



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito do café com leite nas vias de utilização glicídica e recuperação do glicogênio muscular no pós-treino de ciclismo.

Pesquisador: Lais Loureiro

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 57059216.1.0000.0030

Instituição Proponente: FACULDADE DE SAÚDE - FS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.657.099

Apresentação do Projeto:

"Resumo

O café é uma das bebidas mais consumidas no mundo com evidências do efeito benéfico de seu consumo no metabolismo de glicose. O café, quando consumido antes do exercício físico, melhora o desempenho de resistência e reduz a percepção da fadiga. Substâncias presentes no café, quando consumidas após o exercício físico, podem ter um papel estimulador no metabolismo da glicose e consequentemente, na recuperação do glicogênio muscular. No Brasil o café é comumente consumido com leite. O leite, por sua vez, é um alimento rico em carboidratos e aminoácidos essenciais e seus benefícios na recuperação pós-treino já foram comprovados. Baseado nestas evidências, o objetivo deste projeto é investigar os efeitos do café com leite adoçado consumido após exercício físico intenso sobre o metabolismo da glicose, enzimas glicogênicas e deposição de glicogênio muscular. Para tanto, será desenvolvido um estudo clínico-laboratorial, cruzado e randomizado, com amostra de 11 ciclistas/triatletas treinados. O estudo será desenvolvido nos Laboratórios da Universidade de Brasília, Distrito Federal. Os indivíduos convidados serão randomizados em dois tratamentos: (1) café com leite e açúcar ou (2) água com leite e açúcar. Os atletas aprovados na triagem comparecerão ao laboratório para os testes preliminares: avaliação do consumo alimentar e determinação do VO₂MAX e pico de potência no

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde - Campus Darcy Ribeiro

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.910-900

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3107-1947

E-mail: cepfsunb@gmail.com



exercício (cicloergometro). Na véspera do experimento (12h) eles executarão um protocolo de redução das reservas de glicogênio muscular com ciclo-ergometria intermitente até a fadiga. Na manhã do experimento os voluntários comparecerão ao laboratório em jejum e será feita uma coleta de sangue inicial. O médico aplicará anestesia local para posterior biópsia do músculo vasto lateral, que permitirá a análise do conteúdo de glicogênio muscular e do perfil de expressão gênica das vias de sinalização. Após repouso os participantes realizarão atividade de ciclismo a 70% do VO₂Max até fadiga voluntária. Quando cessarem o exercício será feita a primeira biópsia e a segunda coleta de sangue. Em seguida, será iniciado o período de recuperação de 5 horas no qual os atletas receberão a bebida teste e uma refeição padronizada nos moldes de um café da manhã. A bebida com café e leite será formulada para atender as necessidades nutricionais no pós-treino de atletas e tem potencial tecnológico. A primeira dose da bebida será fornecida após 5 minutos após o término da atividade de ciclismo. Em 60 minutos será fornecida a segunda dose da bebida e em 120 minutos, a terceira dose, acompanhada da refeição. As coletas de sangue serão realizadas na recuperação nos tempos 30, 60, 90, 120, 180, 240 e 300min. A segunda biópsia será feita no tempo 300min. A duração total de cada um dos experimentos será de 6 horas com período de separação (wash-out) entre os tratamentos de uma a duas semanas. Serão determinados os níveis de glicose e insulina na curva de tempo (300min.). No período posterior a 60 minutos após a bebida ou refeição será dosado o GLP-1. Também será dosada a concentração de cafeína no plasma dos voluntários por HPLC. As amostras de tecido muscular obtidas pelas biópsias possibilitarão a dosagem do glicogênio muscular antes e depois do consumo das bebidas teste, quantificação das proteínas de interesse do metabolismo glicídico e determinação da expressão gênica destas mesmas proteínas (CAMK, AMPK, AKT, PGC-1 ALFA, hexokinase, G6PDH). Uma segunda fração do tecido muscular será utilizada para determinação dos níveis de fosfocreatina muscular (PCr), ATP, creatina e lactato por técnica de fluorimetria. Para quantificação de proteínas no tecido será utilizada a técnica Western blotting. Para verificação da expressão gênica das proteínas serão utilizadas as técnicas de extração de RNA total, PCR em tempo real (RT-PCR: reverse transcriptase - polymerase chain reaction) e Análise por Reação em Cadeia Polimerase (q PCR). Na análise dos resultados serão aplicados os testes ANOVA com medidas repetidas, complementado por Newman-Keuls em caso de variáveis com distribuição simétrica; e Friedman, complementado por Dunn em caso de distribuição assimétrica. O nível de significância adotado será de 5%."

Desenho

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde - Campus Darcy Ribeiro

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.910-900

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3107-1947

E-mail: cepfsunb@gmail.com



E um estudo clinico-laboratorial, duplo cego, cruzado e randomizado com dois tratamentos sequenciais: cafe com leite e acucar ou agua com leite e acucar. Os atletas aprovados na triagem inicial, e que concordarem com os termos do protocolo, comparecerao pela manha, em jejum, para coleta de sangue e verificacao dos dados bioquimicos, alem de medidas antropometricas, como estatura e massa corporal para calculo do IMC (Indice de Massa Corporal). O conteudo de gordura corporal sera medido com bioimpedancia eletrica multifrequencial (InBody modelo 720). Posteriormente sera realizado o teste incremental cardiopulmonar no Laboratorio de Fisiologia do Exercicio da Faculdade de Educacao Fisica (FEF/UnB), com vistas na determinacao do consumo maximo de oxigenio, limiares ventilatorios e potencia gerada nos respectivos limiares e no pico do esforco (HAWLEY; NOAKES, 1992). Na noite anterior ao experimento eles comparecerao ao laboratorio novamente a fim de reduzirem suas reservas de glicogenio muscular por meio do teste intermitente em cicloergometro ate a fadiga, de acordo com a intensidade individual verificada no teste incremental cardiopulmonar. Apos este momento eles deverao seguir um plano alimentar elaborado pelos nutricionistas, com reduzido teor de carboidratos (1,2 g/kg de peso corporal de carboidratos; 0,8 g/kg de peso de proteinas e 1,4 g/kg de peso de lipideos). Na manha do experimento os voluntarios comparecerao ao laboratorio em jejum. Um cateter sera posicionado no braco para coleta das amostras de sangue, sendo a primeira feita no momento da insercao do cateter. Um profissional qualificado (medico) aplicara anestesia na pele, tecido subcutaneo e musculo vasto lateral para posterior biopsia. A biopsia muscular permitira a analise do conteudo de glicogenio muscular e do perfil de expressao genica das vias de sinalizacao relacionadas a recuperacao do glicogenio muscular. Na sequencia, apos 10 minutos em repouso, os participantes procederao a deplecao de glicogenio ate fadiga voluntaria. Durante este periodo poderao consumir agua ad libitum. Quando cessarem o exercicio sera feita a primeira biopsia e a segunda coleta de sangue. Em seguida, sera iniciado o periodo de recuperacao de 5 horas. O total de carboidrato e proteina por kg de peso sera de 1,2g/kg de peso corporal e 0,3g/kg de peso, respectivamente; e toda a refeicao oferecida apos o exercicio respeitara a proporcao de 4:1 de carboidrato e proteina, que e associada a melhor recuperacao muscular apos o exercicio (STELLINGWEFF, 2011). A primeira dose da bebida sera fornecida apos 5 minutos de descanso. Em 60 minutos sera fornecida a segunda dose da bebida e em 120 minutos, a terceira dose, acompanhada de uma refeicao padronizada nos moldes de um cafe da manha. As coletas de sangue serao realizadas durante a recuperacao nos tempos 30, 60, 90, 120, 180, 240 e 300min. A segunda biopsia sera feita no tempo 300min, considerado suficiente para ressintese de glicogenio muscular (FUCHS et al., 2016). A duracao total de cada experimentos sera de 6 horas e um periodo de separacao entre

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde - Campus Darcy Ribeiro

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.910-900

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3107-1947

E-mail: cepfsunb@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.657.099

os tratamentos sera de uma a duas semanas. Os dois tratamentos serao ordenados previamente de forma randomizada entre os voluntarios e eles serao cegados quanto ao tipo de bebida. A pressao arterial braquial e a frequencia cardiaca serao monitoradas com um oscilometro digital de pressao. Durante o experimento os voluntarios serao acompanhados por um medico, que garantira a correta execucao destes procedimentos e monitoramento do voluntario. O consumo alimentar sera avaliado por meio da aplicacao de tres recordatorios alimentares em dias nao consecutivos, sendo dois durante a semana e um no final de semana. A frequencia de consumo de alimentos de interesse sera aferida por um questionario de frequencia alimentar. Os participantes da pesquisa deverao assinar um TCLE apos todos os esclarecimentos sobre o estudo.

Amostra:

O desenho experimental e o tamanho amostral estao baseados na distribuicao randomizada dos sujeitos em dois tratamentos sequenciais: cafe com leite e acucar ou agua com leite e acucar. Considerando como variavel principal a taxa de ressintese de glicogenio muscular, utilizou-se para fim do calculo do tamanho amostral o glicogenio muscular (mmol/kg de materia seca) que sera captado pela extracao da biopsia muscular com base nos resultados encontrados por Pedersen et al.,(2008). Foi utilizado o programa G Power versao 3.1.9.2 (Universidade de Dusseldorf, Alemanha) adotando poder estatistico de 95% e nivel de significancia de 5% no qual resultou em 11 participantes.

No caso do voluntario que por ventura desista do protocolo sera recolocado por novo recrutamento, seguindo a sequencia de randomizacao dos dois tratamentos. Assim, considerando que podemos ter desistencias adotamos o tamanho amostral de 14 sujeitos para as estimativas de despesas.

Participantes de pesquisa:

Serao recrutados homens eutroficos, ciclistas ou triatletas, de peso corporal estavel, saudaveis e consumidores de cafe e de leite. Os participantes podem ter idade entre 25 e 35 anos, deverao ser nao-fumantes e manter consumo de alcool inferior a 21 unidades/semana. Todos deverao ser atletas de ciclismo ou triatletas experientes, profissionais ou amadores, com treinamento regular, mantendo um total de 15 a 20 horas de treino por semana (> 250 km/semana).

Criterio de exclusao

O consumo de cafe sera previamente avaliado e individuos com consumo superior a 500mg de cafeina/dia nos ultimos tres meses (~5 xicaras de cafe ou cha, refrigerantes a base de cola ou pilulas de cafeina) serao excluidos. Serao excluidos tambem aqueles que apresentarem qualquer condicao medica, apresentem intolerancias ou alergias alimentares ou estejam em tratamento

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde - Campus Darcy Ribeiro

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.910-900

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3107-1947

E-mail: cepfsunb@gmail.com



medicamentoso que interfira nos resultados dos testes; ou ainda, aqueles que não concordarem com o explicitado pelo termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) durante a entrevista.

Metodologia Proposta:

O teste incremental cardiopulmonar será realizado em cicloergometro de frenagem mecânica com simultânea análise metabólica dos gases expirados em circuito aberto K4b2 (Cosmed, Itália). As variáveis cardiopulmonares como consumo máximo de oxigênio (VO_{2max}), produção de dióxido de carbono (VCO_2) e quociente respiratório (R) serão calculadas pelas trocas gasosas. No protocolo de depleção do glicogênio muscular os voluntários iniciarão o exercício por 2 minutos a 90% do pico de potência, seguido de 2 minutos de recuperação a 50% da potência. Este protocolo de ataque e recuperação será mantido até que os voluntários não sejam mais capazes de manter uma cadência de 60 rotações por minuto (rpm). Neste momento a fase de ataque será reduzida a 80% da potência, em seguida 70% e 60%. Assim, quando os atletas não conseguirem mais completar os 2 minutos a 60% da potência o protocolo estará terminado (MCINERNEY et al., 2005). A bebida teste será preparada com 50% leite semidesnatado e 50% café filtrado (ou água), além do açúcar. A bebida será servida gelada contendo 8mg de cafeína por quilograma de peso do voluntário. O café será preparado na concentração de 10g de pó para cada 100mL de água fervente. O voluntário será informado de que serão 4 possibilidades de tratamento (café com açúcar, leite com água e açúcar, café com leite e açúcar e água com açúcar) e ele será sorteado e só receberá duas das opções nos dois dias de experimento. No entanto, os únicos testes serão com café com leite e açúcar ou água com leite e açúcar. Caso os atletas recebam leite no primeiro dia de experimento, eles não terão certeza de que no segundo dia receberão leite com café, para não se esforçarem de forma distinta no exercício sabendo que receberão cafeína no fim do experimento. No procedimento da biópsia será extraída uma porção (aproximadamente 100mg) da parte mais volumosa do músculo vasto lateral. A área terá seus pelos removidos com o uso de lâminas descartáveis. O médico responsável fará anestesia do local com xilocaína a 1%. Utilizando uma pequena lâmina de bisturi (nº11) esterilizada e descartável ele fará uma incisão de aproximadamente 0,5 cm de extensão na pele e na fáscia do músculo a ser biopsiado. A agulha de biópsia esterilizada será então inserida através do orifício. Seguido de uma pequena sucção, com uma seringa de 120cc, um pequeno pedaço de músculo será puxado para o interior da agulha e cortado para ser então removido juntamente com a agulha. A incisão será então fechada com fita adesiva esterilizada e coberta com uma atadura. A partir das amostras de sangue serão determinadas glicose e insulina na curva de tempo. No período posterior a 60 min após o consumo da bebida teste será dosado o nível de glucagon-like peptide 1 (GLP-1), além de lactato,

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde - Campus Darcy Ribeiro

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.910-900

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3107-1947

E-mail: cepfsunb@gmail.com



epinefrina e peptídeo C. Também será dosada a concentração de cafeína no plasma dos voluntários seguindo os padrões laboratoriais da metodologia HPLC (COX et al., 2002). As amostras de tecido muscular serão divididas em frações. Uma delas será utilizada para determinação do glicogênio muscular por análise enzimática com detecção fluorimétrica. A outra fração do tecido muscular será utilizada para determinação dos níveis de fosfocreatina muscular (PCr), ATP, creatina, lactato pela técnica de fluorimetria e proteínas de interesse do metabolismo glicídico e determinação da expressão gênica destas mesmas proteínas (CAMK, AMPK, AKT, PGC-1 ALFA, hexokinase, G6PDH). As proteínas serão dosadas pela técnica de Western blotting, com o kit "BCA protein assay" (Pierce, Rockford, IL). A extração de RNA total muscular será feita utilizando o reagente Trizol (Gibco). Após o isolamento do RNA, será realizada a transcrição reversa (RT) utilizando 1 µg de RNA total. Em seguida, diferentes frações das RTs serão utilizadas na amplificação em cadeia por polimerase (PCR). As concentrações de AMP e ADP livres serão calculadas com base no equilíbrio das reações de adenilato quinase e creatina quinase (DUDLEY; TULLSON, 1987).

Avaliação Bioquímica

Análises bioquímicas serão conduzidas por laboratório de análises clínicas credenciado. Serão determinadas glicose e insulina na curva de tempo em método automatizado visando utilizar pequeno volume de amostra. No período posterior a 60 min após bebida teste será dosado o nível de glucagon-like peptide 1 (GLP-1) para caracterizar o efeito incretínico do hormônio com o consumo do café, além de lactato, epinefrina e peptídeo C. Também será dosada a concentração de cafeína no plasma dos voluntários seguindo os padrões laboratoriais da metodologia HPLC (COX et al., 2002), utilizada por Pedersen et al., (2008) com os recursos de aparelhagem disponível no Laboratório de Análise de Alimentos, Núcleo de Nutrição da Universidade de Brasília.

Análise do tecido muscular

As amostras de tecido muscular obtidas pelas biópsias possibilitarão a dosagem do glicogênio muscular antes e depois do consumo das bebidas teste e determinação da expressão gênica das proteínas de interesse do metabolismo glicídico. As amostras de tecido muscular serão divididas em frações. Uma delas será incubada em ácido hidrocloreídrico e depois neutralizada com hidróxido de sódio para subsequente determinação do glicogênio muscular por análise enzimática com detecção fluorimétrica. A concentração de glicogênio será expressa em milimoles por quilograma de peso seco. A taxa de ressíntese de glicogênio será calculada pela diferença entre as duas biópsias. Uma segunda fração do tecido muscular será utilizada para determinação dos níveis de fosfocreatina muscular (PCr), ATP, creatina e lactato por técnica de fluorimetria. As

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde - Campus Darcy Ribeiro

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.910-900

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3107-1947

E-mail: cepfsunb@gmail.com



concentrações de AMP e ADP livres serão calculadas com base no equilíbrio das reações de adenilato quinase e creatina quinase (Dudley et al., 1987). Para quantificação de proteínas no tecido será utilizada a técnica Western blotting. A extração de proteínas será realizada com um tampão de lise (Tris 10 mM, NaCl 10 mM, EDTA 0,1 mM, Triton x-100 0,5%, NaN₃ 0,002%, PMSF 0,2 mM, coquetel de inibidores 1:1000 – Protease Inhibitory Complete, Roche). Será utilizada a proporção de 25x o volume de tampão de lise por miligrama de tecido. Os fragmentos musculares serão homogeneizados e incubados no gelo por 1 h. Após, o extrato será centrifugado (-4°C, 10 min., 13.000 rpm). As proteínas serão quantificadas utilizando o kit “BCA protein assay” (Pierce, Rockford, IL) e estocadas em freezer a -20°C. As amostras serão reduzidas em banho seco (100°C) e com adição de tampão de amostra contendo - mercaptoetanol. Em seguida serão resolvidas por eletroforese em gel de poliacrilamida SDS-page 15% e eletro-transferidas em membrana de nitrocelulose (Amersham Biosciences; Piscataway, NJ) (tampão de transferência: Tris 25 mM, glicina 0,75 mM, metanol 20 %, pH 7,7). Para verificar a eficiência da transferência a membrana do blot será corada com Ponceau (5%) e incubada com solução de bloqueio (leite desnatado 5%, 10 mM Tris- HCl, pH 7,6, NaCl 150 mM e Tween 20 0,1%) por 2 h em temperatura ambiente. Após, a membrana será lavada 3 – 4 x por 5 minutos com solução TBS-Tween (50 mL de TBS 10 X + 250 mL de H₂O milliQ + 250 mL de Tween) e incubada com o anticorpo primário policlonal de interesse (CAMK, AMPK, AKT, PGC-1 ALFA, hexokinase, G6PDH) na concentração 1:1000 em temperatura ambiente. A ligação do anticorpo primário será detectada com o uso do anticorpo secundário conjugado com fosfatase alcalina. A membrana será novamente lavada 3 – 4 x por 5 minutos com solução TBS-Tween (50 mL de TBS 10 X + 250 mL de H₂O milliQ + 250 mL de Tween). Após esta etapa a membrana será revelada em solução reveladora (330 L de NBT + 33 L BCIP diluídos em 10 ml de tampão fosfatase alcalina – Tampão Ap: Tris 0,1 M, NaCl 0,1 M, MgCl 5 mM, pH 9,5), incubada por 15 minutos em ambiente escuro e a reação será interrompida com a lavagem da membrana com água. As membranas serão escaneadas e as imagens documentadas para posterior análise das bandas utilizando o software Image J. A detecção de actina- será utilizada para normalizar os resultados.

Extração de RNA total

A extração de RNA total muscular será feita utilizando o reagente Trizol (Gibco). A densidade óptica (DO) das amostras será determinada por espectrofotometria, no comprimento de onda de 260 nm. Para avaliar a qualidade do RNA isolado será determinada a razão entre as absorbâncias a 260 e 280 nm (razão > 1,8). Também será avaliada a qualidade do material por eletroforese das amostras (25 µg de RNA total) em gel denaturante de agarose-formamida (1%), em tampão MOPS

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde - Campus Darcy Ribeiro

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.910-900

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3107-1947

E-mail: cepfsunb@gmail.com



(40mM de ácido morfolinopropanosulfônico). Posteriormente, os geis serão corados com brometo de etídeo. RT-PCR (Reverse Transcriptase – Polymerase Chain Reaction)

Após o isolamento do RNA, será realizada a transcrição reversa (RT) utilizando 1µg de RNA total. A reação de RT será realizada da seguinte forma: quantidades variadas de RNA total; 200 u de Transcriptase Reversa; 0,8 mM dNTPs; 1 mM MgCl₂; 0,02 µg/ul primer oligo dT; 4 mM DTT. A reação será realizada em um termociclador (10 minutos a 70°C, 60 minutos a 42°C e 10 minutos a 94°C). A integridade do produto da RT (cDNAs) será conferida por gel de agarose (1%) não desnaturante, corado com brometo de etídeo. Real Time-PCR

Em seguida, diferentes frações das RTs serão utilizadas na amplificação em cadeia por polimerase (PCR) em um equipamento que monitora a geração de amplicons em tempo real (PCR real-time, Rotor Gene 3000, Cobert Research). As amplificações por PCR serão efetuadas utilizando-se 10-80ng/ul de cDNA adicionado a uma reação contendo 25ul de SYBR Green PCR master mix, 50-900nM dos primers (senso e antisenso) em uma solução com volume final de 55ul, dividido em dois tubos (duplicata). As condições de ciclagem ocorreram conforme a padronização de cada primer. Após a reação de PCR, será possível determinar o início da fase de amplificação exponencial (Ct, cycle threshold) de cada amostra, que será utilizado como dado para a análise da expressão gênica. O pesquisador que analisará a real time PCR não saberá a qual grupo o indivíduo pertence (café ou água).

Análise por Reação em Cadeia Polimerizada (q PCR)

A amplificação do RNA das diferentes amostras controle e experimental serão realizadas no Rotor Gene 3000 (Cobert's, Sydney, Austrália). O mix para amplificação dos genes de interesse conterá: 1 ul de amostra de cDNA, 25ul SYBR green, Master mix (Applied Biosystems, Foster City, CA) e 180 nM de cada primer com volume final de 50ul. As condições de ciclagem utilizadas serão determinadas para cada primer de modo individual. Para cada gene, todas as amostras foram amplificadas simultaneamente em duplicatas numa só corrida. A análise dos dados será realizada usando o método comparativo de Ct (cycle threshold). Controles negativos contendo RNA como amostra, mas sem M-MLV RT serão utilizados, garantindo que o produto amplificado não seja resultante de um DNA genômico amplificado. Outro controle negativo utilizado nestes experimentos será o branco com nenhuma amostra, apenas água, primers e SYBR green.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo geral:

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde - Campus Darcy Ribeiro

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.910-900

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3107-1947

E-mail: cepfsunb@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.657.099

- Investigar os efeitos do café com leite adoçado consumido após exercício físico intenso sobre o metabolismo da glicose, enzimas glicogênicas e deposição de glicogênio muscular.

Objetivos específicos:

- Elaborar uma bebida contendo café, leite e açúcar para ser consumida após treinos de atletas;
- Equipar o Laboratório de Bioquímica da Nutrição, Núcleo de Nutrição da UnB para a condução dos experimentos e análises relacionadas;
- Recrutar e triar atletas de ciclismo/triatlão;
- Comparar as concentrações plasmáticas/séricas de glicose, insulina, GLP-1, peptídeo C, lactato, epinefrina e cafeína na curva pós-prandial, nos dois tratamentos;
- Calcular o índice de sensibilidade à insulina nos tratamentos;
- Comparar a concentração de glicogênio muscular, fosfocreatina (PCr), ATP, creatina e lactato nos tecidos musculares;
- Avaliar as diferenças na concentração das proteínas envolvidas no metabolismo glicídico (CAMK, AMPK, AKT, PGC-1 ALFA, hexokinase, G6PDH) nos tecidos musculares entre os tratamentos;
- Analisar a expressão gênica das proteínas do metabolismo glicídico (CAMK, AMPK, AKT, PGC-1 ALFA, hexokinase, G6PDH) nos tecidos musculares;
- Divulgar os resultados encontrados com os experimentos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

"Riscos:

Um cateter será posicionado no braço do voluntário e ficará durante todo o experimento para coleta das amostras de sangue. Este procedimento pode gerar dor e edema local, a depender da sensibilidade, mas é comum que o desconforto seja mínimo. Alguns indivíduos podem sentir dor localizada no período de aproximadamente 24 horas após o procedimento de biópsia. Tal sensação não deve ser maior do que aquela devido à realização de um exercício de musculação intenso. As complicações devido a este procedimento são raras, e se estendem a sangramento posterior e edema local, os quais devem ser tratados com aplicação breve de frio (gelo envolvido em saco e pano), compressão e elevação da perna. Tais complicações podem estender o período pelo qual o indivíduo sentirá dor, mas uma vez que a região não apresenta grandes vasos sanguíneos ou nervos, e extremamente rara a ocorrência de complicações desta natureza.

Benefícios:

Os voluntários participantes desta pesquisa terão acesso à avaliação antropométrica com bioimpedância elétrica multifrequencial, além de avaliação completa do consumo alimentar.

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde - Campus Darcy Ribeiro

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.910-900

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3107-1947

E-mail: cepfsunb@gmail.com



habitual. Eles também terão acesso, ao fim do estudo, a todos os resultados dos exames bioquímicos e da biópsia muscular, o que pode ser útil em seu planejamento de treinos como atletas. Qualquer desvio nutricional identificado durante o estudo será informado aos participantes e eles serão orientados e encaminhados para tratamento adequado. Esperamos obter resultados positivos em relação à aceitação da bebida e ao efeito do consumo de café com leite na carga glicídica, na recuperação do glicogênio muscular em atletas, para que este alimento comum, de fácil acesso, possa se tornar um aliado na recuperação após treinos de ciclista/triatletas. Caso haja resultado positivo em relação à utilização da bebida, ela pode se tornar fonte de patente e ser utilizada na indústria como alimento pós-treino para atletas. O delineamento deste projeto visa promover a integração de áreas afins nos campi da Universidade de Brasília integrando pesquisadores com capacidade reconhecida de realizar estudos de impacto no âmbito da Fisiologia, da Nutrição e do Esporte. O grupo de pesquisa da Nutrição e da Farmácia tem experiência na condução de experimentos metabólicos com café. Destaca-se que o Brasil é o maior produtor mundial de café, porém não tem igual destaque nas pesquisas metabólicas com esta bebida tão apreciada pelos brasileiros. A realização do estudo possibilitará implementar técnicas de pesquisas importantes e inéditas na área de Nutrição e Esporte utilizando o novo espaço recém-inaugurado do Núcleo de Nutrição da UnB que foi planejado para execução de estudos metabólicos em humanos. O estudo é inédito e não encontramos na busca bibliográfica que fizemos qualquer publicação avaliando o consumo de café com leite no pós-treino de atletas de resistência. Este estudo tem efetivo potencial de impacto científico e tecnológico para o desenvolvimento da bebida e o emprego do café com leite no pós-exercício/recuperação. Os resultados obtidos a partir das análises dos dados coletados com o estudo em questão irão propiciar a realização de uma tese de doutorado, uma dissertação de mestrado, iniciação científica, publicação de artigos científicos, apresentação em congressos e demais trabalhos de caráter científico e acadêmico."

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de projeto de doutorado do Programa de Pós-graduação em Ciência da Saúde a ser orientado pela Dr. Teresa Helena Macedo da Costa.

É um estudo clínico-laboratorial, duplo cego, cruzado e randomizado.

O projeto está em processo de aprovação nas agências financiadoras, por isso não apresenta a fonte de recursos, sendo que o orçamento detalhado apresentado é da ordem de R\$207.746,33.

Foi apresentado cronograma que está adequado.

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde - Campus Darcy Ribeiro

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.910-900

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3107-1947

E-mail: cepfsunb@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.657.099

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram analisados os seguintes documentos para emissão desse parecer:

1. "PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_730626.pdf" de 15/06/2016;
2. "curriculumvitae_laisloureiro.pdf" de 14/06/2016;
3. "lattes_teresacosta.pdf" de 14/06/2016;
4. "lattes_ritadurigan.pdf" de 14/06/2016;
5. "lattes_joaodurigan.pdf" de 14/06/2016;
6. "lattes_guilhermemolina.pdf" de 14/06/2016;
7. "lattes_caioreis.pdf" de 14/06/2016;
8. "lattes_angelicaamorim.pdf" de 14/06/2016;
9. "TCLE_laisloureiro.docx" de 14/06/2016;
10. "projeto_CEP_laisloureiro.docx" de 14/06/2016;
11. "orcamento_laisloureiro.doc" de 14/06/2016;
12. "termoresponsabilidade_laisloureiro.doc" de 14/06/2016;
13. "termoresponsabilidade_laisloureiro.pdf" de 14/06/2016;
14. "encaminhamento_laisloureiro.doc" de 14/06/2016;
15. "encaminhamento_laisloureiro.pdf" de 14/06/2016;
16. "termoconcordancia_laisloureiro.doc" de 14/06/2016;
17. "termoconcordancia_laisloureiro.pdf" de 14/06/2016;
18. "projetoCompleto_laisloureiro.docx" de 14/06/2016 e
19. "folhaderosto_laisloureiro.pdf" de 14/06/2016.

Foram acrescentados os seguintes documentos como resposta ao parecer consubstanciado no. 1.628.868:

"PB_INFORMAÇÕES BÁSICAS DO PROJETO_730626.pdf" de 27/07/2016;
"Carta_resposta_laisloureiro.doc" de 27/07/2016;
"termoconcordancia_laisloureiro_FEF.pdf" de 27/07/2016;
"termoconcordancia_laisloureiro_FEF.doc" de 27/07/2016;
"TCLE_laisloureiro.docx 27/07/2016" de 11:24:21 e
"projeto_CEP_laisloureiro.docx" de 27/07/2016.

Recomendações:

Não se aplica.

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde - Campus Darcy Ribeiro
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.910-900
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3107-1947

E-mail: cepfsunb@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.657.099

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Análise das respostas ao parecer consubstanciado no. 1.628.868:

- 1) Substituir no projeto detalhado "sujeito" por "participante de pesquisa" (item II.10, Res. CNS 466/2012).
Análise: Substituições feitas no documento anexado "projeto_CEP_laisloureiro.docx" de 27/07/2016.
PENDÊNCIA ATENDIDA.
- 2) Manter apenas um dos projetos detalhados: "projetocompleto_laisloureiro.docx" ou "projeto_CEP_laisloureiro.docx". Retirar o TCLE do anexo.
Análise: PENDÊNCIA ATENDIDA.
- 3) Apresentar termo de ciência/concordância institucional do Laboratório de Fisiologia do Exercício da Faculdade de Educação Física (FEF/UnB).
Análise: O termo foi apresentado. PENDÊNCIA ATENDIDA.
- 4) Quanto ao TCLE:
 - 4.1 Numerar as páginas do TCLE (ex: página 1 de 2) para manter a integridade do documento.
 - 4.2 Esclarecer quais outros procedimentos "testes preliminares" serão realizados com os participantes de pesquisa. A análise de riscos ficou restrita ao procedimento invasivo de biópsia muscular e amostras sanguíneas, no entanto, haverá outros procedimentos que o participante deve saber que será submetido para aceitar participar (item IV.3.a, Res. CNS 466/2012).
Análise: foi acrescido o seguinte texto, que atende o solicitado:
"Os resultados obtidos no estudo serão úteis para o entendimento do mecanismo envolvido na recuperação do glicogênio muscular e como o café contribui na utilização do açúcar presente nos alimentos. Estaremos fornecendo as bebidas que serão formuladas para atender o período de pós-treino. Todo o protocolo será realizado nos Laboratórios da Universidade de Brasília que são equipados para executar os procedimentos propostos.
Sua presença será requerida em seis situações: dois dias de testes preliminares (de acordo com sua disponibilidade) e em quatro dias para dois experimentos. Nos testes preliminares sua presença será requerida uma primeira vez, pela manhã e em jejum, para avaliação inicial de triagem, antecedentes, avaliação de consumo alimentar, medidas de peso, altura, composição corporal por bioimpedância elétrica multifrequencial, avaliação médica, exame de sangue e

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde - Campus Darcy Ribeiro

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.910-900

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3107-1947

E-mail: cepfsunb@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.657.099

avaliação de capacidade física por teste de esforço em bicicleta específica para este fim. No segundo dia de testes preliminares será realizado o teste incremental cardiopulmonar no Laboratório de Fisiologia do Exercício da Faculdade de Educação Física (FEF/UnB), com vistas na determinação do consumo máximo de oxigênio, limiares ventilatórios e potência gerada nos respectivos limiares e no pico do esforço.

Em cada um dos dois experimentos sua presença será requerida em um dia à noite, para realizar atividade intensa de ciclismo com objetivo de depleção do glicogênio muscular. No dia seguinte, pela manhã e em jejum, você deverá realizar novamente uma atividade intensa de ciclismo, receberá a bebida teste e um café da manhã, e ficará em recuperação por 5h no laboratório. Em cada um dos dois experimentos serão realizadas 9 (nove) coletas de sangue nos tempos -70, 0 (fim da atividade física), 30, 60, 90, 120, 180, 240 e 300 minutos, além de 2 (duas) coletas de tecido muscular (biópsia muscular) durante o período de recuperação (pós-exercício intenso). O intervalo entre os dois experimentos será de uma a duas semanas." PENDÊNCIA ATENDIDA.

CONCLUSÃO: Todas as pendências foram atendidas. Não há óbices éticos para a realização deste projeto. Protocolo de pesquisa está em conformidade com a Resolução CNS 466/2012 e Complementares

Considerações Finais a critério do CEP:

De acordo com a Resolução 466/12 CNS, itens X.1.- 3.b. e XI.2.d, os pesquisadores responsáveis deverão apresentar relatórios parcial semestral e final do projeto de pesquisa, contados a partir da data de aprovação do protocolo de pesquisa.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_730626.pdf	27/07/2016 11:27:19		Aceito
Outros	Carta_resposta_laisloureiro.doc	27/07/2016 11:26:28	Lais Loureiro	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	termoconcordancia_laisloureiro_FEF.pdf	27/07/2016 11:25:50	Lais Loureiro	Aceito

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde - Campus Darcy Ribeiro

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.910-900

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3107-1947

E-mail: cepfsunb@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.657.099

Declaração de Instituição e Infraestrutura	termoconcordancia_laisloureiro_FEF.doc	27/07/2016 11:25:17	Lais Loureiro	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_laisloureiro.docx	27/07/2016 11:24:21	Lais Loureiro	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_CEP_laisloureiro.docx	27/07/2016 11:24:02	Lais Loureiro	Aceito
Declaração de Pesquisadores	curriculumvitae_laisloureiro.pdf	14/06/2016 21:07:26	Lais Loureiro	Aceito
Declaração de Pesquisadores	lattes_teresacosta.pdf	14/06/2016 21:06:46	Lais Loureiro	Aceito
Declaração de Pesquisadores	lattes_ritadurigan.pdf	14/06/2016 21:06:28	Lais Loureiro	Aceito
Declaração de Pesquisadores	lattes_joaodurigan.pdf	14/06/2016 21:06:14	Lais Loureiro	Aceito
Declaração de Pesquisadores	lattes_guilhermemolina.pdf	14/06/2016 21:05:54	Lais Loureiro	Aceito
Declaração de Pesquisadores	lattes_caioreis.pdf	14/06/2016 21:05:28	Lais Loureiro	Aceito
Declaração de Pesquisadores	lattes_angelicaamorim.pdf	14/06/2016 21:04:55	Lais Loureiro	Aceito
Orçamento	orcamento_laisloureiro.doc	14/06/2016 20:58:16	Lais Loureiro	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termoresponsabilidade_laisloureiro.doc	14/06/2016 20:57:50	Lais Loureiro	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termoresponsabilidade_laisloureiro.pdf	14/06/2016 20:57:32	Lais Loureiro	Aceito
Declaração de Pesquisadores	encaminhamento_laisloureiro.doc	14/06/2016 20:56:34	Lais Loureiro	Aceito
Declaração de Pesquisadores	encaminhamento_laisloureiro.pdf	14/06/2016 20:56:22	Lais Loureiro	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	termoconcordancia_laisloureiro.doc	14/06/2016 20:55:34	Lais Loureiro	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	termoconcordancia_laisloureiro.pdf	14/06/2016 20:55:16	Lais Loureiro	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto_laisloureiro.pdf	14/06/2016 20:50:41	Lais Loureiro	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde - Campus Darcy Ribeiro

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.910-900

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3107-1947

E-mail: cepfsunb@gmail.com



UNB - FACULDADE DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE



Continuação do Parecer: 1.657.099

BRASILIA, 01 de Agosto de 2016

Assinado por:
Keila Elizabeth Fontana
(Coordenador)

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde - Campus Darcy Ribeiro

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.910-900

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3107-1947

E-mail: cepfsunb@gmail.com