schmittgen, 2001).

5.2.7 Análise dos níveis de citocinas

Será utilizado BD™ Cytometric Bead Array (CBA) Human Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit para a determinação dos parâmetros inflamatórios, onde os níveis de Interleucina-2 (IL-2), interleucina-4 (IL-4), interleucina-6 (IL-6), interleucina-10 (IL-10), fator de Necrose Tumoral (TNF), os níveis de interferon- γ (IFN- γ) e Interleucina-17A (IL-17A) serão analisados. Utilizando citometria de fluxo (Kit BD CBA Human Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit, Catálogo n. 560484), os ensaios proporcionam um método de captura de um analito solúvel ou conjunto de analitos com dimensões e fluorescência conhecidas.

5.2.8 Análise dos níveis de nucleotídeos e adenosina circulantes

Para a quantificação dos níveis de nucleotídeos, as amostras serão desnaturadas utilizando ácido perclórico a 0,6 mol/L. Em seguida, todas as amostras serão submetidas à centrifugação (14.000×g por 10 minutos), e o sobrenadante será neutralizado com KOH 4,0 N e clarificado por meio de uma nova centrifugação (14.000 rpm por 15 minutos) (Ryder, 1985). As amostras (ATP, ADP, AMP e adenosina) serão identificadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), com base no tempo de retenção das purinas, e quantificadas pela comparação da área dos picos com o padrão, conforme descrito por Scherer *et al.* (2005). Os resultados serão expressos em pmol para cada composto por mL de amostra.

5.3 ANÁLISES RELACIONADAS AOS PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO E MEDIDAS DO SISTEMA ANTIOXIDANTES

Será realizada a quantificação de espécies reativas utilizando fluorescência. Para mensurar marcadores de dano oxidativo, a peroxidação lipídica será estimada pelo método de Jentsch *et al.* (1996). O dano oxidativo em proteínas será avaliado através da medição sérica dos níveis de proteína carbonil, conforme o método de Levine *et al.* (1990). A quantificação da SOD será realizada no sangue total, de acordo com McCord e Fridovich (1969). A determinação da CAT será feita no sangue total com base em um procedimento modificado de Nelson e Kiesow (1972). A atividade da GSH será medida no sangue total conforme descrito

por Warholm *et al.* (1985). O método de Bradford (1976) será empregado para a quantificação do teor de albumina, utilizando soro bovino como padrão proteico. A atividade da GPx será avaliada no lisado eritrocitário após diluição, seguindo o método de Weissman (1976). A GR será determinada a partir da avaliação da taxa de redução da GSSG. As vitaminas C e E serão analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), conforme o método de Omu *et al.* (1999). As enzimas antioxidantes também serão analisadas por western blot e RT-PCR.

5.4. MÉTODO DE DOSAGEM ATRAVÉS DA QUANTIFICAÇÃO DOS MARCADORES DE mTOR e IGF-1 POR ELISA

Os ensaios imunoenzimáticos (ELISA) são utilizados para quantificar proteínas e biomarcadores, oferecendo sensibilidade e especificidade na análise de múltiplos marcadores em um único ensaio (tendo como referências basilaes os estudos de Hörber *et al.*, 2014). Para realizar um ensaio ELISA, conforme descrito por Makler *et al.* (2007), se inicia pela preparação das placas de microtitulação, que geralmente são de 96 poços e são revestidas com anticorpos primários específicos para o analito de interesse. Esse revestimento pode ser feito de forma passiva ou com o auxílio de reagentes de ligação. A placa é incubada a 4°C por 12-16 horas para garantir a adesão adequada dos anticorpos à superfície dos poços.

Após essa incubação, é realizada a lavagem dos poços com tampão de lavagem, com o intuito de remover quaisquer anticorpos não ligados. Em seguida, será adicionado uma solução de bloqueio para evitar ligações inespecíficas entre proteínas e a superfície da placa. Utiliza-se BSA (albumina bovina sérica) ou leite desnatado para essa etapa, que deve ocorrer por 1-2 horas à temperatura ambiente. Após o bloqueio, os poços são lavados novamente.

Na próxima etapa descrita por Makler *et al.* (2007), as amostras biológicas são diluídas adequadamente com tampão de diluição e adicionadas aos poços. A incubação é realizada por 1-2 horas à temperatura ambiente, permitindo que os biomarcadores presentes nas amostras se liguem aos anticorpos primários imobilizados na superfície da placa. Após a incubação, os poços serão novamente lavados para remover quaisquer amostras não ligadas.

Em seguida, será adicionado o anticorpo secundário, que é conjugado com uma enzima (peroxidase de rábano ou fosfatase alcalina). Esse anticorpo secundário se liga ao complexo formado entre o anticorpo primário e o biomarcador (Hörber *et al.*, 2014). A incubação com o anticorpo secundário também ocorrerá por uma hora, na temperatura ambiente, seguindo de nova lavagem para remover anticorpos não ligados.

A reação enzimática será iniciada após a adição de substrato adequado, como TMB (3,3',5,5'-Tetrametilbenzidina) para peroxidase de rábano ou p-nitrofenilfosfato para fosfatase alcalina. O substrato será convertido pela enzima conjugada, gerando uma mudança de cor cuja intensidade é proporcional à quantidade de biomarcador presente na amostra. A incubação com o substrato dura geralmente entre 15 a 30 minutos, dependendo do sistema enzimático utilizado (Hörber *et al.*, 2014).

A reação será interrompida com a adição de uma solução de parada, pelo ácido sulfúrico ou fosfórico, e a absorbância dos poços é medida em um leitor de microplacas, a 450 nm. A intensidade da absorbância será correlacionada com a concentração do biomarcador nas amostras, utilizando uma curva padrão gerada a partir de diluições conhecidas do analito.

Em consonância com o descrito por Makler *et al.* (2007), seria de fundamental importância que o controle negativo, que não contém amostra, seja incluído para garantir a ausência de reações inespecíficas, bem como o controle positivo, que contém um padrão conhecido do biomarcador. Para tanto, as amostras deverão ser analisadas em duplicata, assegurando a precisão dos resultados. Além disso, deverá ser realizada a diluição adequada das amostras para garantir que as mesmas fiquem dentro da faixa linear da curva padrão. Cabe salientar que, após o cálculo da concentração de biomarcadores nas amostras com base na curva padrão, os resultados serão expressos em unidades como ng/mL ou pg/mL.

6. PROCEDIMENTO DE TRANSPORTE DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS

O procedimento de envio e segurança de amostras biológicas para análise laboratorial dar-se-á em atenção às normas sanitárias vigentes, incluindo embalagens apropriadas para transporte de material biológico, conforme as regulamentações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (ANVISA, 2015). Quanto à confidencialidade e identificação das amostras, cada amostra será identificada com o nome fictício escolhido pelas participantes no Apêndice (E), sem qualquer dado pessoal que permita a identificação direta da participante, e possuirá identificação do pesquisador responsável e de sua orientadora, para evitar que ocorram confusões no armazenamento (detalhamento do armazenamento descrito no tópico 5.1.1.1 deste Projeto). Somente a equipe de pesquisa terá acesso ao nome fictício que vincula a amostra à participante.

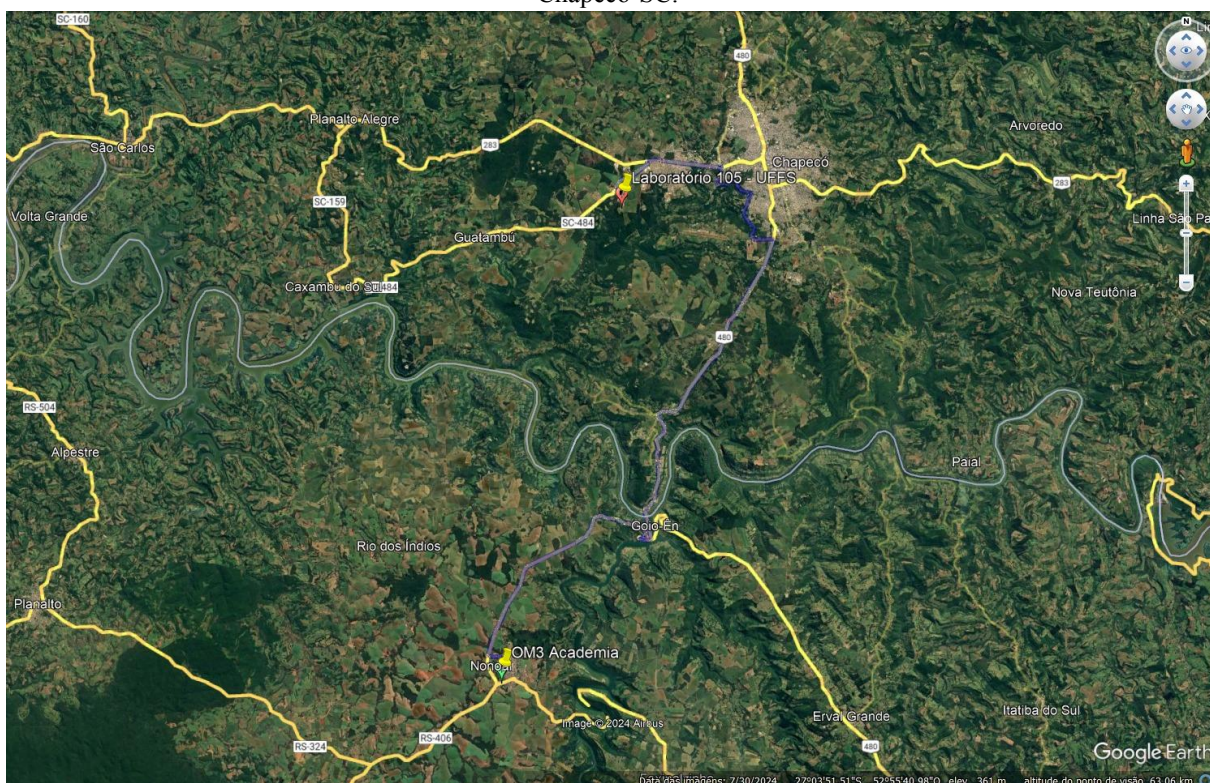
Quanto a todos os aspectos éticos, o envio das amostras será realizado de acordo com as diretrizes do CEP da UFFS, descrito e observado no protocolo (Anexo C) submetido a esse comitê. As participantes serão informadas sobre o envio das amostras, sobre o destino do

material coletado e sobre a duração do armazenamento das amostras. Elas também serão informadas de que poderão, a qualquer momento, solicitar a exclusão de suas amostras e dados da pesquisa, caso decidam interromper a participação.

Do ponto de vista legal e regulatório, o transporte das amostras observará estreitamente as normas nacionais e internacionais para o transporte de material biológico, além de atender e acatar à Lei Geral de Proteção de Dados Pessoais (LGPD), garantindo a total privacidade e segurança das informações dos participantes. O fiel cumprimento das diretrizes de boas práticas laboratoriais e os princípios da Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012 (CNS, 2012) também serão assegurados.

O procedimento de envio e segurança de amostras biológicas para análise laboratorial dar-se-á estritamente em atenção às normas sanitárias, incluindo as embalagens apropriadas para transporte de material biológico, conforme as regulamentações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (ANVISA, 2015). As coletas de sangue serão realizadas no município de Nonoai, Estado do Rio Grande do Sul, abrangendo um total de 42 amostras, que serão transportadas ao Laboratório 105 do *Campus* da UFFS, localizado em Chapecó, Estado Santa Catarina (Figura 1 e Figura 2).

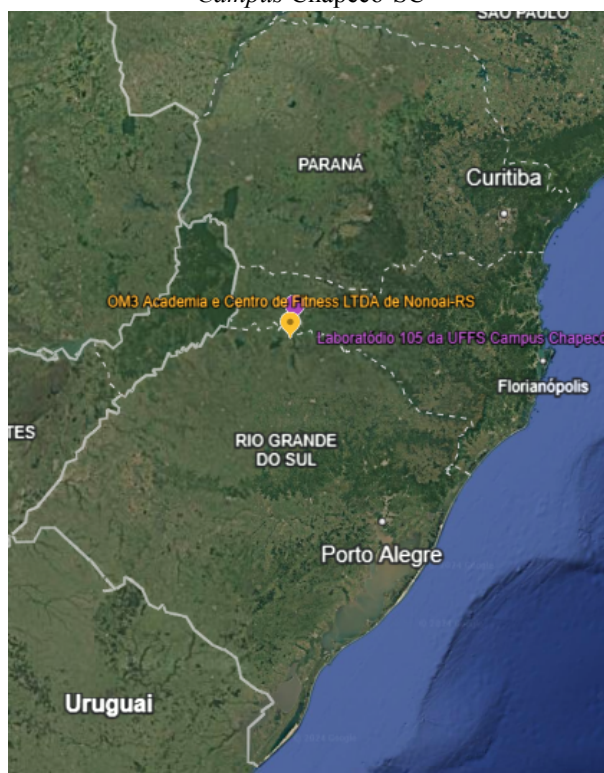
Figura 1 - Mapeamento logístico por município, com rota demarcada, partindo da OM3 Academia e Centro de Fitness LTDA de Nonoai-RS até o Laboratório 105 da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) *Campus* Chapecó-SC.



Nota: Na cor roxa, se encontra a rota traçada.

Fonte: Gerado pelo Google Earth através de coordenadas selecionadas.

Figura 2 - Mapeamento logístico por Região Sul, com fronteira demarcada, partindo da OM3 Academia e Centro de Fitness LTDA de Nonoai-RS até o Laboratório 105 da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) *Campus Chapecó-SC*



Nota: O marcador da cor amarela localiza a OM3 Academia e Centro de Fitness LTDA, e o marcador da cor roxa localiza o laboratório 105 da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) *Campus Chapecó*.

Fonte: Gerado pelo Google Earth através de coordenadas selecionadas.

Para garantir a total integridade e a qualidade das amostras, estas serão devidamente acondicionadas em tubos de coleta a vácuo apropriados, identificados de forma individualizada com um código alfanumérico correspondente ao nome fictício escolhido pelas participantes, conforme descrito no Apêndice E. As embalagens utilizadas para o transporte seguirão precisamente as exigências constantes nas diretrizes da norma NBR 7500, aprovada pela ANTT/INMETRO, sendo compostas por três camadas de proteção: (i) recipiente primário hermeticamente fechado, contendo as amostras; (ii) recipiente secundário resistente a vazamentos; e (iii) uma embalagem externa que garante proteção mecânica durante o transporte. O transporte será realizado sob condições controladas de temperatura (entre 2°C e

8°C), utilizando material refrigerante (gelo reciclável), com monitoramento constante até a chegada ao destino via protocolo de validação de transporte de amostras biológicas (Anexo C).

O transporte das amostras biológicas será realizado por meio de um veículo adequado, em específico uma van equipada com sistemas de controle de temperatura, como refrigeradores portáteis e caixas térmicas devidamente acondicionadas, garantindo a manutenção das condições térmicas ideais para a preservação das amostras durante o trajeto. Esse veículo é escolhido devido à sua capacidade de acomodar os materiais de forma plenamente segura, evitando a exposição a variações bruscas de temperatura e impactos mecânicos, durante todo o trajeto. Além disso, o veículo será higienizado previamente e posteriormente, para atender às normas de transporte de materiais biológicos, reduzindo o risco de contaminação cruzada. Será equipado com kits de contenção para eventual vazamento e itens de segurança, como luvas, máscaras e soluções desinfetantes, para o manejo de emergências.

Será mantido um registro detalhado de todas as etapas inerentes do transporte, incluindo a coleta, acondicionamento, rota utilizada e a entrega no laboratório de destino, com a devida assinatura de recebimento pela equipe do Laboratório 105 da UFFS. Caso ocorra qualquer evento adverso, como atrasos ou acidentes, todas as providências serão tomadas imediatamente para evitar qualquer prejuízo à pesquisa e garantir, com tais ações a segurança dos dados e amostras coletadas.

7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos serão analisados estatisticamente por meio de uma análise de variância, incluindo testes de normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e de homogeneidade (teste de Hartley) para os grupos em estudo. Em seguida, serão aplicadas técnicas para comparação dos dados em relação às variáveis dependentes (paramétrico – ANOVA de medidas repetidas; não paramétrico – teste de Wilcoxon). Além disso, será realizada uma análise de correlação entre as variáveis investigadas, utilizando a correlação de Pearson. O nível de significância adotado será de 0,05. A análise estatística será realizada com o software Bioestat 5.0, comparando os resultados entre os diferentes grupos.

8. RESULTADOS ESPERADOS

Espera-se que esta pesquisa irá sugerir que o EFR, em aplicação do bi-set composto, como um método de maior ganho em níveis de hipertrofia no agrupamento muscular específico, promoverá uma mudança no perfil inflamatório. Supõem-se que o EFR, desenvolvido em médio e longo prazo no contexto do bi-set composto, irá modular adaptações no agrupamento muscular esquelético específico. É presumido que essas modulações irão aumentar as concentrações de ATP e adenosina, mas desconhece-se em qual nível isso ocorrerá. Os resultados que aqui forem identificados e analisados, em caso profícuo, poderão auxiliar na prática de educadores físicos do campo de especialidade de EFR e praticantes de musculação com alcance no âmbito nacional e internacional, além de praticantes habituais do esporte.

Em consonância aos estudos de Cardoso *et al.* (2021), sabe-se que o processo regulatório das concentrações de nucleotídeos e nucleosídeos extracelulares ocorre por meio das ectonucleotidases, mas quando as enzimas são ativadas por combinações distintas, poderá ser identificado efeitos distintos no decorrer do EFR. Por isso, aplicando os estímulos de força, volume e tempo sob tensão, é prognosticado também que a técnica aplicada poderá aumentar o ATP extracelular devido aos efeitos do ATP pró-inflamatório. Nesse prisma, foi observado em outros estudos o efeito modulador (Burnstock *et al.*, 2013) em estresse oxidativo por meio do purinoreceptor P2X7, o que se tornará relevante uma análise após a realização de exercícios.

Os mesmos autores (Cardoso *et al.*, 2021) também chamaram a atenção para o impacto de diferentes protocolos de exercício, e como esses geram efeitos diferentes na sinalização extracelular efetuada pelos componentes do referido sistema. Portanto, dentro do funcionamento da sinalização purinérgica, o exercício desempenha efeitos. E, através do protocolo de TFR desenvolvido sob a técnica do bi-set composto, investigar-se-á quais são esses efeitos, analisando-os sob e para aspectos da saúde. À vista disso, pressupõe contribuições no avanço do conhecimento sobre a temática desenvolvida.

Diante desses resultados esperados, se confirmada que a eficácia do bi-set composto melhora substancialmente um grupo muscular em específico, poderá também acarretar contribuições quanto a utilização dessa técnica de forma eficaz, auxiliando e melhorando um agrupamento muscular deficitário. Não só, como também pressupõe a condução de estudos e pesquisas às Ciências Biomédicas através de indicativos do exercício e/ou dessa técnica como um método terapêutico adjuvante na saúde, especialmente pelas suas respostas no sistema purinérgico.

8.1 DESFECHOS ESPERADOS

Os desfechos esperados são descritos da seguinte forma: 1) O bi-set composto melhora substancialmente os sinais hipertróficos de um grupo muscular em específico, se comparado ao bi-set tradicional; 2) A aplicação de estímulos de força, volume e tempo sob tensão na técnica bi-set composto é capaz de aumentar significativamente o ATP extracelular devido aos efeitos do ATP pró-inflamatório; 3) O treinamento físico resistido (TFR), em aplicação do bi-set composto, como um método terapêutico adjuvante à saúde, promove uma mudança no perfil inflamatório; 4) Após 12 semanas de treinamento em academia de musculação, a técnica de aumento de volume de treinamento denominada bi-set composto é eficaz no melhoramento de um grupamento muscular deficitário; 5) Em mulheres adultas, a técnica de aumento de volume de treinamento denominada bi-set composto aplicada em protocolo de EFR por um profissional de educação física, comparada a técnica do bi-set tradicional, promove melhor desfecho ao modular adaptações no agrupamento muscular esquelético específico em longo e médio prazo após 12 semanas de treinamento em academia de musculação.

9. ORÇAMENTO

Tabela 1 - Estimativa de gastos para a realização do projeto.

PRODUTO	QUANTIDADE	CUSTO (R\$)
Folhas A4	100 folhas	18,00
Canetas	1 caixa com 50 canetas	80,00
Impressões	100,00	25,00
Álcool líquido 70%	10 litros	70,00
Álcool em gel antisséptico 70%	10 litros	150,00
Frascos de 500ml	15 frascos	65,00
Pano multiuso (bobina) 300m	1 rolo	140,00
Termômetro digital de medição de temperatura	1	120,00
Glicosímetro on call plus	1	90,00
Grampeador	1	30,90
Grampos para grampeador	2 caixas	39,98
Material plástico para biologia molecular		
Tubos eppendorf, ponteiros para micropipetas, placas de ELISA, luvas	Diversos	5.000,00
Reagentes e kits de biologia molecular		
Nacionais		
Oligonucleotídeos, nucleotídeos, aminoácidos, marcadores moleculares, kits para biologia molecular, sais, ácidos, bases, detergentes, corantes, tampões, materiais para eletroforese.	Diversos	5.000,00
Importados		
Materiais para eletroforese, enzimas, kits para preservação de material biológico, kits para biologia molecular (extração de DNA, modificação do DNA, extração de proteínas), oligonucleotídeos, marcadores, corantes.	Diversos	5.000,00

Reagentes para técnicas colorimétricas relacionadas aos parâmetros de estresse oxidativo e avaliações de componentes do sistema purinérgico.		30.000,00
Material permanente		
Sistema Vertical de eletroforese e transferência	1	4.200,00
Despesas de importação		
Fretes e outras despesas acessórias para importação de equipamentos e materiais permanentes		5.000,00
		Total: 55.028,88

Nota: Este Projeto não se aplica em financiamento, sendo financiamento próprio.

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

10. CRONOGRAMA

Tabela 2 - Cronograma das etapas de execução do Projeto de pesquisa.

IDENTIFICAÇÃO DA ETAPA	INÍCIO (dd/mm/aa)	TÉRMINO (dd/mm/aa)	AÇÕES
Elaboração do projeto	14/08/2024	20/12/2024	Revisão bibliográfica, definição da metodologia, estruturação do protocolo.
Aceite formal da academia de musculação	01/09/2024	16/12/2024	Obter autorização formal da academia para realização da pesquisa no ambiente e alinhamento do cronograma de atividades. Tendo, o representante legal da instituição, assinado a declaração de ciência e concordância das instituições envolvidas.
Submissão e aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)	20/12/2024	18/03/2025	Submeter o Projeto ao CEP, revisar as pendências, integrar revisões sugeridas até obter a aprovação para o início do estudo.
Planejamento logístico e preparação	19/03/2025	26/03/2025	Preparar cronogramas internos para a organização logística entre Chapecó-SC e Nonoai-RS, realizar preparação junto da equipe para a coleta de dados e manuseio de amostras.
Recrutamento de participantes	19/03/2025	28/03/2025	Divulgação da pesquisa (cartazes fixados na OM3 Academia), aplicação de critérios de inclusão e exclusão, recrutamento e agradecimento pela participação, esclarecimento de dúvidas, assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e distribuição dos grupos: Grupo de Treinamento Presencial (GTP), Grupo de Treinamento <i>On-line</i> (GTO).
Avaliação inicial e coleta de dados pré-intervenção	01/04/2025	05/04/2025	Caracterização da amostra: peso, altura, IMC, circunferências corporais, pressão arterial, frequência cardíaca (FC). Aplicação do questionário (anamnese). Primeira coleta de sangue em jejum.
Ensaio enzimáticos e processamento das amostras iniciais	05/04/2025	12/04/2025	Separação das amostras (plasma, soro, células); armazenamento em ultra-freezer (-80°C) para análises posteriores.
Teste de uma repetição máxima (1RM)	14/04/2025	19/04/2025	Realização do teste de uma repetição máxima (1RM) em todos os exercícios, antes de iniciar o protocolo de intervenção. Após o teste de 1RM, iniciar a aplicação do protocolo de intervenção.
Aplicação do protocolo de intervenção (treinamento físico)	14/04/2025	05/07/2025	Aplicação dos protocolos de exercício físico resistido (EFR) (bi-set composto e bi-set tradicional) nos grupos presencial (GTP) e <i>on-line</i> (GTO), em 3 sessões/semana por 12 semanas. GTP: acompanhamento em ambiente controlado; GTO: supervisão remota conforme cronograma.
Monitoramento do protocolo	14/04/2025	05/07/2025	Acompanhamento contínuo das sessões: adesão e preenchimento de presenças nos Apêndices G, H, I, J, intensidade, registros de eventos adversos e ajuste necessário do programa.
Avaliação final e coleta de dados pós-intervenção	05/07/2025	06/07/2025	Realizar a segunda coleta de sangue. Realizar a segunda avaliação antropométrica: peso, altura, índice de massa corporal (IMC), circunferências, pressão arterial e frequência cardíaca.
Processamento das amostras	06/07/2025	12/07/2025	Separação, armazenamento (-80°C), análises laboratoriais (biomarcadores, citocinas, enzimas, e outras).

Envio do relatório parcial ao CEP	27/08/2025	13/09/2025	Envio do relatório parcial ao CEP, referindo como e em que fase do Projeto a pesquisa se encontra.
Análise dos resultados	14/07/2025	17/01/2026	Realizar análise dos dados coletados, análise estatística, comparação entre grupos (GTP e GTO) e correlações de variáveis.
Redação de dissertação e revisão do projeto	19/01/2026	30/04/2026	Compilação dos resultados, incluindo discussões e considerações finais.
Envio do relatório parcial ao CEP	27/02/2026	13/03/2026	Envio do relatório parcial ao CEP, referindo como e em que fase do Projeto a pesquisa se encontra.
Divulgação dos resultados	01/05/2026	13/06/2026	Preparar artigos científicos para submissão a periódicos e apresentações em eventos científicos.
Encerramento	15/06/2026	30/06/2026	Finalização do Projeto, arquivamento dos dados.
Envio do relatório parcial ao CEP	27/06/2026	13/07/2026	Envio do relatório parcial ao CEP, referindo como e em que fase o Projeto a pesquisa se encontra.
Envio do relatório final ao CEP, e envio da ata de defesa de dissertação (comprovante)	14/07/2026	18/12/2026	Envio do relatório final ao CEP, juntamente com o comprovante de conclusão da pesquisa (priorizará o envio da ata de defesa da dissertação, mas poderá ser enviado outro comprovante como: artigo publicado, ou resumo expandido publicado em evento científico, ou capítulo de livro, ou outro comprovante).

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

REFERÊNCIAS

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Manual de vigilância sanitária sobre o transporte de material biológico humano para fins de diagnóstico clínico**. Revisão normativa: Agência Nacional de Aviação Civil (ANAC), Agência Nacional de Transporte Terrestre (ANTT) e Empresa Brasileira de Correios e Telégrafos (ECT). Anvisa, 2015. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/sangue/transporte-de-material-biologico/manual-de-transporte-de-material-biologico-humano.pdf>. Acesso em: 03 set. 2024.

BORG, G. **Escala de Borg para a dor e o esforço percebido**. Manole, 2000.

BOYUM, A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Isolation of mononuclear cells by one centrifugation, and of granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1 g. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation Supplement**, v.97; p. 77-89, 1968. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4179068/>. Acesso em: 03 set, 2024.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/942051/>. Acesso em: 05 set. 2024.

BRANDÃO-BURCH, Andrea; KEY, Michelle L.; PATEL, Jessal J. *et al.* The P2X7 receptor is an important regulator of extracellular ATP levels. v. 3. **Frente, Endocrinol**, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22654865/>. Acesso em: 25 abril 2024.

BROWN, Lee E.; WEIR, Joseph. ASEP Procedures recommendation I: Accurate assessment of muscular strength and power. 4(3):1-21. **Journal of Exercise Physiology Online**, 2001. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/235782389_ASEP_Procedures_recommendation_I_Accurate_assessment_of_muscular_strength_and_power. Acesso em: 10 dezembro 2024.

BURNSTOCK, Geoffrey. Pathophysiology and therapeutic potential of purinergic signaling. v. 58, n. 1, p. 58-86. **Pharmacological Reviews**, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16507883/>. Acesso em: 26 abril 2024.

BURNSTOCK Geoffrey. Purine and purinergic receptors. v. 2. DOI: 10.1177/2398212818817494. **Sage Journals**, Brain and Neuroscience Advances, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32166165/>. Acesso em: 21 abril 2024.

BURNSTOCK, Geoffrey; ARNETT, Timothy R.; ORRISS, Isabel R. Purinergic signalling in the musculoskeletal system. **Purinergic signalling**, v. 9, n. 4, p. 541-72, dez. 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23943493/>. Acesso em: 30 abril 2024.

CARDOSO, Andreia Machado; MANFREDI, Leandro Henrique; MACIEL, Sarah Franco Vieira de Oliveira. (ORGs.). **Sinalização purinérgica: implicações fisiopatológicas**. 402p. ISBN: 978-65-86545-47-0. Chapecó: Editora UFFS, 2021. Disponível em: <https://books.scielo.org/id/hj25v/pdf/cardoso-9786586545494.pdf>. Acesso em: 21 abril 2024.

CHAN, K. M. *et al.* A direct colorimetric assay for Ca²⁺ - stimulated ATPase activity. **Analytical Biochemistry**, v. 157, p. 375-380, 1986. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2946250/>. Acesso em: 05 set. 2024.

CNS. Conselho Nacional de Saúde - CNS. Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Aprova diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Brasília-DF: **Diário Oficial da União**, 13 dez. 2012. Disponível em: https://conselho.saude.gov.br/ultimas_noticias/2013/06_jun_14_publicada_resolucao.html. Acesso em: 02 set. 2024.

CNS. Conselho Nacional de Saúde - CNS. Resolução nº 510, de 7 de abril de 2016. Dispõe sobre as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas em ciências humanas e sociais. Brasília-DF: **Diário Oficial da União**, 8 abr. 2016. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cns/2016/res0510_07_04_2016.html. Acesso em: 02 set. 2024.

CONEP. Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP. **Manual de Procedimentos**. Brasília-DF: Ministério da Saúde, 2020. Disponível em: https://conselho.saude.gov.br/biblioteca/livros/Manual_ceps.pdf. Acesso em: 02 set. 2024.

COX, E. R. *et al.* Effect of different exercise training intensities on musculoskeletal and neuropathic pain in inactive individuals with type 2 diabetes – Preliminary randomised controlled trial. **Diabetes Research Clinical Practice**, v.164, p.1-9, 2020. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/341002457_Effect_of_Different_Exercise_Training_Intensities_on_Musculoskeletal_and_Neuropathic_Pain_in_Inactive_Individuals_with_Type_2_Diabetes_-_Preliminary_Randomised_Controlled_Trial. Acesso em: 02 set. 2024.

CRISTO, Danieli de. Atividade das ectonucleotidases em linfócitos e parâmetros inflamatórios em pacientes hemodialíticos após a realização de um protocolo de exercícios e auriculoterapia. Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas. Orientação: Débora Tavares de Resende e Silva. Chapecó: **UFFS**, 2024. Disponível em: <https://rd.uffs.edu.br/handle/prefix/7383>. Acesso em: 28 abril 2024.

DI VIRGILIO, Francesco. Purinergic mechanism in the immune system: a signal of danger for dendritic cells. (1): 2005-209. DOI: 10.1007/s11302-005-6312-z. **Purinergic Signal**, 2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2096539/>. Acesso em: 11 maio 2024.

DI VIRGILIO, Francesco; ADINOLFI, Edgardo. Extracellular purines, purinergic receptors and tumor growth. v. 36, p. 1-11. **Oncogene**, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5269532/>. Acesso em: 26 abril 2024.

FARIA, Wayne Ferreira de; MENDONÇA, Filipe Rodrigues; ELIAS, Rui Gonçalves Marques *et al.* v. 26, n. 6, p. 558–564. HIIT, Resistance Training, And Risk Factors In Adolescents: A Systematic Review. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, 2020. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbme/a/wMR4MFcBf4jh3Bw4cyL5vqC/?lang=en>. Acesso em: 24 abril 2024.

FURSTENAU, C. R. *et al.* Ecto-nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase as part of a multiple system for nucleotide hydrolysis by platelets from rats: kinetic characterization and

biochemical properties. **Platelets**, v. 17, n. 2, p. 84-91, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16421009/>. Acesso em :04 set. 2024.

GIUSTI, G.; GALANTI, B. **Methods of enzymatic analysis**. Weinheim: Verlag Chemie, 1984.

HÖRBER, Sebastian; ACHENBACH, Peter; SCHLEICHER, Erwin; PETER, Andreas. Immunoassays for Biomarkers. 54(2), 77-85. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30802485/>. Acesso em: 10 out. de 2024.

JENTZSCH, A. M. *et al.* Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 20, p. 251-256, 1996. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8746446/>. Acesso em: 08 set. 2024.

LEAL, D. B. *et al.* Characterization of NTPDase (NTPDase1; ecto-apyrase; ectodiphosphohydrolase; CD39; EC 3.6.1.5) activity in human lymphocytes. **Biochim Biophys Acta**, v. 1721, p. 9-15, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15652174/>. Acesso em: 04 set. 2024.

LEVINE, R. L. *et al.* Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. **Methods in Enzymology**, v. 186, p.464-478, 1990. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1978225/>. Acesso em: 09 set, 2024.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT Method. **Methods**, v. 25, p. 402–408, 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11846609/>. Acesso em: 06 set. 2024.

LUNKES, G. I. *et al.* Enzymes that hydrolyze adenine nucleotides in diabetes and associated pathologies. **Thromb Res**, v. 15, n. 109, p. 189-94, 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12757773/>. Acesso em: 04 set. 2024.

MAGALHÃES, J. P. *et al.* Effects of combined training with different intensities on vascular health in patients with type 2: a 1-year randomized controlled trial. **Cardiovascular Diabetology**, v. 18, n. 1, p. 1-13, 2019. Disponível em: <https://cardiab.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12933-019-0840-2>. Acesso em: 02 set. 2024.

MAKLER, M. T.; MLECKO, C. R.; PESCE, A. J. Immunoenzymatic assays: Techniques and Applications. 42(5), 533-540. **BioTechniques**, 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7020998/>. Acesso em: 10 out. 2024.

MCCORD, J. M.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). **Journal of Biological chemistry**, v. 244, n. 22, p. 6049-6055, 1969. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5389100/>. Acesso em: 09 set. 2024.

NELSON, D. P.; KIESOW, L. A. Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25C (with molar extinction coefficients of H₂O₂ solutions in the UV). **Naval Medical Research Inst Bethesda Md**, 1972. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5082943/>. Acesso em: 09 set. 2024.

OLIVEIRA, R. M. *et al.* Avaliação Bioquímica do Sangue. *In*: CALIXTO-LIMA, L.; REIS, T. N. Interpretação de exames laboratoriais aplicados à nutrição clínica. Rio de Janeiro: **Rubio**, 2012. Disponível em: <https://issuu.com/editorarubio/docs/interpretacaoexamescalixtonelzir>. Acesso em: 03 set. 2024.

OMU *et al.* Significance of simultaneous determination of serum and seminal plasma a-tocopherol and retinol in infertile men by high-performance liquid chromatography. **Andrologia**, v. 31, 347–354, 1999. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10643509/>. Acesso em: 09 set. 2024.

PARDINI, H. **Manual de Exames**: Apresentação da assessoria científica diferencial para o laboratório de análises clínicas. [S. l.: s. n.]. 2015.

PILLA, C. *et al.* ATP diphosphohydrolase activity (apyrase, E.C. 3.6.1.5) in human blood platelets. **Platelets**, v. 7, p. 225-230, 1996. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21043691/>. Acesso em: 04 set. 2024

SALLES, Belmiro Freitas de. **Métodos de treinamento para força e hipertrofia**: da teoria à prática. 1. ed. Belo Horizonte: Livro na Mão, 2022.

SANTOS JUNIOR, E. R. T.; SALLES, B. F.; DIAS I.; RIBEIRO, A. S.; SIMÃO, R.; WILLARDSON, J. M. Classification and determination model of resistance training status. **Strength And Conditioning Journal**, 2021. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/349287497_Classification_and_Determination_Model_of_Resistance_Training_Status. Acesso em: 10 set. 2024.

SCHERER, R., *et al.* Effect of Slaughter Method on Postmortem Changes of Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*) Stored in Ice. **Journal of Food Science**. v. 70, n. 5, p. 348-353, 2005. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/227503807_Effect_of_Slaughter_Method_on_Postmortem_Changes_of_Grass_Carp_Ctenopharyngodon_idella_Stored_in_Ice. Acesso em: 07 set. 2024.

SCHOENFELD, Brad J.; CONTRERAS, Bret; KRIEGER, James *et al.* Resistance Training Volume Enhances Muscle Hypertrophy but Not Strength in Trained Men. 51(1):94-103. doi: 10.1249/MSS.0000000000001764. **Randomized Controlled Trial Med Sci Sports Exerc**, 2019.

SEO, Myong-Won Seo; JUNG, Sung-Woo; KIM, Sung-Woo *et al.* Effects of 16 Weeks of Resistance Training on Muscle Quality and Muscle Growth Factors in Older Adult Women with Sarcopenia: A Randomized Controlled Trial. 23;18(13):6762. doi: 10.3390/ijerph18136762. **Randomized Controlled Trial Int J Environ Res Public Health**, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34201810/>. Acesso em: 24 nov. 2024.

STROBER, W. Trypan blue exclusion test of cell viability. **Current Protocols in Immunology**, Appendix 3B, 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18432654/>. Acesso em: 03 set. 2024.

THOMAS, J. R.; NELSON, J. K. **Métodos de pesquisa em atividade física**. São Paulo: Artmed, 2002.

TIBANA, Ramires Alsamir; BALSAMO, Sandor. Manipulation of the order of exercises in the prescription of resistance training. v. 10, n. 1. **Brazilian Journal of Exercise Physiology**, 2011. Disponível em: https://r.search.yahoo.com/_ylt=AwrhVN3XCmNnCAIAYMPz6Qt.;_ylu=Y29sbwNiZjEEcG9zAzEEdnRpZAMEc2VjA3Ny/RV=2/RE=1735753687/RO=10/RU=https%3a%2f%2fresearch.amanote.com%2fpublication%2fPYwl03MBKQvf0BhiQMzU%2fmanipulao-da-ordem-do-s-exercicios-na-prescrio-do-treinamento-resistido/RK=2/RS=7sCellAZ45GrLpPOZVwGojV8p3E-. Acesso em: 10 dez, 2024.

WARHOLM, M. *et al.* Glutathione transferases from human liver. **Methods in Enzymology**, v. 113, p. 499-504, 1985. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3003505/>. Acesso em: 09 set. 2024.

WEISSMAN, S. M. Red Cell Metabolism. A Manual of Biochemical Methods. 2nd Edition. **Yale Journal of Biology and Medicine**, v. 49, n.3, p.310-311, 1976. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2595371/>. Acesso em: 09 set. 2024.

WINDING, K. M. *et al.* The effect of glycaemic control of low-volume high intensity interval training versus endurance training in individuals with type 2 diabetes. **Diabetes, Obesity & metabolism**, v.20, n.5, p. 1131-1139, May. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29272072/>. Acesso em: 02 set. 2024.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para maiores de 18 anos

Comitê de Ética em Pesquisa - CEP/UFFS

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

HIPERTROFIA MUSCULAR EM MULHERES ADULTAS PRATICANTES DE MODALIDADES PRESENCIAIS E ON-LINE: UM ESTUDO PILOTO SOBRE O BI-SET COMPOSTO RESPONSIVO AO SISTEMA PURINÉRGICO

Prezado participante, você está sendo convidado(a) a participar da pesquisa *Hipertrofia muscular em mulheres adultas praticantes de modalidades presenciais e on-line: um estudo piloto sobre o bi-set composto responsivo ao sistema purinérgico*. O projeto foi aprovado no CEP no dia __/__/2025, sob o CAEE: _____. Desenvolvido por Luís Alberto Garcia, discente de mestrado em Ciências Biomédicas da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) *Campus* de Chapecó, sob orientação da Professora Dr^a Débora Tavares de Resende e Silva, contando com uma equipe de pesquisa composta pelos profissionais: Vinicius Ansolin; Josiano Guilherme Puhle; Adinei Abadio Soares. O objetivo central do estudo é: Analisar a hipertrofia muscular produzida pelo efeito do exercício físico resistido (musculação) com a aplicação da técnica bi-set composto nos grupamentos musculares em mulheres adultas praticantes de modalidades presenciais e on-line, em resposta ao sistema purinérgico. A hipertrofia encontra-se contextualizada no aumento do tecido muscular estriado esquelético do corpo humano. Este aumento ocorre por meio do trabalho mecânico, em resposta a estímulos de força, volume e tempo sob tensão, gerados por estímulos dos exercícios de musculação. Neste contexto, o exercício físico resistido contribui tanto para a saúde humana quanto para a geração da hipertrofia. Por conseguinte, a aplicação de técnicas para aumento de volume e intensidades passam a ser determinantes para os ganhos na referida finalidade e para

Assinatura do pesquisador responsável: _____

Assinatura do participante: _____

os efeitos positivos na saúde. Ainda não foram encontrados estudos que utilizam a técnica do bi-set composto, portanto, é considerada uma técnica original do pesquisador. Desse modo, esta pesquisa se constitui como piloto. Presume-se que, em médio e longo prazo, a técnica de musculação bi-set composto produzirá maior nível de hipertrofia no grupamento muscular onde foi aplicado essa técnica, se comparado a técnica do bi-set tradicional. O convite a sua participação se deve à ser do sexo feminino, estar na faixa etária entre 18 a 40 anos (pelo motivo de não estar no climatério e menopausa), estar matriculada na OM3 Academia e Centro de Fitness LTDA, sediada em Nonoai-RS e, assinando este TCLE você passará a ser incluída na pesquisa. A sua participação e dedicação é de extrema importância, pois estará fazendo parte de uma pesquisa piloto acerca de uma técnica de treinamento original, que pode vir a incidir em ganhos de massa muscular magra e que, despostrará estudos de técnicas de exercícios físicos para o melhoramento da saúde humana não somente nos mecanismos de tratamento não medicamentosos como também na ação preventiva de doenças crônicas em prol da qualidade de vida humana. Sua participação não é obrigatória e você tem plena autonomia para decidir se quer ou não participar, bem como desistir da colaboração neste estudo no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação e sem nenhuma forma de penalização. Você não será penalizado de nenhuma maneira caso decida não consentir sua participação, ou desista da mesma. Contudo, ela é muito importante para a execução da pesquisa. Você não receberá remuneração e nenhum tipo de recompensa nesta pesquisa, sendo sua participação voluntária. Serão garantidas a confidencialidade e a privacidade das informações por você prestadas. Qualquer dado que possa identificá-lo será omitido na divulgação dos resultados da pesquisa e o material armazenado em local seguro. A qualquer momento, durante a pesquisa, ou posteriormente, você poderá solicitar do pesquisador informações sobre sua

Assinatura do pesquisador responsável: _____

Assinatura do participante: _____

participação e/ou sobre a pesquisa, o que poderá ser feito através dos meios de contato explicitados neste Termo. A sua participação consistirá em responder ao pesquisador perguntas de um roteiro de questionário previamente impresso, contendo informações de saúde. Você será pesada, sua altura e cintura serão medidas, você fará exames de sangue, fará um teste de força de uma repetição máxima (1RM), você irá participar de protocolos de treinamento de exercícios de musculação tendo acompanhamento profissional constante. As amostras de sangue coletadas serão transportadas de Nonoai-RS com destino ao laboratório 105 de pesquisa biológica pertencente a UFFS *Campus* Chapecó - mediante normas sanitárias, incluindo embalagens apropriadas para transporte de material biológico, conforme as regulamentações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) - , cujo acesso será restrito e somente poderá ser retirado de seu armazenamento pelo pesquisador responsável ou algum membro da equipe de pesquisa. Depois que os resíduos químicos forem utilizados para que as análises fossem realizadas, eles serão descartados em local apropriado e identificado no laboratório. Sabendo disso, a qualquer momento, você poderá solicitar a exclusão de suas amostras e dados da pesquisa, caso decida interromper a sua participação. O questionário sobre sua saúde e sua alimentação não será gravado e será respondido em formato impresso/material/físico em torno de 20 minutos, havendo explicação por parte do pesquisador sobre como funcionará esta etapa, de modo a conhecer como está sua saúde e sua alimentação nos últimos anos. Após o questionário ser respondido, você será encaminhada para uma sala onde o pesquisador irá te pesar, medir sua cintura e altura, bem como a realização de outras medidas antropométricas. No momento do treinamento, se você não se sentir bem, pode comunicar o avaliador que estará ao seu lado que ele vai te colocar em uma cadeira, verificar sua pressão e te dar água caso você solicite. As coletas de sangue e os exercícios vão ser realizados na OM3

Assinatura do pesquisador responsável: _____

Assinatura do participante: _____

Academia e Centro de Fitness LTDA, sediada em Nonoai-RS. A data e a sala que irão ocorrer as coletas vão ser informadas por meio de uma ligação ou mensagem para o celular. Em todos os treinos, o pesquisador responsável, juntamente com a equipe de pesquisa, estarão acompanhando você, então, caso tenha alguma dúvida ou precise de ajuda, pode chamar que sempre será auxiliado. Os treinos na academia irão durar 60 minutos. Lembre-se de não faltar, pois com quatro faltas consecutivas (seguidas) que você acumular, não poderá mais participar do programa desta pesquisa. Após o uso do aparelho da academia, recomenda-se realizar a higienização, o profissional estará auxiliando, pois sempre estará disponível panos e álcool para a limpeza dos aparelhos. No caso das medições antropométricas, o tempo de duração é de aproximadamente 10 minutos. No caso do teste de 1RM, o tempo de duração é de aproximadamente 20 segundos por exercício, e será feito uma vez em todos os exercícios, antes de iniciar a aplicação do treinamento. Após o teste de 1RM, será iniciado o treinamento. Poderá ser fotografado o treinamento e seus resultados antes e após a aplicação dos EFR, somente para a utilização na pesquisa e somente com a sua autorização, preservando sua identidade. Será garantido o zelo pelo sigilo dos dados fornecidos e pela guarda adequada das informações coletadas, assumindo também o compromisso de não publicar o rosto das participantes (desfocando qualquer rosto presente em fotografias e cortando a parte da cabeça em filmagens) ou qualquer outra forma que permita a identificação individual. A coleta de fotografias e filmagens durante a pesquisa apresenta riscos que podem violar a privacidade e o bem-estar dos participantes. Quando fotografias e filmagens são utilizadas para análise e divulgação dos resultados, há a possibilidade de exposição indevida, especialmente se os registros capturarem expressões desconfortáveis ou situações que possam comprometer a integridade dos envolvidos. Além disso, o armazenamento inadequado dessas mídias pode resultar em acessos não autorizados ou vazamentos,

Assinatura do pesquisador responsável: _____

Assinatura do participante: _____

ampliando os riscos de violação da confidencialidade. Para minimizar esses riscos, será especificado aos participantes: 1) O propósito da coleta das imagens, sendo importante para o registro visual do efeito da aplicação da técnica bi-set composto no grupamento muscular alvo de trabalho ao longo do período temporal determinado à duração da intervenção; 2) Da não identificação, desfocando rostos presentes nas fotografias e cortando os rostos das filmagens; 3) Dos contextos em que serão utilizados, se tratando de ambientes reconhecidos pela comunidade científica, a fim de utilização na pesquisa; 4) Do período de armazenamento, sendo de cinco anos; 5) De quem terá acesso ao material, estrito ao pesquisador responsável e a equipe de pesquisa. Além disso, será garantido que cada participante tenha o direito de recusar sua participação nas fotografias e filmagens sem qualquer prejuízo à sua inclusão na pesquisa. Durante a filmagem e a captura de fotos, a equipe de pesquisa deve garantir que os participantes sejam confortáveis, evitando registrar momentos que possam gerar constrangimento, como falhas durante a execução de um exercício ou situações que exponham partes do corpo de maneiras descobertas de vestes. Ademais, o armazenamento das mídias deve ser realizado em um dispositivo eletrônico local, com acesso restrito apenas à equipe de pesquisa responsável. Medidas adicionais, serão adotadas como estratégias de recursos de segurança para a minimização dos riscos de violação da confiabilidade. Se houver necessidade de apresentação na comunidade científica de fotografias e filmagens, ele deverá ser feito somente mediante solicitação prévia e explícita dos participantes. A anonimização dos registros deve ser priorizada, desfocando rostos e utilizando nomes fictícios escolhidos por cada uma das participantes para referência, de modo a minimizar os riscos de identificação. Contudo, será garantido aos participantes o direito de revogar o consentimento a qualquer momento, podendo solicitar a exclusão de suas fotografias e filmagens do banco de dados da pesquisa sem qualquer penalização ou

Assinatura do pesquisador responsável: _____

Assinatura do participante: _____

exclusão da participação. Essas medidas apresentadas buscam garantir que a coleta e o uso de imagem durante a pesquisa respeitem a total privacidade e os direitos dos envolvidos, além de estarem em plena conformidade com as diretrizes éticas e legais, como as disposições da Lei Geral de Proteção de Dados.

Assinale a seguir conforme sua autorização:

☐ Autorizo fotografia ☐ Não autorizo fotografia

Poderá ser filmado partes do treinamento, somente para a análise das informações e somente com a sua autorização. Assinale a seguir conforme sua autorização:

☐ Autorizo filmagem ☐ Não autorizo filmagem

As gravações e filmagens serão transcritas e armazenadas em arquivos digitais, mas somente terão acesso às mesmas o pesquisador e sua orientadora. As fotografias serão armazenadas em arquivos digitais, e poderão ser utilizadas na pesquisa conforme sua autorização, preservando sua identidade.

☐ Autorizo que as fotografias sejam utilizadas na pesquisa

☐ Não que as fotografias sejam utilizadas na pesquisa

Serão salvaguardado o anonimato e, você terá a possibilidade de interromper o processo quando desejar, sem danos e prejuízos à pesquisa e a si próprio; da mesma forma, serão asseguradas a confidencialidade e a privacidade, a proteção da imagem e a não estigmatização, garantindo a não utilização das informações em prejuízo das pessoas e/ou das comunidades, inclusive em termos de auto-estima, de prestígio e/ou econômico – financeiro. Ao final do estudo, todo material será mantido em arquivo físico ou digital, por um período de cinco anos. O benefício relacionado com a sua colaboração neste estudo relacionam-se a redução da gordura do seu corpo e aumento da massa magra (músculos), bem como aumento da disposição para realizar tarefas de vida diária, melhora da concentração, equilíbrio, força muscular e aptidão cardiorrespiratória, dentre outros. Ademais, você terá acesso as análises detalhadas e

Assinatura do pesquisador responsável: _____

Assinatura do participante: _____

acompanhamento físico, sem custos, que podem fornecer informações úteis para sua saúde. A sua participação no projeto poderá causar riscos como: dor muscular e cansaço, hipoglicemia durante e após os exercícios físicos, aumento ou diminuição da pressão arterial. A sua participação ao relatar no questionário a sua saúde e ao ser submetido a realização de medidas antropométricas poderá causar desconforto psicológico. Na coleta de sangue, poderá sofrer desconfortos como ansiedade, dor por conta da picada da agulha, hematoma, sangramento persistente e alergia. Medidas serão adotadas na prevenção ou minimização dos riscos como: para diminuir as dores musculares e cansaço, será realizado alongamentos e relaxamentos. Para o caso de a pressão arterial aumentar durante o treinamento, você será colocada em repouso até que seu nível de pressão arterial seja regulado; se esse quadro persistir alto, será realizada a comunicação da ocorrência a um familiar próximo, o qual será orientado a te encaminhar ao pronto socorro onde medidas específicas ao quadro serão tomadas. Para o caso de você apresentar sinais de pressão baixa durante o treinamento, você será deitada em uma maca (cujo local seja fresco e arejado), tendo suas pernas erguidas acima do nível do coração (aproximadamente 45° do chão), caso esteja recuperada, será oferecida água como líquido; caso permaneça com sintomas hipotensivos, haverá uma comunicação com um familiar próximo de modo a solicitar que o mesmo te encaminhe ao pronto socorro onde as medidas específicas ao quadro serão tomadas. No treinamento, caso não se sintam bem, a orientação é que comunique a pessoa que está aplicando o treinamento; o treinamento será interrompido e você será conduzida até uma cadeira para descansar e relaxar, sua pressão será verificada e, caso você queira, poderá tomar água. Nas avaliações antropométricas, você poderá ter o risco de constrangimento. Durante a aplicação do questionário, caso você se emocione, a aplicação será interrompida e você receberá lenços de papel e água, caso necessite, será destinado alguns minutos para você se

Assinatura do pesquisador responsável: _____

Assinatura do participante: _____

recuperar e após isso dar-se-á sequência na aplicação dos exercícios. Nas avaliações antropométricas, você poderá correr o risco de constrangimento. Para sanar possível constrangimento, os testes, exames, procedimentos e avaliações serão todos realizados por profissionais capacitados e treinados, como tampouco serão realizados em local próprio reservado, na sede da Om3 Academia. Para o caso de risco de náuseas e/ou tonturas e/ou desmaios durante as sessões de treinamento, você será devidamente assistida pela equipe profissional. Na coleta de sangue para diminuir os riscos você estará sendo acompanhada pela equipe de pesquisa e pelo pesquisador responsável, auxiliando sempre que necessário para agilizar os processos. A pessoa que irá coletar seu sangue será instruída a tomar todos os cuidados, caso você não se sinta bem será orientada a comunicar quem estiver ao seu lado. Medidas de higienização, orientação, cuidados individuais e coletivos serão adotados. Se você for uma integrante do grupo de treinamento *on-line* (GTO), será enviado a ti, instruções detalhadas sobre o treino com acompanhamento *on-line*, bem como solicitado que sua participação inclua registros de sinais de desconforto na ficha de treino, em campo específico denominado “observação”; e, para qualquer eventualidade de saúde durante o treino, o qual venha a te causar mal estar, suspenda-o, solicite auxílio para atendimento ao seu quadro e comunique o pesquisador responsável; Em ambientes virtuais, é enfrentado limitações para assegurar total confidencialidade dos participantes, podendo gerar potenciais riscos de violação. Essas limitações circundam a segurança das plataformas digitais (no caso desta pesquisa, o Google Drive) utilizadas para coleta e armazenamento de dados, tendo em vista que os sistemas online estão sujeitos a ataques cibernéticos, falhas técnicas e acessos não autorizados, havendo o risco de exposição das informações confidenciais. Além disso, os dados armazenados em servidores de terceiros podem ser acessados pelos administradores da plataforma, comprometendo a confidencialidade. Outro risco é o

Assinatura do pesquisador responsável: _____

Assinatura do participante: _____

de rastreabilidade das informações através dos endereços de Protocolo de Internet (IP) (conjunto de regras que define como as informações serão transmitidas entre dispositivos conectados em rede), cookies e metadados, que podem possibilitar a identificação dos participantes mesmo quando há anonimização das respostas. Além das limitações técnicas explicadas, existem desafios éticos e legais envolvendo a legislação de proteção de dados que pode vir a impor restrições ao armazenamento e transferência de informações, requerendo que os pesquisadores estejam atentos às normas vigentes, como a Lei Geral de Proteção de Dados (LGPD) no Brasil e o Regulamento Geral sobre a Proteção de Dados (GDPR) na União Europeia. Para minimizar esses riscos e atender à LGPD, serão adotadas estratégias dentro dos recursos de segurança nativos do Google Drive. Para uma maior segurança e minimização dos riscos de violação da confiabilidade, serão utilizados recursos complementares e práticas adicionais para minimização dos riscos de violação da confiabilidade. E, após a conclusão das 12 semanas de treinamento personalizado on-line, o pesquisador responsável fará o *download* dos dados coletados para um dispositivo eletrônico *hard disk* (HD) externo, apagando todo e qualquer registro do ambiente compartilhado com a participante na *nuvem* do Google Drive. Ao término do estudo, o pesquisador responsável organizará uma reunião para te entregar os seus resultados, caso você prefira podemos enviar pelo seu endereço de e-mail ou WhatsApp®. Os resultados serão divulgados em eventos e/ou publicações científicas mantendo sigilo dos dados pessoais. Caso concorde em participar, uma via deste termo ficará em seu poder e a outra será entregue ao pesquisador. Não receberá cópia deste termo, mas apenas uma via. Desde já agradecemos sua participação!

Assinatura do pesquisador responsável: _____

Assinatura do participante: _____

CAAE:

Número do Parecer de aprovação no CEP/UFS:

Data de Aprovação:

Chapécó-SC, __ de _____ de 2025.

Assinatura do Pesquisador Responsável

Contato profissional com o pesquisador responsável:

Tel: 55 – 54 – 999525298

E-mail: garcia.luis.ppg@gmail.com

Endereço para correspondência: Universidade Federal da Fronteira Sul/UFS,
Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul, CEP 89815-899 - Chapécó - Santa Catarina –
Brasil.

Em caso de dúvida quanto à condução ética do estudo, entre em contato com o
Comitê de Ética em Pesquisa da UFS:

Telefone: (055) 49- 2049-3745

E-mail: cep.ufs@ufs.edu.br

Endereço para correspondência: Universidade Federal da Fronteira Sul/UFS -
Comitê de Ética em Pesquisa da UFS, Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul,
CEP 89815-899 Chapécó - Santa Catarina – Brasil)

Declaro que entendi os objetivos e condições de minha participação na pesquisa e
concordo em participar.

Nome completo da participante: _____

Assinatura: _____

Assinatura do pesquisador responsável: _____

Assinatura do participante: _____

APÊNDICE B - Declaração de ciência e concordância da OM3 Academia e Centro de Fitness LTDA

DECLARAÇÃO DE CIÊNCIA E CONCORDÂNCIA DAS INSTITUIÇÕES ENVOLVIDAS

Com o objetivo de atender às exigências para obtenção de parecer do Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos, **Ozéia de Paula Maciel**, o representante legal da instituição OM3 Academia e Centro de Fitness LTDA de Nonoai-RS, envolvida no projeto de pesquisa intitulado *Hipertrofia muscular em mulheres adultas praticantes de modalidades presenciais e on-line: um estudo piloto sobre o bi-set composto responsivo ao sistema purinérgico*, declara estar ciente e de acordo com seu desenvolvimento nos termos propostos, salientando que os pesquisadores deverão cumprir os termos da resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde e as demais legislações vigentes.



Assinatura do Pesquisador Responsável
Luís Alberto Garcia



23.305.368/0001-63
OM3 ACADEMIA E CENTRO DE
FITNESS LTDA
Assinatura e Carimbo do responsável da Instituição
Sócio-Proprietário
OM3 Academia e Centro de Fitness LTDA

Chapecó, 03 de setembro de 2024.

APÊNDICE C - Declaração de ciência e concordância da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) *Campus* Chapecó

DECLARAÇÃO DE CIÊNCIA E CONCORDÂNCIA DAS INSTITUIÇÕES ENVOLVIDAS

Com o objetivo de atender às exigências para obtenção de parecer do Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos, **Sarah Franco Vieira de Oliveira Maciel**, o representante legal da instituição Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) *Campus* Chapecó, envolvida no projeto de pesquisa intitulado *Hipertrofia muscular em mulheres adultas praticantes de modalidades presenciais e on-line: um estudo piloto sobre o bi-set composto responsivo ao sistema purinérgico*, declara estar ciente e de acordo com seu desenvolvimento nos termos propostos, salientando que os pesquisadores deverão cumprir os termos da resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde e as demais legislações vigentes.



Assinatura do Pesquisador Responsável
Luís Alberto Garcia

Documento assinado digitalmente
 SARAH FRANCO VIEIRA DE OLIVEIRA MACIEL
Data: 17/12/2024 08:06:07-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Assinatura e Carimbo do responsável da Instituição
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas (PPGCB)
Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS)

Chapecó, 15 de dezembro de 2024.

APÊNDICE D – Protocolos de treinamento de exercício físico resistido (EFR)

PROTOCOLOS DE TREINAMENTO

PROTOCOLO DE EFR BI-SET TRADICIONAL				
ORDEM	EXERCÍCIO	REPETIÇÕES	SÉRIES	DESCANSO
TREINO A				
1º BST	MESA FLEXORA CADEIRA EXTENSORA	08 a 12 08 a 12	03	01 MINUTO
2º BST	AGACHAMENTO NA BARRA SMITH AFUNDO UNILATERAL LIVRE COM ANILHA	08 a 12 08 a 12	03	01 MINUTO E 30 SEGUNDOS
3º BST	LEG PRESS 45° DE INCLINAÇÃO LEVANTAMENTO TERRA SUMÔ COM BARRA RETA	08 a 12 08 a 12	03	01 MINUTO E 30 SEGUNDOS
TREINO B				
1º BST	REMADA BAIXA SUPINADA COM BARRA RETA TRÍCEPS CORDA POLIA ALTA	08 a 12 08 a 12	03	01 MINUTO
2º BST	REMADA CURVADA LIVRE COM BARRA RETA ELEVÇÃO LATERAL COM HALTERES	08 a 12 08 a 12	03	01 MINUTO E 30 SEGUNDOS
3º BST	PUXADA ALTA COM TRIÂNGULO ROSCA ALTERNADA COM HALTERES	08 a 12 08 a 12	03	01 MINUTO E 30 SEGUNDOS
TREINO C				
1º BST	CADEIRA ABDUTORA CADEIRA ADUTORA	08 a 12 08 a 12	03	01 MINUTO
2º BST	STIFF COM HALTERES CADEIRA FLEXORA	08 a 12 08 a 12	03	01 MINUTO E 30 SEGUNDOS
3º BST	LEVANTAMENTO TERRA SUMÔ COM BARRA RETA HACK MACHINE	08 a 12 08 a 12	03	01 MINUTO E 30 SEGUNDOS

PROTOCOLO DE EFR BI-SET COMPOSTO				
ORDEM	EXERCÍCIO	REPETIÇÕES	SÉRIES	DESCANSO
TREINO A				
1º BSC	MESA FLEXORA CADEIRA EXTENSORA MESA FLEXORA	08 a 12 08 a 12 08 a 12	03	01 MINUTO
2º BSC	AGACHAMENTO NA BARRA SMITH AFUNDO UNILATERAL LIVRE COM ANILHA AGACHAMENTO NA BARRA SMITH	08 a 12 08 a 12 08 a 12	03	01 MINUTO E 30 SEGUNDOS
3º BSC	LEG PRESS 45° DE INCLINAÇÃO LEVANTAMENTO TERRA SUMÔ COM BARRA RETA LEG PRESS 45° DE INCLINAÇÃO	08 a 12 08 a 12 08 a 12	03	01 MINUTO E 30 SEGUNDOS
TREINO B				
1º BSC	REMADA BAIXA SUPINADA COM BARRA RETA TRÍCEPS CORDA POLIA ALTA REMADA BAIXA SUPINADA COM BARRA RETA	08 a 12 08 a 12 08 a 12	03	01 MINUTO
2º BSC	REMADA CURVADA LIVRE COM BARRA RETA ELEVÇÃO LATERAL COM HALTERES REMADA CURVADA LIVRE COM BARRA RETA	08 a 12 08 a 12 08 a 12	03	01 MINUTO E 30 SEGUNDOS
3º BSC	PUXADA ALTA COM TRIÂNGULO ROSCA ALTERNADA COM HALTERES PUXADA ALTA COM TRIÂNGULO	08 a 12 08 a 12 08 a 12	03	01 MINUTO E 30 SEGUNDOS
TREINO C				
1º BSC	CADEIRA ABDUTORA CADEIRA ADUTORA CADEIRA ABDUTORA	08 a 12 08 a 12 08 a 12	03	01 MINUTO
2º BSC	STIFF COM HALTERES CADEIRA FLEXORA STIFF COM HALTERES	08 a 12 08 a 12 08 a 12	03	01 MINUTO E 30 SEGUNDOS
3º BSC	LEVANTAMENTO TERRA SUMÔ COM BARRA RETA HACK MACHINE LEVANTAMENTO TERRA SUMÔ COM BARRA RETA	08 a 12 08 a 12 08 a 12	03	01 MINUTO E 30 SEGUNDOS

APÊNDICE E - Caracterização da amostra

CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

Nome completo: _____ Idade: _____

Preservação da identidade/anonimato - nome fictício escolhido para ser utilizado na pesquisa: _____

PARÂMETROS	UNIDADE DE MEDIDA	DADOS REGISTRADOS		EXTRAÇÃO
		INICIAL / /	FINAL / /	
Peso	kg			Balança de plataforma digital
Altura	cm			Fita métrica
Índice de massa corporal	kg/m ²			Calculado: peso/(altura) ²
Pescoço	mm			Fita métrica
Cintura escapular ombros	mm			Fita métrica
Bíceps (direito)	Descanso			Fita métrica
	Contração			Fita métrica
Bíceps (esquerdo)	Descanso			Fita métrica
	Contração			Fita métrica
Antebraços	Direito			Fita métrica
	Esquerdo			Fita métrica
Busto	mm			Fita métrica
Cintura	mm			Fita métrica
Cintura baixa	mm			Fita métrica
Quadril	mm			Fita métrica
Coxa (direita)	Descanso			Fita métrica
	Contração			Fita métrica
Coxa (esquerda)	Descanso			Fita métrica
	Contração			Fita métrica
Panturrilha (direita)	mm			Fita métrica
Panturrilha (esquerda)	mm			Fita métrica
Massa magra	kg			Balança digital de bioimpedância
Massa gorda	kg			Balança digital de bioimpedância
Dobras cutânea	Triceps			Adipômetro
	Supraílica			Adipômetro
	Subescapular			Adipômetro
	Bíceps			Adipômetro
Percentual de gordura corporal	%			Balança digital de bioimpedância

Nível de treinamento*: _____

Comentários da equipe: _____

*Determinado com base nos:

PARÂMETROS E CRITÉRIOS UTILIZADOS				
	Iniciante	Intermediário	Avançado	Altamente treinado
Tempo de treino sem interrupção	Até 2 meses	2-12 meses	1-3 anos	Pelo menos 3 anos
Destreino	8 meses	4-8 meses	1-4 meses	Treinado
Experiência prévia	Até 2 meses	2-12 meses	1-3 meses	Pelo menos 3 meses
Técnica	Ruim	Moderada	Boa	Excelente

Fonte: Santos *et al.* (2021).

Referência: SANTOS JUNIOR, E. R. T.; SALLES, B. F.; DIAS I.; RIBEIRO, A. S.; SIMÃO, R.; WILLARDSON, J. M. Classification and determination model of resistance training status. *Strength And Conditioning Journal*, 2021. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/349287497_Classification_and_Determination_Model_of_Resistance_Training_Status. Acesso em: 10 set. 2024.

APÊNDICE F - Avaliação da função muscular através do teste de força de uma repetição máxima (1RM)

TESTE DE FORÇA DE UMA REPETIÇÃO MÁXIMA (1RM)

Nome completo: _____ Idade: _____

Orientação ao aplicador:

Protocolo adaptado de Tibana e Balsamo (2011). 1º) Iniciando o teste de 1RM, a carga inicial deverá ser aumentada (com descanso intervalado) até que o exercício seja realizado com perfeita execução, técnica e controle motor, de modo a não conseguir exceder 01 repetição.

LISTA DE EXERCÍCIOS <i>(por ordem alfabética)</i>		1RM*	SOBRECARGA A SER APLICADA <i>[70% (12 RM) a 80% (08 RM)]</i>	PROGRESSÃO** DE SOBRECARGA										
				SEMANA***										
Afundo unilateral livre com anilha				2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Agachamento na barra smith														
Cadeira abdutora														
Cadeira adutora														
Cadeira extensora														
Cadeira flexora														
Elevação lateral com halteres														
Hack machine														
Leg press 45° de inclinação														
Levantamento terra sumô com barra reta														
Mesa flexora														
Puxada alta com triângulo														
Remada baixa supinada com barra reta														
Remada curvada livre com barra reta														
Rosca alternada com halteres														
Stiff com halteres														
Triceps corda polia alta														

*Uma repetição máxima (1RM).

** Considerando as especificidades de cada participante e a depender da exigência de controles de gestos motores musculares, sob o olhar do aplicador, seja em modalidade presencial ou sobre o acompanhamento de planilha *on-line*, sempre que for possível serão feitas progressões de sobrecarga semanais, por exercício, focando no aumento de sobrecarga do último marcador de sobrecarga, para a repetições indicadas no protocolo de EFR.

*** Havendo progressão de sobrecarga semanalmente, anotar a quantidade de sobrecarga que foi aumentada, na coluna correspondente ao número da semana em que a progressão foi feita. Essas anotações de progressões de sobrecarga semanais serão feitas dentro dos Anexos G, H, I, J.

Comentário da equipe: _____

Referência: TIBANA, Ramires Alsamir; BALSAMO, Sandor. Manipulation of the order of exercises in the prescription of resistance training. v. 10, n. 1. Brazilian Journal of Exercise Physiology, 2011. Disponível em: https://t.search.yahoo.com/_ylt=AwrhVN3XCmNnCAIAYMPz6Qt._ylu=Y29sbwNiZjEEcG9zAzEEdnRpZAMEc2VjA3Ny/RV=2/RE=1735753687/RO=10/RU=https%3a%2f%2fresearch.amanote.com%2fpublication%2fPYw103MBKQv%2fBhQMzU%2fmanipulao-da-ordem-dos-exercicios-na-prescrio-do-treinamento-resistido/RK=2/RS=7sCellAZ45GrLpPOZVwGojV8p3E-. Acesso em: 10 dez, 2024.

APÊNDICE G - Ficha de treino, com acompanhamento da progressão do desempenho físico e registro de presença as participantes do GTO submetidas a aplicação do bi-set tradicional, disponibilizado as participantes por meio digital

AMBIENTE VIRTUAL DE TREINOS

ACOMPANHAMENTO DO GRUPO DE TREINAMENTO *ON-LINE* COM APLICAÇÃO DO BI-SET TRADICIONAL

IDENTIFICAÇÃO									
	Participante:						Idade:		OM3 Academia e Centro de Fitness LTDA
	Configuração do treino: (X)A (X)B (X)C ()D ()E ()F ()G						Você realizará 3 treinos semanais, durante 12 semanas.		

[illegible][illegible]

TREINO: C																		
ORDEM	EXERCÍCIO 	REPETIÇÕES	SÉRIES	DESCANSO 	1RM	SOBRECARGA 												OBSERVAÇÃO 
						SEMANA												
						1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
1° BST	CADEIRA ABDUTORA	08 a 12	03	01 minuto														
	CADEIRA ADUTORA	08 a 12																
2° BST	STIFF COM HALTERES	08 a 12	03	01 minuto e 30 segundos														
	CADEIRA FLEXORA	08 a 12																
3° BST	LEVANTAMENTO TERRA SUMÔ COM BARRA RETA	08 a 12	03	01 minuto e 30 segundos														
	HACK MACHINE	08 a 12																
PRESENÇA																		

OBRIGADO POR CONFLAR EM MEU TRABALHO E POR ESTAR PARTICIPANDO DESTA PESQUISA!
ESTOU FELIZ POR TER VOCÊ AQUI!
(Luís Alberto Garcia).

Prezada participante:

ORIENTAÇÃO: O campo “observação” é destinado ao seu preenchimento, reenvie-o a cada treino. Coloque nele tudo aquilo que tu achares pertinente. A título de exemplo, devem ser descritas/apontadas as dificuldades na execução, falhas (concêntricas e/ou excêntricas) e não alcance das repetições, encerramento precoce do treino, problemas de saúde durante o treino, dentre outras. Para qualquer eventualidade de saúde durante o treino, o qual venha a te causar mal estar, suspenda-o, solicite auxílio para atendimento ao seu quadro e comunique o pesquisador responsável.

SOBRECARGA: Considerando as especificidades de cada participante e a depender da exigência de controles de gestos motores musculares, sob o olhar do aplicador sobre o acompanhamento desta planilha, sempre que for possível serão feitas progressões de sobrecarga semanalmente, por exercício, focando no aumento de sobrecarga do último marcador de sobrecarga, para a repetições indicadas no protocolo de EFR. Havendo progressão de sobrecarga semanalmente, anotar a quantidade de sobrecarga que foi aumentada, na coluna correspondente ao número da semana em que a progressão foi feita.

ACESSIBILIDADE: Este [link](#) te dará acesso aos seus treinos. Salve-o em seu dispositivo de armazenamento interno.

REGISTRO DE PRESENÇA: A cada treino (tendo em vista que as 12 semanas de duração da pesquisa são compostas por 3 treinos semanais), você deverá escrever no campo “presença” (em atenção a semana e ao treino) *sim* ou *não*. O não envio gerará falta e, tendo 4 consecutivas não alcançando o mínimo de 75% de frequência, acarretará o desligamento da sua participação na pesquisa.

DÚVIDAS E/OU CONTATO: No surgimento de quaisquer dúvidas e/ou contato, envie mensagem de texto ou ligue pelo telefone WhatsApp® (54) 9 9952-5298.

—**Siglas não explicitadas na tabela:** Grupo de treinamento *on-line* (GTO). Uma repetição máxima (1RM). Bi-set tradicional (BST).

APÊNDICE H - Ficha de treino, com acompanhamento da progressão do desempenho físico e registro de presença as participantes do GTO submetidas a aplicação do bi-set composto, disponibilizado as participantes por meio digital

AMBIENTE VIRTUAL DE TREINOS

ACOMPANHAMENTO DO GRUPO DE TREINAMENTO *ON-LINE* COM APLICAÇÃO DO BI-SET COMPOSTO

IDENTIFICAÇÃO									
	Participante:					Idade:		OM3 Academia e Centro de Fitness LTDA	
	Configuração do treino: (X)A (X)B (X)C ()D ()E ()F ()G					Você realizará 3 treinos semanais, durante 12 semanas.			

[illegible][illegible]

TREINO: C																		
ORDEM	EXERCÍCIO 	REPETIÇÕES	SÉRIES	DESCANSO 	1RM	 SOBRECARGA												OBSERVAÇÃO 
						SEMANA												
						1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
1º BSC	CADEIRA ABDUTORA	08 a 12	03	01 minuto														
	CADEIRA ADUTORA	08 a 12																
	CADEIRA ABDUTORA	08 a 12																
2º BSC	STIFF COM HALTERES	08 a 12	03	01 minuto e 30 segundos														
	CADEIRA FLEXORA	08 a 12																
	STIFF COM HALTERES	08 a 12																
3º BSC	LEVANTAMENTO TERRA SUMÔ COM BARRA RETA	08 a 12	03	01 minuto e 30 segundos														
	HACK MACHINE	08 a 12																
	LEVANTAMENTO TERRA SUMÔ COM BARRA RETA	08 a 12																
					PRESENÇA													

OBRIGADO POR CONFIAR EM MEU TRABALHO E POR ESTAR PARTICIPANDO DESTA PESQUISA!
ESTOU FELIZ POR TER VOCÊ AQUI!
(Luís Alberto Garcia).

Prezada participante:

ORIENTAÇÃO: O campo “**observação**” é destinado ao seu preenchimento, reenvie-o a cada treino. Coloque nele tudo aquilo que tu achares pertinente. A título de exemplo, devem ser descritas/apontadas as dificuldades na execução, falhas (concêntricas e/ou excêntricas) e não alcance das repetições, encerramento precoce do treino, problemas de saúde durante o treino, dentre outras. Para qualquer eventualidade de saúde durante o treino, o qual venha a te causar mal estar, suspenda-o, solicite auxílio para atendimento ao seu quadro e comunique o pesquisador responsável.

SOBRECARGA: Considerando as especificidades de cada participante e a depender da exigência de controles de gestos motores musculares, sob o olhar do aplicador sobre o acompanhamento desta planilha, sempre que for possível serão feitas progressões de sobrecarga semanalmente, por exercício, focando no aumento de sobrecarga do último marcador de sobrecarga, para a repetições indicadas no protocolo de EFR. Havendo progressão de sobrecarga semanalmente, anotar a quantidade de sobrecarga que foi aumentada, na coluna correspondente ao número da semana em que a progressão foi feita.

ACESSIBILIDADE: Este *link* te dará acesso aos seus treinos. Salve-o em seu dispositivo de armazenamento interno.

REGISTRO DE PRESENÇA: A cada treino (tendo em vista que as 12 semanas de duração da pesquisa são compostas por 3 treinos semanais), você deverá escrever no campo “presença” (em atenção a semana e ao treino) *sim* ou *não*. O não envio gerará falta e, tendo 4 consecutivas não alcançando o mínimo de 75% de frequência, acarretará o desligamento da sua participação na pesquisa.

DÚVIDAS E/OU CONTATO: No surgimento de quaisquer dúvidas e/ou contato, envie mensagem de texto ou ligue pelo telefone WhatsApp® (54) 9 9952-5298.

—**Siglas não explicitadas na tabela:** Grupo de treinamento *on-line* (GTO). Uma repetição máxima (1RM). Bi-set composto (BSC).

APÊNDICE I - Ficha de treino, com acompanhamento da progressão do desempenho físico e registro de presença as participantes do GTP submetidas a aplicação do bi-set tradicional, disponibilizado a equipe de pesquisa por meio impresso

ACOMPANHAMENTO DO GRUPO DE TREINAMENTO PRESENCIAL COM APLICAÇÃO DO BI-SET TRADICIONAL

Participante:	Idade:	OM3 Academia e Centro de Fitness LTDA	Configuração do treino: A B C	3 treinos semanais, durante 12 semanas
----------------------	---------------	---------------------------------------	-------------------------------	--

[illegible][illegible][illegible]

APÊNDICE J - Ficha de treino, com acompanhamento da progressão do desempenho físico e registro de presença as participantes do GTP submetidas a aplicação do bi-set composto, disponibilizado a equipe de pesquisa por meio impresso

ACOMPANHAMENTO DO GRUPO DE TREINAMENTO PRESENCIAL COM APLICAÇÃO DO BI-SET COMPOSTO

[illegible]

APÊNDICE K - Cartaz de divulgação, convidando à participação na pesquisa

PARTICIPE DA PESQUISA

HIPERTROFIA MUSCULAR EM MULHERES ADULTAS PRATICANTES DE MODALIDADES PRESENCIAIS E ON-LINE: UM ESTUDO PILOTO SOBRE O BI-SET COMPOSTO RESPONSIVO AO SISTEMA PURINÉRGICO

Pesquisador responsável:



Luis Alberto Garcia, educador físico, especialista em treinamento físico e nutrição esportiva, mestrando pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas (PPGCB) da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS).

Equipe de pesquisa:

- Débora Tavares de Resende e Silva, pós-doutora em Imunologia pela Universidade de São Paulo (USP);
- Vinicius Ansolin, discente de enfermagem pela UFFS;
- Josiano Guilherme Puhle, biomédico, educador físico, pedagogo e doutorando pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) da Universidade Comunitária da Região de Chapecó (Unochapecó);
- Adnei Abadio Soares, enfermeiro, especialista em saúde da mulher e discente de medicina pela UFFS.




OBJETIVO

Analisar a hipertrofia muscular produzida pelo efeito do exercício físico resistido (EFR) com a aplicação da técnica bi-set composto nos grupamentos musculares em mulheres adultas praticantes de modalidades presenciais e on-line, em resposta ao sistema purinérgico.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Ser do sexo feminino;
- Estar na faixa etária entre 18 e 40 anos;
- Estar matriculada na OM3 Academia.
- Assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) disponibilizado pelo pesquisador responsável.

CRONOGRAMA

AÇÃO	DATA
Manifestar interesse à participação	19/03/2025 a 28/03/2025.
Avaliação inicial e coleta de dados pré-intervenção	01/04/2025 a 05/04/2025
Teste de 1RM	14/04/2025 a 19/04/2024
Aplicação do protocolo de intervenção (treinamento físico)	14/04/2025 a 05/07/2025.
Avaliação final e coleta de dados pós-intervenção	05/07/2025 a 06/07/2025.

LOCAL

O treinamento, as coletas de sangue, a aplicação do questionário e as medições físicas (tudo o que designa a sua participação) ocorrerá nas dependências da OM3 Academia de Nonoai-RS.

Rua Giacomo Furlan, Nonoai - RS, 99600-000

ORGANIZAÇÃO

Haverá uma divisão em dois grupos: Grupo de treinamento presencial (GTP) e grupo de treinamento on-line (GTO). Uma parte de cada grupo terá a aplicação da técnica de bi-set composto, e a outra parte terá a aplicação da técnica de bi-set tradicional.

IMPORTANTE SABER

Você não receberá remuneração e nenhum tipo de recompensa nesta pesquisa, sendo sua participação voluntária. Serão garantidas a confidencialidade e a privacidade das informações por você prestadas.

SOBRE A PARTICIPAÇÃO

- Você participará de um protocolo de EFR em 12 semanas - 3 sessões (de 60 minutos) semanais.
- Você responderá um questionário (anamnese) presencialmente e em folha impressa (20 minutos);
- Você irá realizar 2 coletas de sangue, e 2 medições físicas (ambas, no início e ao fim do estudo).

BENEFÍCIOS

Redução da gordura do seu corpo e aumento da massa magra (músculos), bem como aumento da disposição para realizar tarefas de vida diária, melhora da concentração, equilíbrio, força muscular e aptidão cardiorrespiratória, dentre outros. Ademais, você terá acesso a análises bioquímicas e acompanhamento físico, sem custos, que podem fornecer informações úteis para a sua saúde.

ÉTICA EM PESQUISA

Esta pesquisa possui aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEP) no dia __/__/__, sob o Certificado de Apresentação de Apreciação Ética (CAEE): _____ e sob o Número do Parecer de aprovação no CEP/UFFS: _____

COMO PARTICIPAR?

Para dúvidas ou manifestação de interesse em participar, entre em contato com o pesquisador responsável através do endereço eletrônico de e-mail*:

garcia.luis.ppg@gmail.com

 Sua participação é muito importante para nós!

Instituições envolvidas/Agradecimentos:





UFFS

PPGCB

GOVERNO FEDERAL

Ministério da Saúde

União e Reconstrução

ANEXOS

ANEXO A - Questionário (Anamnese)

ANAMNESE (PÚBLICO FEMININO)

1. Informações pessoais:

Nome: _____, Telefone pessoal: () _____ - _____. Idade: _____.
 Data de nascimento: ____/____/____. Residência atual: _____.
 Profissão: _____. Tipo de esforço físico: () Sedentário; () Leve; () Moderado; () Pesado.

2. Informações familiares:

Nome da pessoa a ser contatada no caso de uma emergência: _____.
 Telefone: () _____ - _____. Parentesco: _____. Cidade/Estado: _____.

3. Informações médicas:

Nome do médico pessoal: _____. Especialidade: _____. Telefone: () _____ - _____.
 Cidade onde o consultório está localizado: _____.
 Queira prestar as seguintes informações:

Histórico familiar		Histórico pessoal		Sintomas	
Algum membro familiar próximo já sofreu:		Você já teve:		Você já teve:	
Ataque do coração	()Sim ()Não	Pressão arterial elevada	()Sim ()Não	Dor torácica	()Sim ()Não
Cirurgia cardíaca	()Sim ()Não	Colesterol alto	()Sim ()Não	Falta de ar	()Sim ()Não
Endoprótese (stend)	()Sim ()Não	Diabetes	()Sim ()Não	Palpitações	()Sim ()Não
Coronariana	()Sim ()Não	Algum problema com o coração	()Sim ()Não	Ausência de alguns batimentos cardíacos	()Sim ()Não
Cateterismo Cardíaco	()Sim ()Não	Doença das artérias	()Sim ()Não	Dor intermitente na perna	()Sim ()Não
Defeito congênito do coração	()Sim ()Não	Doença da tireoide	()Sim ()Não	Tontura ou desmaio	()Sim ()Não
AVC	()Sim ()Não	Doença pulmonar	()Sim ()Não	Fadiga - com atividades habituais	()Sim ()Não
Outros:		Asma	()Sim ()Não	Dor nas costas	()Sim ()Não
		Câncer	()Sim ()Não	Problemas ortopédicos	()Sim ()Não
		Doença renal	()Sim ()Não	Outros:	
		Hepatite	()Sim ()Não		
		Outros:			

Você está tomando alguma medicação de prescrição controlada (incluindo pilulas anticoncepcionais) ou de venda livre? Sim () Não (). Para cada uma das suas atuais medicação, queira prestar a seguinte informação:

Medicação	Posologia – vezes/dia	Hora da administração	Anos com a medicação	Motivo da administração

4. Hábitos relacionados ao estilo de vida:

Você costuma ter falta de ar desconfortável durante o exercício ou quando em atividades? () Sim; () Não.
 Você tem desconforto torácico durante exercícios? () Sim; () Não. Caso afirmativo, alivia ao repousar? () Sim; () Não.
 Você adota um plano dietético para redução de peso? () Sim; () Não. Caso afirmativo, há quanto tempo vem fazendo dieta? _____ meses; E, o plano foi prescrito por especialista da área? () Sim; () Não.

Queira responder uma autoavaliação sobre seu estilo de vida:

Referência	Nota (0 a 10)	Referência	Nota (0 a 10)	Referência	Nota (0 a 10)
Dedicação		Álcool		Estresse	
Saúde		Sal		Intestino	
Sono		Água		Alimentação	

5. Avaliação do nível de atividade física:

Você participa de alguma atividade física vigorosa em bases regulares? () Sim; () Não (). Caso afirmativo, qual(is) tipo(s)? _____. Quantos dias por semana? _____. Possui acompanhamento profissional? () Sim; () Não.
 Quanto tempo diário? () <15 minutos; () 15-30 minutos; () 31 a 60 minutos; () >60 minutos. Período em que você participou desse tipo de atividade? () 3 meses; () 3 a 12 meses; () >1ano.
 Qual a sua meta e seus objetivos em praticar exercício físico? _____.

6. Comentários da equipe: _____

ANEXO B - Parâmetros e critérios de níveis de treinamento

PARÂMETROS E CRITÉRIOS UTILIZADOS				
	Iniciante	Intermediário	Avançado	Altamente treinado
Tempo de treino sem interrupção	Até 2 meses	2-12 meses	1-3 anos	Pelo menos 3 anos
Destreino	8 meses	4-8 meses	1-4 meses	Treinado
Experiência prévia	Até 2 meses	2-12 meses	1-3 meses	Pelo menos 3 meses
Técnica	Ruim	Moderada	Boa	Excelente

Fonte: Santos *et al.* (2021).

ANEXO C - Protocolo de validação de transporte de amostras biológicas sob refrigeração, em atenção às regulamentações ANVISA



PROTOCOLO DE VALIDAÇÃO DE TRANSPORTE DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS SOB REFRIGERAÇÃO

Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Chapecó
Laboratório de pesquisa biológica, número 105



Protocolo de validação de transporte de amostras biológicas sob refrigeração

Primeira versão

Campo 4: Número do documento

Neste campo deve constar o número ou código alfanumérico a ser definido pela instituição.

Campo 5: Elaborado por

Neste campo deve constar o nome e o cargo da pessoa ou das pessoas que elaboraram o documento. Deve constar também a data em que foi concluída a elaboração do documento, com sua respectiva aprovação.

Nome: _____ Nome: _____

Cargo: _____ Cargo: _____

Data: _____ Data: _____

Campo 6: Aprovado por

Neste campo deve constar o nome e o cargo da pessoa ou das pessoas que aprovaram o documento. Deve constar também a data em que foi concluída a aprovação do documento.

Nome: _____ Nome: _____

Cargo: _____ Cargo: _____

Data: _____ Data: _____



	Nome da instituição: Universidade Federal da Fronteira Sul, <i>Campus</i> Chapecó			
	Título: Protocolo de validação de transporte de amostras biológicas sob refrigeração			
	Número:	Revisão:	Data de aprovação:	Data de vigência:
				Folha 1/2

1 – INTRODUÇÃO

Este protocolo estabelece os critérios e procedimentos para a validação do transporte de amostras biológicas sob refrigeração, em conformidade com a RDC 20/2014 da ANVISA. A validação é essencial para garantir a integridade e estabilidade das amostras durante o transporte, garantindo a conformidade com as normas vigentes e de segurança sanitária.

2 – OBJETIVOS

Objetivo geral: Garantir a segurança, integridade e qualidade das amostras biológicas transportadas sob refrigeração.

Objetivos específicos: 1) Validar o sistema de embalagem e refrigeração utilizado no transporte; 2) Validar as configurações de temperatura e tempo de transporte; 3) Certificar a conformidade com as normas sanitárias aplicáveis, conforme a RDC 20/2024 e a PI 650.

3 – ABRANGÊNCIA E RESPONSABILIDADES

Áreas envolvidas no estudo de validação, bem como no processo de transporte: Laboratório de Pesquisa Biológica, número 105, UFFS – *Campus* Chapecó, e Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas da UFFS *Campus* Chapecó. Pessoa envolvida no processo de transporte: Luís Alberto Garcia.

Responsabilidade do remetente: Preparar, embalar e documentar amostras para transporte. Responsabilidade do transportador: Garantir a integridade das amostras durante o transporte, seguindo os Procedimentos Operacionais Padrão (POP). Responsabilidade do destinatário: Receber, registrar e armazenar as amostras em condições adequadas.

4 – REFERÊNCIAS

RDC 20/2014 – Regulamento sanitário para transporte de material biológico humano.

Instruções de Embalagem PI 650 – Requisitos de transporte para substâncias biológicas da categoria B.

Manual da ANVISA sobre transporte de material biológico (2015).

 UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL CAMPUS CHAPECÓ	Nome da instituição: Universidade Federal da Fronteira Sul, <i>Campus Chapecó</i>				
	Título: Protocolo de validação de transporte de amostras biológicas sob refrigeração				
	Número:	Revisão:	Data de aprovação:	Data de vigência:	Folha 2/3

PROCEDIMENTO

5.1 – Processos de transporte

Embalagem tripla: recipiente primário, embalagem secundária e embalagem externa.

Uso de materiais refrigerantes como gelo reciclável para manter a temperatura entre 2°C e 8°C.

5.2 – Condições de armazenamento e transporte de sangue e componentes

As amostras serão mantidas entre 2°C e 8°C durante o transporte. O monitoramento da temperatura será realizado com medições calibradas, com registro contínuo.

5.3 – Materiais

Caixas de transporte aprovadas pela ANTT/INMETRO.

Material absorvente para evitar vazamentos.

5.4 – Processo de validação

Planejamento do transporte: A rota definida é de Nonoai-RS até Chapecó-SC, com duração estimada de 1h30min a 2h em condições normais de trânsito. As condições climáticas serão monitoradas previamente para garantir a estabilidade durante o transporte.

Acondicionamento: Utilização do sistema triplo de embalagem, tendo 1) Destinatário primário (tubos de coleta estéreis selados); 2) Embalagem secundária (bolsa plástica resistente, selada hermeticamente com material absorvente interno); 3) Embalagem externa (caixa com isolamento térmico, aprovada pela ANTT/INMETRO. Uso de material refrigerante (gelo reciclável) para manter a temperatura entre 2°C e 8°C.

Validação do procedimento: Realização de três transportes consecutivos com as mesmas condições de tempo e temperatura. Monitoramento contínuo da temperatura com tabelas calibradas distribuídas nas extremidades e centro da embalagem. Parâmetros monitorados 1) Temperatura: A faixa ideal deve permanecer entre 2°C e 8°C durante todo o transporte, caso a temperatura ultrapasse esse intervalo, o transporte será considerado inválido; 2) Tempo de transporte: O tempo máximo será de 2 horas.

CrITÉRIOS de aceitação: A temperatura deve permanecer estável dentro da faixa especificada. O tempo de transporte não deve exceder o estipulado. Não deverá ocorrer vazamentos ou alterações físicas nas amostras ou embalagens.

Materiais e configuração da embalagem: A capacidade de transporte será de no mínimo 10 amostras por caixa e de no máximo 50 amostras por caixa. O material refrigerante será gelo reciclável, com 4 bolsas de 500g distribuídas uniformemente ao redor da embalagem secundária.

Distribuição dos termômetros: Seão posicionados, um no topo da embalagem interna, um no centro (entre as amostras), um na base da embalagem interna.

Execução das corridas de validação: Primeira corrida: Coleta e transporte com monitoramento completo. Segunda corrida: Repetição nas mesmas condições. Terceira corrida: Ajustes conforme os resultados das duas anteriores, se necessário.

6 – CONTROLES DE MUDANÇA

Qualquer alteração no processo de transporte ou embalagem será precedida por uma nova validação, com ajustes documentados no protocolo.