

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

EFEITO DE UM PROGRAMA DE TREINAMENTO DE MUSCULAÇÃO EM CIRCUITO
SOBRE A AÇÃO AGUDA DO EXERCÍCIO RESISTIDO REALIZADO ATÉ A
EXAUSTÃO NOS NÍVEIS DAS CITOCINAS PLASMÁTICAS IL-6, IL-8, IL-10, IL-1 β ,
TNF- α E IL-12p70

João Elias Dias Nunes

SÃO CARLOS
2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

EFEITO DE UM PROGRAMA DE TREINAMENTO DE MUSCULAÇÃO EM CIRCUITO
SOBRE A AÇÃO AGUDA DO EXERCÍCIO RESISTIDO REALIZADO ATÉ A
EXAUSTÃO NOS NÍVEIS DAS CITOCINAS PLASMÁTICAS IL-6, IL-8, IL-10, IL-1 β ,
TNF- α E IL-12p70

João Elias Dias Nunes

Dissertação apresentada no Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas.
Orientador: Sérgio Eduardo de Andrade Perez

SÃO CARLOS
2008

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

N494ep

Nunes, João Elias Dias.

Efeito de um programa de treinamento de musculação em circuito sobre a ação aguda do exercício resistido realizado até a exaustão nos níveis das citocinas plasmáticas IL-6, IL-8, IL-10, IL-1 β , TNF- α e IL-12p70 / João Elias Dias Nunes. -- São Carlos : UFSCar, 2008.

56 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2008.

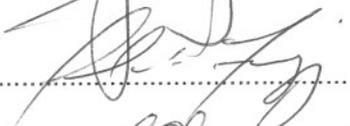
1. Fisiologia do exercício físico. 2. Citocina. 3. Exercício resistido. 4. interleucina 8. 5. Fadiga muscular. 6. Exaustão. I. Título.

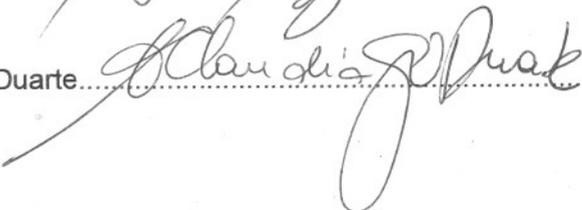
CDD: 612.04 (20^a)

Universidade Federal de São Carlos
Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas

Defesa de Dissertação de João Elias Dias Nunes

Prof. Dr. Sérgio Eduardo de Andrade Perez.....

Profa. Dra. Cláudia Lúcia de Moraes Forjaz.....

Profa. Dra. Ana Claudia Garcia de Oliveira Duarte.....

Dedico este trabalho a um pequeno ser que ainda nem tem a consciência de sua vida, porém já tem a capacidade de transformar a minha, me fazendo sentir mais vivo, mais forte e mais homem. Minha lindinha Sofia.

“A obra do homem só é realizada de acordo com a sabedoria prática e também com a virtude moral; pois a virtude nos faz visar ao que é certo e a sabedoria nos faz adotar os meios certos”.
(Aristóteles)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais (Vicente e Antonia), por me possibilitarem, através de seus exemplos e ensinamentos, um ambiente harmonioso, confiante, honesto e justo, para que eu pudesse me desenvolver da melhor maneira possível, desenvolvendo e reconhecendo com humildade as minhas fraquezas e potencialidades. Além de agradecer as minhas irmãs (Sara e Pollyana) e todos aqueles que sempre acreditaram em mim.

Deixo aqui também, os meus agradecimentos ao professor e hoje amigo, Guilherme De Agostini, que me despertou através de sua maneira inteligente, audaciosa e corajosa para a Fisiologia Geral e em especial a Fisiologia do Exercício. Além do apoio científico na realização deste trabalho e do apoio moral nesta caminhada de mestrando.

Meus especiais agradecimentos a dois grandes amigos que fiz nessa minha passagem por São Carlos, Paulão e Cris. Paulão pelo apoio nos momentos críticos que todos nós sempre passamos e na vida e Cris por ser hoje uma grande amiga que sempre está do meu lado em todos os momentos. Além dos meus eternos agradecimentos a Gabi, que apareceu na minha vida e fez parte de um momento muito importante e decisivo desta passagem.

Gostaria de agradecer também a todos do laboratório que possibilitaram a finalização deste trabalho. Os estagiários (Gabriela, Vivian, Guilherme e Richard); os doutorandos (João Carlos, Paulo, Juca e Jonato) e dos funcionários (Cacau, Fernanda, Aninha e Nadir). Bem como, agradecer a Prof. Dr. Alexandra Ivo de Medeiros que realizou a análise das citocinas, a Prof. Dr. Heloísa Sobreiro Selistre de Araujo que nos auxiliou com seu laboratório, ao Prof. Dr. Roberto Mario Machado Verzola pela realização das avaliações clínicas e ao Dr. Raul Borges Filho que possibilitou a análise da composição corporal pelo DXA.

Agradeço também a todos os professores com os quais tive oportunidade de aprender, conviver e adquirir experiência nesses dois anos, além do meu orientador que me proporcionou a oportunidade de concretizar uma importante etapa da minha formação pessoal e profissional.

RESUMO

Introdução: Várias investigações têm proposto papéis sinalizadores e imunoregulatórios para as citocinas diante a realização de exercícios aeróbios, entretanto, pouco estudos tem relatado o efeito do exercício resistido nessas substâncias. **Objetivo:** avaliar o efeito de um programa de treinamento de musculação em circuito sobre a ação aguda do exercício resistido realizado até a exaustão nos níveis das citocinas plasmáticas IL-6, IL-8, IL-10, IL-1 β , TNF α e IL-12p70. **Métodos:** 14 mulheres destreinadas ($39,8 \pm 3,9$ anos), ($60,6 \pm 6,6$ kg) e ($163,6 \pm 6,6$ cm) realizaram dois testes de fadiga (TF) nos exercícios Leg Press 45° (LP) e Supino Reto (SR), que consistiram de 3 séries com 50% de 1-RM realizadas até a exaustão com 1 minuto de intervalo entre as séries, antes e após 10 semanas de treinamento de musculação em circuito. Antes e 5 minutos após o TF foram realizadas coletas sanguíneas para análise dos níveis plasmáticos das citocinas: interleucina 8 (IL-8), interleucina 10 (IL-10), interleucina 6 (IL-6), interleucina 12p70 (IL-12p70), interleucina 1 β (IL-1 β) e fator de necrose tumoral (TNF). **Resultados:** A concentração de IL-8 plasmática para o exercício LP antes e após o TF nos períodos pré e pós-treinamento foram de (4.38 ± 2.62 e 5.73 ± 0.97 pg/ml) e (6.36 ± 1.35 e 6.47 ± 2.08 pg/ml), respectivamente. Bem como, para o exercício SR (3.68 ± 3.91 e 9.00 ± 2.57 pg/ml) e (5.71 ± 2.21 e 7.06 ± 2.26 pg/ml). Não foram encontradas diferenças significativas entre antes e depois do TF, assim como, para pré e pós-treinamento para IL-8 em ambos os exercícios. As demais citocinas não atingiram o limite mínimo de detecção determinado pelo kit utilizado. **Conclusão:** Exercícios resistidos dinâmicos realizados até a exaustão não provocam estresse suficiente para alterar a citocinemia, antes ou após 10 semanas de treinamento de musculação em circuito. Palavras Chave: CITOCINAS, EXERCÍCIO RESISTIDO, IL-8, ESTRESSE, TESTE DE FADIGA, EXAUSTÃO.

ABSTRACT

Introduction: Several investigations have been proposing signaling and immune functions for the cytokines accomplishment of aerobic exercises. However few studies have been related the effect of the exercise resisted with cytokines. **Purpose:** to evaluate the effect of a resistance training in circuit about the sharp action of the resistance exercise until the exhaustion in the levels of the plasmatic cytokines IL-6, IL-8, IL-10, IL-1, TNF and IL-12p70. **Methods:** 14 untrained women ($39,8 \pm 3,9$ years), ($60,6 \pm 6,6$ kg) and ($163,6 \pm 6,6$ cm) accomplished two Fatigue Test (FT) in the exercises Leg Press 45° (LP) and Bench Press (BP), these tests consisted of 3 sets with 50% of 1-RM related until the exhaustion with 1 minute of interval among the sets, before and after 10 weeks of resistance training in circuit. Before and 5 minutes after FT samples of blood were obtained for analysis of the plasmatic levels of the cytokines: interleukin 8 (IL-8), interleukin 10 (IL-10), interleukin 6 (IL-6), interleukin 12p70 (IL-12p70), interleukin 1 (IL-1) and factor of necrosis tumoral (TNF). **Results:** The plasmatic concentration of IL-8 for the LP before and after FT in the periods pre and post-training were of (4.38 ± 2.62 and 5.73 ± 0.97 pg/ml) and (6.36 ± 1.35 and 6.47 ± 2.08 pg/ml), respectively. Moreover for the BP (3.68 ± 3.91 and 9.00 ± 2.57 pg/ml) and (5.71 ± 2.21 and 7.06 ± 2.26 pg/ml), not found significant differences among before and after FT, as well as, for pre and post-training for IL-8 in both exercises. The other cytokines did not reach the certain minimum limit of detection for the used kit. **Conclusion:** Resistance exercise until the exhaustion not provoke enough stress to alter the cytokinemia, before or after 10 weeks of resistance training in circuit. Words Key: CYTOKINES, RESISTANCE EXERCISE, IL-8, STRESS, FATIGUE TEST, EXHAUSTION.

LISTA DE ABREVIATURA

1-RM	Uma Repetição Máxima
5mP	Cinco minutos após
ACTH	Hormônio Adreno Corticotrópico
BMNC	Células Sanguíneas Mononucleares
CK	Creatina Kinase
CRP	Proteína C Reativa
DXA	Dual-energy X-ray Absorptiometry
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
G-CSF	Fator Estimulante da Colônia de Granulócitos
HSP	Proteína de Choque Térmico
IFN- γ	Interferon Gama
IL-1	Interleucina 1
IL-1 α	Interleucina 1 Alfa
IL-1 β	Interleucina 1 Beta
IL-1ra	Interleucina 1 Receptor Antagonista
IL-2	Interleucina 2
IL-4	Interleucina 4
IL-5	Interleucina 5
IL-6	Interleucina 6
IL-6 rh	Interleucina 6 Recombinante Humana
IL-8	Interleucina 8
IL-10	Interleucina 10
IL-12	Interleucina 12
IL-12p40	Interleucina 12p40
IL-12p70	Interleucina 12p70
IL-13	Interleucina 13
IL-15	Interleucina 15
LP	Leg Press 45°
LPS	Lipopolisacarídeo Endoxina
Mb	Mioglobina

MIP-1 α	Proteína Inibidora de Macrófago 1 Alfa
MIP-1 β	Proteína Inibidora de Macrófago 1 Beta
MM	Massa Magra
MPO	Mieloperoxidase
mRNA	RNA Mensageiro
ND	Não Detectável
NK	Natural Killer
NO	Óxido Nítrico
PGE2	Prostaglandina 2
PS1	Pós Série 1
PS2	Pós Série 2
PS3	Pós Série 3
REP	Repouso
RM	Repetição Máxima
RML	Resistência Muscular Localizada
SR	Supino Reto
sTNF-R	Receptor Solúvel do Fator de Necrose Tumoral
TF	Teste de Fadiga
Th1	Células T Helper do Tipo 1
Th2	Células T Helper do Tipo 2
TNF	Fator de Necrose Tumoral
TNF-BPs	Ligantes do Fator de Necrose Tumoral
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
TNF- β	Fator de Necrose Tumoral Beta
VO _{2máx.}	Consumo Máximo de Oxigênio
VO _{2pico}	Consumo Pico de Oxigênio

SUMÁRIO

1. Introdução	p14
1.1. Interleucina 6	p15
1.2. Interleucina 1 β	p16
1.3. Fator de Necrose Tumoral	p16
1.4. Interleucina 8	p17
1.5. Interleucina 10	p17
1.6. Interleucina 12p70	p18
2. Efeito Agudo do Exercício Sobre as Citocinas	p19
2.1. Exercícios Aeróbios	p19
2.2. Exercícios Resistidos	p22
3. Efeito Crônico do Exercício Sobre as Citocinas	p27
4. Métodos	p30
4.1. Sujeitos	p30
4.2. Procedimentos Gerais	p30
4.3. Testes de 1-RM	p31
4.4. Testes de Fadiga	p31
4.5. Massa Magra	p32
4.6. Determinação da Resistência Muscular Localizada	p32
4.7. Determinação do Volume Total do TF	p32
4.8. Citocinas e TF	p33
4.9. Lactato e TF	p33
4.10. Determinação do Lactato/MM	p34
4.11. Protocolo de Treinamento	p34
4.12. Análise Estatística	p34
5. Resultados	p36
5.1. Citocinas e TF	p36
5.2. 1-RM	p38
5.3. RML	p39
5.4. Volume Total no TF	p40
5.5. Massa Magra	p41
5.6. Lactato/MM e TF	p42

6. Discussão

p43

7. Conclusão

p47

1. INTRODUÇÃO

Citocinas são proteínas ou glicoproteínas solúveis que são produzidas por uma comunicação mediada entre e dentre células imunes e não imunes, órgãos e sistemas através do corpo. Elas atuam em concentrações muito baixas relativamente a outras moléculas solúveis como hormônios endócrinos e exócrinos (Rhind et al., 1995). A produção das citocinas pode aumentar rapidamente em resposta ao estímulo inflamatório e essa resposta pode ser transitória ou prolongada (Moldoveanu et al., 2001).

A produção das citocinas está envolvida com a resposta local a infecção ou lesão tecidual, sendo liberada no local da inflamação. Essas citocinas facilitam o influxo de linfócitos, neutrófilos, monócitos e outras células, as quais participam da remoção do antígeno e cura. A resposta inflamatória local é acompanhada por uma resposta sistêmica conhecida como resposta de fase aguda (Pedersen, 2000), que é uma cascata de reações iniciada por um estressante como uma lesão tecidual, inflamação ou exercícios pesados. Seu objetivo é prevenir lesões adicionais e ativar processos de reparo (Crane e Miller, 1983).

Do ponto de vista imunoregulatório, o balanço da imunidade celular e humoral regulados pelos tipos-1: interleucina 2 (IL-2) e interferon γ (IFN- γ); e pelos tipo-2: interleucina 4 (IL-4), interleucina 5 (IL-5), interleucina 6 (IL-6), interleucina 10 (IL-10) e interleucina 13 (IL-13) de citocinas é altamente reconhecido como importante na manutenção da saúde e no desenvolvimento de doenças de base imune (Suzuki et al., 2002).

Além disso, vários estudos têm demonstrado que os níveis de múltiplas citocinas aumentam em resposta ao exercício. Historicamente, o primeiro estudo sugerindo que o exercício induz resposta das citocinas foi publicado em 1983 por Cannon e Kluger. Eles mostraram que o plasma obtido de humanos depois do exercício e injetados intraperitonealmente em ratos, elevava a temperatura retal, enquanto que o plasma obtido antes do exercício não provocava esse efeito. O componente pirogênico foi desnaturado e tinha um peso molecular de 14 kD. Leucócitos mononucleares humanos obtidos depois do exercício e incubados in vitro liberavam um fator dentro da média que também elevava a temperatura corporal nos ratos. Esses resultados sugeriram que um fator endógeno pirogênico foi liberado durante o exercício, mais tarde este fator foi identificada como interleucina 1 (IL-1) (Pedersen, 2000).

Tipicamente, a IL-6 é a primeira citocina presente na circulação durante o exercício. O nível de IL-6 circulante aumenta em uma maneira exponencial (mais de 100

vezes) em resposta ao exercício e declina após o exercício. O aumento da IL-6 é seguido pelo aumento da IL-10 e pela interleucina 1 receptor antagonista (IL-1ra) que são conhecidas citocinas anti-inflamatórias. É conhecido também o aumento nos níveis de citocinas inibidoras como o receptor solúvel do fator de necrose tumoral (sTNF-R) (Pedersen e Pedersen, 2005).

Diversos estudos têm realizado análises dos níveis das citocinas em diferentes modelos de exercícios, seja em condições experimentais como em cicloergômetros, esteiras e equipamentos isocinéticos (Brenner et al., 1999; Ostrowski et al., 1998, Anwar et al., 1997), bem como em condições de campo (maratonas, triatlos, competições de ciclismo e exercícios resistidos) (Nieman et al., 2001, Northoff et al., 1991, Gannon et al., 1997, Brenner et al., 1999), na tentativa de encontrar um fator induzido pela contração muscular que pudesse ser um mediador de alterações em outros órgãos como fígado e tecido adiposo, sendo a IL-6 um dos fatores mais prováveis (Pedersen et al., 2004).

Tais estudos têm utilizado duas metodologias diferentes para análise do nível plasmático das citocinas, que são: ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) e a citometria de fluxo, os quais possuem níveis de sensibilidade diferentes, o que dificulta a comparação dos dados obtidos pelos dois métodos. Além disso, o ELISA mensura uma citocina para cada amostra, enquanto a citometria de fluxo é capaz de detectar em uma única amostra várias citocinas diferentes, o que depende do kit de ensaio adquirido no comércio para análise das mesmas. Segue abaixo um breve resumo de cada citocina que analisamos neste estudo.

1.1. Interleucina 6 (IL-6)

Essa citocina pleiotrópica é produzida por várias células imunes (linfócitos T e B, células natural killer (NK) e monócitos) e células não imunes (células do músculo liso e esquelético, condrócitos, astrócitos e glia). Ela é uma glicoproteína de 20 a 30 kD de massa molecular, dependendo de sua fonte celular e método de preparação. A IL-6 está entre os mais potentes mediadores da fase de resposta aguda, além disso, ela aumenta a produção do hormônio adreno corticotrópico (ACTH) na glândula hipófise anterior, sinalizando o córtex da adrenal para produzir glicocorticóides (Kammuler, 1995, Ndubuisi et al., 1998, Ostrowski et al., 1998).

Tem sido demonstrado que a IL-6 está envolvida na homeostase da glicose durante o exercício, além de atuar como um potente modulador do metabolismo das gorduras, aumentando a lipólise e oxidação das gorduras sem causar hipertriacilglicerolemia (Pedersen et al., 2004).

1.2. Interleucina 1 β (IL-1 β)

A família genética da IL-1 inclui glicoproteínas receptores agonistas IL-1 α , IL-1 β e IL-1ra. Várias células imunes e não imunes produzem ambos IL-1 α e IL-1 β . Entretanto, a IL-1 α permanece dentro do citosol em quase todos os momentos. A IL-1 α em ambas formas precursora e madura, mas a IL-1 β é somente ativa após a clivagem pela protease cisteína citosólica de IL-1 β , encontrada nos monócitos. A IL-1 β permanece no citosol em células não fagocíticas, mas de 40 a 60% que é produzida pelos fagócitos mononucleares saem da célula por exocitose, por transporte ativo, por vazamento ou por morte celular (Dinarello, 1994, Kostura et al., 1989).

A IL-1 promove efeitos fisiológicos em concentrações de femto a picomolar, acima da qual se torna citotóxica (Lennard, 1995). Ela é regulada para cima em uma variedade de genes, incluindo aqueles codificando citocinas, assim aumentando sua própria expressão, bem como, de IL-2 e IL-6 (Kuby, 1994). Enzimas requeridas para a síntese de leucotrienos, prostaglandinas e óxido nítrico (NO) são induzidas pela IL-1 (Moldoveanu et al., 2001).

Respostas a IL-1 incluem hipotensão, febre, letargia, modulação da inflamação e estimulação de proliferação celular (Beasley et al., 1989). Além de induzir a síntese de metaloproteinases e gelatinases, as quais contribuem para a degradação da cartilagem. Essa citocina também promove o catabolismo de tecido magro em sinergia com o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), a quebra de proteínas musculares durante endotoxemia (potente estimulador da liberação circulatória de IL-1) que pode ser reduzida com o tratamento com IL-1ra (Zamir et al., 1992).

1.3. Fator de Necrose Tumoral (TNF)

O TNF é principalmente um produto de fagócitos mononucleares, mas também é produzido por linfócitos T, células de Kupffer, células neurais e células endoteliais. O TNF- α e o TNF- β possuem somente 30% de seqüência homóloga, mas exercem uma gama de efeitos na expressão genética de fatores do crescimento, de citocinas, de proteínas de superfície celular e de proteínas de fase aguda (Pennica et al., 1984).

Muitas células expressam receptores de TNF. Duas subunidades desses receptores têm significante homologia extracelular (TNF-ligantes), mas pouca similaridade intracelular, isso sugere que eles possuam distintas atividades biológicas (Cohen e Cohen, 1996). Receptores solúveis de TNF atenuam as reações inflamatórias potentes induzidas pelo TNF (Moldoveanu et al., 2001).

O TNF- α é rapidamente removido da circulação por dois processos. Primeiramente, ele é inativado pelos ligantes de TNF (TNF-BPs). Depois disso, a remoção ocorre via rins e por menor quantidade pelo metabolismo no fígado. As TNF-BPs podem servir para tamponar o corpo humano contra a severa atividade fisiológica do TNF α (Moldoveanu et al., 2001).

1.4. Interleucina 8 (IL-8)

Durante o curso da inflamação, células intrínsecas ao tecido lesado ou infectado, bem como, células imunes recrutadas liberam atraentes químicos (quimiocinas), que causam primeiramente adesão de leucócitos ao endotélio vascular e subsequentemente migração para dentro dos espaços teciduais (Kuby, 1994; Baggiolini et al., 1997). Essas quimiocinas possuem um papel central na resposta a doença e em exercícios pesados (Gilman e Duchateau, 1997, Greenberg et al., 1996). Elas podem ser divididas em duas famílias, resíduos de cisteína conservados separados um do outro por outro resíduo (CC) ou não separados por outro resíduo (CXC) (Moldoveanu et al., 2001).

A IL-8 é pertencente a família das quimiocinas CXC. Ela é produzida por células endoteliais, fibroblastos, monócitos, macrófagos, neutrófilos e linfócitos T, e pode ser regulada para cima por vários estímulos, incluindo IL-1 (Gilman e Duchateau, 1997). Receptores de IL-8 são expressos pelos neutrófilos, monócitos, basófilos e células NK. A

função primária da IL-8 é atrair neutrófilos para o local da inflamação ou infecção e mediar sua ativação (Strieter et al., 1994).

1.5. Interleucina 10 (IL-10)

A IL-10 é uma citocina anti-inflamatória que atenua a inflamação por restringir a produção de citocinas inflamatórias, regulando para cima suas proteínas antagonistas ligantes solúveis e suprimindo atividade de células inflamatórias (Kluth e Rees, 1996).

As subséries das células T produzem a IL-10 principalmente a T_{H2} . Esta citocina também é secretada pelos macrófagos, células masto e células B, e é fortemente implicada na imunossupressão (Moldoveanu et al., 2001). IL-1 e TNF são potentes ativadores da síntese de IL-10, assim induzindo um mecanismo de retro-alimentação negativa. As ações anti-inflamatórias da IL-10 incluem inibição da síntese de mediadores inflamatórios (IL-1, TNF, IL-8 e IL-12) (Kluth e Rees, 1996), além de induzir a produção de IL-1ra e TNFp55 receptor solúvel (Moldoveanu et al., 2001).

1.6. Interleucina 12p70 (IL-12p70)

A IL-12p70 é um heterodímero composto de duas subunidades (p35 e p40), o homodímero IL-12p40 na ausência da expressão do p35 e com monômero livre p40 não medeia atividade da IL-12, mas atua em antagonismo a IL-12p70 (Libby, 2002).

A diferenciação das células T helper do tipo-1 (Th1) é promovida pela IL-12p70, essas células, produzem citocinas do tipo 1 (IL-2 e IFN- γ) e suportam a imunidade mediada pela célula para proteger contra patógenos intracelulares (Romagnani, 1997).

2. EFEITO AGUDO DO EXERCÍCIO SOBRE AS CITOCINAS

2.1. Exercícios Aeróbios

Em meados da década de 90 já se conhecia que exercícios prolongados de caráter aeróbio aumentam os níveis de citocinas inflamatórias, especialmente a IL-6 (Drenth et al., 1995; Nehlsen-Cannarella et al, 1997, Castell et al., 1997, Ostrowski et al., 1998). E essa elevação era justificada pela ocorrência de micro-traumas (Bruunsgaard et al., 1997).

Ostrowski et al (1998) realizaram um importante ensaio, com objetivo de verificar em humanos se o músculo esquelético produz citocinas em resposta ao exercício prolongado. Para tal, foram realizadas biópsias musculares antes, imediatamente depois e 2 horas após uma maratona. Foram avaliados mRNA para IL-6, IL-1ra, IL-1 β e TNF- α no músculo esquelético e em células sanguíneas mononucleares (BMNC). O IL-6 mRNA não foi detectado antes do exercício, sendo verificado depois da maratona no músculo esquelético. Já IL-1ra mRNA foi encontrada no músculo e também e BMNC, IL-1 β mRNA também se apresentou similar, porém o TNF- α mRNA não foi detectado em nenhuma amostra. Assim, foi sugerido que o músculo esquelético pode produzir IL-6 em resposta ao exercício prolongado, sendo sugerido que o micro-trauma foi o responsável por esse fenômeno, e que a IL-6 estimula a produção da IL-1ra pelas BMNC (Ostrowski et al., 1998).

No mesmo ano Ostrowski et al. publicaram outro ensaio evidenciando a cinética de algumas citocinas após 2,5h de corrida em esteira na intensidade de 75% do consumo máximo de oxigênio. Nessa pesquisa foi verificado que o pico de concentração plasmática de IL-6 ocorre imediatamente após o término do exercício prolongado com um aumento de 25 vezes o valor pré-exercício, e que sua concentração diminui já em 1 hora após o esforço. A IL-1ra teve seu pico de concentração detectado 2 horas após o exercício com aumento de 18 vezes o valor de repouso, sendo sua liberação explicada em decorrência da liberação da IL-6. Não foram encontradas mudanças para IL-1 β , TNF- α , interleucina 15 (IL-15), proteína inibidora de macrófago (MIP-1 β) e IL-8 e MIP-1 α não alcançaram seus limites de detecção (Ostrowski et al., 1998).

Concluindo uma série de trabalhos sobre resposta das citocinas em exercícios de corrida de longa duração Ostrowski et al. (1999) identificou um balanço de citocinas pró-

inflamatórias (TNF- α , IL-1 β), responsivas a inflamação (IL-6) e anti-inflamatórias (IL-1ra, sTNF-R1, sTNF-R2 e IL-10), encontradas imediatamente após e algumas horas depois do término de uma maratona. Os autores concluíram que o aumento nas citocinas pró-inflamatórias e um drástico aumento na citocina responsiva a inflamação levam a liberação balanceada de citocina anti-inflamatórias, o que sugere uma restrição na magnitude e duração da resposta inflamatória após o exercício (Ostrowski et al., 1999).

Até então, o aumento das citocinas era explicado através da geração de micro-traumas devido ao caráter extenuante dos exercícios aeróbios, apesar disso, ainda não se tinha conhecimentos claros sobre os papéis que essas citocinas exerciam ao serem liberadas por estímulo do exercício físico.

Entretanto, outros trabalhos identificaram que a magnitude das citocinas liberadas em exercícios aeróbios de longa duração não poderia ser explicada somente pela geração de micro-traumas. Toft et al. (2002) verificaram que após 60 minutos de atividade excêntrica, realizado em uma bicicleta adaptada, na qual o sujeito resiste à rotação do pedal, que o pico de liberação de IL-6 ocorreu 4 horas após o exercício, entretanto este aumento foi modesto em relação ao pico de liberação da creatina kinase (CK) nos dois grupos analisados, jovens e idosos. Assim a resposta da IL-6 ao micro-trauma não é uma contribuição importante em relação ao largo aumento detectado nesta citocina em resposta aos exercícios concêntricos de caráter aeróbio.

O efeito do exercício sobre os níveis de IL-6 foi recentemente revisado (Pedersen et al., 2003; Febbraio e Pedersen, 2002; Pedersen e Hoffman-Goetz, 2000). Um aumento marcante nos níveis circulatórios de IL-6 depois do exercício sem micro-traumas tem sido um achado consistente. A IL-8 também vem sofrendo maiores investigações quando comparados exercícios com níveis normais de glicogênio e exercício com baixo nível de glicogênio pré-exercício.

Chan et al. (2004) analisaram a expressão de 13 citocinas no músculo esquelético por meio de biópsia muscular após 60 m de exercício no cicloergômetro em uma intensidade de 70% do consumo pico de oxigênio (VO_{2pico}) em dois grupos distintos, controle e depleção de glicogênio. O protocolo de exercício foi desenhado para não promover microtraumas, o que poderia confundir a interpretação da expressão das citocinas. Das 13 citocinas 5 foram detectadas nas amostras, porém somente a IL-6 e IL-8 foram induzidas pela contração, além disso, essas duas citocinas também tiveram aumentos de expressão adicionais no grupo com depleção de glicogênio. Desta maneira, os autores concluíram que a IL-8, assim como já demonstrado para IL-6, é expressa no músculo esquelético durante o exercício e que

ela também é influenciada pelo conteúdo de glicogênio, porém seu papel ainda não foi determinado no exercício.

O conhecimento atual sobre o papel das citocinas durante e após o exercício foi e tem sido, construído principalmente pelos exercícios aeróbios. Apesar de se ter identificado que os micro-traumas não possuem um papel tão importante no estímulo da liberação das citocinas, como se imaginava, o evidente aumento da IL-6 após exercícios de longa duração estimulou muitas investigações focadas em detectar qual a função desta citocina quando associada ao exercício.

Com isso, a IL-6 tem sido denominada de miocina, devido a sua produção e liberação pelo músculo esquelético e seus efeitos em outros órgãos e tecidos do corpo. Ela é fortemente aumentada imediatamente após exercícios sem micro-traumas, sendo influenciada pela intensidade, duração, massa muscular recrutada e capacidade de endurance (Pedersen e Febbraio, 2005). Além disso, IL-6 mRNA é aumentada pela contração do músculo esquelético e a taxa de transcrição do gene da IL-6 é melhorada pelo exercício (Ostrowski et al., 1998; Febbraio et al., 2003; Keller et al., 2001), sendo que, a ingestão de carboidratos pode atenuar suas elevações no plasma durante exercícios aeróbios, e que o conteúdo de glicogênio parece ser um importante estímulo para transcrição do gene IL-6 (Pedersen e Hoffoman-Goetz, 2000; Febbraio e Pedersen, 2002; Pedersen et al., 2001).

Febbraio et al. (2004) testaram a hipótese de que a IL-6 estivesse envolvida na mediação da produção endógena de glicose durante o exercício. Para isso os sujeitos realizaram 2 h de ciclismo em 3 ocasiões separadas em alta e baixa intensidade, com ou sem a infusão de IL-6 rh (recombinante humana). Usando isótopos estáveis foi observado que durante o exercício de baixa intensidade com infusão de IL-6 rh, a taxa de aparecimento e desaparecimento de glicose foi maior do que em exercícios de baixa intensidade sem a IL-6 rh. Além disso, os hormônios glicoregulatórios permaneceram idênticos quando comparados nesses dois grupos. Esses dados sugerem que embora a IL-6 rh não altere a produção de glicose endógena em condições de repouso, ela está envolvida na homeostase da glicose durante o exercício.

Sumarizando, as citocinas pró-inflamatórias, anti-inflamatórias e responsivas a inflamação podem ser detectadas na corrente sanguínea, sendo que, ocorrem aumentos em suas expressões musculares mediante exercícios aeróbios. A contribuição dos micro-traumas durante exercícios aeróbios na produção de citocinas não é mais considerada fator importante, sendo a contração muscular o principal estímulo para esse fenômeno. No entanto, o perfil das citocinas produzidas pelo exercício depende da intensidade, duração e da massa muscular

envolvida. Contudo, o papel das citocinas durante o exercício não está bem esclarecido, apesar de estar bem consolidado que a IL-6 auxilia a homeostase da glicose durante o exercício.

2.2. Exercícios Resistidos

Pedersen et al. (1998) argumentam que, se a atividade física é de suficiente vigor para induzir respostas inflamatórias, ocorre inicialmente uma liberação de uma seqüência de citocinas pró-inflamatórias (ex: $TNF\alpha$, IL- 1β) e então, de maneira regulatória, a liberação de citocinas anti-inflamatórias (ex: IL-4, IL-10 e IL-1ra).

Poucos estudos têm se dedicado a analisar os efeitos do exercício resistido na expressão e a liberação de citocinas e seus possíveis efeitos sinalizadores ou papéis imunoregulatórios. Os ensaios que foram realizados até o momento, que se utilizaram do exercício resistido como modelo, se preocuparam em associar a resposta das citocinas à geração de micro-traumas musculares. Assim, os achados em torno deste assunto se referem grandemente a exercícios excêntricos, que notadamente geram mais micro-traumas do que atividades concêntricas.

O micro-trauma gerado pelo exercício excêntrico frequentemente resulta em uma resposta inflamatória local. Essa resposta é associada com citocinas liberadas no sítio da lesão muscular para facilitar a reparação do tecido. Grande parte das citocinas atuam na inflamação e possuem um papel integral no controle da resposta imune que acompanha o micro-trauma induzido pelo exercício. As elevações de IL-6 em resposta ao exercício excêntrico são normalmente maiores do que em exercícios concêntricos, sugerindo que a resposta das citocinas pode estar associada ao micro-trauma e ao tipo de atividade muscular (Willoughby et al., 2003).

Entretanto, estudos usando este modelo de exercício (excêntrico) com o pico de CK alcançado em um dia, falharam em mostrar uma associação entre pico de IL-6 e pico de CK plasmática (Ostrowski et al., 1998, Ostrowski et al., 1998). Além disso, foi demonstrado que o treinamento reduz o aumento na CK em resposta a uma sessão de exercício. No entanto, o aumento da IL-6 não foi influenciado pelo efeito do treinamento, sendo mais provável que o aumento imediato da IL-6 após o exercício seja independente de lesões musculares (Pedersen, 2000).

Willoughby et al. (2003) realizaram um estudo que verificou os efeitos de duas sessões repetidas de atividade excêntrica (7 séries de 10 repetições com 100% de uma

repetição máxima (1-RM) concêntrica na mesa flexora com a perna dominante) separadas por 3 semanas de intervalo. Neste estudo os autores utilizaram como marcador de micro-traumas a troponina-I. Os resultados apontaram aumentos nos níveis de IL-6 nas duas sessões em 4 e 6 h após o exercício, e não foi encontrada diferença na concentração dessa citocina entre as duas sessões. Entretanto foram encontradas significantes reduções na troponina-I após a segunda sessão de exercício excêntrico. Desta maneira, os autores concluíram que ambos IL-6 mRNA e a proteína não foram alterados na segunda sessão, e que portanto, não possuem uma relação com os micro-traumas gerados pela atividade excêntrica.

Hirose et al. (2004) encontraram resultados semelhantes para os flexores do cotovelo, com 4 semanas de repouso entre as duas sessões, realizando 6 séries de 5 repetições. Com amostras de sangue antes, imediatamente depois, 1 h, 3 h, 6 h, 24 h (1 d), 48 h (2 d), 72 h (3 d), 96 h (4 d) depois do exercício, para mensurar, atividade da CK plasmática, concentração plasmática de mioglobina (Mb), IL-1 β , IL-1ra, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p40, TNF α , fator estimulante da colônia dos granulócitos (G-CSF), mieloperoxidase (MPO), prostaglandina E2 (PGE2), proteína de choque térmico (HSP) 60 e 70.

Depois da primeira sessão, a dor muscular aumentou, a função muscular diminuiu e a atividade plasmática da CK e da Mb aumentaram significativamente. Essas mudanças foram menores depois da segunda sessão, indicando ter ocorrido uma adaptação muscular às repetidas sessões de exercício excêntrico, porém as mudanças nas citocinas e outros mediadores inflamatórios não foram significativamente menores na segunda sessão. Com exceção da IL-10 que aumentou sua concentração algumas horas depois da segunda sessão, sugerindo um possível papel da IL-10 em reduzir a inflamação e promover adaptação ao micro-trauma na repetida sessão de exercício excêntrico. Esses achados indicam novamente que contrações musculares que induzem micro-traumas não estão associadas à liberação de citocinas na corrente sanguínea (Milne et al., 2002).

Já Paulsen et al. (2005), também não encontraram semelhanças no pico de IL-6 (6 horas) e de CK (4 dias) após 300 ações excêntricas unilaterais em isocínético com músculo quadríceps. Além disso, não foram detectadas mudanças na concentração da IL-8, apesar de terem verificado perda de força, alta concentração de CK e proteína C reativa (CRP), o que indica que o músculo sofreu micro-traumas musculares.

Tem sido argumentado que o estresse metabólico e circulatório poderia explicar a leucocitose (concentração de leucócitos acima dos valores de repouso) aguda e atrasada, bem como a resposta das citocinas, especialmente o aumento da IL-6 (Steensberg, 2003). Entretanto, no estudo citado, não foram encontradas correlações entre a quantidade de

trabalho realizada e a leucocitose, bem como, com as mudanças nas concentrações das citocinas. Além disso, o custo metabólico da atividade excêntrica foi baixo, aproximadamente 30% do consumo máximo de oxigênio ($VO_{2\text{máx}}$). Assim, os autores supõem que processos locais regulados pelo músculo esquelético depois do exercício, regulam respostas não imunes que poderiam explicar a leucocitose e o aumento da IL-6.

Catecolaminas (estimulação adrenérgica) são consideradas indutoras da produção de IL-6. Além disso, a ativação simpática promove produção de quimiocinas como a IL-8 (Suzuki et al., 2002). Tem sido reportado que, a secreção de hormônios do estresse aumenta a concentração plasmática de TNF- α , IL-6, IL-12 e IL-1ra (Suzuki et al., 2002; Rohde et al., 1997; Steenberg, 2003). Além disso, tem sido demonstrado que os níveis de IL-6 e IL-8 mRNA no músculo esquelético aumentam após o exercício, quando os músculos apresentam um conteúdo de glicogênio abaixo dos níveis normais (Chan et al., 2004; Steenberg, 2003). Exercícios aeróbios afetam todos esses fatores produzindo várias citocinas plasmáticas. Ao contrário, parece razoável assumir que o exercício excêntrico não influencia qualquer dos fatores estimulantes das citocinas. O curto tempo de exercício e os pequenos grupos musculares recrutados no exercício, juntamente com a menor chance de estresse oxidativo, e menor demanda energética, são fatores que podem contribuir para uma menor magnitude de mudanças das citocinas plasmáticas (Hirose et al., 2004).

A taxa de remoção também é considerada importante na alteração da concentração plasmática das citocinas depois do exercício. Tem sido reportado que as citocinas são removidas da circulação sistêmica para urina depois do exercício. O menor aumento na concentração das citocinas plasmáticas em exercícios excêntricos, comparados com exercícios aeróbios extenuantes, pode ser devido à menor remoção das citocinas da circulação deste último, devido à redistribuição do fluxo sanguíneo durante o exercício aeróbio extenuante, o qual inibe o fluxo renal. Essa situação é pouco provável que ocorra durante os exercícios excêntricos usando pequenos grupos musculares (Suzuki et al., 2002; Suzuki et al., 2003). Mais estudos sobre a remoção das citocinas precisam esclarecer melhor essa possível relação.

Além disso, em exercícios aeróbios, a indução da isquemia é mais provável, e a lesão da mucosa intestinal por estímulo físico é maior (Hirose et al., 2004). Isso poderia levar a um aumento no plasma do lipopolissacarídeo endoxina (LPS), que é um potente estimulador da produção de citocinas (Chan et al., 2004; Milne et al., 2002). Assim é sugerido que a translocação bacteriana causada pelo exercício poderia promover aumentos na

concentração de citocinas plasmáticas, sendo improvável que exercícios excêntricos localizados afetem o fluxo sanguíneo esplânico induzindo a endotoxemia (Hirose et al., 2004).

Está bem documentado que exercícios excêntricos de grande força e com micro-traumas iniciam um aumento atrasado na concentração sanguínea das citocinas inflamatórias, em especial a IL-6. Alguns estudos demonstraram que a cinética da IL-6 nesses exercícios é diferente da cinética dos exercícios que não geram lesão e de ações concêntricas (Pedersen et al., 2001). Tem sido demonstrado que no caso de exercícios concêntricos, o pico na concentração de IL-6 ocorre no final do exercício, e que seus valores diminuem dentro de poucas horas após o exercício. Em contraste, exercícios excêntricos induzem um modesto aumento na IL-6 plasmática por alguns dias (Ostrowski et al., 1998). Entretanto, a alteração dos níveis de IL-6 plasmática é maior em exercícios concêntricos do que em excêntricos. Assim, a produção de IL-6 é mais induzida pela contração muscular mais do que pelo micro-trauma, visto que exercícios concêntricos que não geram micro-traumas apresentam maiores níveis de citocinas. Desta maneira, o aumento plasmático de IL-6 após o exercício pode ser independente do micro-trauma (Pedersen et al., 2001).

Recentemente, Miles et al. (2007) também não encontraram associação entre os níveis de CK, perda de força e a liberação de mediadores inflamatórios. Neste estudo foram realizadas 3 séries de 15 repetições excêntricas máximas para os flexores do cotovelo. Foram analisados, a IL-6, o sTNFR1, a CRP e a CK, nos momentos, antes e 4h, 8h, 12h, 24h, 48h e 96h pós-exercício. Os resultados deste trabalho mostram que houve aumentos de IL-6 8 horas após o exercício, com a condição basal dos mediadores analisada às 7:00 h da manhã. Foi encontrada também uma redução dos níveis de sTNFR1 às 12:00, 16:00 e 20:00 h em relação a 7:00 h da manhã, e menores concentrações de IL-6 às 12:00 e 16:00 h em relação a 7:00 h da manhã. Esses achados indicam a importância da verificação do horário para as coletas de dados basais para estudos da inflamação, em condições de controle.

No estudo de Brenner et al. (1999), um dos poucos trabalhos que realizaram análise das citocinas usando exercícios resistidos com a execução da fase concêntrica do movimento, foram averiguadas as alterações imunes e mudanças no perfil das citocinas IL-6, IL-10 e TNF- α em quatro condições experimentais diferentes; controle (5 horas sentados), 5 minutos no cicloergômetro (90% $VO_{2m\acute{a}x.}$), 2 horas no cicloergômetro (60-65% $VO_{2m\acute{a}x.}$) e uma sessão de exercício resistido em circuito, consistindo de cinco estações e realizado em 3 séries de 10 repetições com 60-70% de 1-RM em cada estação. Não foram encontrados aumentos significativos nos níveis plasmáticos das citocinas em todas as condições experimentais, com exceção do exercício prolongado (2 horas de cicloergômetro), que foi

indicado como modelo para estudo da inflamação e tipicamente considerado como sendo de resposta de citocinas pró-inflamatórias, visto que, não foram achados aumentos nos níveis de IL-10 após o exercício prolongado.

Sumarizando, fica evidente que há aumentos nas citocinas de 6 a 8 horas após exercícios excêntricos, em especial a IL-6. Entretanto, o micro-trauma que é muito associado a esse tipo de exercício parece não possuir uma ligação com a liberação das citocinas, pois não foram encontradas relações entre os níveis dos marcadores de micro-trauma (CK, Mb, Troponina I) e os mediadores inflamatórios após uma repetida sessão de exercício excêntrico, a qual gera menos micro-traumas com a mesma liberação de citocinas, com exceção de IL-10 que pode ter um papel na adaptação do treinamento ao micro-trauma. Desta maneira, o aumento da IL-6 após atividades excêntricas tem sido mais relacionado com a contração muscular do que com a lesão do músculo esquelético.

3. EFEITO CRÔNICO DO EXERCÍCIO SOBRE AS CITOCINAS

Pouca atenção tem sido voltada ao estudo da citocinemia após um período de treinamento, seja ele aeróbio ou resistido. Apesar do já conhecido efeito protetor da atividade física regular contra doenças cardiovasculares, diabetes do tipo 2, câncer do cólon dentre outras (Petersen e Pedersen, 2006). Na última década, maior atenção foi dedicada ao papel da inflamação na patogênese da aterosclerose e na resistência a insulina (Dandona et al., 2004). A inflamação sistêmica crônica de baixo grau é caracterizada pelo aumento sistêmico nos níveis de algumas citocinas (Ross, 1999) e da CRP. Algumas investigações com vários marcadores de inflamação reportaram uma associação entre a inflamação sistêmica crônica de baixo grau e síndrome metabólica, aterosclerose, diabetes do tipo 2 e outras (Festa et al., 2002).

A inflamação crônica de baixo grau tem sido introduzida como um termo para condições nas quais há um aumento de 2 a 3 vezes nas concentrações sistêmicas de TNF- α , IL-1, IL-6, IL-1ra, sTNF-R e CRP. O estímulo para produção dessas citocinas não é conhecido, mas provavelmente a origem do TNF seja principalmente o tecido adiposo (Petersen e Pedersen, 2006).

Alguns estudos demonstraram uma associação entre inatividade física e inflamação sistêmica crônica de baixo grau em sujeitos saudáveis (Steenberg, 2003; Fallon et al., 2001), em pessoas idosas (Bruunsgaard et al., 2003), bem como em pacientes com claudicação intermitente (Tisi et al., 1997). Esses trabalhos, no entanto, não fornecem dados que suportem uma possível relação causa-efeito. Achados em dois estudos longitudinais, os quais demonstram redução dos níveis de CRP com o treinamento regular (38, 18), sugerem que a atividade física pode suprimir a inflamação sistêmica crônica de baixo grau.

Kohut et al. (2006) compararam o efeito de 10 meses de exercício aeróbio contra exercícios resistidos combinados com exercícios de flexibilidade nos níveis de alguns biomarcadores da inflamação (CRP, IL-6, TNF- α e IL-18) em idosos. Um subgrupo de sujeitos foi incluído, realizando o treinamento aeróbio com adição de um tratamento com antagonistas adrenérgicos $\beta_1\beta_2$ não seletivos, para avaliar o possível papel da adaptação de receptores β -adrenérgicos como mediadores de uma mudança na inflamação induzida pelo exercício. O grupo que realizou o treinamento aeróbio apresentou significativa redução nos níveis séricos de CRP, IL-6 e IL-18 comparado ao grupo que executou o treinamento resistido

combinado com o de flexibilidade, entretanto o TNF- α declinou em ambos os grupos. O grupo tratado com antagonistas adrenérgicos apresentou resultados similares ao grupo que realizou o treinamento aeróbio. Assim, os autores concluíram que o exercício aeróbio realizado de maneira crônica (treinamento) pode significativamente reduzir o nível sérico dos biomarcadores da inflamação, mas receptores β -adrenérgicos não parecem estar envolvidos neste processo.

Mais recentemente, Stewart et al. (2007) em um estudo realizado com indivíduos separados em quatro grupos; jovens inativos, jovens ativos, idosos inativos e idosos ativos, averiguaram as alterações nos biomarcadores da inflamação (CRP, IL-6, TNF- α e IL-1 β). Os grupos inativos completaram 12 semanas de treinamento combinado aeróbico e resistido, enquanto os grupos ativos mantiveram sua rotina normal de exercícios. Houve redução da CRP sérica com o treinamento nos grupos inativos e não foi diferente em relação aos grupos ativos após o treinamento. Não houve mudanças para IL-6 e IL-1 β , entretanto o TNF- α foi menor nos grupos jovens inativos e ativos após o período de intervenção. Assim esses resultados suportam que o uso de exercício combinado aeróbio com resistido reduz o risco do desenvolvimento de doenças cardiovasculares pela significativa redução nos níveis de CRP.

Já White et al. (2006) encontraram alterações nesses marcadores após 8 semanas de treinamento resistido em indivíduos com esclerose múltipla.

Desta maneira, fica claro o efeito potencial do treinamento, seja ele resistido, aeróbio ou combinado na redução da inflamação sistêmica crônica de baixo grau e conseqüentemente seu papel na proteção ao desenvolvimento de doenças ligadas a inflamação. Entretanto, é notória a necessidade de se realizar mais ensaios com modelos de treinamentos diferentes e populações diferentes, para esclarecermos quais os exercícios são mais eficazes para essa abordagem, assim como, quais os grupos populacionais poderiam se beneficiar com a prática desses exercícios.

Diante do exposto acima, poderíamos hipotetizar que, exercícios resistidos extenuantes até a exaustão são capazes de aumentar os níveis de IL-6 e TNF- α plasmáticas, pois estas citocinas estão entre os mediadores mais potentes da resposta ao exercício em fase aguda. Assim, considerando que, esse protocolo de exercício possui várias repetições excêntricas, as quais provavelmente geram microtraumas, é de se esperar também que ocorram aumentos nos níveis plasmáticos de IL-8, uma quimiocina responsável em atrair neutrófilos para o sítio da inflamação e mediar sua ativação.

Assim, objetivamos no presente estudo avaliar o efeito de um programa de treinamento de musculação em circuito sobre a ação aguda do exercício resistido realizado até a exaustão nos níveis das citocinas plasmáticas IL-6, IL-8, IL-10, IL-1 β , TNF α e IL-12p70.

4. MÉTODOS

4.1. Sujeitos

Foram selecionadas para este estudo 21 mulheres após a realização de hemograma completo, glicemia de jejum, eletrocardiograma de repouso, avaliação da composição corporal, perimetria da cintura e quadril, pressão arterial de repouso e avaliação clínica, as quais se apresentaram saudáveis, não fumantes e com ciclo menstrual normal, além de não fazerem uso regular de nenhuma medicação.

Para inclusão da voluntária na análise dos dados foi estabelecido uma frequência mínima nos treinamentos de 85%, desta maneira, foram incluídas na análise estatística deste estudo 14 mulheres sedentárias (não praticavam nenhuma atividade física regular há pelo menos um ano), com idade de $39,8 \pm 3,9$ anos, peso de $60,6 \pm 6,6$ kg e altura de $163,6 \pm 6,6$ cm. As voluntárias foram informadas sobre os possíveis riscos que permeiam o estudo e assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO 1), que foi aprovado juntamente com o projeto desta pesquisa pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de São Carlos-UFSCar, parecer número 196/2007.

4.2. Procedimentos Gerais

Foram realizados testes de 1 Repetição Máxima (1-RM), Testes de Fadiga (TF) nos exercícios Leg Press 45° (LP) e Supino Reto (SR) e avaliação da massa magra antes e após o período de intervenção, que consistiu de 10 semanas de treinamento de musculação em circuito. Para análise do perfil das citocinas foram realizadas coletas de sangue antes e após os TFs. Cada voluntária teve seu horário de avaliação e treinamento determinado antes do início das avaliações, de maneira que as avaliações e o treinamento foram realizados sempre no mesmo horário para cada sujeito até o final desta pesquisa.

4.3. Testes de 1-RM

Os testes de 1-RM nos exercícios LP e SR foram realizados no mesmo dia separados por 20 minutos de intervalo entre eles, com a ordem de realização do teste definida randomicamente.

Os procedimentos adotados para aquecimento foram a realização de três séries com cargas crescentes e repetições decrescentes, sendo a primeira série de 20 repetições com o peso da máquina (LP-26kg e SR-9kg), a segunda série de 10 repetições com 50% de 1-RM e a terceira série de 3 repetições com 70% de 1-RM. O intervalo entre as séries do aquecimento foi de um minuto, com a carga na primeira avaliação sendo estipulada empiricamente por um avaliador experiente, já na segunda avaliação considerou-se a 1-RM anterior para determinação da carga de aquecimento.

O teste consistiu de no máximo cinco tentativas com três minutos de intervalo entre elas, com o peso sendo colocado de maneira crescente e iniciando o movimento sempre pela fase excêntrica. Os procedimentos para aquecimento e teste estão de acordo com revisão e Brown & Weir (2001).

Todas as voluntárias foram hábeis para obter suas 1-RMs dentro das cinco tentativas, com média \pm desvio padrão de $3,9 \pm 0,7$ tentativas. As voluntárias foram orientadas a realizar os movimentos em sua amplitude completa. Quando esse procedimento não foi seguido a tentativa foi considerada inválida. Além disso, incentivo verbal foi dado a todas as voluntárias em todas as tentativas sempre pelo mesmo membro da equipe de avaliação.

4.4. Teste de Fadiga (TF)

O TF também foi realizado em dois exercícios distintos, LP e SR, separados por 48h de intervalo entre os mesmos com a ordem de realização definida através de sorteio, bem como, separado por 48h de intervalo do teste de 1-RM. O teste consistiu de três séries separadas por um minuto de intervalo, com intensidade de 50% de 1-RM, sendo as voluntárias instruídas a realizar o máximo de repetições possíveis até que ocorra a falha concêntrica do movimento. Antes da realização do TF os sujeitos realizaram um aquecimento padrão com uma série de 20 repetições com o peso da máquina (LP-26kg e SR-9kg). As

voluntárias foram orientadas a realizar os movimentos em sua amplitude completa. Quando esse procedimento não foi seguido a repetição não foi considerada. O tempo de movimento foi padronizado em 1,5s para fase excêntrica e 1,5s para fase concêntrica. Porém, o teste não foi interrompido devido ao não cumprimento do tempo nas últimas repetições de cada série.

4.5. Massa Magra (MM)

A MM de foi analisada através de DXA (Dual-energy X-ray Absorptiometry) num aparelho da marca LUNAR[®], modelo DPX Plus # 6243, EUA, software versão 4.7e de 12/7/2000, com coeficiente de variação in vivo de 0,9-1,1%, em posição de decúbito dorsal, antes e após o período de treinamento.

4.6. Determinação da Resistência Muscular Localizada (RML)

A RML foi determinada através do número de repetições realizadas na primeira série dos TF realizados antes e após o treinamento, segundo Deschenes & Kraemer (2002).

4.7. Determinação do Volume Total no TF

O volume foi determinado através da multiplicação do número de repetições realizadas no TF pela carga de realização do teste (50% de 1-RM), antes e após o período de treinamento.

4.8. Citocinas e TF

Para análise das citocinas no TF as voluntárias foram separadas em dois grupos de sete voluntárias através de sorteio, grupo LP e grupo SR, porém em duas voluntárias não foi possível a realização da punção venosa após o esforço, sendo os grupos constituídos de seis sujeitos cada. Antes e 5min após o TF foram coletadas amostras de 5 mL de sangue da veia antecubital, com as voluntárias na posição sentada, em um tudo de vidro (Vacutainer) sem anticoagulante. O tubo foi colocado em gelo até a centrifugação em 2.500 rpm em uma temperatura de 4°C durante um período de 20 min. O plasma foi separado das células e estocado em uma temperatura de -80°C para subsequente análise das citocinas: interleucina 8 (IL-8), interleucina 10 (IL-10), interleucina 6 (IL-6), interleucina 12p70 (IL-12p70), interleucina 1 β (IL-1 β) e fator de necrose tumoral (TNF), pelo método de citometria de fluxo (BD FACS Canto-Flow Cytometer – USA), Cada amostra de soro (50 μ l) foi preparada para a leitura das citocinas utilizando-se os reagentes do “BD CBA Human Inflammation Kit” fabricado pela BDTM Biosciences. Os limites de detecção do kit utilizado são em média: 3.6 pg/ml para IL-8; 7.2 pg/ml para IL-1 β ; 2.5 pg/ml para IL-6; 3.3 pg/ml para IL-10; 3.7 pg/ml para TNF e 1.9 pg/ml para IL-12p70.

4.9. Lactato e TF

Durante o TF foram realizadas coletas de 25 μ l de sangue, em capilares heparinizados, do lóbulo da orelha nos seguintes momentos: repouso (REP), imediatamente após a primeira (PS1), segunda (PS2), terceira (PS3) séries do TF e 5min após o teste (5mP). As amostras foram guardadas em tubos do tipo ependorfes contendo 50 μ l de fluoreto de sódio e reservadas em freezer com uma temperatura de -20°C para posteriormente serem analisadas em um lactímetro da marca YELLOW SPRINGS 1500, EUA.

4.10. Determinação do lactato/MM

O índice lactato por massa magra foi obtido realizando a divisão entre a concentração sanguínea de lactato (mmol/L) nos momentos REP, PS1, PS2, PS3 e 5mP dos TF para LP e SR pela massa magra (kg). Ele representa a contribuição anaeróbia láctica relativa à massa magra no TF antes e após o treinamento.

4.11. Protocolo de Treinamento

As voluntárias realizaram um treinamento de musculação em circuito por um período de 10 semanas, 3 vezes por semana. Em cada sessão de treinamento foram realizadas duas voltas em um circuito, com exceção da primeira que foi realizada com apenas uma volta para adaptação ao treinamento. O circuito consistiu de 9 exercícios na ordem que se segue: meio agachamento na barra guiada, puxador frente aberto, supino reto na barra guiada, leg press 45°, remada unilateral com halteres (começando com o membro não dominante), supino inclinado com halteres, mesa flexora, remada alta com barra e abdominal parcial no puxador. O intervalo entre cada exercício e entre as voltas do circuito foi padronizado em um minuto. A carga de treinamento foi determinada entre 8 e 12 repetições máximas (RM). Antes do início do treinamento foram realizadas duas voltas no circuito para ajuste das cargas para a primeira sessão de treinamento. No início de cada sessão de treinamento foi realizado um aquecimento padrão, com uma série de 20 repetições com o peso da máquina sem intervalo de descanso nos exercícios, agachamento na barra guiada, puxador frente aberto e supino reto na barra guiada. Todos os treinos foram acompanhados com um treinador personalizado para correções de posturas erradas e ajustes das cargas.

4.12. Análise Estatística

Foram aplicados testes de normalidade (Shapiro Wilkes) para todas as variáveis. Quando detectadas distribuições anormais, as comparações entre 1-RM, massa

magra, RML, volume e concentração de citocinas antes e após o treinamento foram realizadas através da aplicação do *Wilcoxon Matched Pairs Test*, quando detectadas distribuições normais antes e após o treinamento foi aplicado o *Test t Student* para amostras dependentes, para ambos os testes o nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. Para análise estatística foi utilizado o programa Statistica versão 6.0, USA.

5. RESULTADOS

5.1. Citocinas e TF

Com exceção da IL-8, as citocinas analisadas antes e após 5min o TF não atingiram seu limite de detecção no plasma, tanto para o LP como para o SR, antes ou após o período de treinamento (Tabelas 1 e 2). Para IL-8, não encontramos diferenças significativas entre repouso e 5min após o TF para o LP (4.38 ± 2.62 e 5.73 ± 0.97 pg/ml) e para o SR (3.68 ± 3.91 e 9.00 ± 2.57 pg/ml), respectivamente no período pré-treinamento. Bem como, no período pós-treinamento, LP (6.36 ± 1.35 e 6.47 ± 2.08 pg/ml) e SR (5.71 ± 2.21 e 7.06 ± 2.26 pg/ml), respectivamente. Também não existem diferenças significativas na concentração no plasma de IL-8 no repouso quando comparados pré e pós-treinamento (LP: $P = 0,156$ e SR: $P = 0,166$). Da mesma maneira quando comparados 5min após o TF, pré e pós-treinamento (LP: $P = 0,451$ e SR: $P = 0,235$).

Tabela 1. Concentração de citocinas antes e depois do teste de fadiga (TF) no Supino Reto.

Citocinas	Pré-Treinamento (pg/ml)		Pós-Treinamento (pg/ml)	
	Antes TF	Depois TF	Antes TF	Depois TF
IL-8	3.68 ± 3.91	9.0 ± 2.57	5.71 ± 2.21	7.06 ± 2.26
IL-1 β	ND	ND	ND	ND
IL-6	ND	ND	ND	ND
IL-10	ND	ND	ND	ND
TNF	ND	ND	ND	ND
IL-12p70	ND	ND	ND	ND

Valores estão em média \pm DP. IL-8, interleucina 8; IL-1 β , interleucina 1 β ; IL-6, interleucina 6; IL-10, interleucina 10; TNF- α , fator de necrose tumoral; IL-12p70, interleucina 12p70; ND, não detectável.

Tabela 2. Concentração de citocinas antes e depois do teste de fadiga (TF) no Leg Press 45°.

Citocinas	Pré-Treinamento (pg/ml)		Pós-Treinamento (pg/ml)	
	Antes TF	Depois TF	Antes TF	Depois TF
IL-8	4.38 ± 2.62	5.73 ± 0.97	6.36 ± 1.35	6.47 ± 2.08
IL-1 β	ND	ND	ND	ND
IL-6	ND	ND	ND	ND
IL-10	ND	ND	ND	ND
TNF	ND	ND	ND	ND
IL-12p70	ND	ND	ND	ND

Valores estão em média \pm DP. IL-8, interleucina 8; IL-1 β , interleucina 1 β ; IL-6, interleucina 6; IL-10, interleucina 10; TNF- α , fator de necrose tumoral; IL-12p70, interleucina 12p70; ND, não detectável.

5.2. 1-RM

Foram encontrados aumentos significativos em 1-RM para LP e SR, 18.57% ($P < 0,01$) e 15.27% ($P < 0,01$), respectivamente (Figura 1).

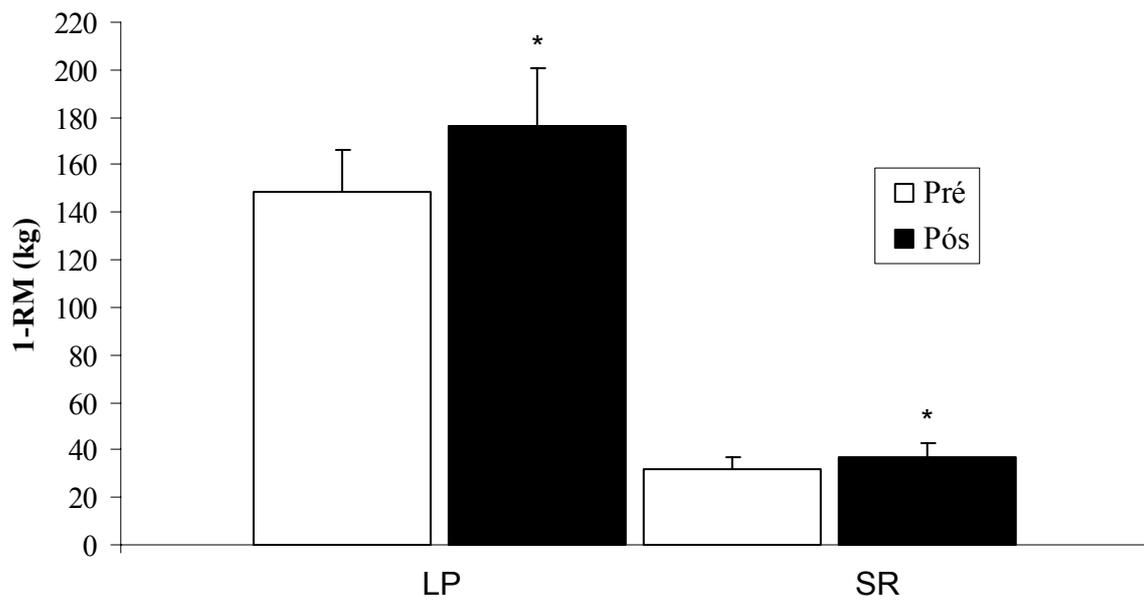


FIGURA 1 – Uma Repetição Máxima (1-RM) pré e pós treinamento para os exercícios Leg Press 45° (LP) e Supino Reto (SR). * Pós maior do que Pré ($P < 0,01$).

5.3. RML

O exercício LP apresentou queda significativa na RML, pré-treinamento 42.14 ± 9 repetições e pós-treinamento 35.36 ± 8.6 repetições ($p < 0,05$), os resultados são apresentados como média \pm DP. Já para o exercício SR não foram encontradas diferenças significativas, pré-treinamento 24.71 ± 7.92 repetições e pós-treinamento 28.21 ± 7.61 repetições (Figura 2).

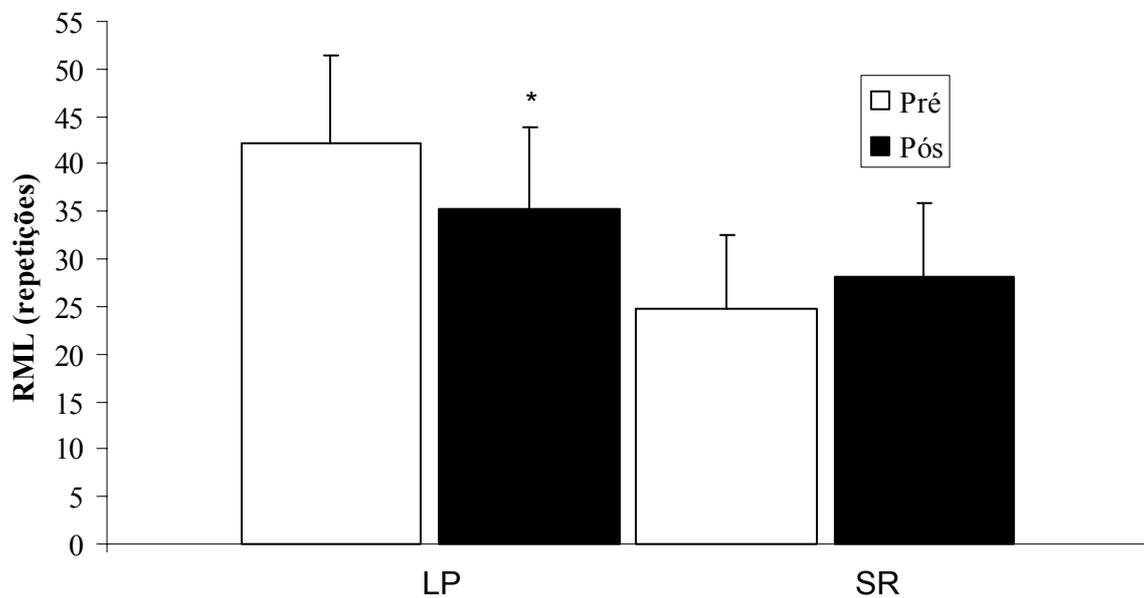


FIGURA 2 – Resistência Muscular Localizada (RML) pré e pós treinamento para os exercícios Leg Press 45° (LP) e Supino Reto (SR). * Pós menor do que Pré ($P < 0,05$).

5.4. Volume Total no TF

Não houve mudança significativa para o LP apesar de um aumento de 7.92%, enquanto que para o SR houve um aumento significativo de 33.73% ($P < 0,01$) no volume total no TF (Figura 3).

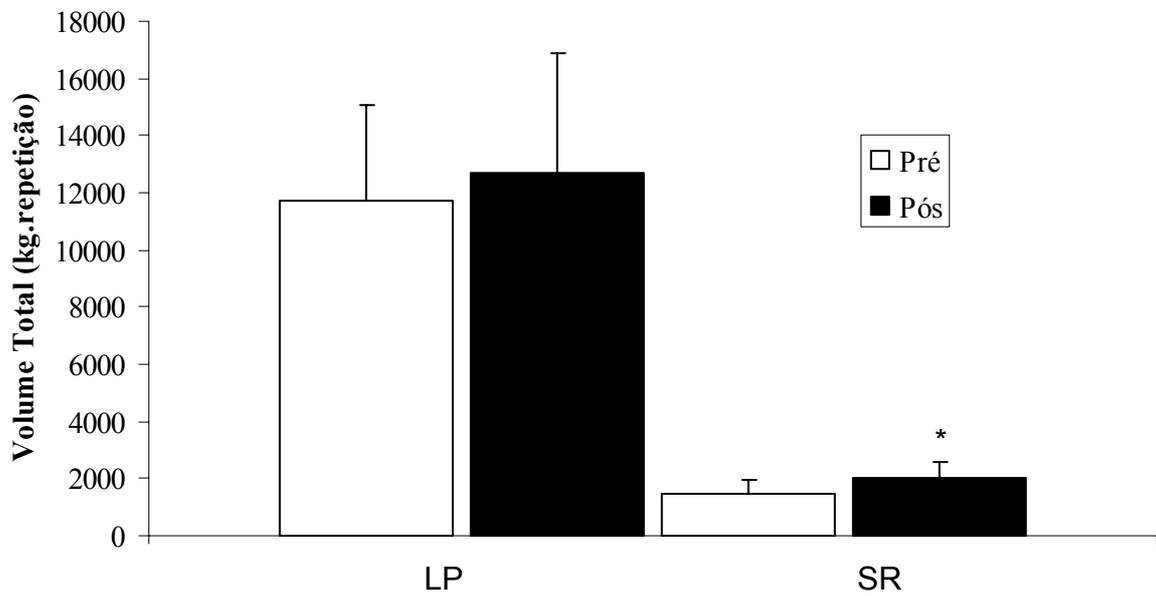


FIGURA 3 – Volume Total pré e pós treinamento para os exercícios Leg Press 45° (LP) e Supino Reto (SR). * Pós maior do que Pré ($P < 0,01$).

5.5. Massa Magra (MM)

A MM aumentou significativamente do período pré-treinamento 35.93 ± 4.93 kg para o período pós-treinamento 39.13 ± 4.95 kg ($P < 0,01$) (Figura 4).

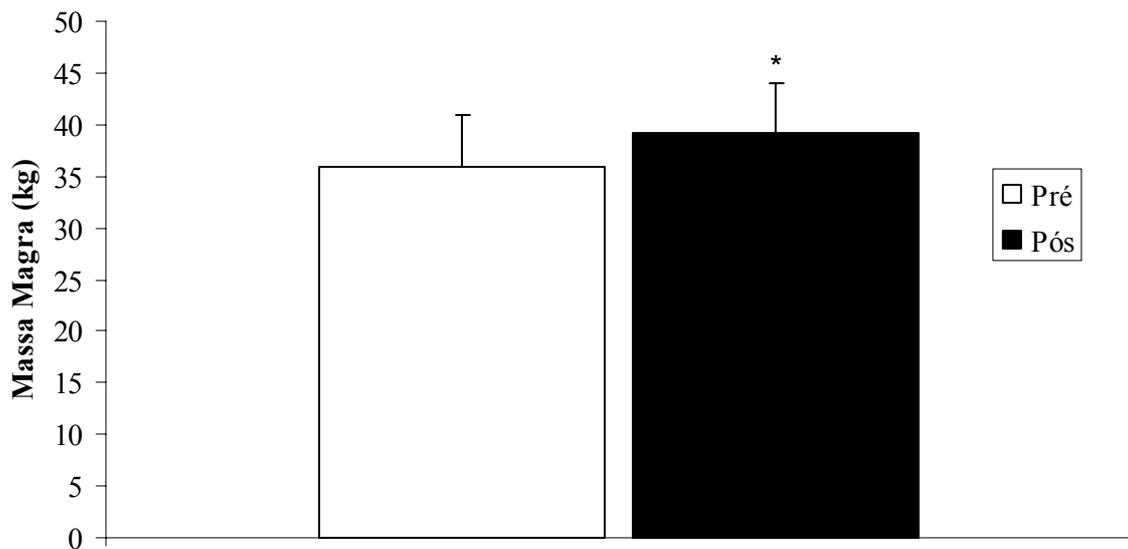


FIGURA 4 – Massa Magra pré e pós treinamento. * Pós maior do que Pré ($P < 0,01$).

5.6. Lactato/MM e TF

O índice lactato/MM apresentou diferenças significativas para o LP nos momentos REP ($P < 0,01$), PS1 ($P < 0,01$) e PS2 ($P < 0,01$), e para SR nos momentos REP ($P < 0,01$), PS1 ($P < 0,05$), PS2 ($P < 0,05$), PS3 ($P < 0,05$) e 5mP ($P < 0,05$), quando comparados os períodos pré e pós-treinamento (Figura 5).

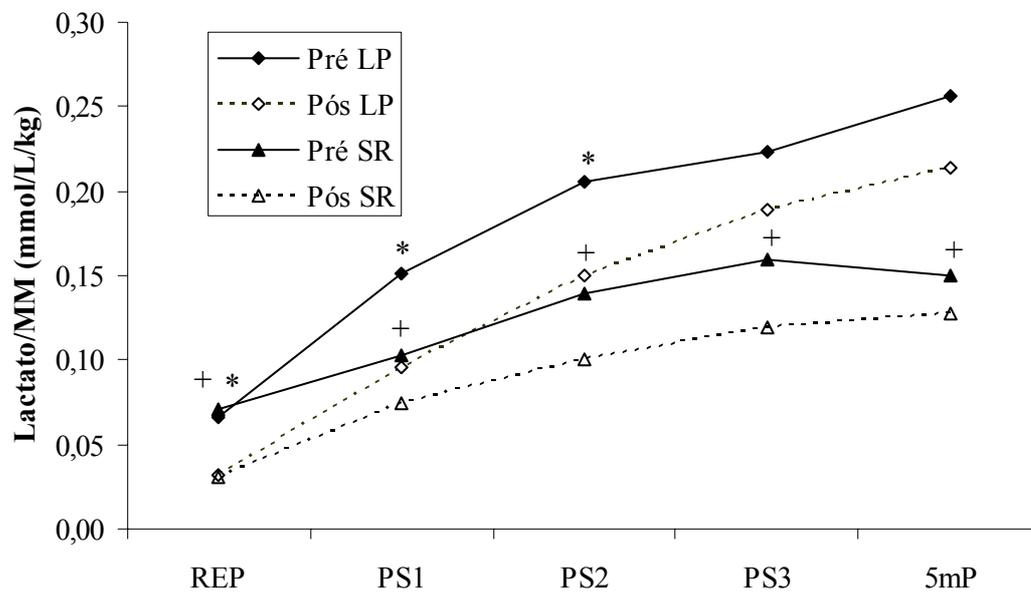


FIGURA 5 – Lactato/Massa Magra (MM) pré e pós treinamento para os exercícios Leg Press 45° (LP) e Supino Reto (SR). Repouso (REP), Pós Série 1 (PS1), Pós Série 2 (PS2), Pós Série 3 (PS3) e 5 minutos após o teste de fadiga (5m). * pós menor do que pré para LP ($P < 0,01$). + pós menor do que pré para SR ($P < 0,05$).

6. DISCUSSÃO

Em nosso estudo não encontramos alterações no perfil das citocinas após exercícios resistidos realizados até a exaustão em relação aos valores pré-exercício. Além disso, não foram verificadas modificações nas citocinas plasmáticas após 10 semanas de treinamento de musculação em circuito, entretanto, o treinamento notadamente provocou adaptações, tais como, aumento de massa magra, aumento na força e menor concentração de lactato no TF, demonstrando que ganhos na aptidão neuromuscular e metabólica não possuem relações com o perfil das citocinas apresentado pelos nossos indivíduos. Desta maneira, essas observações indicam que nossa hipótese não foi suportada, evidenciando que exercícios resistidos dinâmicos, realizados até a exaustão, não provocam estresse suficiente para alterar a citocinemia imediatamente após a realização do exercício.

A não alteração no perfil das citocinas encontrado em nosso estudo está de acordo com Brenner et al. (1999), que não encontrou alterações na concentração plasmática de IL-6, IL-10 e TNF- α após uma sessão de exercícios resistidos em circuito com 60-70% de 1-RM, com duração de 45min. Esses resultados porém, estão em desacordo com Anwar et al. (1997) que realizaram 4 séries de 10 repetições com 100% de 1-RM em um exercício de pressão excêntrica (perna) e encontraram aumentos plasmáticos de IL-6 com redução posterior de IL-1. Bem como, Paulsen et al (2005) após 300 ações excêntricas máximas em isocinético com músculo quadríceps, não encontraram alterações para IL-8, porém observaram aumentos de IL-6 imediatamente após o exercício, entretanto não foi encontrada, neste estudo, correlação entre o montante de trabalho realizado com a concentração das citocinas.

Comparando exercícios aeróbios com exercícios excêntricos, tem sido demonstrado que as maiores mudanças nas citocinas plasmáticas ocorrem em exercícios de endurance. Assim, existiriam outros fatores, além do micro-trauma, envolvidos nas alterações das citocinas no sangue no caso dos exercícios aeróbios. Essa diferença pode ser devida ao fato de que exercícios excêntricos induzem pouco estresse energético, oxidativo e metabólico, além de pequena alteração hormonal, os quais são estímulos conhecidos para liberação de citocinas sistêmicas (Suzuki et al., 2002).

Desta maneira, a natureza do estímulo parece ser primordial no perfil de resposta das citocinas produzidas após o exercício. Exercícios excêntricos de alta intensidade têm demonstrado alterar o perfil das citocinas através da geração de microtraumas (Paulsen et

al., 2005; Anwar et al., 1997; Evans et al., 1986), apesar disso, nosso modelo de exercício que também possui um grande componente excêntrico não apresentou tais respostas. Isso pode ser em virtude da baixa carga utilizada (50% 1-RM), do reduzido número de amostras ou ainda de algum eventual efeito da realização da fase concêntrica do movimento. Contudo, este é o primeiro trabalho, de nosso conhecimento que se dedicou a analisar a resposta das citocinas a exercícios resistidos dinâmicos realizando as duas fases do movimento, concêntrica e excêntrica. Entretanto, mais estudos são necessários para melhor esclarecer a relação que existe entre volume, intensidade e a natureza do estímulo com o perfil das citocinas encontradas após exercícios resistidos agudos.

Após o período de treinamento, encontramos aumentos na 1-RM nos dois exercícios avaliados (LP e SR), os quais proporcionaram também, aumentos na carga de realização do TF. Com isso, houve redução da RML para o LP e manutenção no SR. Entretanto, quando avaliado o volume total de peso levantado, houve significativos aumentos no exercício SR e manutenção no LP. Os dados acima indicam que o treinamento foi eficaz em aumentar a força dinâmica máxima e a resistência muscular absoluta ao TF. Além disso, as concentrações de lactato/kg MM foram significativamente menores durante o REP, PS1 e PS2 para o LP 45° e REP, PS1, PS2, PS3 e 5mP para o SR, o que indica alterações metabólicas durante o TF em decorrência de 10 semanas de treinamento.

Moldoveanu et al. (2001) em sua revisão argumentou que as citocinas modulam diretamente as células imunes, determinando a resposta celular imune ou não imune ao treinamento, podendo haver uma relação entre respostas das citocinas e adaptação do treinamento a longo prazo. Baum et al. (1999) encontraram aumentos na síntese de IL-1 β e IL-6, após 12 semanas de treinamento de corrida com duração de 3 a 5 hs por semana. Como demonstrado anteriormente, nossos resultados não foram similares, possivelmente devido à realização de treinamento resistido voltado ao ganho de força e não de capacidade aeróbia, indicando que a natureza do exercício tem importante papel na resposta das citocinas ao treinamento e que adaptações neuromusculares e metabólicas não possuem relação com o perfil das citocinas após o exercício resistido.

Evidências indicam que a alta concentração em repouso de biomarcadores sistêmicos da inflamação (IL-6, IL-1 β , TNF- α e CRP) é associada com o desenvolvimento de algumas doenças ligadas a inatividade, como aterosclerose e diabetes (Lechlitner et al., 2002; Smith, 2001), com o treinamento podendo ter importantes implicações clínicas ao reduzir o nível desses marcadores no estado de repouso. Um estudo realizado com indivíduos separados

em quatro grupos; jovens inativos, jovens ativos, idosos inativos e idosos ativos (Stewart et al., 2007) não encontrou alterações nos marcadores de inflamação após 12 semanas de treinamento combinado aeróbico e resistido, com exceção de uma significativa redução nos níveis de CRP. Já White et al. (2006) encontraram alterações nesses marcadores após 8 semanas de treinamento resistido em indivíduos com esclerose múltipla.

Neste estudo não foi identificadas alterações em repouso dos biomarcadores sistêmicos de inflamação, apesar de não ter mensurada a CRP, o que poderia indicar que o exercício resistido em circuito é eficaz em promover adaptações positivas a saúde sem comprometer nos biomarcadores da inflamação. Entretanto, o curto período de treinamento e as diferenças entre as populações estudadas, podem explicar os diferentes resultados, sendo mais fácil encontrar alterações em populações doentes em um período de 8 a 12 semanas de treinamento.

Os níveis da IL-12p70, uma interleucina bioativa produzida pelas células dendríticas, (Libby, 2002) não se alteraram após a realização dos testes de fadiga, ainda são precisos muitos estudos para identificar se essa citocina possui algum papel durante o exercício, entretanto, nossos dados demonstram que ela não altera suas concentrações na corrente sanguínea após 5 min de exercícios resistidos realizados até a exaustão. No entanto, esses resultados não suportam a conclusão de que ela não possui nenhum papel durante a realização de um exercício físico. Estudos com estímulos diferentes e com coletas de sangue realizadas em momentos diferentes ainda precisam ser realizados para maior compreensão sobre a função da IL-12p70 durante o exercício e conseqüentemente suas possíveis aplicações ao treinamento.

A associação da concentração sérica de TNF- α com a massa muscular tem sido proposta recentemente (Kohut et al., 2006). Heled et al. (2005) demonstraram que o exercício aumenta a expressão do TNF e seus receptores (R1) no tecido muscular. Desta maneira, talvez a maior quantidade de massa muscular associada com o treinamento físico poderia levar a um maior consumo do TNF- α pelo aumento dos receptores R1 no tecido muscular. Entretanto, esses achados não estão de acordo com os nossos dados, os quais demonstraram aumento significativo da massa muscular sem a redução de repouso do TNF- α . O horário diferenciado para as coletas de repouso, bem como, a população estudada podem mascarar um possível efeito da massa muscular sobre o TNF- α , assim como o fato a população estudada não ter apresentado altos níveis de TNF- α em repouso prévio ao treinamento de musculação.

Tem se argumentado que o exercício físico pode ser considerado como um protótipo de estresse físico, como muitos estressores físicos clínicos (ex.: cirurgia, trauma, queimado, sepsia) induzindo um padrão de resposta hormonal e imunológica similares com as do exercício (Pedersen e Hoffman-Goetz, 2000; Hoffman-Goetz e Pedersen, 1994). Reações locais e sistêmicas à infecções, micro ou macrotraumas dependem em parte da magnitude da resposta das citocinas (Moldoveanu et al., 2001). A natureza quantitativa e qualitativa da resposta determina o resultado, que depende de um apropriado balanço entre mecanismos pró e anti-inflamatórios. A não detecção tanto de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β e TNF- α), anti-inflamatórias (IL-10), responsivas a inflamação (IL-6) e quimioatraentes (IL-8) em ambos os exercícios (LP e SR), nos faz crer que exercícios resistidos dinâmicos realizados até a exaustão não alteram a resposta imunológica, uma vez que não provocam alterações no perfil das citocinas.

Sendo assim, conforme demonstrado na literatura, os exercícios aeróbios, quando exaustivos e de longa duração, são efetivos em induzir um estado de estresse, uma vez que alteram o perfil das citocinas inflamatórias. No entanto exercícios resistidos dinâmicos sem microtraumas parecem não produzir tais respostas, podendo ser candidatos a um possível modelo de exercício, não estressante, e efetivo em promover respostas neuromusculares e metabólicas benéficas. Desta maneira, exercícios resistidos em circuito com cargas submáximas merecem estudos mais aprofundados para que se tenha uma visão mais clara dos fenômenos fisiológicos envolvidos. Entretanto, já poderíamos conjecturar que o citado modelo de treinamento, poderia servir como uma importante ferramenta para treinadores para melhoria condição física de indivíduos sedentários.

7. CONCLUSÃO

Exercícios resistidos de 3 séries separados por 1min de intervalo, realizados até a exaustão, mais especificamente leg press 45° e supino reto, não alteraram o perfil das citocinas plasmáticas, antes ou depois de 10 semanas de treinamento de musculação em circuito. Entretanto, o treinamento provocou adaptações neuromusculares, como aumento de massa magra e de força, bem como, adaptações metabólicas, como a menor concentração de lactato encontrada no pós-treinamento durante o teste de fadiga. Assim, nossos dados suportam a evidência de que exercícios resistidos dinâmicos, realizados até a exaustão, não provocam estresse suficiente para alterar a citocinemia e que, deste modo, ele não pode ser considerado como um protótipo de estresse físico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.. Rhind SG, Shek PN, Shephard RJ. The impact of exercise on cytokines and receptor expression. *Exerc Immunol Rev* 1995; 1: 97-148
2. Moldoveanu AI, Shephard RJ, Shek PN. The cytokine response to physical activity and training. *Sports Med.* 2001; 31 (2): 115-144.
3. Pedersen BK. Exercise and cytokines. *Immunol and Cell Biol.* 2000; 78, 532–535.
4. Crane LJ, Miller DL. Plasma protein induction by isolated hepatocytes. *Mol Cell Biochem* 1983; 53/54: 89-109
5. Suzuki K, Nakaji S, Kurakake S, Totsuka M, Sato K, Kuriyama T, Fujimoto H, Shibusawa K, Machida K, Sugawara K. Exhaustive exercise and type-1/type-2 cytokine balance with special focus on interleukin-12p40/p70. *Exer Immunol Rev.* 2003; 9: 48-57.
6. Cannon JG, Kluger MJ. Endogenous pyrogen activity in human plasma after exercise. *Science* 1983; **220**: 617–19.
7. Petersen AMW, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol* 98: 1154-1162, 2005.
8. Brenner IKM, Natale VM, Vasiliou P, Moldoveanu AI, Shek PN, Shephard RJ. Impact of three different types of exercise on components of the inflammatory response. *Eur J Appl Physiol.* 1999; 80: 452-460.
9. Ostrowski K, Rohde T, Zacho M, Asp S, Pedersen BK. Evidence that IL-6 is produced in skeletal muscle during intense long term muscle activity. *J. Physiol. (Lond.)* 1998; 508: 949–53.
10. Anwar A, Smith LL, Holbert D, et al. Serum cytokines after strenuous exercise [abstract]. *Med Sci Sports Exerc.* 1997; 29 Suppl.: S73.
11. Nieman DC, Henson DA, Smith LL, Utter AC, Vinci DM, Davis JM, Kaminsky DE, Shute M. Cytokine changes after a marathon race. *J Appl Physiol.* 2001; 91: 109–114.
12. Northoff H, Berg A. Immunologic mediators as parameters of the reaction to strenuous exercise. *Int J Sports Med.* 1991; 12: 9-15.
13. Gannon GA, Rhind SG, Suzui M, et al. Circulating levels of peripheral blood leucocytes and cytokines following competitive cycling. *Can J Appl Physiol.* 1997; 22: 133-47.
14. Pedersen BK, Steenberg A, Fischer C, Keller C, Keller P, Plomgaard P, Wolsk-Petersen E, Febbraio M. The metabolic role of IL-6 produced during exercise: is IL-6 an exercise factor? *Nutrition Society* 2004; 63: 263-267.
15. Kammuler ME. Recombinant human interleukin-6: safety issues of a pleiotropic growth factor. *Toxicology* 1995; 105: 91-107

16. Ndubuisi MI, Patel K, Rayanade RJ, et al. Distinct classes of chaperoned IL-6 in human blood: differential immunological and biological activity. *J Immunol* 1998; 160: 494-501
17. Dinarello CA. The biological properties of interleukin-1. *Eur Cytokine Netw* 1994; 5 (6): 517-31
18. Kostura MJ, Tocci MJ, Limjuco G, et al. Identification of monocyte specific pre-interleukin 1 beta convertase activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 5227-31
19. Lennard AC. Interleukin-1 receptor antagonist. *Crit Rev Immunol* 1995; 15: 77-105
20. Kuby J. Cytokines. In: *Immunology*. 2nd ed. New York: W.H. Freeman and Co., 1994: 297-322
21. Beasley D, Cohen RA, Levinsky NG. Interleukin 1 inhibits contraction of vascular smooth muscle. *J Clin Invest* 1989; 83: 331-5
22. Zamir O, Hasselgren PO, O'Brien W, et al. Muscle protein breakdown during endotoxemia in rats before and after treatment with interleukin-1 receptor antagonist (IL-1ra). *Ann Surg* 1992; 216: 381-5
23. Pennica D, Nedwin GE, Hayflick JS. Human tumor necrosis factor: precursor structure, expression, and homology to lymphotoxin. *Nature* 1984; 312: 724-9
24. Cohen MC, Cohen S. Cytokine function: a study in biologic diversity. *Am J Clin Pathol* 1996; 105: 589-98
25. Baggiolini M, Dewald B, Moser B. Human chemokines: an update. *Annu Rev Immunol* 1997; 15: 675-705
26. Gilman-Sachs A, DuChateau B. Clinical relevance of chemokines [abstract]. *Clin Immunol Newsl* 1997; 17 (7): 93
27. Greenberg MJ, Streiter RM, Kunkel SL, et al. Neutralization of macrophage inflammatory protein-2 attenuates neutrophil recruitment and bacterial clearance in murine *Klebsiella pneumoniae*. *J Infect Dis* 1996; 173: 173-59
28. Streiter RM, Koch AE, Antony VB, et al. The immunopathology of chemotactic chemokines: the role of interleukin-8 and monocyte chemoattractant protein-1. *J Lab Clin Med*. 1994; 123: 183-97.
29. Kluth DC, Rees AJ. Inhibiting inflammatory cytokines. *Semin Nephrol* 1996; 16 (6): 576-82
30. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002; 420: 868-874.
31. Romagnani, S. The Th1/Th2 paradigm. *Immunol. Today* 18: 263-266, 1997.

32. Drenth, J. P., Van Uum, S. H., Van Deuren, M., Pesman, G. J., Van Der Ven Jongekrijg, J. & Van Meer, J. W. (1995). Endurance run increases circulating IL_6 and IL_1ra but downregulates ex vivo TNF-alpha and IL_1 beta production. *Journal of Applied Physiology* 79, 1497—1503.
33. Nehlsen-Cannarella, S. L., Fagoaga, O. R., Nieman, D. C., Henson, D. A., Butterworth, D. E., Schmitt, R. L., Bailey, E. M., Warren, B. J., Utter, A. & Davis, J. M. (1997). Carbohydrate and the cytokine response to 2.5 h of running. *Journal of Applied Physiology* 82, 1662—1667.
34. Castell, L. M., Poortmans, J. R., Leclercq, R., Brasseur, M., Duchateau, J. & Newsholme, E. A. (1997). Some aspects of the acute phase response after a marathon race, and the effects of glutamine supplementation. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology* 75, 47—53.
35. Bruunsgaard H, Galbo H, Halkjaer-Kristensen J, Johansen TL, MacLean DA, Pedersen BK. Exercise-induced increase in interleukin-6 is related to muscle damage. *J. Physiol. (Lond.)* 1997;499: 833–41.
36. Ostrowski K, Hermann C, Bangash A, Schjerling P, Nielsen JN, Pedersen BK. A trauma-like elevation in plasma cytokines in humans in response to treadmill running. *J. Physiol. (Lond.)* 1998; 508: 949–53.
37. Ostrowski K, Rohde T, Asp S, Schjerling P, Pedersen BK. Pro- and anti-inflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans. *J Physiol (London)* 1999; 515: 287-291.
38. Toft, Anders Dyhr, Lars Bjørn Jensen, Helle Bruunsgaard, Tobias Ibfelt, Jens Halkjær-Kristensen, Mark Febbraio, and Bente Klarlund Pedersen. Cytokine response to eccentric exercise in young and elderly humans. *Am J Physiol Cell Physiol* 283: C289–C295, 2002;
39. Pedersen BK, Steensberg A, Fischer C, et al. Searching for the exercise factor - is IL-6 a candidate. *J Muscle Res Cell Motil* 2003; 24: 113-119.
40. Febbraio MA, Pedersen BK. Muscle-derived interleukin-6: mechanisms for activation and possible biological roles. *FASEB J* 2002; 16: 1335-1347.
41. Pedersen BK, Hoffman-Goetz L. Exercise and the immune system: regulation, integration and adaption. *Physiol Rev* 2000; 80: 1055-1081.
42. Chan, M. H. Stanley, Andrew L. Carey, Matthew J. Watt, and Mark A. Febbraio. Cytokine gene expression in human skeletal muscle during concentric contraction: evidence that IL-8, like IL-6, is influenced by glycogen availability. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 287: R322–R327, 2004.
43. Pedersen BK, Febbraio M. Muscle-derived interleukin-6: a possible link between skeletal muscle, adipose tissue, liver, and brain. *Brain, Behavior and Immunity*. 19 (2005); 371-376.
44. Febbraio MA, Steensberg A, Keller C, et al. Glucose ingestion attenuates interleukin-6 release from contracting skeletal muscle in humans. *J Physiol (London)* 2003; 549: 607-612.

45. Keller C, Steensberg A, Pilegaard H, et al. Transcriptional activation of the IL-6 gene in human contracting skeletal muscle: influence of muscle glycogen content. *FASEB J* 2001; 15: 2748-2750.
46. Pedersen, B.K., Steensberg, A., Schjerling, P., 2001. Muscle-derived interleukin-6: possible biological effects. *J. Physiol. (London)* 536, 329–337.
47. Febbraio, M.A., Hiscock, N., Sacchetti, M., Fischer, C.P., Pedersen, B.K., 2004. Interleukin-6 is a novel factor mediating glucose homeostasis during skeletal muscle contraction. *Diabetes* 53, 1643–1648.
48. Pedersen BK, Ostrowski K, Rohde T, et al. The cytokine response to strenuous exercise. *Can J Physiol Pharmacol* 1998;76: 505-11
49. Willoughby DS, McFarlin B, Bois C. Interleukin-6 expression after repeated bouts of eccentric exercise. *Int J Sports Med.* 2003; 24: 15-21.
50. Hirose LK, Nosaka MN et al. Changes in inflammatory mediators following eccentric exercise of the elbow flexors. *Exerc. Immunol Rev.* 10:75-90, 2004.
51. Milne, K.J., and E.G. Noble. Exercise-induced elevation of HSP70 is intensity dependent. *J. Appl Physiol.* 93: 561-568, 2002.
52. Paulsen G, Benestad HB, Strom-Gundersen I, Morkrid L, Lappegaard KT, Raastad T. Delayed leukocytosis and cytokine response to high-force exercise. *Med. Sci. Sports Exerc.* 2005; 37(11): 1877-1883.
53. Steensberg, A. The role of IL-6 in exercise- induced immune changes and metabolism. *Exerc. Immunol. Rev.* 9: 40-44, 2003.
54. Suzuki K, S. Nakaji, M. Yamada, M. Totsuka, K. Sato, and K. Sugawara. Systemic inflammatory response to exhaustive exercise. Cytokine kinetics. *Exerc. Immunol.Rev.* 8: 6-48, 2002.
55. Rohde, T., D.A. MacLean, E.A. Richter, B. Kiens, and B.K. Pedersen. Prolonged submaximal eccentric exercise is associated with increased levels of plasma IL-6. *Am. J. Physiol.* 273: E85-E91, 1997.
56. Suzuki, K., S. Nakaji, M. Yamada, Q. Liu, S. Kurakake, N. Okamura, T. Kumae, T. Umeda, and K. Sugawara. Impact of a competitive marathon race on systemic cytokine and neutrophil responses. *Med. Sci. Sports Exer.* 35: 348-355, 2003.
57. Miles MP, Andring JM, Pearson SD, Gordon LK, Kasper C, Depner CM, Kidd JR. Diurnal variation, response to eccentric exercise, and association of inflammatory mediators with muscle damage variables. *J Appl Physiol.* 2007 Dec. 13.
58. Petersen AMW, Pedersen BK. The role of IL-6 in mediating the anti-inflammatory effects of exercise. *J Physiol Pharmacol.* 2006, 57, Suppl 10, 43-51.

59. Dandona P, Aljada A, Bandyopadhyay A. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol* 2004; 25: 4-7.
60. Ross R. Atherosclerosis - an inflammatory disease. *New Engl J Med* 1999; 340:115-126.
61. Festa A, D'Agostino R, Jr., Tracy RP, Haffner SM. Elevated levels of acute-phase proteins and plasminogen activator inhibitor-1 predict the development of type 2 diabetes: the insulin resistance atherosclerosis study. *Diabetes* 2002; 51: 1131-1137.
62. Fallon KE, Fallon SK, Boston T. The acute phase response and exercise: court and field sports. *Br J Sports Med* 2001; 35: 170-173.
63. Bruunsgaard H, Ladelund S, Pedersen AN, Schroll M, Jorgensen T, Pedersen BK. Predicting death from tumour necrosis factor-alpha and interleukin-6 in 80-year-old people. *Clin Exp Immunol* 2003; 132: 24-31.
64. Tisi PV, Hulse M, Chulakadabba A, Gosling P, Shearman CP. Exercise training for intermittent claudication: does it adversely affect biochemical markers of the exercise-induced inflammatory response? *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1997; 14: 344-350.
65. Kohut ML, McCann DA, Russel DW, Konopka DN, Cunnick JE, Franke WD, Castillo MC, Reighard AE, Vanderah E. Aerobic exercise, but not flexibility/resistance exercise, reduces serum IL-18, CRP, and IL-6 independent of β -blockers, BMI, and psychosocial factors in older adults. *Brain, Behavior, and Immunity* 20 (2006) 201-209.
66. Stewart LK, Flynn MG, Campbell WW, Craig BA, Robinson JP, Timmerman KL, Mcfarln BK, Coen PM, Talbert E. The influence of exercise training on inflammatory cytokines and C-reactive protein. *Med Sci Sports Exerc.* 2007; 39(10): 1714-1719.
67. White LJ, Castellano V, McCoY SC. Cytokine responses to resistance training in people with multiple sclerosis. *J. Sports Sci.* 2006; 24:911-914.
68. Brown LE, Weir JP. ASEP procedures recommendation I: Accurate assessment of muscular strength and power. *JEPonline.* 2001; 4(3):1-21.
69. Deschenes MR, Kraemer WJ. Performance and physiologic adaptations to resistance training. *Am J Phys Med Rehabil.* 2002; 81(Suppl):S3-S16.
70. Evans WJ, Meredith CN, Cannon JG *et al.* Metabolic changes following eccentric exercise in trained and untrained men. *J. Appl. Physiol.* 1986; 61: 1864-8.
72. Lechlitner M, Herold M, Dzien-Bischinger C, Hoppichler F, Dziln A. Tumour necrosis factor-alpha plasma levels in elderly patients with type 2 diabetes mellitus-observations over 2 years. *Diabet. Med.* 2002; 19: 949-953.
73. Smith, J. K. Exercise and atherogenesis. *Exerc Sport Sci. Rev.* 2001; 29:49-53.
74. Heled, Y., Dror, Y., Moran, D.S., Rosenzweig, T., Sampson, S.R., Epstein, Y., Meyerovitch, J., 2005. Physical exercise increases the expression of TNFalpha and GLUT 1 in muscle tissue of diabetes prone Psammomys obesus. *Life Sci.* 21, 2977-2989.

75. Hoffman-Goetz L, Pedersen BK. Exercise and the immune system: A model of the stress response? *Immunol Today*. 1994; 15: 382–7.
76. Mattusch F, Dufaux B, Heine O, Mertens I, Rost R. Reduction of the plasma concentration of C reactive protein following nine months of endurance training. *Int J Sports Med* 2000; 21: 21-24.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE FIOIOLOGIA
Laboratório de Fisiologia do Exercício

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Eu, João Elias Dias Nunes, mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da UFSCar, juntamente com meu orientador no referido programa, o Prof. Dr. Sérgio Eduardo de Andrade Perez, vimos por meio deste Termo de Consentimento, convidar vossa senhoria a participar da pesquisa intitulada **“ANÁLISE DE DIFERENTES VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS E IMUNOLÓGICAS ANTES, DURANTE E APÓS 12 SEMANAS DE TREINAMENTO CONTRA-RESISTÊNCIA”**.

Objetivos: Verificar o impacto de 12 semanas de treinamento contra-resistido em diferentes variáveis fisiológicas e imunológicas em mulheres de meia idade saudáveis.

Para que serão medidas as quantidades de Lactato e de Citocinas no sangue?

O **lactato** serve para indicar o nível de intensidade do Exercício de Musculação, ou seja, quanto mais “pesado” estiver o treino, mais lactato vai aparecer no sangue e isso vai causar uma sensação de cansaço e ardor muscular, normais do exercício.

Dessa forma, o lactato servirá para sabermos o nível de esforço físico das voluntárias durante o treino.

As **Citocinas** são substâncias do sistema imunológico que aparecem no sangue para ajudar o corpo a se recuperar de algum problema de saúde como gripe, garganta inflamada, etc.

Os músculos também podem fabricar citocinas após o exercício, para ajudar na recuperação e adaptação desses músculos a este novo esforço que é o exercício. Isso não significa que o exercício é uma situação de doença, mas sim, que o músculo não está acostumado com aquele exercício.

Isso nos permitirá verificar como sistema imunológico está respondendo ao exercício.

Por que fazer o Teste de Força?

Para verificar as possíveis modificações na força das participantes, devido ao programa de treinamento em musculação.

Por que fazer o Teste de Fadiga?

Para verificar as possíveis modificações na resistência a manutenção da atividade das participantes, devido ao programa de treinamento em musculação.

Metodologia:

Inclusão das Voluntárias

Serão realizados exames de sangue, consulta médica e exame de eletrocardiograma de repouso para verificar o estado de saúde das voluntárias, pois essa pesquisa será desenvolvida (em um primeiro momento) apenas com pessoas saudáveis.

Como critério para a inclusão na pesquisa, além de gozarem de boa saúde e de estarem entre 33 e 45 anos, serão escolhidas as voluntárias que possuem um Índice de Massa Corporal ($\text{Kg}/\text{Estatura}^2$) entre os valores de 18,5 e 26. Para isso será utilizada uma balança de

Bioimpedância que tem bem traz várias outras informações de composição corporal, como percentual de gordura.

Exames realizados antes e depois dos três meses de treinamento em musculação.

Exames que não coletam sangue

Além dos exames iniciais para a seleção das voluntárias, as selecionadas para participação na pesquisa realizarão os seguintes exames antes e depois dos três meses de treinamento:

- ✓ Densitometria Óssea (para análise da composição corporal);
- ✓ Ecocardiograma Doppler (para avaliação cardíaca);
- ✓ Avaliação inicial e acompanhamento nutricional;
- ✓ Ergoespirometria (avaliação da aptidão cardio-respiratória durante esforço físico em esteira rolante)
- ✓ Avaliação da força nos membros superiores (braços) e membros inferiores (pernas).

Exames que coletam sangue

Para a análise do Lactato e das Citocinas serão necessárias algumas coletas de amostras de sangue das voluntárias **antes**, na **quarta semana** e na **última semana** de treinamento, como descrito a seguir:

Lactato circulante no sangue: Serão coletadas 3 (três) gotas de sangue em repouso e para cada série do teste de fadiga, que contém 3 séries, além de mais 3 (três) após o término do teste. Como serão três testes de fadiga durante o período do treinamento, realizaremos 3 vezes esse mesmo procedimento no decorrer de 12 semana. Todas as coletas serão realizadas no lóbulo da orelha (parte baixa e fofinha da orelha), através de uma espetada com um alfinete descartável específico. Essas coletas serão realizadas por profissionais de Educação Física habilitados e treinados para esse tipo de coleta sanguínea.

Citocinas circulantes no sangue: As amostras de sangue para as citocinas serão retiradas da veia antecubital (do braço) por uma enfermeira treinada, através de uma seringa (vacum-tainer) de 3ml.

No total, a enfermeira coletará 4 seringas (vacum-tainer) com 3 ml de sangue cada.

Cada uma dessas 4 amostras de sangue serão coletadas em momentos diferentes como descrito a seguir:

- ✓ 1 coleta em repouso antes do teste de fadiga e antes do início do período de treinamento;
- ✓ 1 coleta 5 minutos após o teste de fadiga e antes do início do período de treinamento;
- ✓ 1 coleta em repouso antes do teste de fadiga e após o final do período de treinamento;
- ✓ 1 coleta 5 minutos após o teste de fadiga e após o final do período de treinamento.

Como **benefícios** de sua participação na pesquisa as voluntárias terão acesso a todos os exames sanguíneos, cardíacos, de composição corporal de capacidades físicas realizados antes e após o período de treinamento, além de consulta com médico cardiologista e acompanhamento e orientação nutricional individualizados.

No caso de observação de alguma alteração que indique uma possível doença que impeça a voluntária de participar da pesquisa, esta será avisada e orientada para consultar um médico especialista.

Além disso, a pesquisa irá gerar informações que poderão ser utilizadas para o planejamento de intervenções relacionadas com o exercício físico (área de fisiologia do exercício), bem como possivelmente auxiliar na redução da gordura corporal, no aumento de massa magra e na melhora funcional de força e da capacidade cardiorrespiratória de maneira geral.

Quanto aos **possíveis riscos** dessa pesquisa, não podemos descartar a possibilidade de acidentes como quedas de pesos ou alguma contusão durante o treinamento, porém, para que isso não aconteça, em todas as sessões de treino as voluntárias serão acompanhadas e orientadas pelos professores de educação física e fisioterapeutas do Laboratório de Fisiologia do Exercício da UFSCar e terão gratuitamente toda a assistência necessária. Será garantida às participantes, a assistência médica durante a participação no projeto. Toda e qualquer dúvida sobre o projeto poderá ser esclarecida pela equipe através do orientador Prof. Dr. Sérgio Eduardo de Andrade Perez e/ou do pesquisador responsável Prof. João Elias Dias Nunes, pelo telefone (16) 33518386.

Sigilo e utilização dos dados coletados: Os dados referentes à pesquisa serão publicados, sob forma de dissertação de mestrado e também como artigo científico em periódico da área de conhecimento, porém, em nenhum momento será revelada a identidade das voluntárias participantes.

Desistência: As voluntárias terão a liberdade de desistir da participação na pesquisa, bem como de vetar a utilização de seus dados pessoais, em qualquer momento da pesquisa sem prejuízo de sua assistência no projeto.

Eu _____,
RG _____, residente a rua _____ nº _____,
declaro que concordo em participar como voluntária no projeto de mestrado, intitulado como **“ANÁLISE DE DIFERENTES VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS E IMUNOLÓGICAS ANTES, DURANTE E APÓS 12 SEMANAS DE TREINAMENTO CONTRA-RESISTÊNCIA”**. Declaro ainda que recebi todas as informações referentes aos procedimentos da pesquisa. De minha parte garanto o meu compromisso de, enquanto estiver participando da pesquisa, seguir as orientações recebidas e assim garantir a confiabilidade dos resultados da pesquisa. Concordo também, que os meus dados pessoais referentes às variáveis fisiológicas estudadas sejam divulgados como parte dos resultados da pesquisa, através da dissertação de mestrado e artigos em revistas e periódicos. Recebi uma via desse termo. Li ou leram para mim as informações acima e tive a chance de esclarecer dúvidas e fazer perguntas sobre esta pesquisa, que me foram respondidas satisfatoriamente.

São Carlos, _____ de _____ de 2007.

Assinatura da participante: _____.

Eu certifico que todas as informações acima foram dadas à participante.

Assinatura do(a) pesquisador(a) responsável: _____.