

TATIANA RAMOS FONSECA

**EFEITOS DO TREINAMENTO AERÓBIO EM
PARÂMETROS IMUNOLÓGICOS E METABÓLICOS
BASAIS E INDUZIDOS POR EXERCÍCIO FÍSICO
AGUDO EM HUMANOS**

**Instituto de Ciências Biológicas
Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG
Belo Horizonte - 2012**

TATIANA RAMOS FONSECA

**EFEITOS DO TREINAMENTO AERÓBIO EM
PARÂMETROS IMUNOLÓGICOS E METABÓLICOS
BASAIS E INDUZIDOS POR EXERCÍCIO FÍSICO
AGUDO EM HUMANOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia e Farmacologia, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como pré-requisito para a obtenção do título de doutor em Ciências Biológicas: Fisiologia.

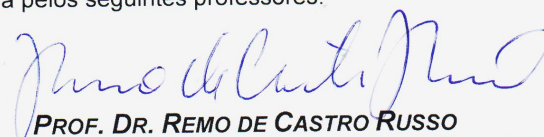
Orientador: Prof. Dr. Mauro Martins Teixeira

**Instituto de Ciências Biológicas
Universidade Federal de Minas Gerais
Belo Horizonte – 2012**

**“EFEITOS DO TREINAMENTO AERÓBICO EM PARÂMETROS
IMUNOLÓGICOS E METABÓLICOS BASAIS E INDUZIDOS POR
EXERCÍCIO FÍSICO AGUDO EM HUMANOS”**

TATIANA RAMOS FONSECA

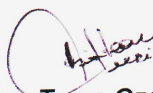
Tese de Doutorado defendida e aprovada no dia 10 de abril de 2012, pela Banca Examinadora constituída pelos seguintes professores:



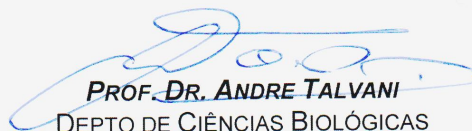
PROF. DR. REMO DE CASTRO RUSSO
DEPARTAMENTO DE FISILOGIA E BIOFÍSICA- ICB/UFMG



PROFA. DRA. DANUSA DIAS SOARES
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA, FISIOTERAPIA E TERAPIA OCUPACIONAL/UFMG



PROFA. DRA. TANIA CRISTINA PITHON CURI
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
UNIVERSIDADE CRUZEIRO DO SUL



PROF. DR. ANDRE TALVANI
DEPTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO



PROF. DR. MAURO MARTINS TEIXEIRA
DEPTO DE BIOQUÍMICA E IMUNOLOGIA - ICB/UFMG
ORIENTADOR

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas-Fisiologia e Farmacologia
Instituto de Ciências Biológicas – Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG

Belo Horizonte, 10 de abril de 2012.

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Imunofarmacologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) em parceria com o Laboratório de Fisiologia do Exercício (LAFISE), da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional (EEFFTO), ambos da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Este trabalho teve, ainda, a colaboração do Laboratório das Interações Celulares do Instituto de Ciências Biológicas, também da UFMG. Foram concedidos auxílios financeiros pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Ministério do Esporte e Financiadora de Estudos e Projetos do Ministério da Ciência e Tecnologia (FINEP), além do apoio do Centro de Excelência Esportiva (CENESP) da UFMG.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pois a fé que tenho na existência dele me ajudou.

Aos meus pais, Danilo e Lidia, os mais profundos agradecimentos pelo amor, carinho, educação e investimento.

Ao Prof. Dr. Mauro Martins Teixeira, meu orientador, pelo acolhimento, generosidade e pela oportunidade de trabalharmos juntos e de desenvolver pesquisa na área de imunologia. Obrigada também por todos os ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Nilo Resende Viana Lima, meu “co-orientador”, pela co-orientação neste trabalho, pelos conselhos e auxílios científicos, abrindo as portas do LAFISE para a realização do presente estudo. Pela amizade desde o meu terceiro período de faculdade.

Ao Prof. Dr. Emerson Silami Garcia, pela receptividade, por permitir a parceria deste trabalho com o projeto de mestrado de seu aluno.

Ao Prof. Dr. Antônio Lúcio Teixeira, pela parceria e colaboração nos Elisás, conselhos na decisão dos marcadores a serem analisados e auxílios na bancada.

À Profa. Dra. Walderez Ornelas Dutra, pela colaboração e por disponibilizar a utilização do laboratório de Interações Celulares nos procedimentos envolvendo as análises de células. E claro por sua disponibilidade e simpatia.

À Profa. Dra. Danusa Dias Soares, pelo carinho e conselhos. Pela disponibilidade e contribuições na qualificação.

Aos membros da banca pelo interesse e disponibilidade.

Ao mestre Thiago Teixeira Mendes, pela parceria e amizade construídas durante este trabalho; por estar sempre disposto a ajudar com conselhos e auxílios. Pela colaboração na execução desde pilotos até o desenvolvimento desta tese. Por compartilhar as angústias, preocupações, alegrias, finais de semanas e feriados. Muito obrigada!

Aos voluntários, extremamente importantes para a realização deste estudo. Pela disposição, disponibilidade e o compromisso com a realização das coletas.

Ao Cássio Gonçalves, pelo carinho, companhia e auxílio nos gráficos.

A todos os colegas do LAFISE, sempre prontificados a ajudar quando necessário, em especial:

Adriano Alves Lima	Louise Marie Pacheco
Ana Claudia Alves Serafim	Lucas de Ávila C.F. Mortimer (Fuscas)
André Maia Lima (Bob)	Lucas Leite Lima
Carolina Franco Wilke	Luciana Barbosa Firmes
Christian Emmanuel Torres Cabido	Marco Aurélio Anunciação de Melo
Débora Romualdo Lacerda	Mateus Siqueira Andrade
Emerson Rodrigues Pereira	Michele Macedo Moraes
Fabiana Tavares de Oliveira	Moisés Vieira de Carvalho (Moita)
Francisco Teixeira Coelho	Patrícia da Conceição Rocha Rabelo
Guilherme Passos Ramos	Rodrigo Figueiredo Morandi
João Paulo Uendeleis Pinto	

Ao Emerson Rodrigues Pereira (“hemoglobina man”) e à Fabiana Tavares de Oliveira pelas ajudas na parte bioquímica e pelas conversas e risadas durante as coletas e análises sanguíneas.

Ao André Maia Lima (Bob), Christian Emmanuel Torres Cabido, Guilherme Passos Ramos e Rodrigo Figueiredo Morandi, pelos auxílios em todas as fases de desenvolvimento deste trabalho, pela amizade e conselhos.

A todos os membros do grupo IMUNOFAR que certamente contribuíram de alguma forma em algum momento neste trabalho. Destaco a Aline Silva de Miranda e Vanessa Amaral Mendonça pelos auxílios nos experimentos do Elisa, mesmo em dias de jogos da copa do mundo. E pelos muitos momentos de risadas.

À Zélia Menezes, pelo ombro amigo. Pelos conselhos, companhia e auxílios no desenvolvimento deste trabalho.

À Fernanda Oliveira Ferraz, amiga desde a iniciação científica, pela colaboração, convívio, amizade e pelos momentos de partilha, que abrandaram minha ansiedade.

À Ilma Marçal Souza, Valdinéria Oliveira Borges, Frankcinéia Assis e à Maria Aparecida Vasconcelos Faria (Cida) pelo suporte técnico e de materiais. À Sueli Aparecida de Almeida, responsável pela manutenção da limpeza e organização do LAFISE.

Aos alunos do laboratório de Interações Celulares, em especial, a Érica Leandro Marciano Vieira pelos milhões de auxílios nos experimentos envolvendo as células.

À Profa. Dra. Leda Quercia Vieira, pela ajuda e conselhos no momento de escolha no doutorado.

Aos meus amigos e familiares que compartilharam comigo esse percurso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos.

*“... nós não olhamos para trás por muito tempo,
Nós continuamos seguindo em frente,
abrindo novas portas e fazendo coisas novas,
Porque somos curiosos.
E a curiosidade continua nos conduzindo
por novos caminhos.
Siga em frente.”*

(Adaptado de Walt Disney)

RESUMO

Introdução: O exercício físico agudo promove a liberação de citocinas na circulação. Nossa hipótese é de que o treinamento aeróbio modifica tal resposta. Desse modo, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos de seis semanas de treinamento aeróbio sobre a expressão no repouso e induzida (após exercício agudo) de citocinas, adipocinas e BDNF. Também avaliamos os leucócitos circulantes no repouso antes e após o treinamento.

Métodos: A amostra foi composta por 21 homens divididos em dois grupos: oito no grupo controle (GC) ($25,1 \pm 0,9$ anos; $70,1 \pm 3,5$ kg; $1,79 \pm 0,02$ m; $45,2 \pm 1,5$ mL.kg⁻¹.min⁻¹) e 13 no grupo treinamento (GT) ($22,5 \pm 0,7$ anos; $72,9 \pm 1,9$ kg; $1,76 \pm 0,02$ m; $44,9 \pm 1,3$ mL.kg⁻¹.min⁻¹). Todos os testes foram realizados em cicloergômetro. Os voluntários realizaram um teste progressivo para medida do consumo máximo de oxigênio (VO_{2MAX}), de dois a cinco testes de intensidade constante para identificar a máxima fase estável de lactato (MFEL). Após a determinação da MFEL (1), todos os indivíduos realizaram um exercício agudo até a fadiga (exercício agudo) nessa intensidade. Depois foram submetidos a seis semanas de treinamento aeróbio, três vezes por semana na intensidade MFEL (1). Em seguida, os mesmos testes foram realizados para determinar a MFEL do pós-tratamento (MFEL, 2) e os voluntários executaram dois exercícios agudos, sendo um na mesma intensidade relativa do pré-treinamento (MFEL, 2) e outro na mesma intensidade absoluta do pré-treinamento (MFEL, 1). No grupo treinamento durante os exercícios agudos, foram coletadas as amostras de sangue para a determinação de citocinas, adipocinas e BDNF plasmáticos. Essas foram estimadas utilizando o método de ELISA sanduíche. Antes e após o treinamento foram caracterizados diferentes tipos celulares por citometria de fluxo.

Resultados: O exercício físico agudo induziu o aumento das concentrações circulantes de IL-6, sTNFR1, CXCL10/IP-10, leptina, resistina e o BDNF no momento do término e de TNF- α , IL-10, sTNFR2 e adiponectina na recuperação do exercício. O GT teve aumento de 11,2% no VO_{2MAX} e de 14,7% na intensidade da MFEL. O treinamento não alterou os mediadores imunológicos analisados no repouso. O treinamento aeróbio promoveu um aumento menor de IL-6, sTNFR2, leptina e BDNF e uma redução mais rápida do sTNFR1 no término do exercício físico agudo com a mesma intensidade absoluta do pré-treinamento. Já as elevações das concentrações de TNF- α , IL-10, CXCL10/IP-10, resistina e adiponectina induzidos pelo exercício físico agudo foram similares ao pré-treinamento. O treinamento aeróbio resultou em concentrações menores de sTNFR1 e de BDNF, na fase de recuperação, após exercício físico agudo com a mesma intensidade relativa do pré-treinamento.

Conclusões: O treinamento aeróbio foi eficaz. O exercício físico agudo na intensidade da MFEL foi capaz de alterar as concentrações circulantes das citocinas, indo ao encontro da literatura. O período de seis semanas, em indivíduos jovens, saudáveis e fisicamente ativos, não foi capaz de alterar as concentrações circulantes, no repouso, dos mediadores avaliados.

O treinamento influenciou as concentrações de IL-6, sTNFR1, sTNFR2, leptina e BDNF após exercício físico agudo com a mesma intensidade absoluta do pré-treinamento. O sTNFR1 e o BDNF foram os únicos mediadores avaliados que foram influenciados pelo treinamento de seis semanas no exercício físico agudo com esforço relativo similar ao pré-treinamento. Por outro lado, o treinamento não influenciou a resposta de TNF- α , IL-10, CXCL10/IP-10, resistina e adiponectina, logo os aumentos desses mediadores ocorrem mesmo quando a fadiga não foi alcançada. Essas respostas diferentes, após treinamento aeróbio, sugerem que existe um controle fino na produção de tais mediadores durante o exercício físico agudo e que, possivelmente, esses parâmetros liberados em menor esforço agudo em relação ao pré-treinamento, possam ter papel fisiológico dominante.

Palavras-chave: treinamento aeróbio, citocinas, quimiocinas, adipocinas, BDNF, células.

ABSTRACT

Introduction: The acute physical exercise promotes the release of cytokines in the circulation. Our hypothesis is that aerobic training alters this response. Thus, the purpose of this study was to evaluate the effects of six weeks of aerobic training on rest and induced expression (after acute exercise) of cytokines, adipokines, BDNF. We also evaluated circulating leukocytes at rest before and after training

Methods: Twenty one men, non-participants of any aerobic training were divided into two groups: control group (GC; n=8) (25.1±0.9years; 70.1±3.5kg; 1.79±0.02m; 45.2±1.5mL.kg-1.min-1) and training group (GT; n=13) (22.5±0.7years; 72.9±1.9kg; 1.76±0.02m; 44.9±1.3mL.kg-1.min-1). All tests were performed on a cycle ergometer. The volunteers performed a progressive test to evaluate the maximal oxygen uptake (VO_{2MAX}), two to five constant tests to identify the maximal lactate steady state (MLSS). After determination of MLSS(1), all subjects performed an exercise until fatigue (acute exercise) at this intensity. Afterwards they were submitted to six weeks of aerobic training, three times a week at the MLSS(1) intensity. Next, the same tests were performed to determine the new MLSS(2) value and the volunteers executed two acute exercises, being one under this new MLSS value (relative MLSS, 2) and another using the pre-training value (absolute MLSS, 1). In the training group during the acute exercises, blood samples were collected for plasma cytokines determination by using Sandwich ELISA method. Before and after training were determined circulating leukocytes by flow cytometry.

Results: The acute exercise led to increased concentrations of circulating IL-6, sTNFR1, CXCL10/IP-10, leptin, resistin, and BDNF at the time of end of exercise and TNF- α , IL-10, sTNFR2 and adiponectin in the recovery period of exercise. The GT had an 11.2% increase in VO_{2MAX} and 14.7% in the intensity of MLSS. The training did not alter the mediators at baseline. Aerobic training has promoted smaller increase in IL-6, sTNFR2, leptin and BDNF and a faster reduction of sTNFR1 after exercise with the same absolute intensity of the pre-training. Since, TNF- α , IL-10, CXCL10/IP-10, resistin and adiponectin are independent of fatigue to increase similarly to the pre-training. In addition, aerobic training resulted in smaller levels of sTNFR1 and BDNF at recovery period of acute exercise with the same relative intensity of the pre-training.

Conclusions: Aerobic training was effective. The acute physical exercise on the intensity of MLSS was able to alter the circulating levels of cytokines, which agrees with the literature. The period of six weeks in young, healthy and physically active, was not able to change the circulating concentrations in the rest of the mediators evaluated.

There was training for IL-6, sTNFR1, sTNFR2, leptin and BDNF after acute physical exercise with the same absolute intensity of the pre-training. The sTNFR1 and BDNF were the only mediators evaluated that were influenced by the training of six weeks in the acute physical exercise with relative effort similar to the pre-training. Moreover, the training did not influence the response of TNF- α , IL-10, CXCL10/IP-10, resistin and adiponectin, soon the increases of these mediators occur even when fatigue was not reached. These different responses after aerobic training, suggest that there is a fine control in the production of these mediators during acute exercise and, possibly, these parameters are released in less effort in relation to acute pre-training, may have dominant physiological role.

Keywords: aerobic training, cytokines, chemokines, adipokines, BDNF, cells.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS.....	19
LISTA DE TABELAS	21
LISTA DE ABREVIATURAS.....	22
1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	25
2. HIPÓTESES	28
3. OBJETIVO GERAL	29
3.1. Objetivos específicos	29
4. REVISÃO DE LITERATURA.....	30
4.1. Principais células do sistema imune	30
4.1.1. Leucócitos e exercício físico	32
4.2. Citocinas e quimiocinas.....	34
4.2.1. Citocinas, quimiocinas e exercício físico	37
4.3. Adipocinas	43
4.3.1. Adipocinas e exercício físico.....	45
4.4. Fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF).....	46
4.4.1. BDNF e exercício físico	47
4.5. Treinamento aeróbio.....	48
4.6. Máxima fase estável de lactato	50
5. MÉTODOS.....	53
5.1. Cuidados Éticos	53
5.2. Amostra	53
5.3. Delineamento experimental.....	54
5.3.1. Período de tratamento e avaliação final.....	56
5.4. Procedimentos realizados antes e após todos os testes.....	58
5.5. Situações experimentais das avaliações inicial e final	59
5.5.1. Avaliação da composição corporal.....	59
5.5.2. Mensuração do VO ₂ MAX	59
5.5.3. Identificação do limiar anaeróbio individual.....	60
5.5.4. Determinação da MFEL	60
5.5.5. Exercícios físicos realizados na intensidade da MFEL até a fadiga.....	61
5.5.5.1. <i>Punção venosa e coleta de amostras de sangue</i>	62
5.5.5.2. <i>Processamento do sangue</i>	63
5.6. Variáveis mensuradas durante todos os testes	63
5.7. Variáveis relacionadas às coletas sanguíneas – punção venosa	64
5.8. Análise estatística	71
6. RESULTADOS	72
6.1. Variáveis de controle	72
6.2. Treinamento aeróbio.....	72
6.2.1. Período de treinamento.....	72

6.2.2. Treinamento e características da amostra.....	72
6.2.3. Treinamento e FC, VO ₂ MAX e POT _{MAX}	73
6.2.4. Treinamento e MFEL.....	75
6.2.5. Treinamento e tempo de exercício físico constante na MFEL.....	77
6.3. Leucócitos circulantes.....	78
6.3.1. Análise imunofenotípica de células T reguladoras.....	78
6.3.2. Análise imunofenotípica de células T ativadas e NK.....	79
6.4. Citocinas intracelulares.....	79
6.5. Análises no grupo treinamento.....	80
6.5.1. Lactatemia nos exercícios físicos na intensidade da MFEL: grupo treinamento.....	80
6.5.2. Mediadores nos exercícios físicos agudos na intensidade da MFEL: grupo treinamento.....	81
6.5.2.1. <i>Interleucina-6, interleucina-1beta e fator de necrose tumoral-alfa</i>	82
6.5.2.2. <i>Receptor solúvel do fator de necrose tumoral alfa – 1 e 2 e interleucina-10</i>	84
6.5.2.3. <i>Quimiocinas</i>	86
6.5.2.4. <i>Leptina, resistina e adiponectina</i>	88
6.5.2.5. <i>Fator neurotrófico</i>	90
6.5.2.6. <i>Correlações</i>	90
7. DISCUSSÃO.....	98
7.1. Treinamento aeróbio.....	98
7.2. Leucócitos circulantes.....	99
7.3. Mediadores.....	100
7.3.1. Concentrações plasmáticas de repouso de citocinas, quimiocinas, adipocinas e do fator neurotrófico.....	103
7.3.2. Interleucina-6.....	105
7.3.2.1. <i>Correlações entre IL-6 e a duração e intensidade dos exercícios físicos na MFEL</i>	106
7.3.3. TNF- α e IL- β	108
7.3.4. Mediadores anti-inflamatórios: sTNFR e IL-10.....	109
7.3.5. Quimiocinas.....	110
7.3.6. Leptina, resistina e adiponectina.....	111
7.3.7. BDNF.....	112
8. RESULTADOS PRINCIPAIS E CONCLUSÕES.....	115
9. CONCLUSÃO GERAL.....	116
10. REFERÊNCIAS.....	117
11. ANEXOS.....	145
ANEXO I – Parecer Comitê de Ética.....	145
ANEXO II – Questionário 01.....	146
ANEXO III – Questionário 02.....	148
ANEXO IV – Termo de consentimento livre e esclarecido.....	149

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.	O efeito do exercício físico agudo e extenuante nas concentrações relativas de neutrófilos e linfócitos.....	32
FIGURA 2.	O efeito imediato do exercício físico agudo sobre o número de leucócitos circulantes.....	33
FIGURA 3.	A resposta de citocinas plasmáticas ao exercício físico agudo	37
FIGURA 4.	A liberação de IL-6 das pernas em repouso e em exercício físico agudo	39
FIGURA 5.	A intensidade da corrida comparada com a concentração plasmática de IL-6	39
FIGURA 6.	A regressão linear entre a duração do exercício e o aumento de IL-6 plasmático.....	40
FIGURA 7.	As funções biológicas da IL-6 induzidas pela contração muscular.....	41
FIGURA 8.	O papel biológico do BDNF induzido pela contração muscular.....	48
FIGURA 9.	Exemplo de determinação da máxima fase estável de lactato (MFEL)	51
FIGURA 10.	Exemplo de determinação do limiar anaeróbio individual (LAI).....	52
FIGURA 11.	Esquema do delineamento experimental	54
FIGURA 12.	Esquema dos testes realizados na avaliação inicial.....	55
FIGURA 13.	Esquema com todos os testes realizados na avaliação final	57
FIGURA 14.	Gráficos <i>dot plot</i> e histograma ilustrativos utilizados em uma análise de citometria de fluxo	70
FIGURA 15.	Consumo máximo de oxigênio antes e após o período de tratamento.....	74
FIGURA 16.	Potência máxima antes e após o período de tratamento	75
FIGURA 17.	Resposta da lactatemia no grupo treinamento durante o exercício físico na máxima fase estável de lactato.....	81
FIGURA 18.	Concentrações plasmáticas de IL-6.	82
FIGURA 19.	Concentrações plasmáticas de TNF- α e de IL1- β	83
FIGURA 20.	Concentrações plasmáticas de sTNFR1, sTNFR2 e de IL-10	85
FIGURA 21.	Concentrações plasmáticas de CXCL10/IP-10, CCL2/MCP-1 e CXCL8/IL-8	87
FIGURA 22.	Concentrações plasmáticas de leptina, resistina e de adiponectina.....	89

FIGURA 23. Concentrações plasmáticas de BDNF.....	90
FIGURA 24. Correlação entre a concentração de IL-6 e a duração dos exercícios físicos na intensidade da MFEL	91
FIGURA 25. Correlação entre a concentração de IL-6 e a potência absoluta dos exercícios físicos na intensidade da MFEL	92
FIGURA 26. Correlação entre a concentração de IL-6 e a potência relativa dos exercícios físicos na intensidade da MFEL	93
FIGURA 27. A resposta dos mediadores avaliados ao exercício físico agudo até a fadiga (PRÉ-MFEL1).	102

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Características da amostra em cada grupo experimental.....	54
TABELA 2. Descrição do programa de treinamento	56
TABELA 3. Massa corporal e percentual de gordura dos grupos controle e treinamento	73
TABELA 4. Frequência cardíaca de repouso e máxima dos grupos treinamento e controle	73
TABELA 5. Intensidade de exercício, lactatemia, frequência cardíaca, percepção subjetiva de esforço, consumo de oxigênio e percentual do consumo máximo de oxigênio e da potência máxima em relação à intensidade da máxima fase estável de lactato	76
TABELA 6. Tempo de exercício agudo na intensidade da máxima fase estável de lactato	78
TABELA 7. Análise imunofenotípica de células reguladoras	78
TABELA 8. Análise imunofenotípica de células T ativadas e NK.....	79
TABELA 9. Citocinas intracelulares.....	80
TABELA 10. Correlação entre interleucina-6 e o lactato plasmático.....	94
TABELA 11. Correlações entre a duração e a potência absoluta e relativa.....	94
TABELA 12. Correlações entre citocinas, quimiocinas, adipocinas e BDNF com a duração, potência e lactato.....	96
TABELA 13. Correlação entre o BDNF e o VO _{2MAX}	97

LISTA DE ABREVIATURAS

- %POTMAX – percentual da potência máxima
- %VO2MAX – percentual do consumo máximo de oxigênio
- %ΔVP – Variação percentual do volume plasmático
- Ácido ribonucléico mensageiro – (RNAm)
- ACSM – Colégio Americano de Medicina Esportiva
- AGRP – peptídeo relacionada à agouti
- AMPK – proteína ativada por monofosfato de adenosina
- ANOVA – análise de variância
- APCs – células apresentadoras de antígenos
- ATP – trifosfato de adenosina
- BDNF – fator neurotrófico derivado do cérebro
- bpm – batimentos por minuto
- BSA – albumina de soro bovino
- CART – transcrito regulado por cocaína e anfetamina
- CCL2/MCP-1 – proteína quimiotática de monócito-1
- CO₂ – dióxido de carbono
- CTLA4 – proteína-4 associada aos linfócitos T citotóxicos
- CXCL8/IL-8 – interleucina-8
- CXCL10/IP-10 – proteína-10 induzível por interferon-gama
- DMSO – dimetilsulfóxido
- EDTA - ácido etilenodiamino tetra-acético
- ELISA - *enzyme linked immunosorbent assay*
- FC – frequência cardíaca
- FC_{MAX} – frequência cardíaca máxima
- FITC – isotiocianato de fluoresceína
- GC – grupo controle
- GDNF – fator neurotrófico derivado da glia
- GT – grupo treinamento
- GITR – receptor da família do fator de necrose tumoral induzido por glicocorticóide
- HDL – lipoproteína de alta densidade
- H₂O₂ – peróxido de hidrogênio
- H₂SO₄ – ácido sulfúrico

IFN- γ – interferon-gama

IL- ()– interleucina-()

IL-1ra – antagonista do receptor de IL-1

ICAM-1 – moléculas de adesão intercelular- 1

LAI – limiar anaeróbico individual – *Individual Anaerobic Threshold*

LDL – lipoproteína de baixa densidade

MFEL – máxima fase estável do lactato

MFEL1 – máxima fase estável do lactato identificada antes do período de tratamento

MFEL2 – máxima fase estável do lactato identificada após o período de tratamento

MHC – complexo de histocompatibilidade principal

min – minuto

NaCl – cloreto de sódio

NaDPH – nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato

NaF – fluoreto de sódio

NGF – fator de crescimento do nervo

NK – célula exterminadora natural

NPY – neuropeptídeo Y

NT-3 – neurotrofina 3

NT-4/5 – neurotrofina 4/5

O₂ – oxigênio

OBLA – momento relativo ao início do acúmulo de lactato no sangue – *onset of blood lactate accumulation*

OPD – *o-phenylenediamine dihydrochloride*

p75 NTR – receptor neurotrofina p75

P_{ACSM} – exercício progressivo para avaliação do consumo máximo de oxigênio, proposto pelo Colégio Americano de Medicina Esportiva

PBMC – células mononucleares do sangue periférico

PBS – salina tamponada com fosfato

PE – ficoeritrina

pH – potencial hidrogeniônico

POMC – pró-opiomelanocortina

PÓS – situação após o período de tratamento

PÓS-MFEL1 – após treinamento aeróbico, exercício físico agudo na intensidade da MFEL e duração do pré-treinamento

PÓS-MFEL2 – após treinamento aeróbio, exercício físico agudo até a fadiga na intensidade da MFEL no pós-treinamento

POT_{MAX} – potência máxima

PRÉ – situação antes do período de tratamento

PRÉ-MFEL1 – exercício físico agudo até a fadiga na intensidade da MFEL no pré-treinamento

PROG_{LAI} – exercício progressivo proposto para determinação do limiar anaeróbio individual

PSE – percepção subjetiva de esforço

rpm – rotações por minuto

s – segundo

TGF- β – fator de transformação do crescimento-beta

sTNFR – receptor solúvel do TNF

TNF- α – fator de necrose tumoral-alfa

Treg – células T reguladoras

Trk – receptor tropomiosina kinase

URA – umidade relativa do ar

VCAM-1 – molécula de adesão de célula vascular-1

VCO₂ – produção de dióxido de carbono

VE – ventilação minuto

VO₂ – consumo de oxigênio

VO_{2MAX} – consumo máximo de oxigênio

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Os processos patológicos de algumas doenças crônicas, como a doença isquêmica cardiovascular (Hansson, 2005), o acidente vascular cerebral (Hallenbeck, 2002), a doença diabetes tipo 2 (Pradhan *et al.*, 2001), a doença pulmonar obstrutiva crônica (Gan *et al.*, 2004) e a doença de Alzheimer (Akiyama *et al.*, 2000), estão relacionados à inflamação sistêmica de baixo grau. Essa inflamação sistêmica é definida como a elevação, em duas a quatro vezes, das concentrações circulantes de citocinas que desencadeiam ações pró e anti-inflamatórias (Bruunsgaard & Pedersen, 2003; Bruunsgaard, 2005).

A interleucina-6 (IL-6), tradicionalmente descrita como uma citocina pró-inflamatória, tem suas concentrações séricas elevadas associadas com a angina instável (Biasucci *et al.*, 1996), com o aumento do risco de futuros infartos do miocárdio (Ridker *et al.*, 2000) e com as causas de mortalidade por doenças cardiovasculares (Harris *et al.*, 1999). Há uma hipótese de que a IL-6 promova aterosclerose diretamente pelo aumento da expressão endotelial de quimiocinas e de moléculas de adesão, aumentando a disfunção endotelial (Yudkin *et al.*, 2000). Além disso, estudos relataram o aumento das concentrações de IL-6 circulantes em pacientes com Alzheimer em comparação com os indivíduos controles (Bonaccorso *et al.*, 1998; Maes *et al.*, 1999; Tarkowski *et al.*, 1999; Licastro *et al.*, 2000); entretanto, outros estudos não encontraram tais diferenças (Chao *et al.*, 1994; Angelis *et al.*, 1998; Lanzrein *et al.*, 1998). Outro exemplo de citocina pró-inflamatória é o fator de necrose tumoral- α (TNF- α). Essa citocina está envolvida no desencadeamento da resistência à insulina (Hotamisligil, 2003; Schmidt & Duncan, 2003) e encontra-se aumentada na obesidade, na aterosclerose e na diabetes tipo 2 (Hotamisligil & Spiegelman, 1994; Hotamisligil *et al.*, 1995; Spranger *et al.*, 2003b).

No que diz respeito às adipocinas, a leptina e a resistina possuem ações pró-inflamatórias. A hiperleptinemia é comumente observada na resistência à insulina e na diabetes tipo 2 (Mendoza-Nunez *et al.*, 2002). Reilly e colaboradores (2004) demonstraram, em indivíduos saudáveis, uma correlação positiva entre a resistina e alguns marcadores inflamatórios (TNF- α e IL-6). Também foi observada uma correlação positiva entre a concentração de resistina e o índice de calcificação da artéria coronariana, sugerindo que a resistina pode representar um elo entre os sinais metabólicos, inflamatórios e a aterosclerose. Já a adiponectina plasmática, adipocina que desencadeia ações anti-inflamatórias, é positivamente associada a um risco reduzido de desenvolver a diabetes tipo 2 (Spranger *et al.*,

2003a). A administração de adiponectina reverteu a resistência à insulina e reduziu os triglicérides intramusculares em camundongos (Yamauchi *et al.*, 2001).

Com relação ao fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), estudos relatam que suas concentrações plasmáticas estão reduzidas na doença de Alzheimer (Yasutake *et al.*, 2006; Schindowski *et al.*, 2008), na depressão (Karege *et al.*, 2002), nas desordens bipolares (Gama *et al.*, 2007) e na esquizofrenia (Gama *et al.*, 2007). Estudos têm demonstrado que o BDNF circulante pode ter funções associadas com as doenças cardiovasculares (Ejiri *et al.*, 2005; Krabbe *et al.*, 2007; Fujinami *et al.*, 2008) e que sua concentração está diminuída em pacientes com diabetes tipo 2 e obesidade (Krabbe *et al.*, 2007; Fujinami *et al.*, 2008).

O sedentarismo aumenta os fatores de risco para o desenvolvimento de algumas das doenças associadas a um processo inflamatório de baixo grau, tais como, a diabetes tipo 2 (Tuomilehto *et al.*, 2001) e as doenças cardiovasculares (Nocon *et al.*, 2008). Do mesmo modo, a inatividade física pode influenciar no desenvolvimento da demência (Rovio *et al.*, 2005) e da depressão (Paffenbarger *et al.*, 1994).

Por outro lado, está bem estabelecido que os indivíduos fisicamente ativos possuem um risco reduzido de desenvolver doenças cardiovasculares (Manson *et al.*, 2002; Hu *et al.*, 2004; Piepoli *et al.*, 2004; Taylor *et al.*, 2004) e de doenças associadas com o declínio cognitivo relacionado com a idade (Blair *et al.*, 2001; Abbott *et al.*, 2004; van Gelder *et al.*, 2004; Weuve *et al.*, 2004). Além disso, o exercício físico crônico pode oferecer proteção contra a diabetes tipo 2 (Boule *et al.*, 2001; Knowler *et al.*, 2002), o câncer colorretal (Samad *et al.*, 2005) e o câncer de mama (Holmes *et al.*, 2005). Nieman, (1994a) e Nieman (1994b) sugerem, ainda, que o exercício físico regular de intensidade moderada reduz o risco de infecções para doenças do trato respiratório. Da mesma forma, estudos têm relatado que os programas de intervenção com exercício físico reduzem a inflamação sistêmica de baixo grau em pacientes com doença cardíaca coronária (Goldhammer *et al.*, 2005) e insuficiência cardíaca crônica (Adamopoulos *et al.*, 2001; Larsen *et al.*, 2001; Conraads *et al.*, 2002; Gielen *et al.*, 2003) e, também, em jovens adultos e saudáveis (Mattusch *et al.*, 2000).

Dentre os mecanismos envolvidos na redução da gravidade dessas doenças, há evidências de que a prática do exercício físico regular resulte no aumento da sensibilidade à insulina (Ensign *et al.*, 2002) e da tolerância à glicose (Thompson *et al.*, 2003), na redução da hipertensão arterial (Ensign *et al.*, 2002; Thompson *et al.*, 2003), no aumento do colesterol da fração da lipoproteína de alta densidade (HDL) (Thompson *et al.*, 2003), na diminuição das concentrações plasmáticas de triacilgliceróis (Thompson *et al.*, 2003) e do colesterol da fração

da lipoproteína de baixa densidade (LDL) (Thompson *et al.*, 2003), promova a redução do peso corporal e do estresse emocional (Smith, 2001; Benitez *et al.*, 2002; Ensign *et al.*, 2002).

Outros efeitos dos exercícios físicos crônicos são a redução das concentrações séricas de mediadores pró-inflamatórios [proteína quimiotática de monócito-1(MCP-1), interleucina-1 β (IL-1 β), IL-6, interferon- γ (IFN- γ) e TNF- α] e o aumento da citocina anti-inflamatória [interleucina (IL-10)] em pacientes com doenças cardiovasculares (Adamopoulos *et al.*, 2001; Larsen *et al.*, 2001; Goldhammer *et al.*, 2005). No que diz respeito aos efeitos do exercício físico nas células, um estudo constatou que a prática regular de exercício aumentou o número de células T com ações reguladoras (Yeh *et al.*, 2006). Já a resposta linfocitária e a atividade das células exterminadoras naturais (NK) apresentam dados não conclusivos na literatura, visto que há trabalhos demonstrando aumento, redução ou sem alteração das mesmas (Oshida *et al.*, 1988; Papa *et al.*, 1989; Nieman *et al.*, 1990; Tvede *et al.*, 1991; Nieman *et al.*, 1993; Baj *et al.*, 1994; Nieman *et al.*, 1995a; Nieman *et al.*, 1995b). Tais evidências sugerem uma relação entre o exercício físico crônico e a inflamação.

Diante do exposto, constata-se que o efeito protetor do exercício físico regular contra doenças associadas a um processo de inflamação crônica pode, em certa medida, ser atribuído a um efeito regulador do exercício físico. Contudo, os efeitos do exercício físico crônico sobre os agentes inflamatórios não estão suficientemente compreendidos. Dessa maneira, o presente estudo objetivou avaliar o efeito de um treinamento aeróbio sobre as concentrações plasmáticas no repouso de alguns mediadores inflamatórios e de algumas células do sistema imunológico.

Outro aspecto considerado neste trabalho é a resposta imunológica sistêmica após o exercício físico agudo. Durante a realização do mesmo, tipicamente, a interleucina-6 é a primeira citocina presente na circulação (Suzuki *et al.*, 2003; Margeli *et al.*, 2005; Nieman *et al.*, 2005). Ostrowski *et al.* (1999), também, detectaram outras citocinas pró-inflamatórias após a execução do exercício extenuante: o TNF- α e IL-1 β . O exercício físico agudo, também, aumenta fatores com propriedades anti-inflamatórias, como o antagonista do receptor de IL-1 (IL-1ra), o receptor solúvel do TNF (sTNFR1) e a interleucina-10 (IL-10) (Ostrowski *et al.*, 1999; Toft *et al.*, 2002; Petersen & Pedersen, 2005).

Visto que uma única sessão de exercício físico promove modificações nas concentrações de fatores imunológicos e que o exercício físico crônico exerce benefícios nas doenças associadas a processos inflamatórios, o presente estudo visou, também, investigar os efeitos de um treinamento aeróbio sobre mediadores inflamatórios induzidos por exercício físico agudo.

2. HIPÓTESES

- O treinamento aeróbio de seis semanas aumenta o consumo máximo de oxigênio (VO_{2MAX}) e a intensidade na máxima fase estável de lactato (MFEL);
- O exercício físico agudo induz o aumento de citocinas, quimiocinas, adipocinas e fator neurotrófico circulante, com ações pró- e anti-inflamatórias;
- O exercício físico crônico (treinamento aeróbio) promove uma modificação no perfil de resposta inflamatória a um estímulo inflamatório (o exercício físico agudo na MFEL);
- Após o treinamento aeróbio, essa modificação ocorre no sentido de favorecer a regulação ou a anti-inflamação:
 - após exercício físico agudo: há um maior aumento do receptor solúvel de TNF (sTNFR), interleucina-10 (IL-10), adiponectina e do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF);
 - após exercício físico agudo: há um menor aumento de interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), interleucina-1beta (IL-1 β), leptina, resistina, proteína quimiotática de monócito-1 (CCL2/MCP-1); interleucina-8 (CXCL8/IL-8) e proteína-10 induzível por interferon-gama (CXCL10/IP-10);
 - ocorre o aumento de T reguladoras e a redução de células T ativadas e de células exterminadoras naturais (no repouso).
- As concentrações dos mediadores avaliados são correlacionadas com o lactato plasmático, a duração e a intensidade dos exercícios físicos agudos constantes realizados na MFEL.

3. OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos de seis semanas de treinamento aeróbio sobre a expressão no repouso e induzida (após exercício físico agudo) de citocinas, adipocinas e BDNF; e de tipos celulares no sangue periférico (no repouso apenas).

3.1. Objetivos específicos

- Aferir a efetividade do protocolo de treinamento físico pelas medidas de VO_{2MAX} e máxima fase estável de lactato;
- Comparar o número das células T reguladoras ($CD4^+CD25^+FOXP3^+$), T ativadas ($CD4^+CD69^+$ e $CD8^+CD69^+$), células exterminadoras naturais ($CD3^-CD56^+$) e citocinas intracelulares (IFN- γ , IL-6 e IL-10) no repouso antes e após o período de treinamento aeróbio;
- Determinar as concentrações plasmáticas totais de IL-6, IL-10, TNF- α , IL-1 β e sTNFR1 e 2, leptina, resistina, adiponectina, CCL2/MCP-1, CXCL8/IL-8, CXCL10/IP-10 e BDNF, antes, imediatamente após o exercício físico na intensidade na MFEL e 10, 30 e 60min durante o período de recuperação (nos exercícios físicos agudos na MFEL antes e após o período de treinamento aeróbio);
- Correlacionar as concentrações plasmáticas de citocinas, adipocinas e BDNF com o lactato plasmático, a duração e a intensidade dos exercícios físicos agudos constantes realizados na MFEL.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1. Principais células do sistema imune

O sistema imune pode ser dividido em: inato ou adaptativo, os quais agem em sinergia. O inato constitui na primeira defesa contra antígenos e tem como o objetivo restringir a propagação de patógenos no organismo. Para tanto, utiliza-se das células fagocíticas, incluindo os neutrófilos, os eosinófilos, os monócitos do sangue, os macrófagos de tecidos, as células dendríticas, as células exterminadoras naturais (NK), dentre outras (Gleeson, 2006).

As principais células fagocíticas do sistema imunológico são os neutrófilos, os monócitos, os macrófagos e as células dendríticas. Os neutrófilos e os monócitos são encontrados no sangue e podem ir da circulação para os tecidos quando há dano ou uma infecção no tecido. Os macrófagos e as células dendríticas são encontrados na maioria dos tecidos do corpo. As células fagocíticas são capazes de realizar movimentos amebóides e podem fagocitar o material estranho, incluindo bactérias, em prol de eliminá-lo (Gleeson, 2006).

As células NK representam, aproximadamente, 10-15% dos linfócitos do sangue periférico. Após a sua ativação, essas células liberam os seus conteúdos granulares, incluindo a citolisina e a perforina, que são proteínas formadoras de poros, causando ruptura da membrana celular de modo que a célula hospedeira infectada desintegre. Dessa forma, as células NK matam as células infectadas por vírus do hospedeiro e uma variedade de células tumorais (Cerwenka & Lanier, 2001). Assim, as células NK atuam tanto na defesa contra infecções virais quanto na prevenção do desenvolvimento de cânceres (Gleeson, 2006).

A imunidade adaptativa tem a finalidade de combater às infecções, impedindo a colonização de patógenos. As células que constituem o sistema imune adaptativo incluem os linfócitos B e T. Após exposição ao antígeno, as células B diferenciam em plasmócitos cuja função primária é a produção de anticorpos. Similarmente, as células T podem se diferenciar em células T citotóxicas ou células T auxiliares (Gleeson, 2006).

As células chamadas apresentadoras de antígenos (APCs) são uma população heterogênea de leucócitos que têm ação na imunidade inata e também age como um conector para o sistema imune adaptativo ao participar na ativação de células T auxiliares. As células apresentadoras de antígenos incluem os monócitos, macrófagos e células dendríticas. Um

aspecto característico das APCs é a expressão de uma molécula de superfície codificada por genes do complexo maior de histocompatibilidade, referidas como moléculas de MHC de classe II. Linfócitos B também expressam moléculas de MHC de classe II e eles também funcionam como APCs, embora eles não sejam considerados parte do sistema imune inato (Moll, 2003).

Os linfócitos constituem, aproximadamente, 20-25% dos leucócitos no sangue periférico. O desenvolvimento das células T ocorre, principalmente, no timo e das células B na medula óssea. As células T são divididas em duas classes principais: as células T citotóxicas e as células T auxiliares ou *helper* (Th). A célula T auxiliar virgem ao ser ativada, por uma célula apresentadora de antígeno, pode diferenciar-se em dois tipos distintos de células T auxiliares efetoras, denominadas Th1 e Th2. As células Th1 auxiliam a ativação de macrófagos e células T citotóxicas e, ainda, secretam o interferon- γ (IFN- γ) e o fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e ativam os macrófagos a fagocitarem antígenos, enquanto que as células Th2 auxiliam na ativação das células B e, também, secretam as interleucinas 4, 5, 10 e 13 (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13) e defendem o organismo, principalmente, contra patógenos extracelulares (Sandmand *et al.*, 2002; Collaziol *et al.*, 2004).

Em meados de 1990, foi proposta uma nova subpopulação de células T que expressam a molécula de superfície CD4. Essas células são responsáveis pela supressão de atividades potencialmente prejudiciais às células T *helper* e então, elas foram denominadas de células T reguladoras (Treg) (Corthay, 2009). As células T reguladoras agem em prol de manter a homeostase do sistema imune. Algumas de suas ações são: prevenir doenças autoimunes, suprimir a alergia e asma, limitar as doenças inflamatórias crônicas, regular a resposta efetora, dentre outras (Corthay, 2009). As células Treg têm múltiplos mecanismos para mediar os seus efeitos supressivos, tais como: supressão por citocinas inibitórias, como a interleucina-10 e o fator de transformação do crescimento- β (TGF- β); supressão por citólise e supressão pela modulação das funções e maturação das células dendríticas, dentre outros (Vignali *et al.*, 2008).

As células Tregs têm origem, principalmente, no timo e migram para a periferia onde constituem aproximadamente de 5-10% de todas as células CD4⁺ periféricas. Em sua composição, elas expressam o marcador de superfície CD25 (Sakaguchi *et al.*, 1995; Furtado *et al.*, 2002; Wing *et al.*, 2006). Além desse, outras moléculas de superfície celular têm sido associadas às células Tregs, como a proteína-4 associada aos linfócitos T citotóxicos (CTLA4) e o receptor da família do fator de necrose tumoral induzido por glicocorticóide (GITR). O fator de transcrição FOXP3 também apresenta relação com tais células (Powrie *et*

al., 1993; Read *et al.*, 2000; Lehmann *et al.*, 2002; Fontenot & Gavin *et al.*, 2003; Bruder *et al.*, 2004). De todos os marcadores citados, o fator de transcrição FOXP3 tem sido estudado com frequência (Damoiseaux, 2006).

4.1.1. Leucócitos e exercício físico

O exercício físico agudo induz o aumento do número de leucócitos na circulação sanguínea (Cabot *et al.*, 1901; Larrabee, 1902) (FIGURA 1). As características dessa leucocitose dependem da intensidade, duração e tipo do exercício físico (Gimenez *et al.*, 1986; McCarthy & Dale, 1988; Allsop *et al.*, 1992; Gabriel *et al.*, 1992a). A leucocitose induzida por exercícios físicos aeróbios de longa duração são de maior magnitude do que os de curta duração e com maior intensidade (Nieman *et al.*, 1998a; Robson *et al.*, 1999; Chinda *et al.*, 2003; Suzuki *et al.*, 2003). Por outro lado, o treinamento físico atenua a leucocitose induzida por exercício físico agudo, possivelmente, pela redução da intensidade relativa do exercício agudo em relação ao mesmo realizado antes do treinamento (Blannin *et al.*, 1996).

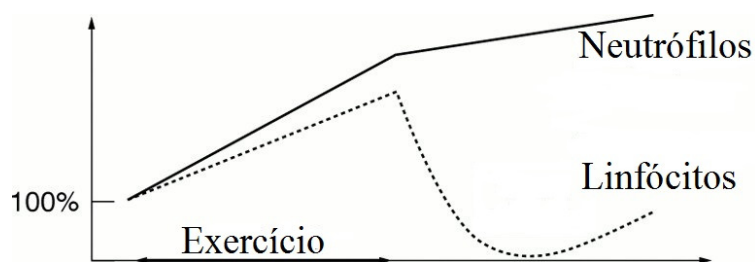


FIGURA 1. O efeito do exercício físico agudo e extenuante nas concentrações relativas de neutrófilos e linfócitos. Fonte: modificado de Pedersen & Toft (2000).

A leucocitose, induzida pelo exercício físico agudo, é proveniente do aumento dos neutrófilos e linfócitos (FIGURA 1; Robson *et al.*, 1999; Pedersen & Toft, 2000). Os aumentos da adrenalina e do débito cardíaco, durante o exercício físico, podem contribuir para a desmarginalização de células por meio da diminuição da aderência de leucócitos presentes no endotélio vascular para a circulação (FIGURA 2; Bieger *et al.*, 1980; Boxer *et al.*, 1980;

Foster *et al.*, 1986; Field *et al.*, 1991; Tvede *et al.*, 1994). Além disso, a tensão de cisalhamento dentro dos capilares pode levar a desmarginalização de leucócitos do pulmão, músculo esquelético e ainda, do fígado e baço para a circulação (McCarthy & Dale, 1988).

Embora os fatores hemodinâmicos pareçam ser responsáveis pela maioria da leucocitose, as razões para o aumento de leucócitos induzido pelo exercício físico agudo são ainda pouco esclarecidas. Tem sido sugerido que isso esteja associado com a resposta "luta ou fuga" que ocorre, rapidamente, para preparar o organismo do perigo adversário (McCarthy & Dale, 1988).

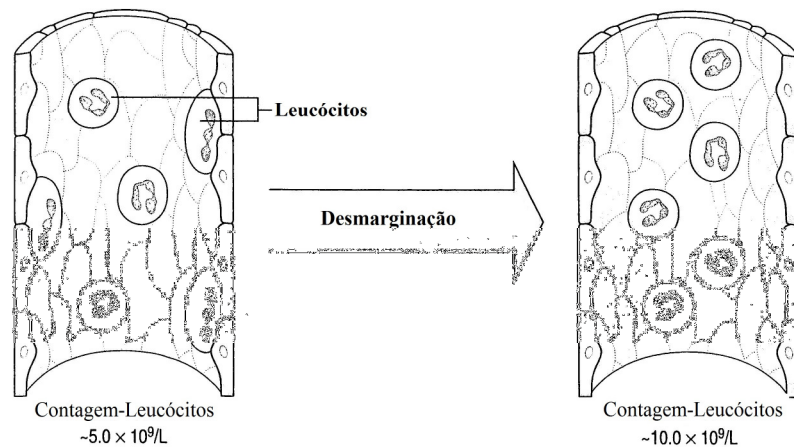


FIGURA 2. O efeito imediato do exercício físico agudo sobre o número de leucócitos circulantes. Fonte: modificado de Blannin (2006).

Alguns estudos observaram o aumento da contagem de neutrófilos na circulação após uma sessão de exercícios físicos breves e exaustivos (McCarthy & Dale, 1988; Field *et al.*, 1991; Gabriel *et al.*, 1992b; Pyne, 1994). A quimiotaxia de neutrófilos pode ser aumentada com o exercício físico agudo de intensidade moderada (Ortega *et al.*, 1993b), porém Rodriguez e colaboradores (1991) não constataram alterações na quimiotaxia após exercício físico agudo até a fadiga. Além disso, a quimiotaxia pode ser maior (Ortega *et al.*, 1993a) ou sem diferença (Hack *et al.*, 1992) em indivíduos treinados comparados aos sedentários.

Com relação aos linfócitos T, as alterações no número absoluto de células T CD4+ são maiores do que aquelas observadas para as células T CD8+. No entanto, quando se considera as alterações relativas (a variação percentual dos valores de repouso), parece que as

células T CD8+ apresentam um maior aumento relativo no número durante e imediatamente após o exercício físico agudo (Nieman *et al.*, 1994).

No que se referem aos monócitos, estudos observaram o aumento dos mesmos na circulação após a realização de exercício físico agudo, quando de curta duração e alta intensidade (Bieger *et al.*, 1980; Field *et al.*, 1991). O exercício físico agudo, também, aumenta a contagem de células exterminadoras naturais (Hoffman-Goetz *et al.*, 1990; Nieman *et al.*, 1994).

Os efeitos do exercício físico crônico sobre o sistema imunológico são contraditórios. A resposta linfocitária proliferativa tem sido descrita como reduzida (Papa *et al.*, 1989), elevada (Nieman *et al.*, 1993; Baj *et al.*, 1994) ou inalterada (Oshida *et al.*, 1988; Pedersen *et al.*, 1989; Tvede *et al.*, 1991; Nieman *et al.*, 1995a; Nieman *et al.*, 1995b) ao comparar atletas e sedentários. A função dos neutrófilos foi suprimida (Lewicki *et al.*, 1988; Pyne, 1994) ou inalterada (Green *et al.*, 1981; Hack *et al.*, 1992) após exercício físico crônico.

Maratonistas foram comparados a um grupo de sedentários. Apesar das diferenças entre os grupos no consumo máximo de oxigênio (VO_{2MAX}), no percentual de gordura corporal e no exercício físico, apenas a atividade das células NK, dentre as variáveis do sistema imunológico avaliadas, foi maior entre os maratonistas (Nieman *et al.*, 1995b). Em outro estudo, ciclistas e indivíduos controle foram examinados e a atividade das células NK foi elevada no grupo treinado, tanto durante o período de treinamento com baixa intensidade, quanto durante o de alta intensidade (Tvede *et al.*, 1991). Um programa de caminhada de 12 semanas, em mulheres idosas, não influenciou a atividade de células NK (Nieman *et al.*, 1993). Em contrapartida, Crist *et al.* (1989) constataram que 16 semanas de exercício físico em esteira aumentou a atividade das células NK em mulheres. Do mesmo modo, a atividade das células NK aumentou após 15 semanas de caminhada em mulheres moderadamente obesas (Nieman *et al.*, 1990).

4.2. Citocinas e quimiocinas

A resposta imunológica é regulada por diferentes mediadores. Dentre esses, as citocinas são proteínas secretadas por células e possuem como função regular a resposta imune, podendo regular também o tráfego e organização celulares em órgãos linfóides (Borish e Steinke, 2003; Commins *et al.*, 2010). Elas são moléculas solúveis com atuação local ou sistêmica, as quais são liberadas ou produzidas em consequência a uma lesão ou estímulo

(Margolius, 1995; Carroll, 1998; Nathan, 2002). Em geral, as citocinas atuam como fatores de crescimento na diferenciação e proliferação celular, e também na maturação de células na medula óssea (Borish & Steinke, 2003; Commins *et al.*, 2010). De acordo com as respostas predominantes das ações de uma citocina ela pode ser caracterizada com propriedades pró-inflamatória e anti-inflamatória.

A interleucina-6 (IL-6), o fator de necrose tumoral- α (TNF- α), a interleucina-1 β (IL-1 β) e o interferon- γ (IFN- γ) são consideradas, classicamente, como pró-inflamatórias. A IL-6 é produzida, predominantemente, por células T, fibroblastos, macrófagos e células endoteliais (Borish & Steinke, 2003; Abbas & Lichtman, 2005), e ainda pode ser produzida pelo tecido muscular em resposta ao exercício físico agudo (Penkowa *et al.*, 2003; Hiscock *et al.*, 2004). Esse mediador promove o crescimento e a diferenciação de células B e T, a produção de proteínas de fase aguda e também é indutor de febre (Borish & Steinke, 2003; Abbas & Lichtman, 2005). O TNF- α é produzido por macrófagos, células NK e T, promovendo inflamação local e ativação endotelial. O IL-1 β , por sua vez, é produzido em macrófagos e células epiteliais causando febre e a ativação de células T e macrófagos (Borish & Steinke, 2003; Abbas & Lichtman, 2005). O IFN- γ é produzido, especialmente, por linfócitos e células NK. Essa citocina atua no processo de apresentação de antígeno, aumentando a expressão de moléculas do complexo de histocompatibilidade principal de classe I e II e na estimulação da secreção de citocinas nos leucócitos (Borish & Steinke, 2003).

O controle da intensidade da resposta inflamatória diante de um estímulo é realizado predominantemente por agentes anti-inflamatórios também chamados de moduladores. Há um balanço dinâmico entre mediadores pró e anti-inflamatórios no sistema imunológico humano. A interleucina-10 (IL-10) é uma citocina moduladora com ações anti-inflamatórias. Ela é produzida por monócitos, macrófagos, células T (principalmente células T reguladoras) e células B e possui ações supressoras de macrófagos e células dendríticas ativadas, atuando predominantemente na inibição da expressão de moléculas do MHC de classe II (Borish & Steinke, 2003; Abbas & Lichtman, 2005). Outro fator envolvido nesse processo regulador é o antagonista do receptor de IL-1 (IL-1ra) que é produzido por fagócitos mononucleares. Por ser estruturalmente semelhante ao IL-1, ligando-se aos mesmos receptores dessa citocina e por não possuir efeitos biológicos, atua inibindo competitivamente as ações do IL-1 (Abbas & Lichtman, 2005).

Os receptores de membrana do TNF são denominados de TNFR1 (também conhecido como p55) e TNFR2 (também conhecido como p75), os quais são regulados de forma diversa em distintos tipos celulares, tanto em tecidos normais, como naqueles com patologia. A

ligação de TNF ao receptor celular TNFR1, geralmente, ativa genes que resultam na indução de uma resposta citotóxica e pró-inflamatória e está associada com lesão tecidual. Por outro lado, a sinalização pelo TNFR2 são menos caracterizadas, mas está relacionada com a proliferação de timócitos, além da ativação de células T e possivelmente medeia o reparo tecidual e angiogênese. Já os receptores solúveis do TNF- α constituem fatores com ação anti-inflamatória. Há dois tipos de receptores solúveis de TNF- α : sTNFR1 ou sTNFRp55 e sTNFR2 ou sTNFRp75. Tais receptores derivam de clivagens enzimáticas do domínio extracelular dos receptores de TNF- α , contribuindo para a regulação da atividade dessa citocina pela modulação da capacidade de ligação aos receptores de membrana, impedindo a geração de seu respectivo efeito (Fernandez-Botran, 1999; Wallach *et al.*, 1999; Al-Lamki *et al.*, 2001; Bradley, 2008; Kindt, 2008).

As quimiocinas (ou citocinas quimiotáticas) são moléculas relativamente pequenas (8 a 12 kDa) pertencentes à família das citocinas. Elas atuam guiando e direcionando os movimentos de leucócitos (Luster, 1998). Outros tipos celulares, incluindo células epiteliais, endoteliais, do músculo liso e parênquimais, sofrem ação das quimiocinas (Mantovani, 1999; Locati *et al.*, 2002). As quimiocinas são mediadores da resposta imunológica, visto que participam do recrutamento e ativação de leucócitos em estados basal e inflamatórios. Além disso, elas contribuem para a angiogênese, remodelamento vascular e tecidual, eliminação de patógenos, apresentação de antígenos, cronificação da inflamação e reparo/cicatrização de tecidos e tumorigênese (Murphy, 1994; Locati & Murphy, 1999; Mantovani, 1999; Locati *et al.*, 2002; Rosenkilde & Schwartz, 2004; Wynn, 2008; Dorner *et al.*, 2009).

As quimiocinas constituem uma superfamília de cerca de 50 pequenas citocinas. As famílias são classificadas pela estrutura e função das moléculas. Quatro subfamílias das quimiocinas apresentam resíduo de cisteína na porção amino-terminal da molécula (CXC, CC, C e CX3C). Os receptores celulares dessas moléculas possuem sete domínios transmembrana e estão associados à proteína G com alta afinidade, levando à ativação de cascatas de sinalização intracelular (Loetscher *et al.*, 1996; Kuna *et al.*, 1998; Proudfoot, 2006; Thelen & Stein, 2008).

A interleucina-8 (CXCL8/IL-8), da família CXC, recruta neutrófilos. Além disso, essa quimiocina ativa monócitos e pode promover o seu recrutamento para lesões vasculares (Charo & Taubman, 2004). Outra quimiocina pertencente à família CXC, relacionada ao recrutamento de células T efectoras é a proteína-10 induzível por interferon-gama (CXCL10/IP-10) (Loetscher *et al.*, 1996; Kuna *et al.*, 1998). A família de quimiocinas CC atrai e ativa células mononucleares e são encontrados em sítios de inflamação crônica

(Loetscher *et al.*, 1996; Kuna *et al.*, 1998; Charo & Taubman, 2004). A quimiocina CCL2/MCP-1 (proteína quimiotática de monócito-1) parece ter um papel-chave no recrutamento de monócitos da circulação sanguínea para lesões ateroscleróticas, envolvida na angiogênese e na trombose (Charo & Taubman, 2004).

4.2.1. Citocinas, quimiocinas e exercício físico

O exercício físico agudo induz ao aumento da interleucina-6 circulante (Suzuki *et al.*, 2003; Margeli *et al.*, 2005; Nieman *et al.*, 2005) (FIGURA 3). Ostrowski *et al.* (1999) observaram a elevação de outras citocinas pró-inflamatórias na circulação, como o TNF- α e a IL-1 β .

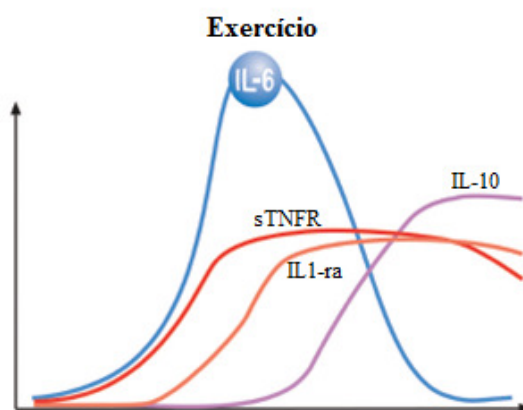


FIGURA 3. A resposta de citocinas plasmáticas ao exercício físico agudo. Sendo: IL-6: interleucina-6, IL-10: interleucina-10, IL-1ra: antagonista do receptor de IL-1, sTNF-R: receptor solúvel do TNF. Fonte: modificado de Petersen & Pedersen (2005).

A IL-6 é produzida por monócitos e macrófagos (Akira *et al.*, 1993). Por esse motivo, um estudo inicial indicava que os monócitos eram os responsáveis pelo aumento da concentração dessa citocina na circulação, induzido pelo exercício físico agudo (Ullum *et al.*, 1994). Entretanto, Starkie e colaboradores (2000) demonstraram que a expressão de IL-6 em monócitos não era alterada após uma sessão de exercício físico.

Outra possível origem da IL-6 na circulação induzida pelo exercício físico era a contração do músculo esquelético. Dessa forma, Ostrowski *et al.* (1998) encontraram um aumento de ácido ribonucléico mensageiro (RNAm) de IL-6 (no músculo que contraiu) em relação ao repouso após a realização de uma sessão de exercício físico. Isso gerou a hipótese de que o exercício físico exaustivo, como a maratona, causaria a destruição de miofibras do músculo em contração promovendo uma inflamação e subsequente liberação de IL-6 na circulação sistêmica. Porém, estudos posteriores demonstraram que o dano muscular não é o responsável pela liberação dessa citocina (Croisier *et al.*, 1999; Starkie *et al.*, 2001).

Embora, Ostrowski *et al.* (1998) e Starkie *et al.* (2001) tenham constatado o aumento de RNAm de IL-6 no músculo esquelético após exercícios físicos agudos e prolongados, esses estudos não demonstram que são as células musculares que produzem e liberam a IL-6. Visto que existem outras fontes de produção de IL-6, como macrófagos residentes no tecido, fibroblastos no tecido conjuntivo, o endotélio dos capilares musculares, o tecido adiposo e o osso, os quais podem contribuir para o aumento da concentração sistêmica de IL-6 durante o exercício físico agudo (Lancaster, 2006). Desse modo, posteriormente, Penkowa *et al.* (2003) e Hiscock *et al.* (2004) realizaram biópsias musculares no repouso e depois do exercício físico agudo e comprovaram, por meio de imunohistoquímica, que a IL-6 é, realmente, produzida pelos miócitos.

Com relação à liberação de IL-6 na circulação, Steensberg *et al.* (2000) observaram que esse fato depende da contração muscular, uma vez que a perna que realizou contrações (5h de extensão de joelhos) promoveu o aumento de IL-6 na circulação enquanto que a perna em repouso não alterou a concentração dessa citocina. Isso foi detectado, por meio de catéteres colocados no interior da veia femoral de ambas as pernas (FIGURA 4). Outros estudos demonstraram que o aumento da concentração de IL-6 na circulação possui correlação positiva com a intensidade (FIGURA 5; Ostrowski *et al.*, 2000) e com a duração (FIGURA 6; Pedersen & Febbraio, 2008) do exercício físico agudo.

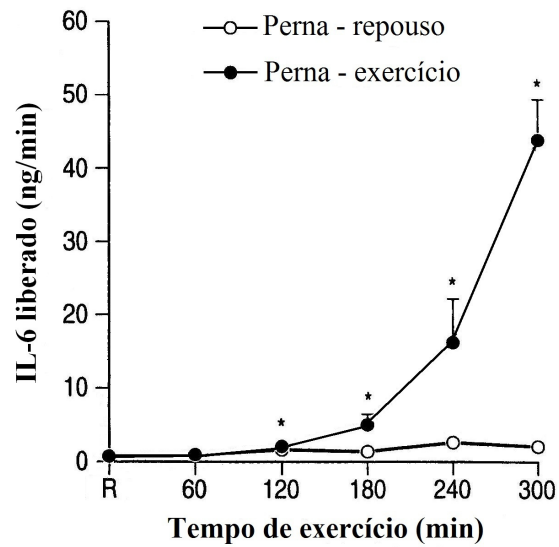


FIGURA 4. IL-6 liberado das pernas em repouso e em exercício agudo. $P < 0,05$ versus repouso (R). Fonte: modificado de Steensberg *et al.* (2000).

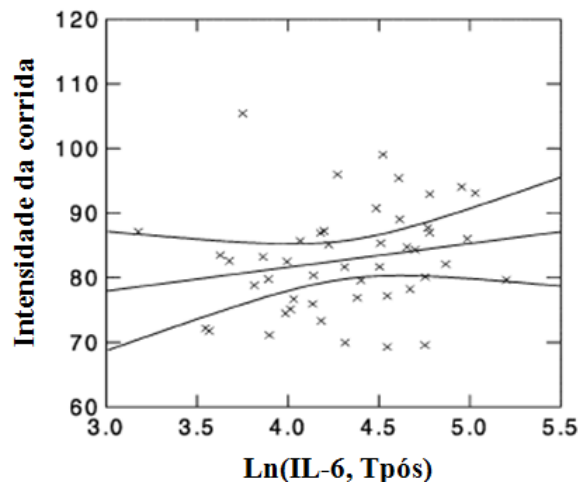


FIGURA 5. A intensidade da corrida comparada com o logaritmo da concentração plasmática de IL-6 [Ln(IL-6, Tpós)] imediatamente após a corrida. A linha da regressão linear com intervalo de confiança 95%. Fonte: modificado de Ostrowski *et al.* (2000).

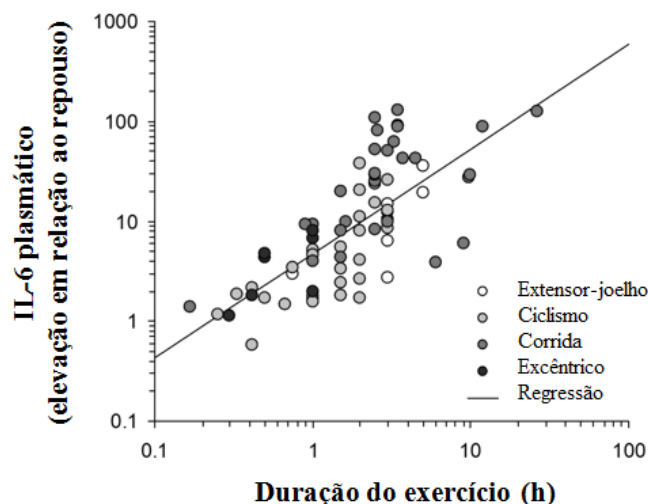


FIGURA 6. A regressão linear-log10-log10 (linha reta) entre a duração do exercício e o aumento de IL-6 plasmático (quantidade de vezes em relação ao pré-exercício) Fonte: modificado de Pedersen & Febbraio, 2008.

Além do papel no sistema imunológico, a IL-6 apresenta ações no metabolismo energético. Estudos indicam que a IL-6 aumenta a lipólise (Nonogaki *et al.*, 1995; Stouthard *et al.*, 1995; Path *et al.*, 2001; Bruce & Dyck, 2004; Petersen *et al.*, 2005), bem como a oxidação de gordura (van Hall *et al.*, 2003; Petersen *et al.*, 2005). Ademais, dados sugerem que a IL-6 aumenta a captação de glicose em miócitos (Wallenius *et al.*, 2002; Al-Khalili *et al.*, 2006; Carey *et al.*, 2006; Glund *et al.*, 2007). A incubação de IL-6 aumenta a fosforilação da proteína ativada por monofosfato de adenosina (AMPK) nos músculos esqueléticos. Além disso, a atividade da AMPK e as concentrações de acetil-CoA carboxilase foram baixas em camundongos *knockout* para IL-6, sugerindo um papel da IL-6 na regulação da atividade da AMPK (Kelly *et al.*, 2004). A ativação da AMPK leva à fosforilação e, conseqüentemente, à inibição de acetil-CoA carboxilase. A acetil-CoA carboxilase é o passo regulador na produção de malonil-CoA e subsequente biossíntese de ácidos graxos. A malonil-CoA é também um potente inibidor da carnitina palmitoil transferase-1, a enzima limitante da captação de ácidos graxos para dentro da mitocôndria. Portanto, uma redução de malonil-CoA remove a inibição da captação mitocondrial de ácidos graxos, estimulando sua oxidação, bem como a redução da biossíntese de lipídios (Carling, 2004; Ruderman *et al.*, 2006).

Considerando a atuação metabólica dessa citocina e a sua liberação durante o exercício físico agudo, experimentos em humanos têm demonstrado que a ingestão de glicose durante a

realização do mesmo atenua o aumento plasmático de IL-6 induzido pelo exercício físico (Nehlsen-Cannarella *et al.*, 1997; Nieman *et al.*, 1998b; Henson *et al.*, 2000; Lancaster *et al.*, 2003; Nieman *et al.*, 2004; Li & Gleeson, 2005) e que a ingestão de carboidratos atenua a elevação plasmática de IL-6 durante a corrida e o ciclismo (Nehlsen-Cannarella *et al.*, 1997; Nieman *et al.*, 1998b; Starkie *et al.*, 2001).

A literatura sugere as possíveis funções biológicas da IL-6 induzidas pela contração muscular. Em resposta às contrações, as fibras musculares do tipo I e II expressam a miocina IL-6, que, posteriormente, exerce os seus efeitos. Localmente dentro do músculo e, quando liberado na circulação, periféricamente em alguns órgãos. Especificamente, no músculo esquelético, a IL-6 atua através de um homodímero gp130R β /IL-6R resultando na ativação da AMPK e / ou fosfatidilinositol 3-quinase para aumentar a oxidação de gordura e a captação de glicose. Periféricamente, a IL-6 também é conhecida por aumentar a produção de glicose hepática durante o exercício e a lipólise no tecido adiposo (FIGURA 7; Pedersen & Fischer, 2007; Pedersen & Febbraio, 2008).

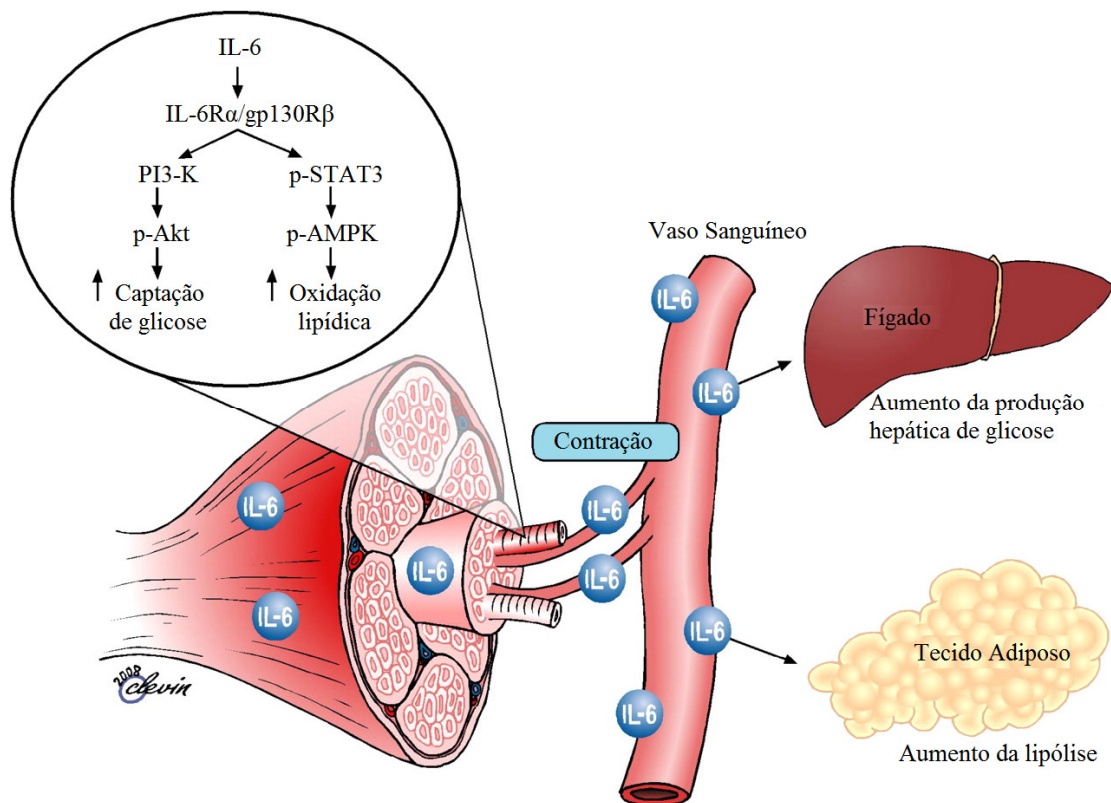


FIGURA 7. As funções biológicas da IL-6 induzidas pela contração muscular. Fonte: modificado de Pedersen & Febbraio, 2008.

Além das citocinas abordadas anteriormente, poucos estudos evidenciaram que o exercício físico agudo induz ao aumento de mediadores anti-inflamatórios, como o antagonista do receptor de IL-1, o receptor solúvel do TNF e a interleucina-10 (FIGURA 3, Ostrowski *et al.*, 1999; Toft *et al.*, 2002; Petersen & Pedersen, 2005).

A concentração plasmática da quimiocina IL-8 aumenta em resposta a uma sessão de exercício físico, como corrida, a qual envolve contrações musculares excêntricas (Ostrowski *et al.*, 2001; Nieman *et al.*, 2003), sendo o aumento dessa quimiocina, possivelmente, devido a uma resposta inflamatória. Por outro lado, o exercício físico agudo com a contração concêntrica, como a bicicleta ergométrica (Chan *et al.*, 2004) ou remo (Henson *et al.*, 2000), de intensidade moderada, não altera as concentrações plasmáticas de IL-8 (Henson *et al.*, 2000; Nieman *et al.*, 2003; Chan *et al.*, 2004; Akerstrom *et al.*, 2005). Entretanto, o RNAm do receptor CXCR2 aumentou no músculo esquelético em resposta ao exercício de bicicleta, no período pós-exercício quando comparado com amostras pré-exercício. O aumento do CXCR2 foi constatado no endotélio vascular, e também nas fibras musculares (Frydelund-Larsen *et al.*, 2007). A função fisiológica de IL-8 dentro do músculo é ainda desconhecida, porém, há a hipótese de que a IL-8 derivada da contração muscular, ao associar-se com o CXCR2 (expresso por células endoteliais microvasculares), estimule a angiogênese (Norrby, 1996). Dessa forma, a expressão local de IL-8 durante o exercício físico agudo não tem efeitos imunológicos sistêmicos, mas é provável que tenha efeito local (Frydelund-Larsen *et al.*, 2007).

No que se refere aos efeitos do exercício físico crônico sobre as citocinas, estudos longitudinais, em pacientes com doenças cardiovasculares, observaram que o mesmo reduz as concentrações séricas de mediadores pró-inflamatórios (MCP-1, IL-1 β , IL-6, IFN- γ e TNF- α) e aumentam o anti-inflamatório (IL-10) (Adamopoulos *et al.*, 2001; Larsen *et al.*, 2001; Conraads *et al.*, 2002; Gielen *et al.*, 2003; Goldhammer *et al.*, 2005). Além disso, Mattusch *et al.* (2000) relataram que o programa de intervenção com exercício físico crônico reduziu a inflamação sistêmica de baixo grau em voluntários saudáveis. Entretanto, os marcadores de inflamação sistêmica de baixo grau não foram reduzidos em pacientes com insuficiência cardíaca crônica em um estudo, embora a inflamação tenha diminuído, localmente, dentro do músculo esquelético (Bruunsgaard *et al.*, 2004). Essas diferenças entre os estudos podem ser em consequência das formas de intervenções distintas, por exemplo, diferentes intensidades e duração de exercício físico. Finalmente, o efeito do exercício físico pode ser diferente nas variadas desordens associadas com a inflamação de baixo grau sistêmico.

4.3. Adipocinas

Adipocina é um termo adotado para descrever a proteína que é secretada pelo tecido adiposo, sendo essa proteína uma citocina ou não. As adipocinas são diversificadas em termos de estrutura protéica e função fisiológica (Trayhurn & Wood, 2004). Nesse tópico serão abordadas: a leptina, resistina e adiponectina, por serem, tradicionalmente, classificadas como adipocinas.

A leptina é um polipeptídeo produzido pelo tecido adiposo, placenta, medula óssea, estômago e músculo (Fonseca-Alaniz *et al.*, 2006; Romero & Zanesco, 2006). Ela age no hipotálamo na regulação do apetite e do balanço energético (Trayhurn & Bing, 2006), por meio da aferência com o sistema nervoso central responsável por informar ao cérebro sobre os estoques periféricos de energia, dentro de uma alça de retroalimentação negativa. A leptina atua sobre alguns peptídeos produzidos em neurônios do núcleo arqueado: neuropeptídeo Y (NPY), o peptídeo relacionada à agouti (AGRP), pró-opiomelanocortina (POMC) e transcrito regulado por cocaína e anfetamina (CART), suprimindo a atividade dos neurônios orexigênicos que produzem NPY/AGRP, enquanto exerce ação estimulatória sobre a atividade de neurônios anorexigênicos, responsáveis pela produção da POMC e CART (Schwartz *et al.*, 2000). Além disso, a leptina ativa a AMPK no músculo esquelético com o, conseqüente, aumento da oxidação de ácidos graxos (Minokoshi *et al.*, 2002; Minokoshi & Kahn, 2003).

A leptina também possui ações no sistema imune. Estudos *in vivo* sobre os efeitos imuno-modulatórios da leptina têm sido gerados pela utilização de camundongos leptina ob-ob deficientes. Esse cenário está associado à redução da inflamação em modelos de doenças autoimunes, mas também com o aumento da susceptibilidade a infecções bacterianas e virais (Faggioni *et al.*, 2000; Matarese *et al.*, 2001; Busso *et al.*, 2002; Mancuso *et al.*, 2002; Kanda *et al.*, 2004).

A leptina protege os linfócitos T da apoptose e regula a proliferação e ativação de células T. Ela também influencia a produção de citocinas pelos linfócitos T, em geral, o fenótipo de comutação para uma resposta Th1 (Fantuzzi, 2005). Em monócitos e macrófagos, a leptina aumenta a produção de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , IL-6 e IL-12, e estimula a ativação de neutrófilos e a proliferação de monócitos circulantes *in vitro* (Gainsford *et al.*, 1996; Tilg & Moschen, 2006).

Outra adipocina com efeitos pró-inflamatórios é a resistina, que pertence a uma família de proteínas ricas em cisteína. A resistina é encontrada em regiões de inflamação (Carvalho *et al.*, 2002; Carvalho *et al.*, 2006) e é secretada por monócitos/macrófagos e adipócitos. Segundo Fantuzzi (2005), em humanos a expressão de resistina nos adipócitos é reduzida, e elevada nos macrófagos e monócitos, o que sugere um papel inflamatório.

A resistina possui ação aterogênica pelo aumento da expressão de moléculas de adesão intercelular-1 (ICAM-1) e molécula de adesão de célula vascular-1 (VCAM-1) em células endoteliais vasculares (Verma *et al.*, 2003; Tilg & Moschen, 2006). A resistina estimula a síntese das citocinas pró-inflamatórias TNF- α , IL-1 β , IL-6 por diferentes tipos celulares. Alguns mediadores pró-inflamatórios como TNF- α , IL-6 e lipopolissacarídeos podem regular a expressão do gene da resistina (Pang & Le, 2006; Tilg & Moschen, 2006).

Outra adipocina é a adiponectina, polipeptídeo secretado, especialmente, pelo tecido adiposo. A adiponectina exerce os seus efeitos sobre processos metabólicos, como a homeostase energética e o metabolismo de glicose e lipídios através da ativação e fosforilação da AMPK (Yamauchi *et al.*, 2002). A adiponectina estimula a atividade da AMPK tanto na periferia como no sistema nervoso central. A sua ação hipotalâmica (núcleo arqueado) estimula a ingestão alimentar e reduz o metabolismo energético. Camundongos que não possuem adiponectina são resistentes à ativação hipotalâmica da AMPK e, conseqüentemente, são hipofágicos, com elevado gasto energético, além de apresentarem resistência à obesidade quando expostos à dieta hipercalórica (Kubota *et al.*, 2007). A adiponectina estimula a AMPK no músculo, levando ao aumento da oxidação de ácidos graxos e a redução das concentrações plasmáticas de glicose e, no fígado, provoca diminuição da gliconeogênese e da síntese de ácidos graxos (Yamauchi *et al.*, 2002).

Ao contrário de outras adipocinas, a adiponectina possui funções imunológicas anti-inflamatórias, pois age como proteção para fatores cardiovasculares e aumenta a sensibilidade à insulina. Algumas citocinas, como IL-6 e TNF- α são inibidores da secreção e expressão de adiponectina. A adiponectina, por sua vez, regula a expressão de algumas citocinas pró e anti-inflamatórias, estimula a produção da IL-10, além de suprimir a síntese de TNF- α . Além disso, inibe também a ativação do fator kB (NF-kB) em células endoteliais e interfere na função de macrófagos (Fantuzzi, 2005; Tilg & Moschen, 2006).

4.3.1. Adipocinas e exercício físico

Alguns estudos avaliaram a resposta da leptina após a realização de exercício físico agudo (de intensidades máxima e submáxima; de curta e longa duração) (Hickey *et al.*, 1996; Perusse *et al.*, 1997; Racette *et al.*, 1997; Koistinen *et al.*, 1998; Duclos *et al.*, 1999; Torjman *et al.*, 1999; Elias *et al.*, 2000; Essig *et al.*, 2000; Weltman *et al.*, 2000; Fisher *et al.*, 2001; Kanaley *et al.*, 2001; Sliwowski *et al.*, 2001; Nindl *et al.*, 2002; Zaccaria *et al.*, 2002). Entretanto, tem-se observado resultados contraditórios, visto que alguns estudos não observaram qualquer alteração nas concentrações plasmáticas de leptina (Racette *et al.*, 1997; Weltman *et al.*, 2000), enquanto outros constataram uma redução nas mesmas. De acordo com alguns autores, as concentrações de leptina circulantes são apenas diminuídas após exercícios físicos de alta intensidade (Elias *et al.*, 2000) e de longa duração (Koistinen *et al.*, 1998; Leal-Cerro *et al.*, 1998; Duclos *et al.*, 1999; Olive & Miller, 2001; Zaccaria *et al.*, 2002) e ainda, que essa redução parece ocorrer após algumas horas e/ou dias após o término de um exercício físico agudo (Essig *et al.*, 2000; Nindl *et al.*, 2002).

Em relação ao exercício físico crônico, Crampes *et al.* (2003) relataram uma redução nas concentrações de leptina após treinamento físico, em homens com sobrepeso. Reduções da concentração circulante da leptina, também, foram constatadas por outros estudos envolvendo indivíduos com sobrepeso ou obesidade, os quais participaram de um programa de treinamento físico, com e sem restrição dietética (Miyatake *et al.*, 2004; Murakami *et al.*, 2007). Entretanto, Thong e colaboradores (2000) observaram que o exercício físico crônico, quando sem o efeito da dieta, não promove alteração nas concentrações de leptina. Em contrapartida, outros autores demonstraram que alguns treinamentos de longo prazo promoveram reduções na leptina plasmática independentemente da redução de peso (Hickey *et al.*, 1997; Pasman *et al.*, 1998; Ishii *et al.*, 2001).

Com relação à resistina, poucos estudos avaliaram sua resposta ao exercício físico agudo. Varady e colaboradores (2010) observaram redução das concentrações de resistina após a realização de um exercício físico agudo. Por outro lado, Jamurtas *et al.* (2006) relataram que a resistina não é alterada por sessões únicas de exercício físico.

Os resultados do exercício agudo e/ou treinamento físico nas concentrações de adiponectina, ainda não estão esclarecidos. Há estudos que não relataram qualquer efeito do exercício agudo sobre as concentrações de adiponectina em indivíduos saudáveis, com peso normal (Kraemer *et al.* 2003; Ferguson *et al.* 2004; Punyadeera *et al.*, 2005). Porém, Jurimae e colaboradores (2005) observaram uma redução imediatamente após exercício físico agudo e

aumento da mesma nos 30min no período de recuperação, em indivíduos saudáveis. Os trabalhos que avaliaram os efeitos do exercício físico crônico sobre as concentrações dessa adipocina apresentam resultados controversos (Hulver *et al.*, 2002; Boudou *et al.*, 2003; Kriketos *et al.*, 2004).

4.4. Fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF)

Os fatores neurotróficos constituem uma família de polipeptídeos, incluindo o fator de crescimento do nervo (NGF), o fator neurotrófico derivado da glia (GDNF), o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), a neurotrofina 3 (NT-3) e a neurotrofina 4/5 (NT-4/5). Esses fatores exercem suas funções sobre as células alvo através de ligações à duas classes de receptores de membrana: o receptor tropomiosina kinase (Trk) e receptor neurotrofina p75 (p75 NTR). Os receptores possuem ações distintas, sendo que os Trk agem na diferenciação, desenvolvimento, maturação e sobrevivência celular de neurônios e são eficazes na transmissão sináptica, já os receptores p75 medeiam a morte celular e a sua deterioração funcional (Hennigan *et al.*, 2007).

As células alvo de uma determinada população neuronal são responsáveis pela liberação dos fatores neurotróficos, seguido por captação pela terminação nervosa pré-sináptica e transporte retrógrado até o corpo neuronal (Skaper & Walsh, 1998). Outras fontes de neurotrofinas são as células gliais, os fibroblastos, as células de Schwann, as células endoteliais, entre outras (Acheson *et al.*, 1987). O BDNF atua na regulação da sobrevivência, crescimento e manutenção dos neurônios (Mattson *et al.*, 2004) e parece desempenhar um papel na aprendizagem e memória (Tyler *et al.*, 2002). E ainda, atua prevenindo a morte neuronal durante o estresse (Schabitz *et al.*, 2007).

Além das células descritas anteriormente, o BDNF foi detectado em plaquetas, monócitos, as células B, os eosinófilos e as células T (Yamamoto & Gurney, 1990 ; Lambiasi *et al.*, 1997; Kerschensteiner *et al.*, 1999 ; Edling *et al.*, 2004; Rochlitz *et al.*, 2006). Assim, além das ações neurotróficas, parece que o BDNF age como mediador imunológico, mas não está claro se possui funções pró ou anti-inflamatórias. Makar e colaboradores (2008) demonstraram que células que produzem BDNF promoveram a redução da inflamação no modelo experimental de encefalomielite, em camundongos. Por outro lado, o BDNF parece estar envolvido na angiogênese de doenças neoplásicas, agindo como um fator pró-

inflamatório, visto que concentrações elevadas de BDNF estão associadas com a sobrevivência e o crescimento tumoral (Yang *et al.*, 2006). Segundo Currie *et al.* (2009), o BDNF, em algumas doenças não-neurais, pode contribuir para a patogênese, como por exemplo, da doença arterial coronariana (Ejiri *et al.*, 2005). Além disso, a produção de citocinas pró-inflamatórias aumenta a secreção de BDNF por monócitos *in vitro* (Schulte-Herbruggen *et al.*, 2005).

4.4.1. BDNF e exercício físico

As pesquisas iniciais sugeriam que a resposta do BDNF mediada pelo exercício físico, seria restrita aos sistemas sensoriais-motores do cérebro, tais como o cerebelo, áreas corticais primária, visto que é um fator neurotrófico. Entretanto, os experimentos demonstraram que alguns dias de corridas voluntárias em ratos promoveram o aumento das concentrações de RNAm de BDNF no hipocampo (Neeper *et al.*, 1995), uma estrutura que é normalmente associada a uma maior função cognitiva em relação à atividade motora. Além do hipocampo, a corrida aumentou as concentrações de RNAm de BDNF no cerebelo e no córtex (Neeper *et al.*, 1996). Embora outros fatores neurotróficos, como o NGF (Neeper *et al.*, 1996) e o fator de crescimento fibroblástico 2 (Gomez-Pinilla *et al.*, 1997), também serem induzidos no hipocampo em resposta ao exercício físico, essas foram menos acentuadas do que a do BDNF, sugerindo que esse fator neurotrófico é um mediador dos benefícios do exercício físico crônico sobre o cérebro.

Em humanos, o exercício físico agudo até a fadiga induz a uma elevação plasmática de BDNF observada no momento do término do exercício, seguido por um rápido retorno aos valores basais após o momento da fadiga (Roja Vega *et al.*, 2006; Ferris *et al.*, 2007; Gustafsson *et al.*, 2009). Após o exercício físico agudo, a expressão de RNAm do BDNF é aumentada no músculo esquelético. No entanto, esse BDNF produzido não parece ser liberado para a circulação. Além disso, o BDNF aumenta a fosforilação da AMPK e ACC β , levando ao aumento da oxidação lipídica *in vitro e ex vivo* (Matthews *et al.*, 2009). Assim, Matthews *et al.* (2009) sugerem que o BDNF atua no metabolismo energético no músculo esquelético, através do aumento da oxidação de gordura de forma AMPK dependente (FIGURA 8).

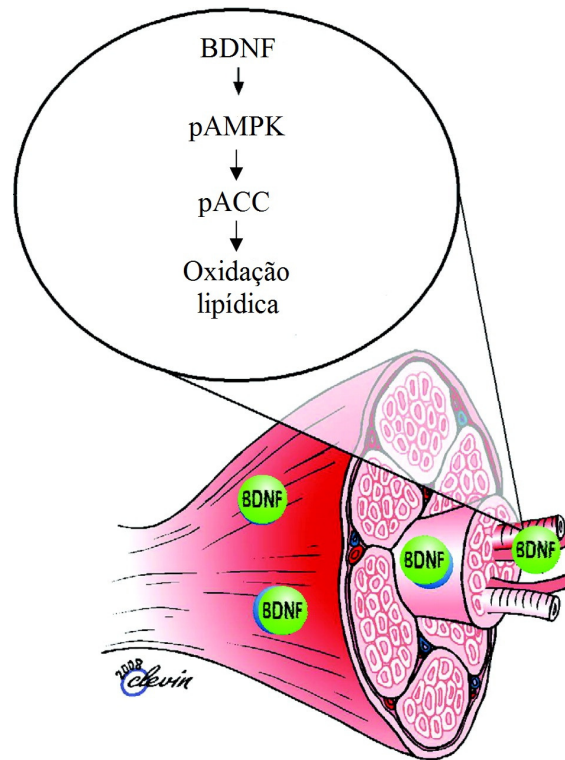


FIGURA 8. O papel biológico do BDNF induzido pela contração muscular. Fonte: modificado de Pedersen *et al.* (2009).

Evidências demonstram que a utilização do exercício físico crônico na prevenção e no tratamento de doenças neurológicas favorece a plasticidade cerebral, a neuroregeneração, a neuroadaptação (Dishman *et al.*, 2006; Cotman *et al.*, 2007). Além disso, Zoladz *et al.*, 2008 constataram que cinco semanas de treinamento de resistência aumentaram as concentrações plasmáticas de BDNF em homens saudáveis.

4.5. Treinamento aeróbio

O treinamento aeróbio é utilizado com o objetivo de induzir adaptações cardiovasculares e musculares que resultam no aumento da capacidade oxidativa (avaliada pelo VO_{2MAX}). Sendo que, a potência aeróbia máxima é a maior capacidade de transporte e utilização de oxigênio para produção de energia – VO_{2MAX} (McArdle *et al.*, 2003). Além disso, o treinamento aeróbio promove o aumento do volume de ejeção cardíaco, decorrente do

aumento da cavidade ventricular esquerda, contratilidade do miocárdio e volume diastólico final (Spina, 1999), resultando em maior débito cardíaco máximo (Shephard, 1992).

Após uma sessão de exercício físico foram observados aumentos transientes na quantidade de RNAm, o que aumenta a transcrição e síntese de proteínas para um novo estado-estável (Coffey & Hawley, 2007). O exercício físico realizado em repetidas sessões, usualmente intercaladas por períodos de recuperação, resulta em alterações na expressão de uma ampla variedade de genes que podem levar a alteração no fenótipo muscular (Adhihetty *et al.*, 2003). De acordo com Coffey & Hawley (2007), as adaptações ao treinamento de longo prazo, provavelmente são decorrentes dos efeitos acumulativos de cada sessão de treinamento, o qual induz mudanças no estado-estável de proteínas específicas a um novo limiar funcional.

No músculo esquelético ocorrem adaptações relacionadas à capacidade oxidativa. O músculo esquelético é um tecido que pode sofrer adaptações metabólicas e morfológicas em resposta a repetidas sessões de exercício físico (Adhihetty *et al.*, 2003). As adaptações decorrentes de um treinamento são específicas e dependentes do tipo de exercício realizado e da carga de treinamento utilizada.

Com o treinamento aeróbio há o aumento no número e tamanho de mitocôndrias; aumento na concentração de enzimas do Ciclo de Krebs e mecanismos de transporte de elétrons (Schantz *et al.*, 1986; Suter *et al.*, 1995); aumento da capacidade da β -oxidação de ácidos graxos livres (Kiens *et al.*, 1993); aumento na concentração de bombas de sódio-potássio (Green *et al.*, 1993); aumento da capacidade de transportar lactato (Pilegaard *et al.*, 1994; McCullagh *et al.*, 1996); aumento da concentração de mioglobina (Harms & Hickson, 1983) e na densidade capilar (Andersen & Henriksson, 1977; Ingjer, 1979). Após o treinamento aeróbio, o aumento das reservas e da utilização de triglicerídeos intramusculares (Hurley *et al.*, 1986; Martin *et al.*, 1993) reduz a contribuição dos carboidratos para a ressíntese de ATP durante exercício submáximo com a mesma intensidade absoluta (Kiens *et al.*, 1993), o que reduz a taxa de oxidação de glicose sanguínea (Coggan *et al.*, 1990; Mendenhall *et al.*, 1994) e a depleção do glicogênio muscular (Green *et al.*, 1995; Coffey & Hawley, 2007).

Essas adaptações podem contribuir para a manutenção de uma determinada intensidade de exercício por períodos prolongados (Ivy *et al.*, 1980; Weston *et al.*, 1999). Sendo que, a maior concentração de enzimas oxidativas nas fibras musculares do tipo I pode retardar o ponto no qual as fibras do tipo II são mais recrutadas durante um exercício; e o aumento do potencial oxidativo das fibras do tipo II pode reduzir sua relação com a glicólise (Moritani *et al.*, 1993). De acordo com Walsh *et al.* (2001), o aumento do potencial oxidativo

muscular decorrente do aumento da densidade mitocondrial e atividade enzimática após o treinamento aeróbio, são considerados adaptações metabólicas, associadas ao aumento do desempenho aeróbio e resistência à fadiga.

Após o treinamento, ainda parece haver a manutenção de uma mesma concentração de catecolaminas para uma mesma intensidade relativa de exercício (Martin *et al.*, 1993; Mendenhall *et al.*, 1994; Greiwe *et al.*, 1999). Como as catecolaminas podem estimular produção de lactato por meio da modulação da glicogenólise, esse resultado também pode ser levado em consideração para a redução da utilização de glicogênio muscular com o treinamento (Duan & Winder, 1994).

4.6. Máxima fase estável de lactato

No presente estudo, alguns dos exercícios físicos agudos e o treinamento aeróbio foram realizados na máxima fase estável de lactato (MFEL), a qual é a maior intensidade de exercício físico na qual a lactatemia não apresente aumento superior a 1mM durante 10 e 30min de exercício físico (Heck *et al.*, 1985; Beneke, 2003; Billat *et al.*, 2003; Denadai *et al.*, 2004). A variação máxima de 1mM de lactato foi o critério, inicialmente, proposto por Heck *et al.* (1985), arbitrariamente, para estabelecer a estabilidade dessa variável durante o exercício físico (Faude *et al.*, 2009). De acordo com esse autor, essa intensidade de exercício físico representa o ponto máximo de equilíbrio entre a produção e remoção de lactato do sangue.

A mensuração direta da MFEL envolve a coleta de várias amostras de sangue durante múltiplas sessões de exercício físico de intensidade constante e duração de 30min realizados em dias separados (Beneke, 2003). Na intensidade da MFEL, ocorre um aumento inicial da lactatemia seguido por uma condição de estado estável. Em intensidade acima da MFEL, ocorre um aumento contínuo da lactatemia durante o exercício físico (FIGURA 9). O critério mais comumente utilizado para se considerar que determinada intensidade corresponde à MFEL é a variação na lactatemia de, no máximo, 1mM entre os minutos dez e trinta de exercício (Heck *et al.*, 1985; Beneke, 2003).

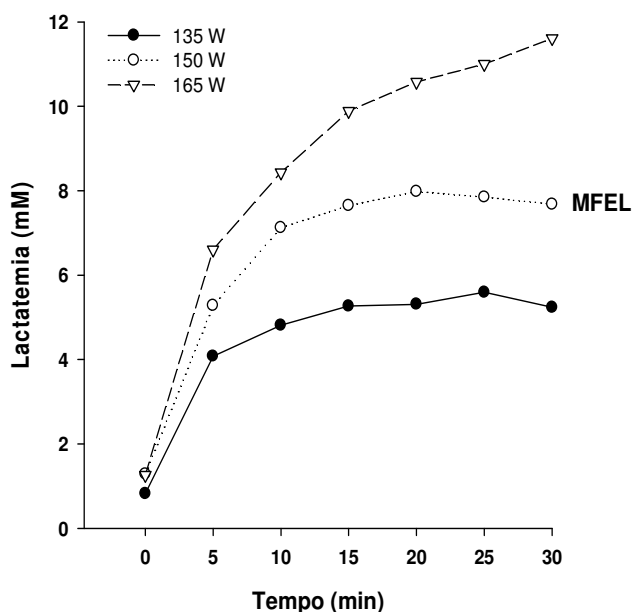


FIGURA 9. Exemplo de determinação da máxima fase estável de lactato (MFEL) de um voluntário do presente estudo.

Alguns estudos propuseram a identificação da intensidade de exercício físico correspondente ao limiar de lactato e/ou MFEL através de um protocolo de exercício progressivo, visto que a mensuração direta da MFEL depende da realização de várias sessões de testes. Sjodin & Jacobs (1981) estipularam a intensidade referente à concentração sanguínea de 4 mM de lactato como o ponto de acúmulo de lactato no sangue (*onset of blood lactate accumulation* – OBLA). Posteriormente, Heck *et al.* (1985) justificaram a escolha da concentração de 4 mM em função desse valor ter sido a média da concentração de lactato observada na MFEL em testes realizados em esteira. No entanto, houve variação individual na lactatemia de 3,0 a 5,5 mM na intensidade referente à MFEL (Heck *et al.*, 1985).

Stegmann *et al.* (1981) propuseram um método para tentar identificar um ponto de inflexão na curva de lactatemia durante um exercício progressivo e verificaram uma grande variação individual na lactatemia (1,5 a 7,0 mM). Diante disso, os autores propuseram um novo método que identificasse essa intensidade de exercício de forma individualizada, chamado limiar anaeróbio individual (*Individual Anaerobic Threshold* – LAI). O LAI é um método que avalia a resposta do lactato ao longo do período de exercício físico e pós-exercício. Ele é definido como a intensidade de exercício identificada através do ponto de tangência a partir de uma linha traçada da concentração de lactato do último estágio de

exercício sobreposta à lactatemia observada no pós-exercício (recuperação) em um gráfico de resposta de lactato durante um teste progressivo (FIGURA 10).

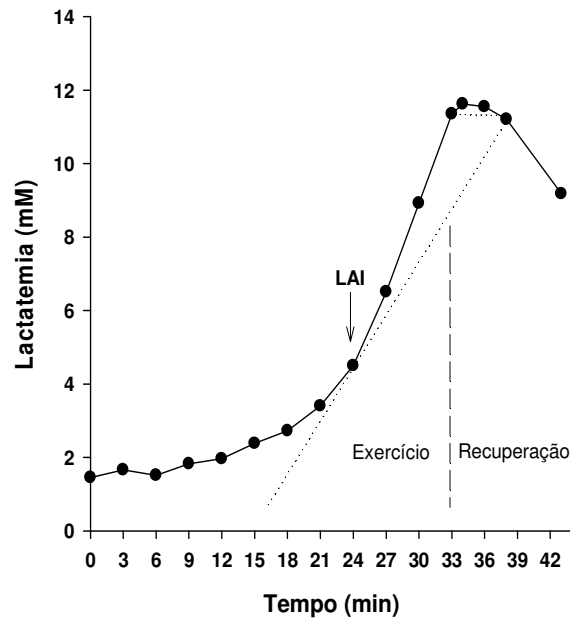


FIGURA 10. Exemplo de determinação do limiar anaeróbico individual (LAI) de um voluntário do presente estudo.

DeBarros (2007) observou que o LAI foi um método capaz de estimar a MFEL com precisão, entretanto, a intensidade de exercício identificada pelo OBLA subestimou aquela identificada pela MFEL em exercício físico realizado em cicloergômetro em ambiente temperado. Figueira *et al.* (2008) também observaram que o OBLA não é um método válido para estimar a MFEL em cicloergômetro. Dessa forma, o presente estudo fez uso do LAI como primeira intensidade utilizada nos testes para a identificação da MFEL. Visto que, a MFEL é empregada como parâmetro de treinamento e por isso foi utilizada como ferramenta para tal nesta tese.

5. MÉTODOS

5.1. Cuidados Éticos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (COEP 261/09) (ANEXO I) e respeitou todas as normas estabelecidas pelo Conselho Nacional da Saúde (Res. 196/96) acerca de pesquisas envolvendo os seres humanos.

Uma reunião foi realizada com todos os indivíduos que se dispuseram, voluntariamente, a fazer parte deste estudo. Informações foram fornecidas sobre os objetivos e todos os procedimentos que seriam adotados durante a realização da pesquisa, assim como o esclarecimento de dúvidas e os possíveis riscos e benefícios relacionados à participação dos indivíduos nos experimentos.

Todos os participantes responderam um questionário (ANEXO II) para identificar possíveis limitações físicas e/ou alterações metabólicas que pudessem influenciar as respostas das variáveis do presente estudo e/ou colocar em risco sua integridade física. Também foi aplicado um questionário relacionado à coleta de sangue (punção venosa) (ANEXO III), o qual se referia as experiências prévias em relação a possíveis desconfortos e incômodos que impedissem a participação no estudo.

Além disso, os participantes leram e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO IV), concordando em participar como voluntário do estudo, em presença do pesquisador principal e uma testemunha. Todos os voluntários estavam cientes que poderiam abdicar da participação no estudo a qualquer momento sem necessidade de justificar-se e sem prejuízo pessoal.

5.2. Amostra

A amostra foi composta por 21 homens saudáveis, estudantes universitários, que não participavam de programas de treinamento aeróbico e que foram divididos, aleatoriamente, em dois grupos: grupo treinamento (GT) (n=13) e grupo controle (GC) (n=8) (TABELA 1).

TABELA 1. Características da amostra em cada grupo experimental.

Grupo	n	Idade (anos)	Massa Corporal (kg)	Estatura (m)	VO ₂ MAX (mL.kg ⁻¹ .min ⁻¹)
CONTROLE	8	25,1±0,9	70,1±3,5	1,79±0,02	45,2±1,5
TREINAMENTO	13	22,5±0,7	72,9±1,9	1,76±0,02	44,9±1,3

Valores apresentados como média ± erro padrão da média.

Os seguintes critérios foram utilizados para a inclusão dos indivíduos no estudo:

- Sexo masculino com idade entre 18 e 30 anos;
- Não realizar nenhum tipo de treinamento aeróbio (exercício físico aeróbio sistematizado);
 - Atividades aeróbias esporádicas foram permitidas (1 x semana);
 - Não foi restringida a prática de musculação para aqueles indivíduos que já praticavam essa modalidade, sendo orientados a não alterar a carga de treinamento, principalmente para os membros inferiores;
- Não apresentar nenhuma alteração metabólica ou de saúde que pudesse limitar a prática de exercícios ou interferir em alguma variável do estudo.

5.3. Delineamento experimental

Os voluntários realizaram avaliações antes e após o período de tratamento (FIGURA 11). Todos os testes físicos e o treinamento aeróbio foram executados em cicloergômetro de frenagem mecânica (Monark Ergomedic E-824E) previamente ajustado e calibrado antes de cada situação, de acordo com as especificações do fabricante.

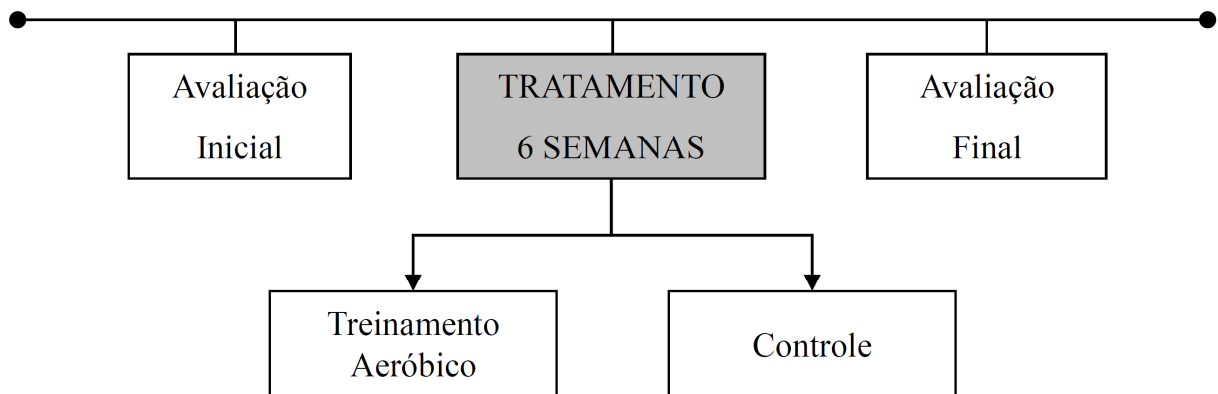


FIGURA 11. Esquema do delineamento experimental.

Optou-se pelo cicloergômetro pela possibilidade de coleta de sangue sem necessidade de interrupção do exercício (coleta de amostras de sangue do lobo da orelha), como também a maior disponibilidade desse ergômetro no laboratório de Fisiologia do Exercício da UFMG.

Todos os testes foram realizados com no mínimo 48h de intervalo, sempre no mesmo horário do dia (± 1 h), para evitar influências decorrentes do ritmo circadiano, em uma sala com temperatura controlada por um ar condicionado e aquecedor entre 21–24°C e 50–70% de umidade relativa do ar (URA) (ambiente temperado) e o exercício físico até a fadiga foi realizado com no mínimo 72h de intervalo. A vestimenta foi padronizada para todas as situações experimentais: tênis, meias e bermuda de ciclismo. A fadiga foi considerada como uma incapacidade do indivíduo manter a cadência/potência exigida, ou solicitar a interrupção do exercício, em todos os testes.

Os voluntários foram instruídos a não ingerir bebida alcoólica ou bebida contendo cafeína e nem realizar exercício físico vigoroso 24h antes dos experimentos. Também foi requisitado a ingestão de 500mL de água duas horas antes dos experimentos para garantir que iniciariam os testes euidratados (ACSM, 1996).

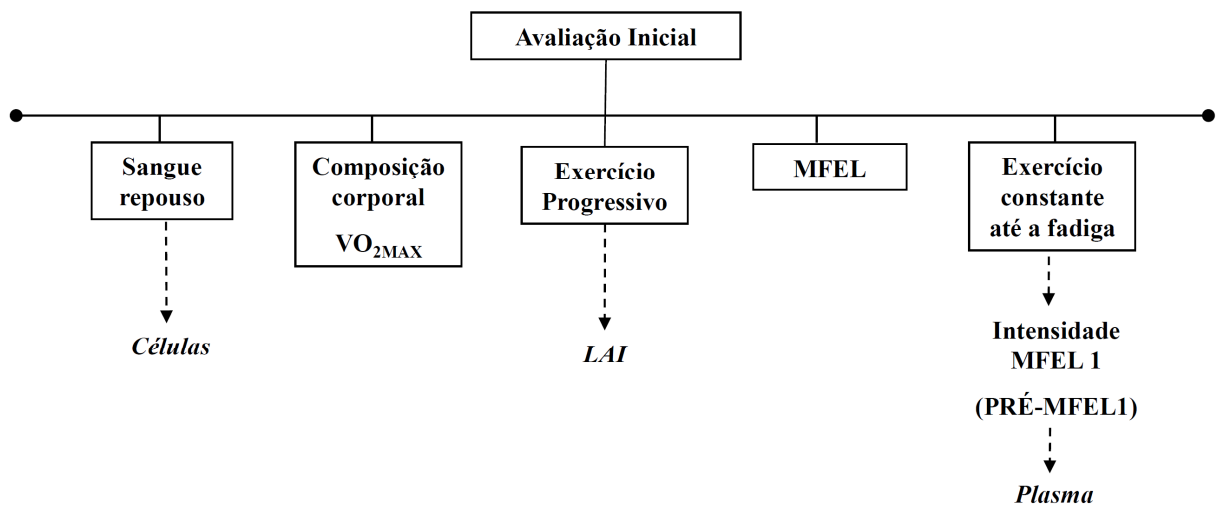


FIGURA 12. Esquema dos testes realizados na avaliação inicial.

A avaliação inicial consistiu na coleta de sangue para análise de células, avaliação da composição corporal, do consumo máximo de oxigênio (VO_{2MAX}), além da identificação do limiar anaeróbico individual (LAI) durante um exercício progressivo e da determinação da máxima fase estável de lactato. A intensidade de exercício identificada no LAI foi utilizada como intensidade inicial nos testes para identificar a máxima fase estável de lactato (MFEL). Após a determinação da intensidade correspondente a MFEL (MFEL1), foi realizado um

exercício físico constante até a fadiga nessa intensidade (PRÉ-MFEL1), no qual foram coletadas amostras sanguíneas para análises das citocinas, quimiocinas, adipocinas e do BDNF. A concentração desses mediadores foi avaliada, apenas, no grupo treinamento (FIGURA 12).

5.3.1. Período de tratamento e avaliação final

Após a realização do exercício físico até a fadiga foi iniciado o tratamento de seis semanas que consistiu de um período de treinamento aeróbio ou controle.

O protocolo de treinamento aeróbio utilizado foi adaptado de Philp *et al.* (2008) e consistiu de três sessões de exercício contínuo por semana, na intensidade da MFEL, durante seis semanas. O aumento da carga de treinamento se deu, apenas pelo aumento do tempo de cada sessão de treinamento ao longo das seis semanas, sem alteração da intensidade absoluta de exercício (TABELA 2).

TABELA 2. Descrição do programa de treinamento.

Semana	Frequência (semanal)	Duração (min)
1	3	24
2	3	27
3	3	30
4	3	33
5	3	36
6	3	39

Para garantir a resposta do treinamento aeróbio, isso é, o aumento do VO_{2MAX} e da intensidade de exercício associada à MFEL, foi utilizado uma duração total dos estímulos de treinamento maior do que aquela utilizado por Philp *et al.*, (2008) (567 vs. 456min; respectivamente).

Todos os participantes do grupo treinamento foram instruídos a realizar o treinamento em dias alternados no laboratório. Entretanto, foi permitido realizar duas sessões de treinamento em dias consecutivos. Na eventualidade de falta ao treinamento, aquela sessão foi reposta no próximo dia de visita ao laboratório, sendo que nenhum voluntário realizou menos de duas sessões de treinamento em uma mesma semana.

As sessões de treinamento foram realizadas no mesmo cicloergômetro utilizado nos demais testes. Durante todas as sessões a intensidade do exercício, frequência cardíaca (FC), percepção subjetiva do esforço (PSE) e condições ambientais foram registradas.

Após o tratamento foi realizado a avaliação final (ou reavaliação), na qual foram realizados a coleta sanguínea e todos os testes da avaliação inicial. Entretanto, não foi realizado o exercício progressivo para a determinação do LAI, visto que, a intensidade da MFEL antes do tratamento foi utilizada como referência como intensidade inicial. Após a determinação da MFEL do pós-tratamento (MFEL 2) foi realizado um exercício físico até a fadiga (PÓS-MFEL 2). Depois de 72h desse teste, foi realizado um exercício físico constante com a mesma intensidade absoluta e duração (PÓS-MFEL 1) daquele realizado no teste até a fadiga antes do tratamento (PRÉ-MFEL 1), para verificar possíveis alterações nas variáveis analisadas, naquela intensidade após o tratamento. As concentrações de citocinas, adipocinas e BDNF foram avaliadas, apenas, no grupo treinamento (FIGURA 13).

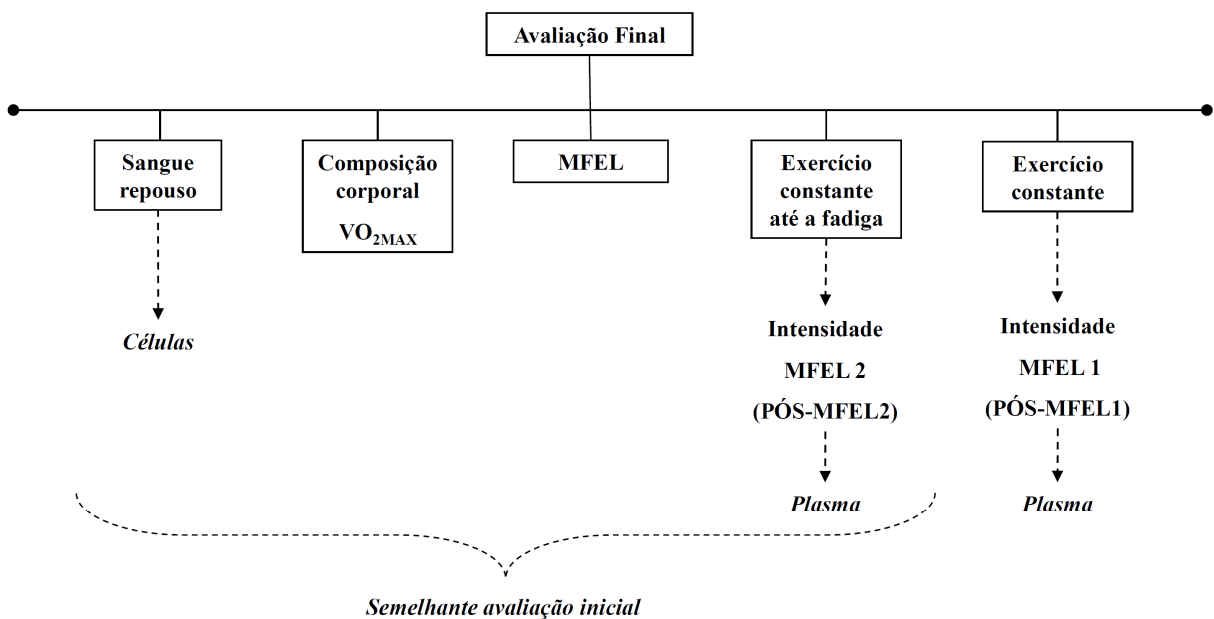


FIGURA 13. Esquema com todos os testes realizados na avaliação final.

5.4. Procedimentos realizados antes e após todos os testes

Assim que o voluntário chegava ao laboratório, era verificado se as instruções pré-coleta foram seguidas. Em caso afirmativo, ele era encaminhado ao vestiário para trocar de roupa, coletar a urina para verificar estado de hidratação e medir a massa corporal. Todos voluntários utilizaram uma bermuda (ou short), meias e tênis durante as situações experimentais.

Em seguida eram colocados: transmissor do cardiofrequencímetro na região do tórax, espirômetro e um catéter em uma das veias da região do antebraço (no exercício físico até a fadiga). O voluntário permanecia, então, sentado durante aproximadamente 10min para a realização da primeira colheita de sangue e para a obtenção dos dados de repouso das variáveis fisiológicas estudadas. A temperatura ambiente foi mantida entre 21 e 24°C e 50 e 70% de URA (ambiente temperado).

Logo após esse período preparatório, o voluntário se posicionava no cicloergômetro, enquanto os pesquisadores informavam como deveria ser realizado o exercício e quais as condições para interrompê-lo. Foi dado incentivo verbal em todos os testes.

Após o término do exercício, o voluntário era novamente pesado (após ser secado o suor em sua pele) e outra amostra de urina era coletada para verificar seu estado de hidratação.

Durante todos os testes foi permitido aos voluntários ingerir água *ad libitum*. Foi fornecida água em temperatura ambiente em uma garrafa de 500mL, que era pesada antes e após sua ingestão em uma balança digital (Filizola®), com precisão de 0,02kg, para registro da massa de água ingerida pelo voluntário.

Os seguintes critérios foram considerados para a interrupção de todos os testes:

- O indivíduo solicitar o término do exercício;
- O indivíduo dar nota igual a 20 na escala de percepção subjetiva do esforço;
- A frequência cardíaca não se elevar mesmo aumentando a intensidade de exercício (exercício progressivo);
- Os pesquisadores notarem a presença de sintomas como tontura, confusão, falta de coordenação dos movimentos, palidez, cianose, náusea, pele fria e úmida.

5.5. Situações experimentais das avaliações inicial e final

5.5.1. Avaliação da composição corporal

Na avaliação da composição corporal, foram medidas a massa corporal, a estatura e as dobras cutâneas. A massa corporal (kg) foi medida com os voluntários descalços e vestindo apenas um short, utilizando-se uma balança digital (Filizola[®]) com precisão de 0,02kg. A estatura (cm) foi medida em um estadiômetro com precisão de 0,5cm. As dobras cutâneas subescapular, tríceps, peitoral, subaxilar, suprailíaca, abdominal e coxa foram medidas com um plicômetro (Lange[®]), graduado em milímetros, de acordo com o protocolo proposto por Jackson & Pollock (1978). A avaliação das dobras cutâneas, antes e após o tratamento, foi realizada pelo mesmo pesquisador.

5.5.2. Mensuração do VO_{2MAX}

O VO_{2MAX} foi mensurado (espirometria de circuito aberto) durante a realização de um exercício físico progressivo (ACSM, 1996) utilizando um analisador de gases (K4b²; Cosmed[®]), previamente calibrado. O exercício físico progressivo (P_{ACSM}) iniciou a uma intensidade de 50W e teve acréscimos de 25W a cada 2min, até a fadiga, com uma cadência de 50 rotações por minuto (rpm).

Todas as variáveis respiratórias foram avaliadas continuamente ao longo do teste e analisadas a cada 30s. A frequência cardíaca foi anotada a cada minuto e no momento da fadiga. Além disso, a percepção subjetiva de esforço foi avaliada ao final de cada estágio através de uma tabela de 15 pontos, sendo 6 o mais fácil e 20 o mais difícil (Borg, 1982).

O VO₂ do último minuto de exercício (consumo de oxigênio pico) foi considerado como o VO_{2MAX}. A potência máxima (POT_{MAX}) foi calculada de acordo com a equação proposta por Kuipers *et al.* (1985):

$$POT_{MAX} = W1 + (W2 \cdot t / 120)$$

Em que, W_1 é a potência correspondente ao último estágio completo, W_2 é a potência correspondente ao incremento de carga de cada estágio e t é o tempo em segundos de duração do estágio incompleto.

5.5.3. Identificação do limiar anaeróbio individual

A intensidade identificada pelo método LAI foi utilizada como intensidade inicial para a primeira tentativa de determinação da MFEL. Foi realizado um exercício progressivo ($PROG_{LAI}$) com intensidade inicial de 60W e incrementos de 15W a cada 3min até a fadiga a uma cadência de 60rpm (DeBarros, 2007).

Foram coletadas amostras de 30 μ L de sangue do lobo da orelha antes do início do exercício, nos 15s finais de cada estágio, no momento da fadiga e nos minutos 1, 3, 5 e 10 da recuperação, para posterior análise da lactatemia e identificação da intensidade de exercício correspondente ao LAI. A FC foi anotada a cada minuto e no momento da fadiga e a PSE foi registrada ao final de cada estágio.

Esse método consiste em traçar uma curva com a lactatemia correspondente a cada estágio, além dos minutos 1, 3, 5 e 10 de recuperação, em função do tempo de exercício. Deve-se traçar uma reta paralela ao eixo das abscissas a partir da concentração de lactato do último estágio em direção à curva de recuperação. A partir do ponto de intersecção entre essa reta e a curva de recuperação da lactatemia, traçar uma nova reta, tangente à curva da lactatemia do exercício. O LAI foi considerado como o ponto de intersecção entre essa última reta e a curva da lactatemia (ver FIGURA 10, p.52).

5.5.4. Determinação da MFEL

A MFEL foi identificada através da realização de exercícios submáximos de intensidade constante com duração de 30min e cadência de 60rpm. A primeira intensidade de exercício escolhida na avaliação inicial foi àquela correspondente ao LAI, identificada durante a realização do $PROG_{LAI}$. Na reavaliação, a intensidade da MFEL antes do tratamento foi utilizada como referência para intensidade inicial.

Se durante o primeiro teste um estado estável ou uma diminuição da lactatemia fosse observada, a intensidade dos testes subsequentes era aumentada até que o estado estável de

lactato não pudesse mais ser observado. Caso a lactatemia durante a realização do primeiro teste não apresentasse um estado estável e/ou ocorresse a fadiga do voluntário antes do término do teste, as intensidades subsequentes eram diminuídas. A precisão dos ajustes de intensidades foi de 15W.

Foram coletadas amostras de 30 μ L de sangue do lobo da orelha antes do início do exercício, a cada 5min e no momento da fadiga (caso ocorresse) para posterior análise da lactatemia. A MFEL foi considerada como a mais alta intensidade de exercício na qual a lactatemia não apresentasse aumento superior a 1mM durante os 20min finais de exercício (Heck *et al.*, 1985; Beneke, 2003; Billat *et al.*, 2003; Denadai *et al.*, 2004).

A FC foi anotada a cada minuto e a PSE avaliada a cada 5min. A lactatemia assim como a FC na MFEL foram consideradas a média do décimo ao trigésimo minuto de exercício.

5.5.5. Exercícios físicos realizados na intensidade da MFEL até a fadiga

Os indivíduos realizaram, antes e após o tratamento, um exercício físico até a fadiga na intensidade identificada na MFEL (PRÉ-MFEL1 e PÓS-MFEL2). No término da avaliação final, foi realizado um exercício constante com a mesma intensidade absoluta e duração daquele realizado no teste até a fadiga antes do tratamento (PÓS- MFEL1).

Durante esses testes, foi realizada uma punção venosa para permitir a coleta de sangue durante o exercício para a medida das variáveis sanguíneas. Foram retiradas amostras de sangue antes do início do exercício (Pré), nos minutos 10 e 30 durante o exercício, no momento do término do exercício (Pós) e 10, 30 e 60min durante o período de recuperação. No grupo treinamento, nesses tempos foram avaliados as citocinas, quimiocinas, adipocinas, fator neurotrófico e lactato. Nos minutos 10 e 30 foi analisado, apenas, o lactato plasmático.

Também foram coletadas amostras de 30 μ L de sangue do lobo da orelha antes do início do exercício, a cada 10min e no momento da fadiga para posterior análise da lactatemia sanguínea. As variáveis respiratórias e a frequência cardíaca foram avaliadas continuamente e a percepção subjetiva do esforço a cada 5min.

No início do teste foram acionados dois cronômetros para a medida do tempo total de exercício, os quais foram parados no momento da fadiga do voluntário. Não foi permitido ao mesmo saber seu tempo de exercício durante o teste. Apenas ao final do estudo o voluntário teve acesso aos resultados obtidos durante o experimento.

5.5.5.1. Punção venosa e coleta de amostras de sangue

A punção venosa foi realizada com o objetivo de cateterizar uma veia da região do antebraço do voluntário para a obtenção de amostras de sangue venoso. Todos os procedimentos foram baseados nas recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML, 2005).

Para a punção, utilizou-se um catéter Angiocath[®] (BD – Becton Dickinson, 22G, EUA). Após o procedimento de punção, foi conectado um extensor de equipo com prime reduzido e 20cm de comprimento (EqFlex, Brasil) ao catéter, e as amostras de sangue foram coletadas através de um adaptador luer para coletas múltiplas de sangue a vácuo (Venoject MN2000T, Terumo Corporation, Japão). O catéter foi fixado com uma fita adesiva estéril (OpSite[®] Flexigrid, Smith and Nephew Medical Ltda, Inglaterra) e fitas hipoalergênicas (Transpore[®], 3M do Brasil Ltda., Brasil).

Com o objetivo de manter o acesso venoso e impedir a coagulação de sangue no catéter, injetou-se 1mL de solução de heparina sódica a 6% após cada coleta de sangue e/ou a cada 15min (tempo determinado em estudo piloto). A solução de heparina foi preparada adicionando-se 0,6mL de heparina (5000UI/mL) a 9,4mL de água destilada para injeção (estéril).

As coletas de sangue foram realizadas utilizando-se tubos a vácuo de 4mL contendo anticoagulante (EDTA – ácido etilenodiamino tetra-acético) para a análise das citocinas, quimiocinas, adipocinas e fator neurotrófico e outro contendo um antiglicolítico (fluoreto de sódio – inibidor da enzima enolase na via glicolítica) para avaliação do lactato (Vacuette[®], Greiner Bio-One Brasil, Brasil). Antes de cada coleta de sangue, um tubo a vácuo de 3mL (EDTA, BDVacuette[®], Greiner Bio-One Brasil, Brasil) foi inserido no catéter para descarte da solução de heparina e o volume de sangue adjacente ao catéter, que estava contaminado com a solução de heparina. Evitou-se, assim, uma possível interferência da solução de heparina sobre os resultados das dosagens realizadas posteriormente.

Durante o exercício, o acesso venoso era verificado constantemente, na tentativa de evitar complicações como flebite, dor e hematomas.

As amostras de sangue foram coletadas nos seguintes momentos: imediatamente antes do início do exercício (Pré) (aproximadamente 15min após o procedimento de punção), nos minutos 10 e 30 de exercício, no momento do término do exercício (Pós) e 10, 30 e 60min durante o período de recuperação.

5.5.5.2. *Processamento do sangue*

Após a coleta da amostra de sangue 500 μ L de sangue total foram utilizados para a dosagem de hemoglobina e análise do hematócrito e em seguida o tubo era centrifugado por 10min a 3400rpm e 4°C (Sigma Laborzentrifugen 2k15, Alemanha) para obtenção do plasma. Na sequência, o plasma foi separado em alíquotas, que foram imediatamente armazenadas no freezer a -20°C, para posterior determinação da concentração de citocinas, adipocinas, BDNF e lactato.

5.6. Variáveis mensuradas durante todos os testes

Intensidade de exercício físico: A intensidade de exercício corresponde à potência desenvolvida no cicloergômetro em todos os testes realizados.

Frequência cardíaca: A FC, em batimentos por minuto (bpm), foi mensurada continuamente e registrada a cada minuto durante todas as situações experimentais, utilizando um monitor cardíaco (Team System, Polar[®]). A frequência cardíaca máxima (FC_{MAX}) foi considerada como a maior FC identificada durante o P_{ACSM}.

Percepção subjetiva do esforço: A PSE foi avaliada no final de cada estágio do P_{ACSM} e PROG_{LAI} e a cada cinco minutos durante os testes para identificar a MFEL e no exercício até a fadiga, utilizando uma escala de 15 pontos, sendo 6 o mais fácil e 20 o mais difícil (Borg, 1982).

Tempo total de exercício físico: O tempo total de exercício corresponde ao tempo que o voluntário permaneceu em cada teste. Um cronômetro foi acionado no início e no final do exercício, obtendo-se assim esse tempo.

Variáveis respiratórias: O VO₂, produção de dióxido de carbono (VCO₂), ventilação minuto (VE) foram medidos continuamente através de um espirômetro (K4b²; Cosmed[®]), respiração-a-respiração (breath-by-breath), calibrado antes do início de cada teste. Durante o teste até a fadiga, foram registrados os momentos que ocorreram à ingestão de água (ingestão *ad*

libitum), os quais foram descartados da análise. Além disso, os voluntários não realizaram ingestão de água durante os momentos de coleta das variáveis sanguíneas. Todos os dados foram analisados em intervalos de 30s.

Densidade urinária: A densidade urinária foi medida antes e após a realização de todos os testes para verificar o estado de hidratação dos voluntários (Armstrong, 2000). Para essa medida, os voluntários foram orientados a coletar a urina em recipiente descartável e essa foi medida por um refratômetro (Uridens[®], Brasil) devidamente calibrado.

Condições ambientais: A temperatura ambiente e URA foram monitoradas durante todas as situações experimentais por um psicrômetro (Alla France, França) e mantidas entre 20 e 24°C e de 50 a 70% URA.

5.7. Variáveis relacionadas às coletas sanguíneas – punção venosa

Variação percentual do volume plasmático (% Δ VP): foi calculada pelos procedimentos descritos por Dill & Costill (1974), utilizando-se as análises da hemoglobina e hematócrito. O hematócrito foi medido, em triplicata, através do método micro hematócrito: três capilares foram preenchidos com sangue (3/4 do capilar), um dos lados foi vedado com uma massa para tal finalidade e em seguida esses foram centrifugados em uma micro-centrífuga (Sigma 1-15) a 12.000rpm por 5min. O percentual de volume plasmático foi então avaliado em porcentagem através de uma tabela específica de micro hematócrito. A concentração de hemoglobina foi determinada, em triplicata, através de um método enzimático colorimétrico utilizando um kit para dosagem de hemoglobina (Hemoglobina, Labtest, Brasil). Para leitura da absorbância das amostras foi utilizado um espectofotômetro (Celm E210D) ajustado para um comprimento de onda de 540nm.

Lactatemia: amostras de sangue (30 μ L) foram coletadas do lobo da orelha dos voluntários e armazenadas em tubos contendo 60 μ L de fluoreto de sódio (NaF) a 1% durante a realização dos seguintes testes: progressivos (LAI e VO_{2MAX}) e testes para identificar a MFEL (para avaliação do lactato sanguíneo). E nos exercícios: PRÉ-MFEL e PÓS-MFEL foram coletadas amostras em tubos a vácuo contendo antiglicolítico (para análise do lactato plasmático). As

concentrações sanguíneas e plasmáticas de lactato foram determinadas por método eletroenzimático (YSL 1500 SPORT, Yellow Springs, OH, EUA).

Citocinas, adipocinas e BDNF (apenas no grupo treinamento): As concentrações plasmáticas de citocinas, adipocinas e do BDNF foram mensuradas usando a técnica de ELISA sanduíche (*enzyme-linked immunosorbent assay*, DuoSet, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). A cada poço foram adicionados 100µL de anticorpo monoclonal (de captura) contra TNF- α , sTNFR1, sTNFR2, leptina, resistina, adiponectina e BDNF (R&D Systems) diluídos em PBS 1X contendo 0,1% de albumina sérica bovina – BSA (SIGMA) sendo essas placas incubadas por 12h a 4°C. Os anticorpos não absorvidos pelas placas foram descartados, por inversão e sucessivas lavagens com tampão de lavagem (Tween 0,1% em PBS 1X). As placas foram, então, incubadas com 200µL / poço do tampão de bloqueio, contendo PBS 1X - BSA 1%, durante duas horas em temperatura ambiente. Em seguida, as placas foram novamente lavadas com tampão de lavagem.

As amostras e os padrões foram diluídos (em diluente de amostras: BSA 0,1% em PBS 1X) e aplicou-se 100µL para cada poço. Foi efetuada a incubação da placa por 12h a 4°C. Os anticorpos secundários (de detecção), após a lavagem dos poços, foram diluídos em PBS 1X–BSA 0,1% e acrescentados às placas (100µL / poço). As placas foram incubadas por duas horas em temperatura ambiente. Posteriormente, as placas foram lavadas com o tampão de lavagem. Finalmente, 100µL de estreptavidina ligada a peroxidase diluída em PBS 1X – BSA 0,1% foram adicionadas às placas e as mesmas foram mantidas em temperatura ambiente por 30min. As placas foram lavadas novamente com o tampão de lavagem.

Em seguida, foram adicionadas às placas 100µL / poço da solução reveladora [o cromógeno utilizado foi o OPD (0-phenylenediamine – SIGMA)] na diluição de 4mg para 10mL de tampão citrato. No momento da aplicação dessa solução nos poços, foram adicionados 2µL /placa de H₂O₂ 30 volumes como substrato da peroxidase. Após 20min de incubação na ausência de luz e em temperatura ambiente, a reação foi interrompida pela adição de 50µL de solução “stop” (H₂SO₄ 1M) por poço. A leitura da intensidade de marcação foi realizada em leitor de ELISA utilizando-se o comprimento de onda de 490nm (SOFTmaxPro – versão 2.2.1).

Para a determinação das concentrações de IL-6, IL1- β e IL-10 foram usados kits de alta sensibilidade (Quantikine®HS: *High Sensitivity ELISAs*, R&D Systems, Minneapolis,

MN, USA). Esse ensaio, também, emprega a técnica de ELISA sanduíche (*enzyme-linked immunosorbent assay*).

- IL-6: O anticorpo monoclonal foi pré-revestido em uma microplaca. A cada poço foram adicionados 100µL de solução diluente dos anticorpos. Depois foram adicionados 100µL dos padrões e das amostras em cada poço e então, a placa foi incubada por duas horas em temperatura ambiente. Posteriormente, a placa foi lavada por seis vezes. Foram adicionados 200µL da solução contendo o anticorpo policlonal (acoplado a uma enzima) em cada poço e incubou-se a placa por duas horas em temperatura ambiente. Lavou-se, novamente, a placa por seis vezes. Adicionou-se 50µL de solução substrato contendo NADPH em cada poço e a placa foi incubada por 60min em temperatura ambiente. Após, foram adicionados 50µL de solução amplificadora e a placa foi incubada por mais 30min em temperatura ambiente (a cor se desenvolveu em proporção a quantidade de IL-6 ligada na etapa inicial). Finalmente, a reação foi interrompida pela adição de 50µL da solução “stop” (H₂SO₄ 2N) e a intensidade da cor foi medida a 490nm em leitor de ELISA (SOFTmaxPro – versão 2.2.1).
- IL-1β: O anticorpo monoclonal foi pré-revestido em uma microplaca. A cada poço foram adicionados 100µL de solução diluente dos anticorpos. Depois foram adicionados 150µL dos padrões e das amostras em cada poço e então, a placa foi incubada por três horas em temperatura ambiente. Posteriormente, a placa foi lavada por seis vezes. Foram adicionados 200µL da solução contendo o anticorpo policlonal (acoplado a uma enzima) em cada poço e incubou-se a placa por duas horas em temperatura ambiente. Lavou-se, novamente, a placa por seis vezes. Adicionou-se 50µL de solução substrato contendo NADPH em cada poço e incubada por 60min em temperatura ambiente. Após, foram adicionados 50µL de solução amplificadora e a placa foi incubada por mais 30min em temperatura ambiente. Finalmente, a reação foi interrompida pela adição de 50µL da solução “stop” (H₂SO₄ 2N) e a intensidade da cor foi medida a 490nm em leitor de ELISA (SOFTmaxPro – versão 2.2.1).
- IL-10: O anticorpo monoclonal foi pré-revestido em uma microplaca. A cada poço foram adicionados 100µL de solução diluente dos anticorpos. Depois foram adicionados 200µL dos padrões e das amostras em cada poço e então, a placa foi

incubada por duas horas em temperatura ambiente. Posteriormente, a placa foi lavada por seis vezes. Foram adicionados 200µL da solução contendo o anticorpo policlonal (acoplado a uma enzima) em cada poço e incubou-se a placa por duas horas em temperatura ambiente. Lavou-se, novamente, a placa por seis vezes. Adicionou-se 50µL de solução substrato contendo NADPH em cada poço e a placa foi incubada por 60min em temperatura ambiente. Após, foram adicionados 50µL de solução amplificadora e a placa foi incubada por mais 60min em temperatura ambiente. Finalmente, a reação foi interrompida pela adição de 50µL da solução “stop” (H₂SO₄ 2N) e a intensidade da cor foi medida a 490nm em leitor de ELISA (SOFTmaxPro – versão 2.2.1).

Quimiocinas (apenas no grupo treinamento): Para as análises, as amostras de plasma foram descongeladas e o excesso de proteínas foi removido pela precipitação ácido / sal (Alessandri *et al.*, 2006 ; Sousa *et al.*, 2008). Resumidamente, volumes semelhantes de soro e 1,2% de ácido trifluoracético / 1,35M NaCl foram homogeneizados e deixados em temperatura ambiente por 10min. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas durante 5min a 10.000rpm. Os sobrenadantes foram utilizados para a determinação das concentrações das quimiocinas.

As concentrações plasmáticas das quimiocinas foram mensuradas usando a técnica de ELISA sanduíche (*enzyme-linked immunosorbent assay*, DuoSet, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). A cada poço foram adicionados 100µL de anticorpo monoclonal (de captura) contra CXCL10/IP-10, CCL2/MCP-1 e CXCL8/IL-8 (R&D Systems) diluídos em PBS 1X contendo 0,1% de albumina de soro bovino – BSA (SIGMA) sendo essas placas incubadas por 12h a 4°C. Os anticorpos não absorvidos pelas placas foram descartados, por inversão e sucessivas lavagens com tampão de lavagem (*Tween* 0,1% em PBS 1X). As placas foram, então, incubadas com 200µL / poço do tampão de bloqueio, contendo PBS 1X - BSA 1% durante duas horas em temperatura ambiente. A seguir, as placas foram novamente lavadas com tampão de lavagem.

As amostras e os padrões foram diluídos (em diluente de amostras: BSA 0,1% em PBS 1X) e aplicados em um volume de 100µL para cada poço. Foi efetuada a incubação da placa por 12h a 4°C. Os anticorpos secundários (de detecção), após a lavagem dos poços, foram diluídos em PBS 1X – BSA 0,1% e acrescentados às placas (100µL / poço). As placas foram incubadas por duas horas em temperatura ambiente. Posteriormente, as placas foram lavadas

com o tampão de lavagem. Finalmente, 100µL de estreptavidina ligada a peroxidase diluída em PBS 1X – BSA 0,1% foram adicionadas a cada poço das placas e as mesmas foram mantidas em temperatura ambiente por 30min. As placas foram lavadas novamente com o tampão de lavagem.

Em seguida, foram adicionadas às placas 100µL / poço do substrato [o cromógeno utilizado foi o OPD (0-phenylenediamine – SIGMA)] na diluição de 4mg para 10mL de tampão citrato. No momento da aplicação dessa solução nos poços, foram adicionados 2µL /placa de H₂O₂ 30 volumes como catalisador da reação. Após 20min de incubação em ausência de luz e em temperatura ambiente, a reação foi interrompida pela adição de 50µL de solução “stop” (H₂SO₄ 1M) por poço. A leitura da intensidade de marcação foi realizada em leitor de ELISA utilizando-se o comprimento de onda de 490nm (SOFTmaxPro – versão 2.2.1).

Células - Coleta do sangue e obtenção do PBMC: Antes e depois do período de tratamento, as células foram obtidas a partir do sangue periférico dos voluntários. Para tanto, 10mL do sangue venoso periférico foram recolhidos em tubos Vacutainer® contendo heparina sódica e centrifugados sobre gradiente de Ficoll (Ficoll- Paque™Plus, GE Healthcare Bio- Science AB). O anel de células mononucleares do sangue periférico (PBMC) formado foi recolhido e as células foram contadas em câmara de Neubauer® utilizando o corante intravital azul de Tripan.

- Congelamento e descongelamento de PBMC:

O procedimento de congelamento das células foi realizado dentro do fluxo laminar. Após a separação pelo gradiente de Ficoll, as células (já contadas) foram centrifugadas a 1200rpm por 10min a 4°C. Após centrifugação, as células foram ressuspensas em volume de solução A (meio RPMI + 10% soro humano inativado) com a concentração final de 1.10⁷/mL. Depois foram colocados 500µL das células em solução A em tubos de criopreservação e acrescentou-se lentamente 500µL de solução B (meio RPMI + 10% soro humano inativado + 10% DMSO - dimetilsulfóxido). Os tubos foram armazenados a -70°C.

O processo de descongelamento consistiu na retirada dos tubos de criopreservação, contendo as células, do freezer -70°C e em seguida, o criotubo foi descongelado em banho-maria a 37°C, e o volume do criotubo foi transferido para um tubo falcon contendo 40mL do meio RPMI gelado e esse foi centrifugado a 1200rpm por 10min, a 4°C. Após centrifugação, o meio RPMI foi vertido e o sedimento ressuspensado, repetindo a lavagem das células com 40mL do meio RPMI gelado e novamente, centrifugado a 1200rpm por 10min, a 4°C. Depois

da última centrifugação o meio RPMI foi vertido e o sedimento formado foi ressuspensionado em 500µL de PBS 1X.

Estudos fenotípicos por citometria de fluxo (FACS):

Os anticorpos monoclonais de superfície conjugados com isotiocianato de fluoresceína (FITC), ficoeritrina (PE), ou *cychrome* (Cy): anti-CD3, anti-CD4, anti-CD8, anti-CD14, anti-CD25, anti-CD56 e anti-CD69 foram diluídos em solução: 50% de *Wash B* (PBS 1X, 0.5% de BSA, 2mM de azida) + 50% de PBS 1X. Então, 20µL/poço dos anticorpos foram colocados em placa de fundo em “U” de 96 poços, de acordo com o desenho experimental. Em seguida, as células foram adicionadas aos poços nas concentrações de 5×10^5 (50µL) e de 1×10^6 (100µL), para as marcações de superfície e intracelulares, respectivamente.

Marcação das células: Depois de adicionados os anticorpos de superfície, a placa foi incubada por 30min a 4°C. Após esse período, foram adicionados 150µL de PBS 1X gelado em cada poço e, então, a placa foi centrifugada por 8min, a 1300rpm a 4°C. As células foram ressuspensionadas em 100µL de PBS 1X e foram adicionados 100µL de formaldeído 4% em cada poço e a placa foi incubada por 20min em temperatura ambiente. Para os poços apenas com marcadores de superfície (anti-CD3, anti-CD4, anti-CD8 e anti-CD69) as células foram transferidas para os tubos FACS. Depois da incubação, a placa contendo os poços com células para marcação intracelular foi centrifugada por 8min, a 1300rpm, a 4°C. Posteriormente, foram adicionados 150µL de *Wash B*, e então, centrifugou-se a placa por 8min, a 1300rpm, a 4°C. As células foram ressuspensionadas em 150µL de *Permeabilization Buffer* (*Wash B* + 0.5% de saponina - SIGMA) em cada poço e deixada em temperatura ambiente por 10min, e então, centrifugada por 8min, a 1300rpm, a 4°C. Posteriormente, foram adicionados 20µL dos anticorpos anti-citocinas: IFN- γ , IL-6 e IL-10 (inclusive o controle negativo IgG1-PE) diluídos em *Permeabilization Buffer* em cada poço e incubados por 30 a 45min em temperatura ambiente. Depois, foram acrescentados 150µL de *Permeabilization Buffer*, centrifugou-se 8min, a 1300rpm, 4°C. Novamente, foram adicionados 150µL de *Permeabilization Buffer* em cada poço e centrifugada por 8min, a 1300rpm, 4°C. Por último, as células foram ressuspensionadas com 200µL de *Wash B* e transferidas para os tubos FACS. As amostras foram mantidas a 4°C até a aquisição em citômetro de fluxo (FACScan – BECTON DICKINSON, USA). O anticorpo anti-FOXP3 foi marcado seguindo o protocolo de marcação intracelular (descrito acima), uma vez que é um fator de transcrição celular.

A viabilidade celular e pureza das subpopulações obtidas foram confirmadas por citometria de fluxo. Foi realizada a avaliação do perfil celular da amostra, com relação ao tamanho e a granulosidade das células. Para a aquisição, armazenamento e análise dos dados

referentes à resposta celular foi empregado um citômetro de fluxo (FACScan, Becton Dickinson, USA), equipado com sistema de computador contendo o software CellQuest®. As populações de linfócitos foram selecionadas em gráficos de tamanho versus granulosidade. A identificação da população celular de interesse foi confirmada através dos gráficos de intensidades de fluorescências. A sequência de procedimentos adotados para a análise dos dados obtidos por citometria de fluxo está representada na FIGURA 14. Inicialmente, seleciona-se a população de interesse, no caso deste estudo, os linfócitos e os monócitos. Gráfico *dot plot* de FSC e SSC foram construídos e os linfócitos e os monócitos identificados foram selecionados em regiões R1a (linfócitos) e R1b (monócitos). A partir dessa seleção, foi analisada a intensidade de fluorescência dos marcadores de interesse ligados aos anticorpos conjugados. Gráficos de distribuição puntual de fluorescência e seleção da região de interesse - R2 foram construídos. A intensidade dos fluorocromos foi medida a partir dos diferentes comprimentos de ondas emitidos pela excitação dos mesmos e captados pelos três tipos de canais fotomultiplicadores presentes no citômetro (FL1, FL2 e FL3). A frequência em percentual das células foi confirmada em gráficos de histograma com seleção da região M1.

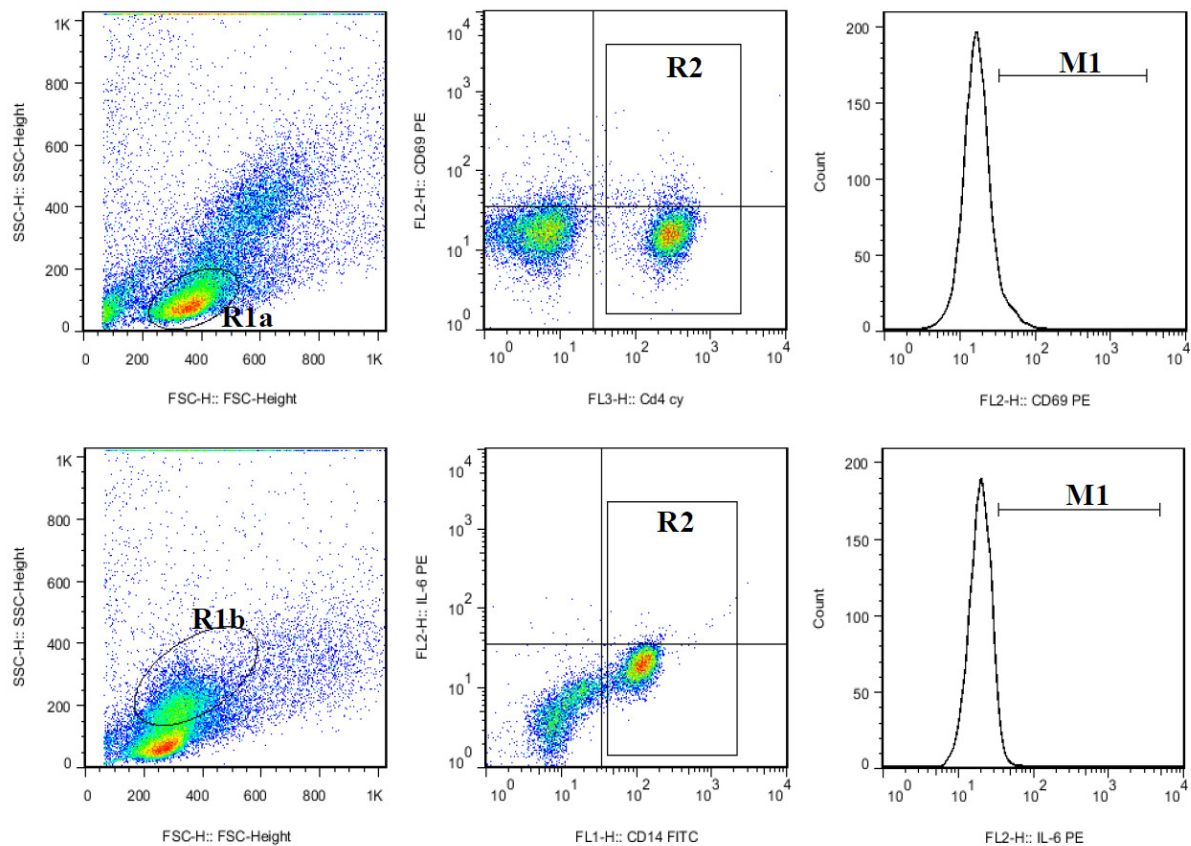


Figura 14. Exemplo de gráficos dot plot e histograma ilustrativos utilizados em uma análise de citometria de fluxo de um voluntário do presente estudo.

5.8. Análise estatística

Inicialmente, foi verificada a normalidade de distribuição dos resultados através do teste de Ryan-Joiner e também a homocedasticidade pelo teste de Levene.

A análise das variáveis antes e após o tratamento foi realizada por meio da análise de variância com dois fatores de variação (ANOVA two way) – tratamento (treinamento/controle) e situação (antes e após o tratamento). Quando necessário o post hoc de Student-Newman-Keuls foi utilizado. A PSE não obteve distribuição normal.

Nos parâmetros avaliados no grupo treinamento, para a análise entre PRÉ-MFEL1, PÓS-MFEL1 e PÓS-MFEL2 foi utilizada a ANOVA one way (fator: situação) com medidas repetidas. As citocinas, quimiocinas, adipocinas e o BDNF não apresentaram distribuição normal. Entretanto, as variáveis IL-6 e BDNF após a transformação logarítmica, obtiveram distribuição normal. Desse modo, a avaliação da IL-6 (log) e do BDNF (log) consistiu na ANOVA two way (fatores: situação e tempo) com medidas repetidas. Quando necessário o post hoc de Student-Newman-Keuls foi utilizado.

A PSE na MFEL antes e após o tratamento foi analisada utilizando os testes não paramétricos de *Wilcoxon* (dados pareados – intra-grupo) e *Mann-Whitney* (dados não pareados – inter-grupos). Na análise da PSE no grupo treinamento nos exercícios PRÉ-MFEL1, PÓS-MFEL1 e PÓS-MFEL2 foi utilizado o teste de *Friedman* (dados pareados - intra-grupo). As citocinas (exceto a IL-6), quimiocinas, adipocinas foram analisados pelo teste de *Friedman* (medidas repetidas – intra-grupo).

Para testar a associação entre as variáveis foi utilizada a correlação de Pearson (paramétrico – log de IL-6 e de BDNF) e a correlação de Spearman (demais citocinas, quimiocinas e adipocinas).

O nível de significância adotado foi $\alpha = 5\%$ ($P < 0,05$).

Os resultados da análise paramétrica foram apresentados como média \pm erro padrão da média, exceto a IL-6 e o BDNF que foram apresentados em mediana. Os parâmetros analisados de modo não-paramétrico foram apresentados em mediana.

Foram utilizados os pacotes estatísticos SigmaStat 3.5 e Statistica 7.0 para análise dos dados.

6. RESULTADOS

6.1. Variáveis de controle

Em todos os exercícios físicos realizados, foi mantido um ambiente temperado com temperatura média de $21,8 \pm 0,02^\circ\text{C}$ e URA de $64 \pm 2\%$ e todos os indivíduos iniciaram os testes euidratados (gravidade específica da urina $\leq 1030 \text{ g.mL}^{-1}$).

Além disso, não foi encontrada diferença significativa no percentual de desidratação dos voluntários entre as situações e os grupos GT ($1,5 \pm 0,2$; $1,6 \pm 0,8$ e $1,7 \pm 0,2\%$; para PRÉ-MFEL1; PÓS-MFEL1 e PÓS-MFEL2, respectivamente) e GC ($1,1 \pm 0,2$ e $1,3 \pm 0,2\%$ para PRÉ-MFEL1 e PÓS) durante os exercícios físicos na intensidade da MFEL.

6.2. Treinamento aeróbio

6.2.1. Período de treinamento

Todos os indivíduos do GT completaram as seis semanas e/ou as 18 sessões de treinamento aeróbio. Devido a algumas faltas e/ou feriados, alguns voluntários completaram as 18 sessões de treinamento em um período maior do que o previsto (entre 6 e 7 semanas). Contudo nenhum voluntário realizou menos de dois treinamentos em uma mesma semana e o tempo médio de treinamento foi de $6,2 \pm 0,1$ semanas.

6.2.2. Treinamento e características da amostra

Antes e após o período de tratamento, não foram encontradas diferenças na massa corporal e percentual de gordura entre os dois grupos (TABELA 3).

TABELA 3. Massa corporal e percentual de gordura (% gordura) dos grupos controle e treinamento antes (PRÉ) e após (PÓS) o período de tratamento.

Grupo	Situação	n	Massa Corporal (kg)	% Gordura
CONTROLE	PRÉ	8	70,1±3,5	14,2±2,2
	PÓS		70,7±3,3	14,0±2,3
TREINAMENTO	PRÉ	13	72,9±1,9	15,1±1,7
	PÓS		72,3±1,7	14,0±1,5

6.2.3. Treinamento e FC, VO_{2MAX} e POT_{MAX}

Os resultados da frequência cardíaca antes e após o período de tratamento estão apresentados na TABELA 4. Em nenhum dos grupos foi observada alteração da frequência cardíaca de repouso (FC_{REP}) e a frequência cardíaca máxima (FC_{MAX}) após o tratamento.

TABELA 4. Frequência cardíaca de repouso (FC_{REP}) e máxima (FC_{MAX}) dos grupos treinamento e controle antes e após o período de tratamento.

Variável	Grupo	PRÉ	PÓS
FC _{REP} (bpm)	CONTROLE	58±3	55±2
	TREINAMENTO	57±3	56±3
FC _{MAX} (bpm)	CONTROLE	185±4	181±5
	TREINAMENTO	187±2	183±2

Após o tratamento, o GT apresentou um aumento significativo de 11,2±2,0% do VO_{2MAX} relativo (FIGURA 15) e de 10,3±2,2% do VO_{2MAX} absoluto, indicando adaptações decorrentes do treinamento aeróbio. Ao final do tratamento, o GT apresentou valores de VO_{2MAX} maiores (P<0,01) do que aqueles observados no GC.

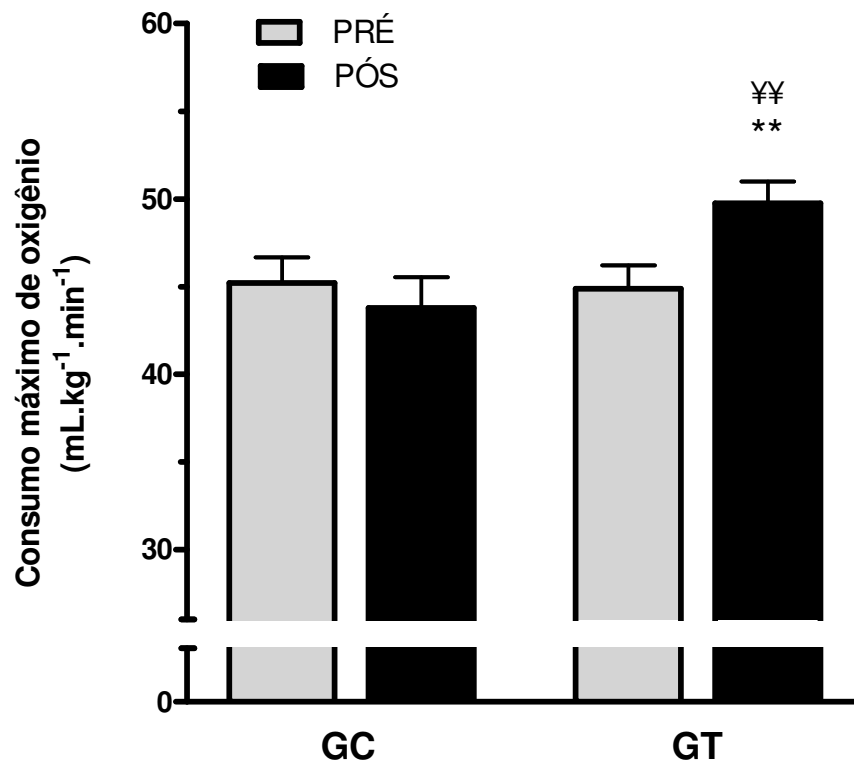


FIGURA 15. Consumo máximo de oxigênio dos grupos controle (GC) e treinamento (GT), antes (PRÉ) e após (PÓS) o período de tratamento.

**P<0,01 para diferença entre PRÉ e PÓS tratamento para o mesmo grupo; ¥¥P<0,01 para diferença entre os grupos.

Após o treinamento aeróbio, o GT teve aumento de $14,7 \pm 2,5\%$ na POT_{MAX} . Ao final do tratamento, o GT apresentou valores de POT_{MAX} maiores ($P<0,01$) do que aqueles observados no GC (FIGURA 16).

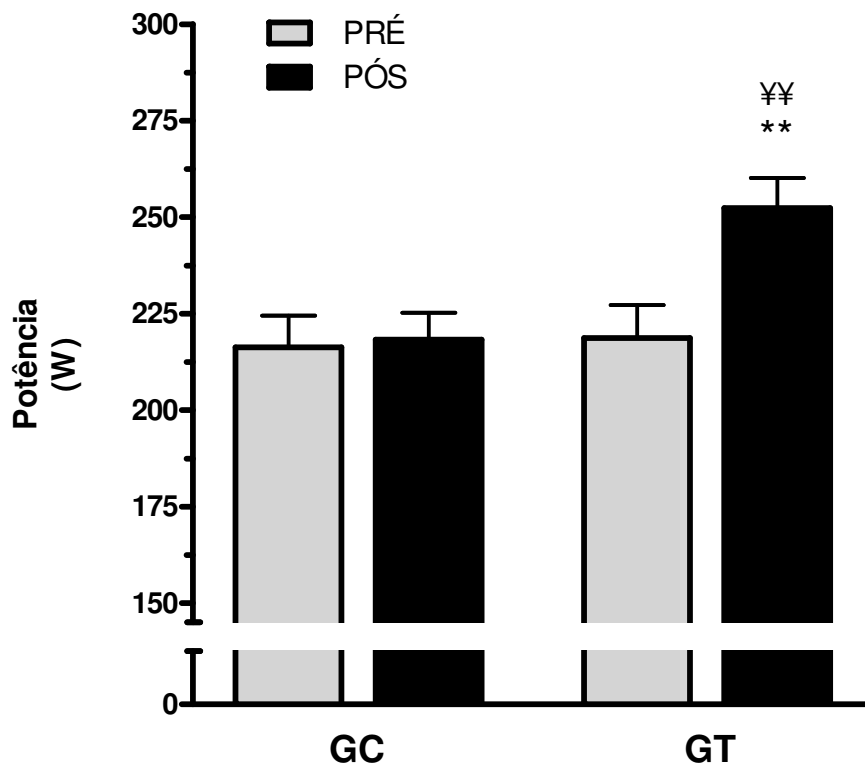


FIGURA 16. Potência máxima dos grupos controle (GC) e treinamento (GT), antes (PRÉ) e após (PÓS) o período de tratamento.

** $P < 0,01$ para diferença entre PRÉ e PÓS tratamento para o mesmo grupo; ¥¥ $P < 0,01$ para diferença entre os grupos.

6.2.4. Treinamento e MFEL

Antes do período de treinamento aeróbio, para determinação da MFEL foram utilizados de 2 a 5 testes, e de 2 a 3 testes após o período de tratamento.

Não foram observadas diferenças significativas, entre os grupos, antes do período de tratamento (PRÉ-MFEL1) na intensidade de exercício, lactatemia, FC, PSE e VO_2 na MFEL. Após o período de tratamento (PÓS-MFEL2) foi observado um aumento da intensidade (POT) de exercício correspondente à MFEL apenas no GT, contudo não foram observadas alterações na lactatemia, FC, VO_2 e PSE em ambos os grupos, em relação ao PRÉ-MFEL1 (TABELA 5).

TABELA 5. Intensidade de exercício (POT), lactatemia, frequência cardíaca (FC), percepção subjetiva de esforço (PSE), consumo de oxigênio (VO_2) e percentual do consumo máximo de oxigênio ($\% \text{VO}_{2\text{MAX}}$) e da potência máxima ($\% \text{POT}_{\text{MAX}}$) em relação à intensidade da máxima fase estável de lactato antes e após o período de tratamento.

Variável	Grupo	PRÉ-MFEL1	PÓS-MFEL1	PÓS-MFEL2
POT (W)	CONTROLE	139±8	-	137±7
	TREINAMENTO	150±8	150±8	171±7 [#]
$\% \text{POT}_{\text{MAX}}$	CONTROLE	64±3	-	63±2
	TREINAMENTO	69±3	59±2 ^{&}	68±2
Lactatemia	CONTROLE	5,4±0,5	-	6,4±0,6
	TREINAMENTO	6,4±0,5	4,1±0,3 ^{&}	6,4±0,4
FC (bpm)	CONTROLE	155±5	-	162±5
	TREINAMENTO	158±4	147±3 ^{&}	157±3
PSE	CONTROLE	15	-	16
	TREINAMENTO	15	11 ^{&}	14
VO_2 ($\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)	CONTROLE	34,9±2,3	-	32,8±1,9
	TREINAMENTO ¹	35,0±1,4	33,2±1,6	37,2±1,3
$\% \text{VO}_{2\text{MAX}}$	CONTROLE	77,1±4,4	-	74,7±1,7
	TREINAMENTO ¹	78,2±2,8	66,1±3,0 ^{&}	75,9±2,1

Sendo, PRÉ-MFEL1: exercício físico até a fadiga na intensidade da MFEL no pré-treinamento; PÓS-MFEL1: após treinamento aeróbio, exercício físico na intensidade da MFEL e duração do pré-treinamento; PÓS-MFEL2: após treinamento aeróbio, exercício físico até a fadiga na intensidade da MFEL do pós-treinamento.

[&]P<0,05 para diferença em relação ao PRÉ-MFEL1 e PÓS-MFEL2 para o mesmo grupo; [#]P<0,05 para diferença em relação PRÉ-MFEL1 e PÓS-MFEL1 para o mesmo grupo.

¹n=12 no PÓS-MFEL1 e n=11 no PÓS-MFEL2, para o grupo treinamento (VO_2 e $\% \text{VO}_{2\text{MAX}}$).

Após o tratamento, o grupo controle obteve MFEL similar a do pré-tratamento. Desse modo, esses voluntários realizaram apenas o PÓS-MFEL2 depois do período de tratamento. Já no grupo treinamento, foi observado um aumento da intensidade absoluta (POT) de

exercício físico correspondente à MFEL em relação ao pré-treinamento. Além disso, o exercício físico PÓS-MFEL2 representou intensidade relativa similar ao PRÉ-MFEL1. Entretanto, quando esses participantes realizaram um exercício físico, após o período de treinamento aeróbio, na intensidade da MFEL do pré-treinamento (PÓS-MFEL1), essa representou um menor $\%POT_{MAX}$ e menor $\%VO_{2MAX}$ em relação à situação pré-treinamento (PRÉ-MFEL1) e ao PÓS-MFEL2. Nessa situação, também foi observada menor $\%POT_{MAX}$, lactatemia, FC, PSE e $\%VO_{2MAX}$ (TABELA 5).

Em suma, o exercício físico agudo: PÓS-MFEL1 representou a mesma intensidade absoluta e menor intensidade relativa em relação ao PRÉ-MFEL1, enquanto que, o PÓS-MFEL2 apresentou intensidade absoluta maior e intensidade relativa similar ao exercício físico agudo realizado no pré-tratamento.

6.2.5. Treinamento e tempo de exercício físico constante na MFEL

Não foi encontrada diferença significativa entre o tempo de exercício físico até a fadiga na intensidade da MFEL antes e após o tratamento (PRÉ-MFEL1 e PÓS-MFEL2). No grupo treinamento, o tempo de exercício do PÓS-MFEL1 foi estipulado o mesmo do PRÉ-MFEL1, o qual não foi até a fadiga. E no grupo controle, como a duração e intensidade no PÓS-MFEL2 foram similares as do PRÉ-MFEL os voluntários não realizaram o PÓS-MFEL1 (TABELA 6).

TABELA 6. Tempo de exercício físico agudo (minutos) na intensidade da máxima fase estável de lactato.

Grupo	PRÉ-MFEL1	PÓS-MFEL1	PÓS-MFEL2
CONTROLE	63,1±8,5	-	56,8±4,6
TREINAMENTO	71,9±7,5	71,9±7,5	65,4±7,0

Sendo, PRÉ-MFEL1: exercício físico até a fadiga na intensidade da MFEL no pré-treinamento; PÓS-MFEL1: após treinamento aeróbio, exercício físico na intensidade da MFEL e duração do pré-treinamento; PÓS-MFEL2: após treinamento aeróbio, exercício físico até a fadiga na intensidade da MFEL do pós-treinamento.

n=12 no grupo treinamento

6.3. Leucócitos circulantes

6.3.1. Análise imunofenotípica de células T reguladoras

Nos indivíduos fisicamente ativos não havia diferença entre os grupos controle e treinamento, tanto para os linfócitos CD4⁺CD25⁺, quanto para os de marcação CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺. Após o treinamento aeróbio foi observado uma estabilidade intergrupos nesses parâmetros.

O treinamento aeróbio não influenciou o percentual das células T ativadas (CD4⁺CD25⁺) e de reguladoras (CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺) nos sujeitos treinados (TABELA 7).

TABELA 7. Análise imunofenotípica de linfócitos antes (PRÉ) e após (PÓS) o tratamento.

Variável	n	Grupo	PRÉ	PÓS
CD4 ⁺ CD25 ⁺ (%)	8	CONTROLE	1,31±0,37	1,32±0,18
	11	TREINAMENTO	0,73±0,12	1,02±0,12
CD4 ⁺ CD25 ⁺ FOXP3 ⁺ (%)	8	CONTROLE	22,93±5,18	20,22±3,76
	11	TREINAMENTO	36,11±7,39	22,17±3,26

6.3.2. Análise imunofenotípica de células T ativadas e exterminadoras naturais

Antes do tratamento o percentual de células T ativadas e exterminadoras naturais, no repouso, em sangue periférico eram similares entre os grupos. Após o treinamento aeróbio de seis semanas não foram observadas diferenças entre os grupos e entre o tratamento para o percentual das células T ativadas, tanto as CD4⁺ quanto as CD8⁺ e para as células NK (CD3⁻CD56⁺) (TABELA 8).

TABELA 8. Análise imunofenotípica de células T ativadas e NK antes (PRÉ) e após (PÓS) o tratamento.

Variável	N	Grupo	PRÉ	PÓS
CD4 ⁺ CD69 ⁺ (%)	8	CONTROLE	6,86±1,41	10,03±0,91
	13	TREINAMENTO	5,76±0,90	7,12±0,96
CD8 ⁺ CD69 ⁺ (%)	8	CONTROLE	6,59±1,51	4,89±0,86
	13	TREINAMENTO	4,82±0,74	4,31±0,57
CD3 ⁻ CD56 ⁺ (%)	8	CONTROLE	13,35±2,50	11,79±1,54
	13	TREINAMENTO	11,39±1,85	8,27±1,51

6.4. Citocinas intracelulares

Algumas citocinas intracelulares foram avaliadas no repouso em sangue periférico. O treinamento aeróbio não exerceu influência no percentual das citocinas intracelulares: IFN- γ e IL-10 em células T (CD4⁺ e CD8⁺) e IL-6 em monócitos (CD14⁺), tanto intra quanto intergrupos. De forma equivalente, foram observados percentuais similares dessas citocinas totais antes e após o tratamento, em ambos os grupos (TABELA 9).

TABELA 9. Citocinas intracelulares antes (PRÉ) e após (PÓS) o tratamento.

Variável	N	Grupo	PRÉ	PÓS
IFN- γ em CD4 total (%)	8	CONTROLE	5,40 \pm 1,62	6,27 \pm 1,78
	12	TREINAMENTO	7,05 \pm 2,25	5,81 \pm 0,98
IFN- γ em CD8 total (%)	8	CONTROLE	7,27 \pm 3,10	9,48 \pm 2,82
	12	TREINAMENTO	10,43 \pm 3,25	7,77 \pm 1,83
IL-6 em CD14 total (%)	7	CONTROLE	25,86 \pm 8,54	13,56 \pm 1,05
	11	TREINAMENTO	11,48 \pm 1,39	11,84 \pm 1,58
IL-10 em CD4 total (%)	8	CONTROLE	4,42 \pm 1,26	6,55 \pm 2,11
	13	TREINAMENTO	7,63 \pm 2,55	6,80 \pm 1,26
IL-10 em CD8 total (%)	8	CONTROLE	5,56 \pm 2,16	6,91 \pm 2,65
	13	TREINAMENTO	9,09 \pm 2,72	8,01 \pm 2,17
IFN- γ total (%)	8	CONTROLE	2,53 \pm 0,84	2,87 \pm 0,72
	12	TREINAMENTO	3,48 \pm 0,99	2,97 \pm 0,65
IL-6 total (%)	8	CONTROLE	9,00 \pm 3,30	5,09 \pm 0,67
	11	TREINAMENTO	4,06 \pm 0,69	5,08 \pm 0,78
IL-10 total (%)	8	CONTROLE	2,21 \pm 0,68	2,34 \pm 0,71
	13	TREINAMENTO	3,57 \pm 1,04	3,08 \pm 0,53

6.5. Análises no grupo treinamento

6.5.1. Lactatemia nos exercícios físicos na intensidade da MFEL: grupo treinamento

No grupo treinamento, foi encontrado um aumento da lactatemia plasmática com o início do exercício físico seguido por uma fase estável durante o exercício e uma redução no período de recuperação em todas as situações (FIGURA 17). Entretanto, no PÓS-MFEL1 foi observado que a elevação do lactato plasmático foi menor em relação ao PRÉ-MFEL1 e PÓS-

MFEL2. Isso ocorreu, porque o PÓS-MFEL1 foi realizado abaixo da intensidade correspondente a MFEL nos indivíduos treinados.

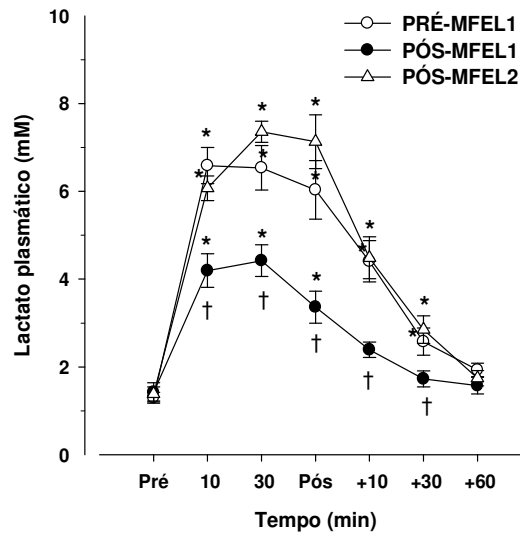


FIGURA 17. Resposta da lactatemia no grupo treinamento durante o exercício físico na máxima fase estável de lactato antes (PRÉ) e após (PÓS MFEL 1 e 2) o período de treinamento aeróbio. * $P < 0,05$ para diferença em relação ao repouso (Pré); † $P < 0,05$ em relação ao PRÉ-MFEL1 e ao PÓS-MFEL 2. $n = 12$ para todas as situações.

6.5.2. Mediadores nos exercícios físicos agudos na intensidade da MFEL: grupo treinamento

As citocinas, quimiocinas, adipocinas e fator neurotrófico foram avaliados no grupo treinamento, apenas. O treinamento aeróbio de seis semanas não modificou as concentrações circulantes de repouso (Pré) para todos os parâmetros avaliados. Isso foi constatado quando comparamos os valores de repouso entre o PRÉ-MFEL1 e PÓS-MFEL1 ou entre PRÉ-MFEL1 e PÓS-MFEL 2 (FIGURAS 18 a 23).

6.5.2.1. Interleucina-6, interleucina-1beta e fator de necrose tumoral-alfa

No exercício físico realizado na intensidade da MFEL do pré-treinamento (PRÉ-MFEL1) foram observadas concentrações plasmáticas elevadas de IL-6 no término (Pós) da execução do mesmo, permanecendo elevada no período de recuperação (FIGURA 18).

Após o período de treinamento aeróbio, foi constatada a mesma cinética do pré-treinamento na resposta de IL-6 em ambos os exercícios físicos na intensidade da MFEL (PÓS-MFEL1 e PÓS-MFEL2). Entretanto, no PÓS-MFEL1 (mesma intensidade absoluta e duração do pré-treinamento) o aumento da concentração de IL-6, após a realização do exercício físico agudo, foi menor em relação às demais situações (PRÉ-MFEL1 e PÓS-MFEL2) (FIGURA 18).

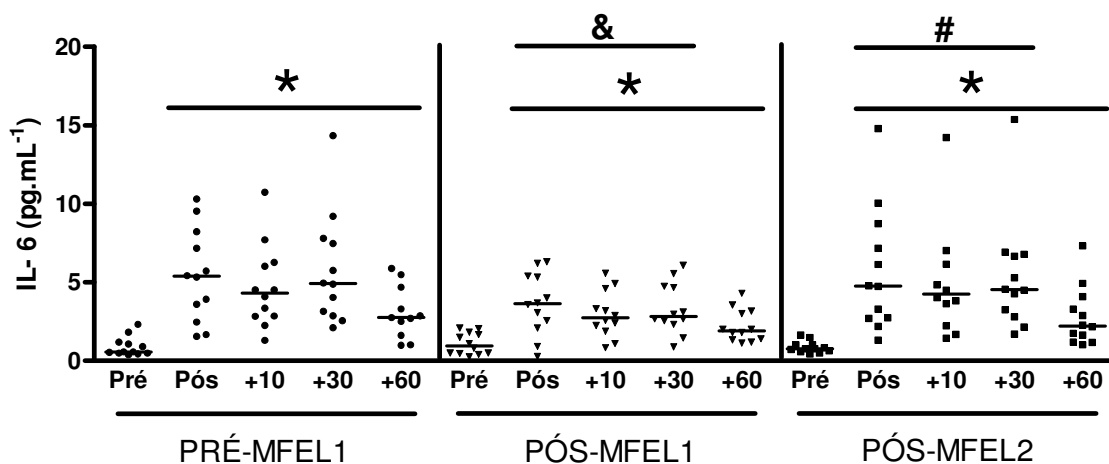


FIGURA 18. Concentrações plasmáticas de interleucina-6 (IL-6) nos momentos pré e pós-exercício, 10, 30 e 60min no período de recuperação dos exercícios físicos realizados na intensidade da MFEL. Sendo, PRÉ-MFEL1: exercício físico até a fadiga na intensidade da MFEL no pré-treinamento; PÓS-MFEL1: após treinamento aeróbio, exercício físico na intensidade da MFEL e duração do pré-treinamento; PÓS-MFEL2: após treinamento aeróbio, exercício físico até a fadiga na intensidade da MFEL do pós-treinamento.

* $P < 0,05$ para diferença em relação ao repouso (Pré); & $P < 0,05$ para diferença em relação ao pré-treinamento (PRÉ-MFEL1); # $P < 0,05$ para diferença em relação ao PÓS-MFEL1. $n = 12$.

Antes do treinamento físico, foi constatado o aumento do TNF- α uma hora após o término do exercício físico agudo (Figura 19A) e nenhuma alteração na IL-1 β (Figura 19B)

no PRÉ-MFEL1. Esse perfil de resposta permaneceu após o tratamento (tanto no PÓS-MFEL1, quanto no PÓS-MFEL2).

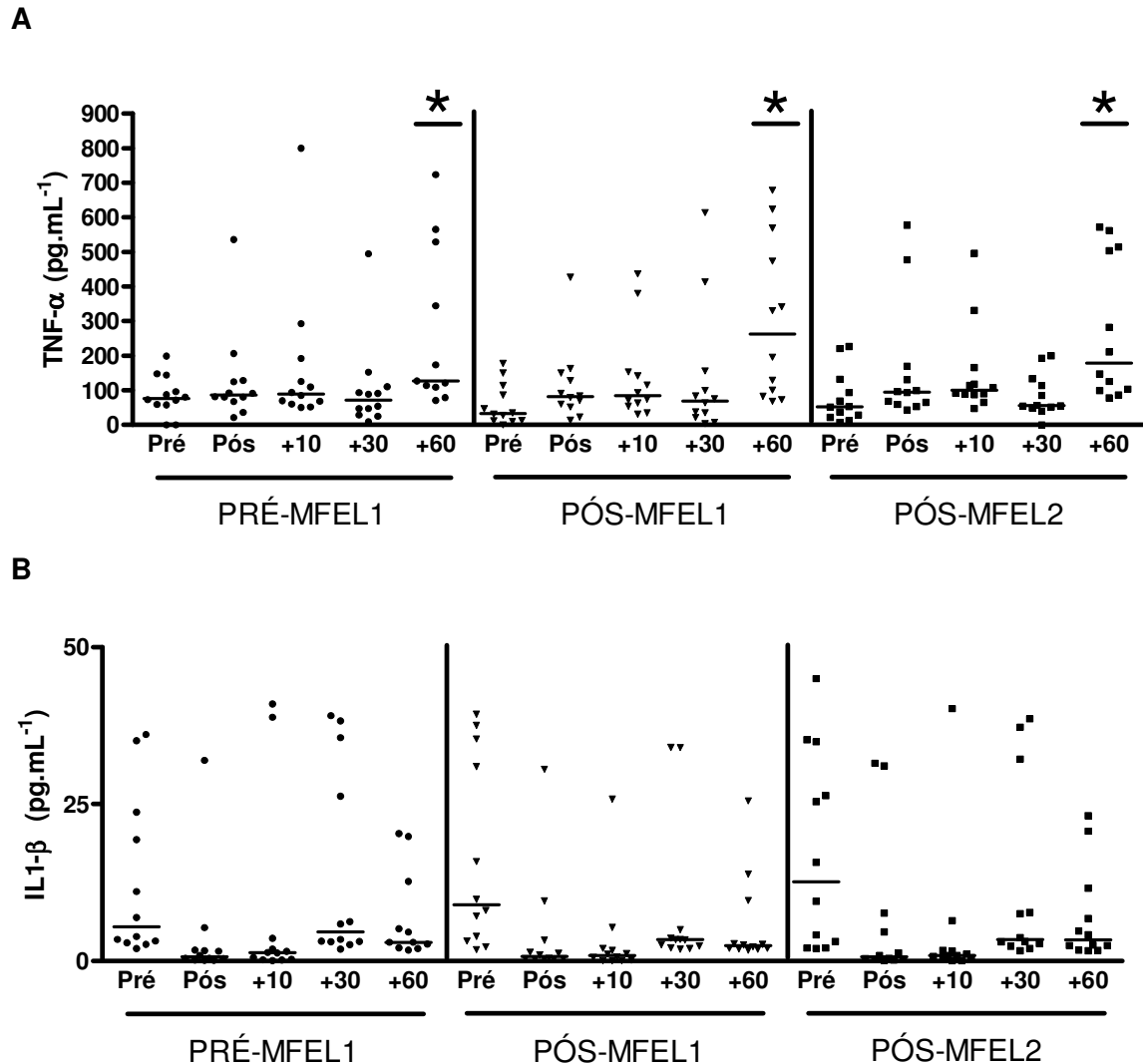


FIGURA 19. Concentrações plasmáticas de (A) fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α); (B) interleucina-1 beta (IL1- β), nos momentos pré e pós-exercício, 10, 30 e 60min no período de recuperação dos exercícios físicos realizados na intensidade da MFEL. Sendo, PRÉ-MFEL1: exercício físico até a fadiga na intensidade da MFEL no pré-treinamento; PÓS-MFEL1: após treinamento aeróbio, exercício físico na intensidade da MFEL e duração do pré-treinamento; PÓS-MFEL2: após treinamento aeróbio, exercício físico até a fadiga na intensidade da MFEL do pós-treinamento.

* $P < 0,05$ para diferença em relação ao repouso (Pré). $n = 12$.

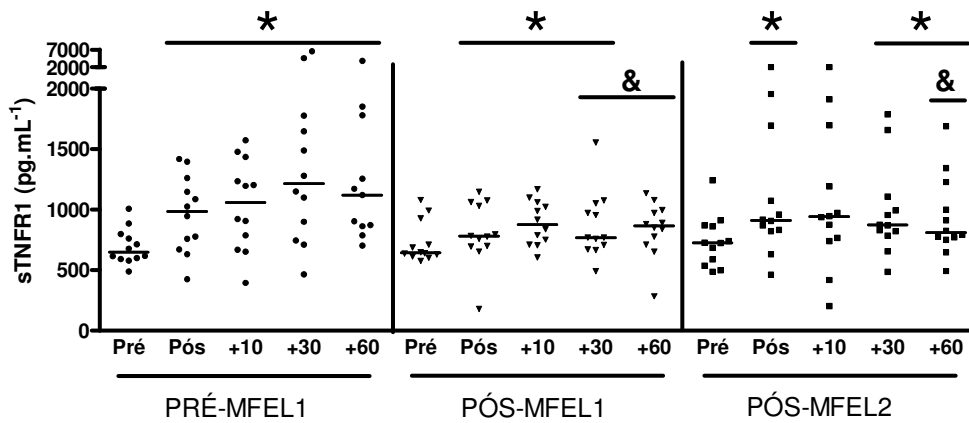
6.5.2.2. Receptor solúvel do fator de necrose tumoral alfa – 1 e 2 e interleucina-10

Em uma sessão de exercício físico até a fadiga (PRÉ-MFEL1), nos indivíduos fisicamente ativos, foram constatadas concentrações plasmáticas elevadas de sTNFR1. Similarmente, após as seis semanas de treinamento aeróbio foi detectado o aumento das concentrações plasmáticas do sTNFR1 no término do exercício físico (PÓS-MFEL1 e PÓS-MFEL2). Entretanto, nos 30 e 60min do PÓS-MFEL1 e nos 60min do PÓS-MFEL2 as concentrações do sTNFR1 foram menores em relação ao exercício físico antes (PRÉ-MFEL1) do treinamento aeróbio (FIGURA 20A).

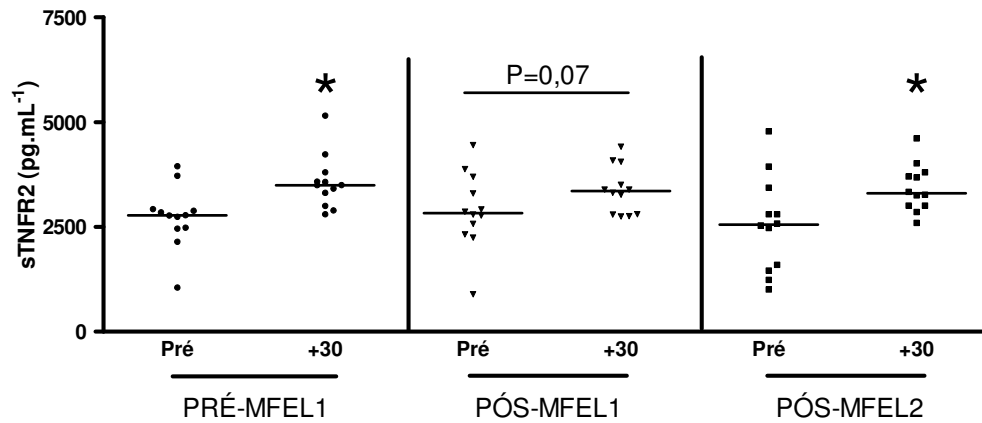
No que diz respeito ao sTNFR2, foram observadas concentrações circulantes elevadas desse marcador nos 30min da recuperação após os exercícios físicos agudos: PRÉ-MFEL1 e no PÓS-MFEL2, entretanto quando o exercício foi realizado com a mesma intensidade absoluta do PRÉ-MFEL1 não houve aumento significativo das concentrações desse receptor solúvel (FIGURA 20B).

A concentração plasmática da citocina anti-inflamatória interleucina-10 elevou-se nos 10min da recuperação dos exercícios físicos agudos realizados na MFEL (PRÉ-MFEL1, PÓS-MFEL1 e PÓS-MFEL2), ou seja, o treinamento aeróbio não exerceu influência sobre esse parâmetro. Desse modo, a elevação dessa citocina anti-inflamatória ocorre mesmo quando a fadiga não foi alcançada (PÓS-MFEL1) (FIGURA 20C).

A



B



C

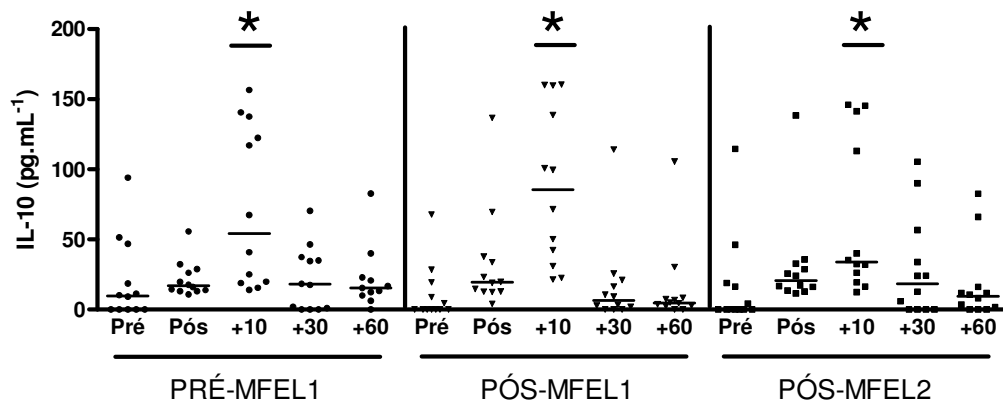


FIGURA 20. Concentrações plasmáticas de (A) receptor solúvel do fator de necrose tumoral alfa - 1 (sTNFR1); (B) receptor solúvel do fator de necrose tumoral alfa - 2 (sTNFR2); (C) interleucina-10 (IL-10), nos momentos pré e pós-exercício, 10, 30 e 60min no período de recuperação dos exercícios físicos realizados na intensidade da MFEL. Sendo, PRÉ-MFEL1: exercício físico até a fadiga na intensidade da MFEL no pré-treinamento; PÓS-MFEL1: após treinamento aeróbico, exercício físico na intensidade da MFEL e duração do pré-treinamento; PÓS-MFEL2: após treinamento aeróbico, exercício físico até a fadiga na intensidade da MFEL do pós-treinamento. * $P < 0,05$ para diferença em relação ao repouso (Pré); & $P < 0,05$ para diferença em relação ao pré-treinamento (PRÉ-MFEL1). $n=12$.

6.5.2.3. Quimiocinas

Os exercícios físicos agudos, tanto antes do treinamento quanto depois do treinamento aeróbio, promoveram elevações das concentrações plasmáticas de CXCL10/IP-10, detectadas no momento do término desses exercícios, permanecendo elevado nos 10min da recuperação e voltando a elevar-se nos 60min da recuperação (FIGURA 21A).

O exercício físico até a fadiga na intensidade da MFEL do pré-treinamento (PRÉ-MFEL1) não modificou as concentrações sanguíneas de CCL2/MCP-1. Entretanto, depois do treinamento aeróbio houve elevações das concentrações dessa quimiocina uma hora após o término dos exercícios físicos agudos: PÓS-MFEL1 e PÓS-MFEL2 (FIGURA 21B).

Os exercícios físicos agudos e crônico não afetaram as concentrações circulantes de CXCL8/IL-8 (FIGURA 21C).

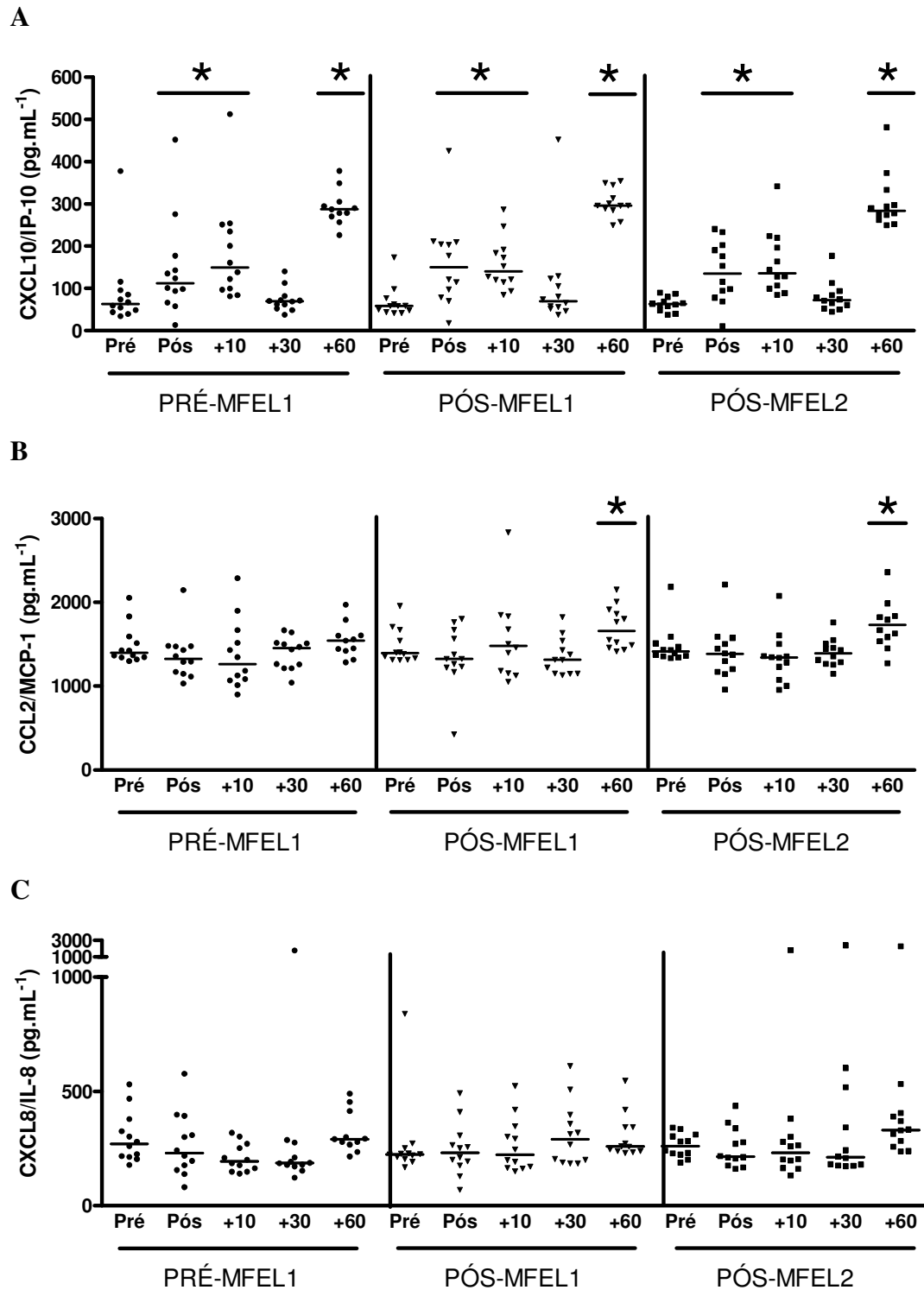


FIGURA 21. Concentrações plasmáticas de (A) proteína-10 induzível por interferona-gama (CXCL10/IP-10); (B) proteína quimiotática de monócito-1 (CCL2/MCP-1); (C) interleucina-8 (CXCL8/IL-8), nos momentos pré e pós-exercício, 10, 30 e 60min no período de recuperação dos exercícios físicos realizados na intensidade da MFEL. Sendo, PRÉ-MFEL1: exercício físico até a fadiga na intensidade da MFEL no pré-treinamento; PÓS-MFEL1: após treinamento aeróbio, exercício físico na intensidade da MFEL e duração do pré-treinamento; PÓS-MFEL2: após treinamento aeróbio, exercício físico até a fadiga na intensidade da MFEL do pós-treinamento.

* $P < 0,05$ para diferença em relação ao repouso (Pré). $n = 12$.

6.5.2.4. Leptina, resistina e adiponectina

Antes do treinamento, uma única sessão de exercício físico até a fadiga promoveu o aumento das concentrações plasmáticas de leptina constatados no término do exercício, nos 10 e 60min de recuperação (PRÉ-MFEL1). Entretanto, após o treinamento aeróbio de seis semanas, o exercício físico agudo com a mesma intensidade absoluta e duração do pré-treinamento não promoveu alteração significativa nas concentrações plasmáticas de leptina em nenhum dos tempos avaliados (PÓS-MFEL1). Por outro lado, quando os indivíduos treinados realizaram o exercício físico agudo até fadiga com a mesma intensidade relativa do pré-treinamento (PÓS-MFEL2) foi constatado o mesmo perfil de resposta do pré-treinamento nas concentrações plasmáticas de leptina (FIGURA 22A).

Com relação a resistina, o exercício físico agudo elevou as concentrações plasmáticas dessa adipocina no término do exercício, entretanto houve redução da mesma nos 10 e 30min no período da recuperação (PRÉ-MFEL1). O treinamento não alterou a cinética das concentrações plasmáticas de resistina observadas após a realização dos exercícios físicos agudos, tanto na mesma intensidade absoluta quanto relativa do exercício físico do pré-treinamento (PÓS-MFEL1 e PÓS-MFEL2). Dessa forma, foi constatado que o exercício físico com intensidade relativa menor que o pré-treinamento e sem alcançar a fadiga (PÓS-MFEL1), não influenciou o perfil plasmática de resistina induzido por exercício (FIGURA 22B).

As concentrações circulantes de adiponectina elevaram-se nos 10min nos três exercícios físicos agudos (PRÉ-MFEL1, PÓS-MFEL1 e PÓS-MFEL2), demonstrando que o treinamento aeróbio de seis semanas não exerceu influência sobre a resposta dessa adipocina. Foi constatado um perfil antagônico na concentração plasmática das adipocinas resistina e adiponectina, visto que o aumento de adiponectina ocorreu concomitantemente com a redução da resistina nos 10min após os exercícios físicos agudos (FIGURA 22C).

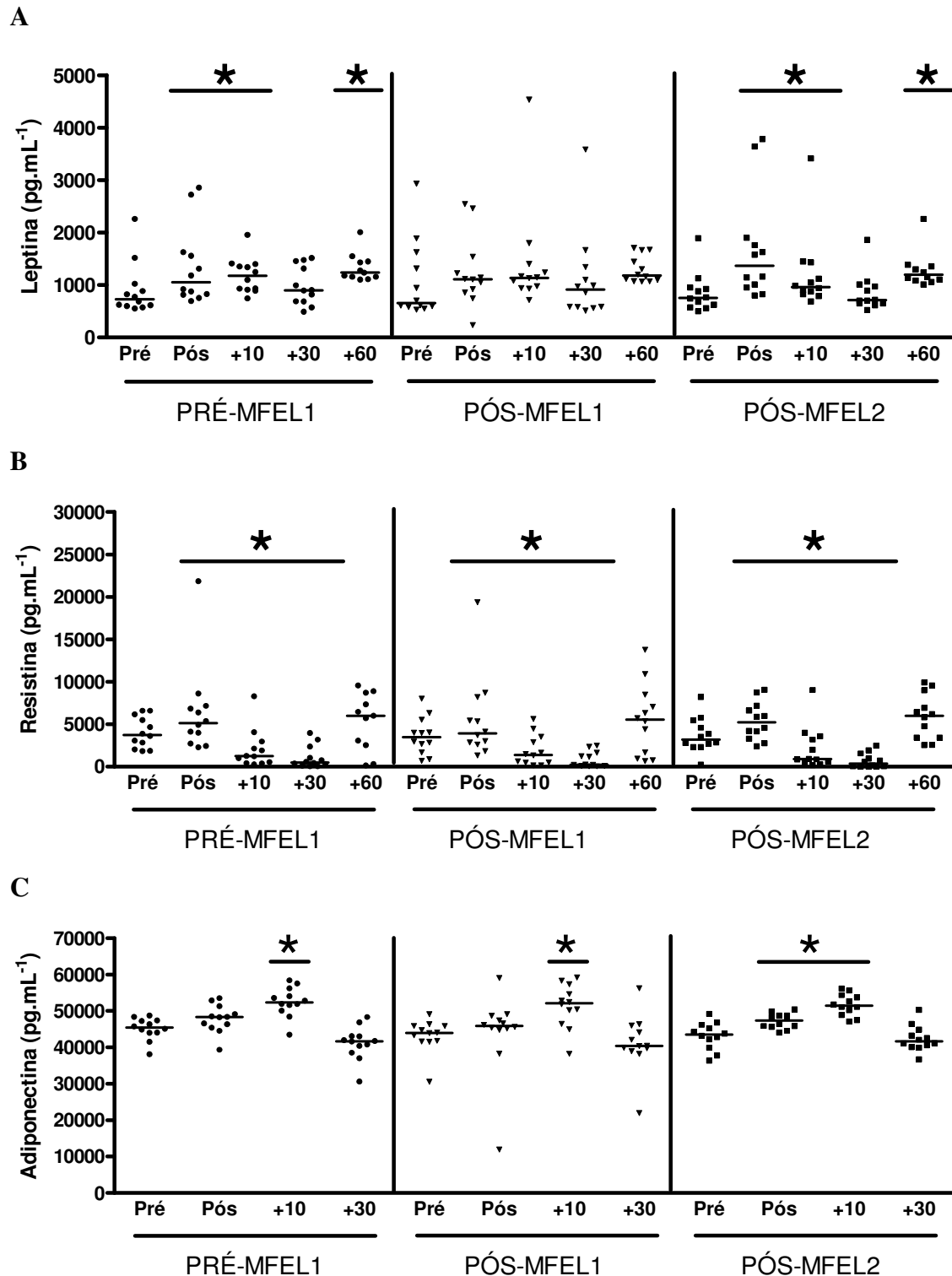


FIGURA 22. Concentrações plasmáticas de (A) leptina; (B) resistina; (C) adiponectina, nos momentos pré e pós-exercício, 10, 30 e 60min no período de recuperação dos exercícios físicos realizados na intensidade da MFEL. Sendo, PRÉ-MFEL1: exercício físico até a fadiga na intensidade da MFEL no pré-treinamento; PÓS-MFEL1: após treinamento aeróbio, exercício físico na intensidade da MFEL e duração do pré-treinamento; PÓS-MFEL2: após treinamento aeróbio, exercício físico até a fadiga na intensidade da MFEL do pós-treinamento.

* $P < 0,05$ para diferença em relação ao repouso (Pré). $n = 12$ para todas as situações.

6.5.2.5. Fator neurotrófico

O BDNF teve suas concentrações elevadas no momento do término do exercício físico na intensidade da MFEL do pré-treinamento, retornando aos valores de repouso com uma hora de recuperação (PRÉ-MFEL1). No PÓS-MFEL1, o aumento do BDNF foi menos intenso que no PRÉ-MFEL1 e o retorno às concentrações de repouso ocorreu nos 30min da recuperação. Quando o exercício físico agudo foi realizado com a mesma intensidade relativa do pré-treinamento (PÓS-MFEL2), as concentrações plasmáticas de BDNF estavam elevadas na fadiga e os valores no período de recuperação foram menores do que aqueles observados no PRÉ-MFEL1 (FIGURA 23).

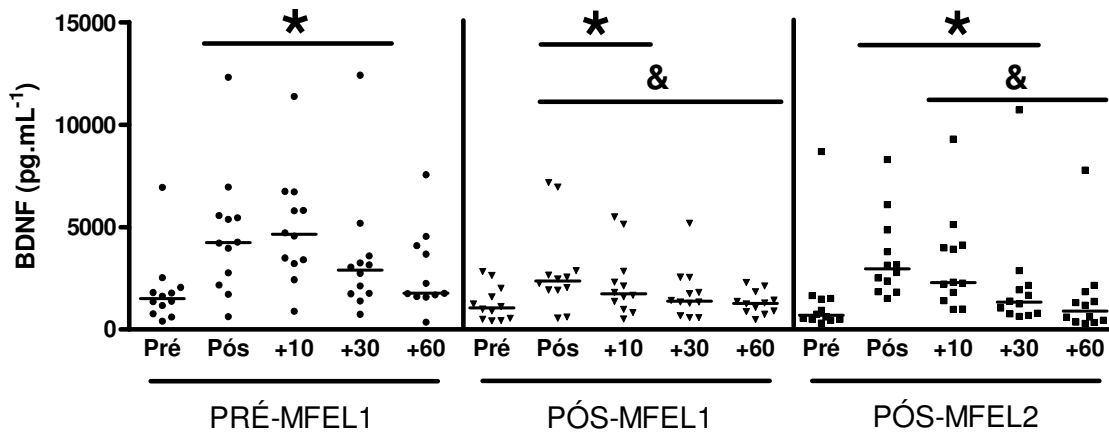


FIGURA 23. Concentrações plasmáticas de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) nos momentos pré e pós-exercício, 10, 30 e 60min no período de recuperação dos exercícios físicos realizados na intensidade da MFEL. Sendo, PRÉ-MFEL1: exercício físico até a fadiga na intensidade da MFEL no pré-treinamento; PÓS-MFEL1: após treinamento aeróbio, exercício físico na intensidade da MFEL e duração do pré-treinamento; PÓS-MFEL2: após treinamento aeróbio, exercício físico até a fadiga na intensidade da MFEL do pós-treinamento.

* $P < 0,05$ para diferença em relação ao repouso (Pré); & $P < 0,05$ para diferença em relação ao pré-treinamento (PRÉ-MFEL1). $n = 12$ para todas as situações.

6.5.2.6. Correlações

A concentração plasmática de IL-6 no momento do término do exercício físico (Pós) correlacionou-se positivamente com a duração dos exercícios físicos agudos: no PRÉ-MFEL1 e no PÓS-MFEL2 (FIGURA 24). Entretanto, correlacionou-se negativamente com a potência

absoluta no PRÉ-MFEL1 e no PÓS-MFEL2 e com a potência relativa no PRÉ-MFEL1 (FIGURA 25 e 26). Não foi observada associação entre as concentrações circulantes de IL-6 e o lactato na MFEL, ambos no momento do término dos exercícios físicos agudos (TABELA 10).

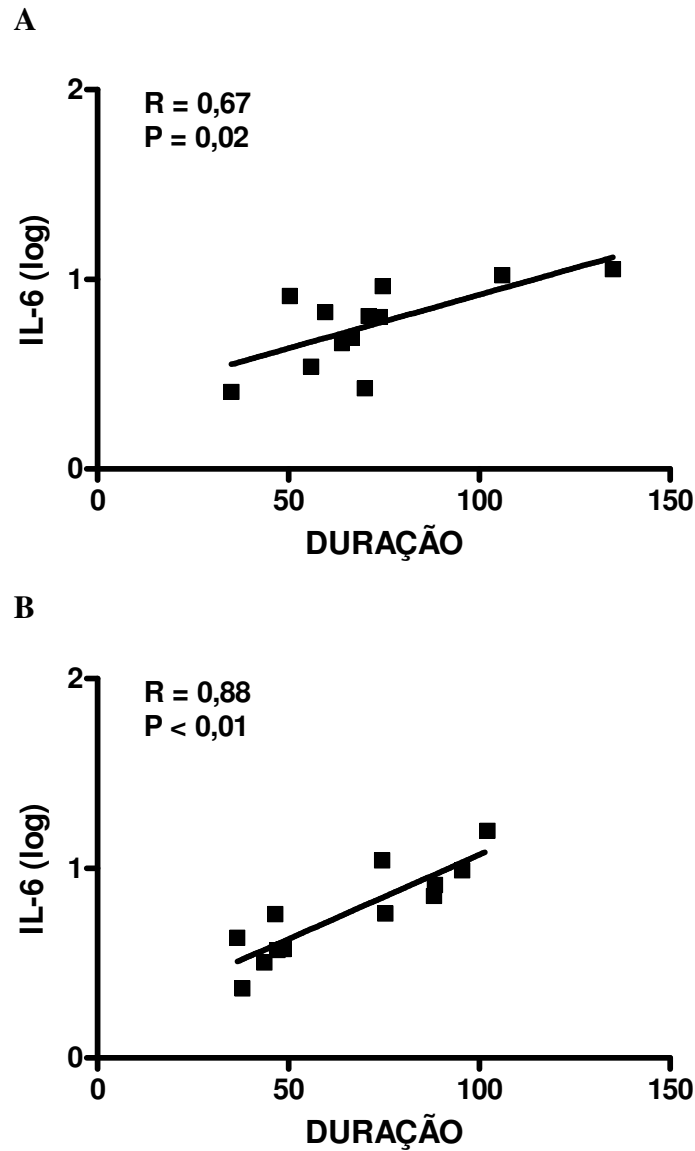


FIGURA 24. Correlação entre o log da concentração de IL-6 no momento do término do exercício (Pós) e a duração dos exercícios físicos na intensidade da MFEL. (A) Exercício físico na intensidade da MFEL do pré-treinamento (PRÉ-MFEL1); (B) Após treinamento aeróbio, exercício físico na intensidade da MFEL do pós-treinamento (PÓS-MFEL2). n=12.

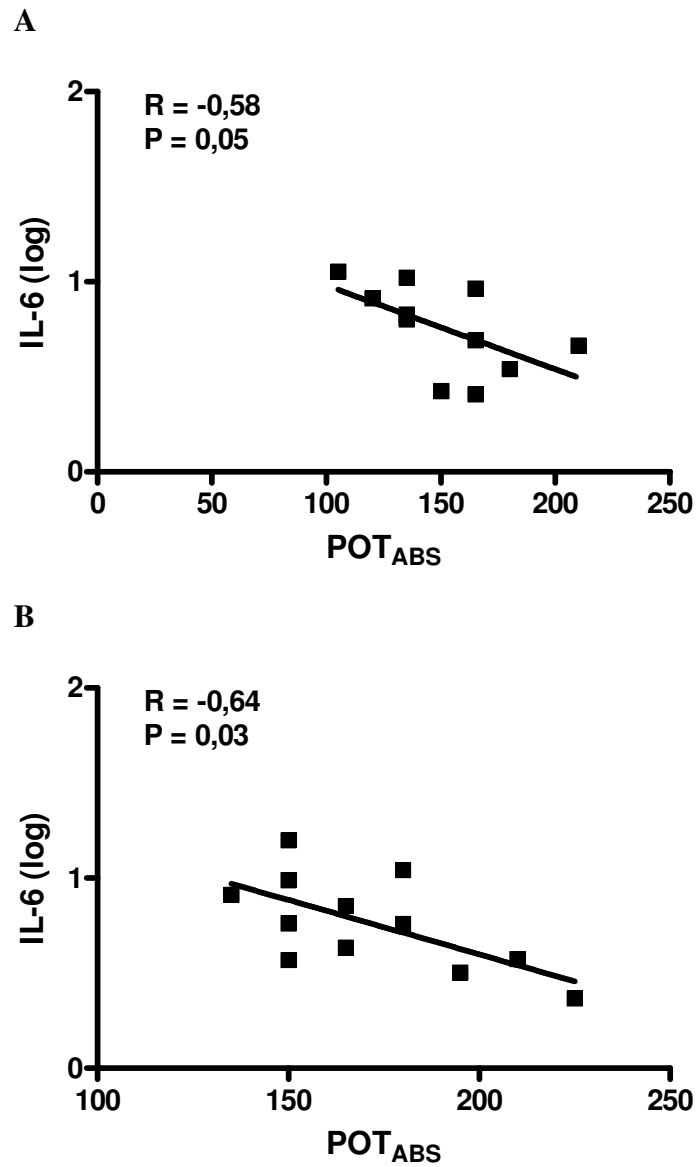


FIGURA 25. Correlação entre o log da concentração de IL-6 no momento do término do exercício (Pós) e a potência absoluta (POT_{ABS}) dos exercícios físicos na intensidade da MFEL. (A) Exercício físico na intensidade da MFEL do pré-treinamento (PRÉ-MFEL1); (B) Após treinamento aeróbio, exercício físico na intensidade da MFEL do pós-treinamento (PÓS-MFEL2). n=12.

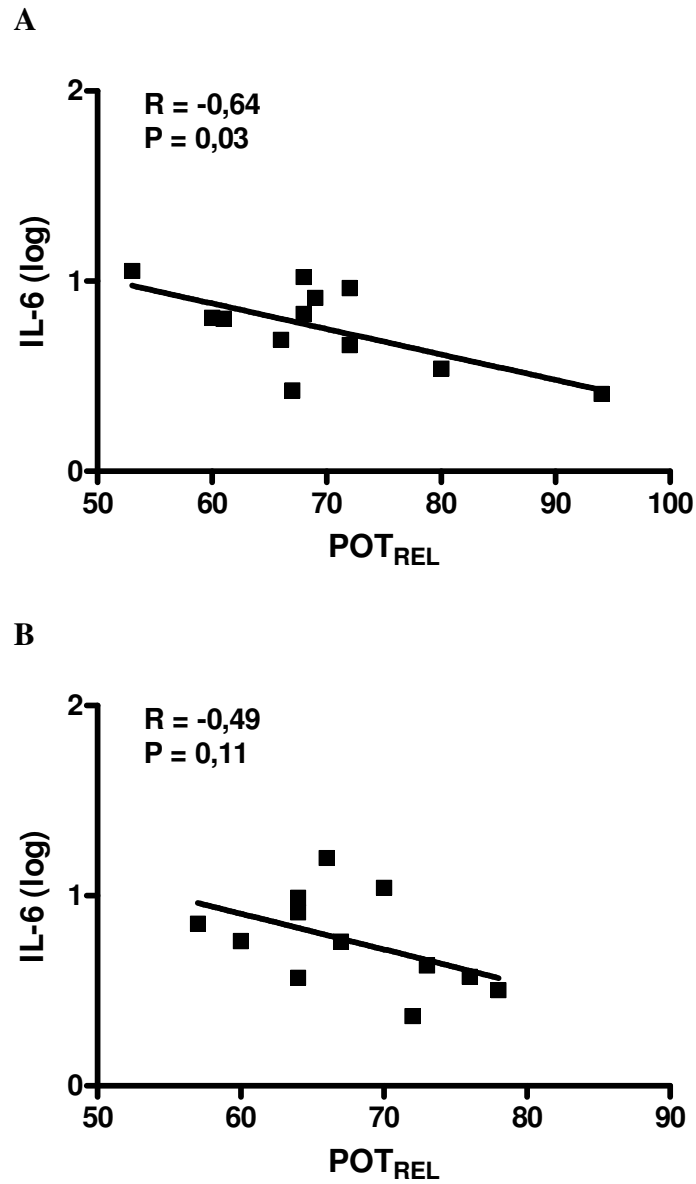


FIGURA 26. Correlação entre o log da concentração de IL-6 no momento do término do exercício (Pós) e potência relativa (POT_{REL}) dos exercícios físicos na intensidade da MFEL. (A) Exercício físico na intensidade da MFEL do pré-treinamento (PRÉ-MFEL1); (B) Após treinamento aeróbio, exercício físico na intensidade da MFEL do pós-treinamento (PÓS-MFEL2). n=12.

TABELA 10. Correlação entre o log da interleucina-6 no momento do término dos exercícios físicos (Pós) e o lactato plasmático na MFEL.

Variável	LACTATO	
	PRÉ-MFEL1	PÓS-MFEL2
IL-6	-0,26	-0,26

Sendo, PRÉ-MFEL1: exercício físico na intensidade da MFEL do pré-treinamento; PÓS-MFEL2: após treinamento aeróbio, exercício físico na intensidade da MFEL do pós-treinamento.
r: coeficiente de correlação. n=12.

A associação entre a duração e a potência dos exercícios físicos agudos foi testada, uma vez que, foi observada uma relação inversa entre tais aspectos e as concentrações plasmáticas de IL-6. Assim, foram constatadas correlações negativas entre a duração e a potência absoluta no PÓS-MFEL2 e entre a duração e a potência relativa no PRÉ-MFEL1 e no PÓS-MFEL2 (TABELA 11).

TABELA 11. Correlações entre a duração e a potência absoluta (POT_{ABS}) e relativa (POT_{REL}) nos exercícios na intensidade da MFEL.

Variável	POTÊNCIA ABSOLUTA		POTÊNCIA RELATIVA	
	PRÉ-MFEL1	PÓS-MFEL2	PRÉ-MFEL1	PÓS-MFEL2
DURAÇÃO	-0,50	-0,65*	-0,72*	-0,65*

Sendo, PRÉ-MFEL1: exercício físico na intensidade da MFEL do pré-treinamento; PÓS-MFEL2: após treinamento aeróbio, exercício físico na intensidade da MFEL do pós-treinamento.

r: coeficiente de correlação.

* para os valores de correlações com "P" significativo ($P < 0,05$).

n= 12 para todas as correlações.

As associações entre as demais citocinas, quimiocinas, adipocinas e BDNF com a duração, potência e o lactato, também, foram analisadas. As concentrações plasmáticas avaliadas foram: do TNF- α nos 60min da recuperação; sTNFR1 e sTNFR2 nos 30min da recuperação; IL-10 nos 10min da recuperação; CXCL10/IP-10 no momento do término do exercício (Pós); CCL2/MCP-1 nos 60min da recuperação; leptina no término do exercício

(Pós); resistina no término (Pós); adiponectina nos 10min da recuperação; BDNF no término do exercício (Pós). O IL-1 β e o CXCL8/IL-8 não foram testados, visto que suas concentrações plasmáticas não foram influenciadas pelos exercícios físicos agudos (TABELA 12).

Ocorreu correlação positiva significativa entre o sTNFR2 com o lactato e com a potência absoluta nos 30min da recuperação (no PÓS-MFEL2). Os demais parâmetros avaliados não apresentaram correlações com os aspectos considerados (TABELA 12).

TABELA 12. Correlações entre citocinas, quimiocinas, adipocinas e BDNF com a duração, potência e o lactato nos exercícios na intensidade da MFEL.

Variável	DURAÇÃO		POTÊNCIA ABSOLUTA		POTÊNCIA RELATIVA		LACTATO (MFEL)	
	PRÉ-MFEL1	PÓS-MFEL2	PRÉ-MFEL1	PÓS-MFEL2	PRÉ-MFEL1	PÓS-MFEL2	PRÉ-MFEL1	PÓS-MFEL2
TNF- α (+60)	0,04	-0,41	0,40	0,29	0,12	0,43	-0,44	-0,48
STNFR1(+30)	-0,10	-0,16	0,14	0,03	-0,19	0,18	0,41	0,15
STNFR2(+30)	-0,18	-0,22	0,28	0,60*	0,28	0,16	-0,04	0,74*
IL-10(+10)	0,26	-0,13	0,12	-0,25	0,14	0,13	0,49	0,17
CXCL10/IP-10(Pós)	0,02	0,33	0,23	0,04	0,32	-0,19	0,22	0,33
CCL2/MCP-1(+60)	0,06	-0,25	-0,11	0,41	-0,01	0,27	-0,07	0,37
LEPTINA(Pós)	0,04	-0,55	0,18	0,50	0,20	0,43	0,27	0,27
RESISTINA(Pós)	-0,46	0,18	0,48	0,36	0,43	0,11	0,30	0,54
ADIPONECTINA(+10)	0,06	-0,13	-0,28	0,01	-0,21	0,13	0,12	0,15
BDNF(Pós)	0,12	-0,19	0,36	0,49	0,41	0,11	0,21	0,17

* para os valores de correlações com "P" significativo (P<0,05).
n=12 para todas as correlações

Alguns estudos constataram associação inversa entre o BDNF e o desempenho físico (Chan *et al.*, 2008; Currie *et al.*, 2009; Nofuji *et al.*, 2008). Desse modo, no presente estudo a correlação entre as concentrações plasmáticas de repouso do BDNF e o VO_{2MAX} foi avaliada. Entretanto, não foram constatadas relações significativas entre tais parâmetros (TABELA 13).

TABELA 13. Correlação entre o BDNF e o VO_{2MAX} . Sendo, PRÉ: valores do pré-treinamento; PÓS: valores do pós-treinamento.

Variável	VO_{2MAX}	
	PRÉ	PÓS
BDNF	0,18	-0,27

n=12

7. DISCUSSÃO

7.1. Treinamento aeróbio

Ao analisarmos os efeitos do programa de treinamento aeróbio utilizado, no grupo de voluntários que o realizou, observamos que ele foi capaz de gerar adaptações na capacidade aeróbia, avaliada pelo aumento do VO_{2MAX} e pela potência máxima. O que permitiu aos indivíduos produzirem uma maior potência durante o exercício físico: PÓS-MFEL2 sem um contínuo acúmulo de lactato. Nessa nova intensidade (MFEL2) foram mantidas as concentrações de lactato, a frequência cardíaca e a percepção subjetiva do esforço, indicando uma demanda física e ativação do sistema nervoso central semelhante às condições fisiológicas do pré-treinamento (PRÉ-MFEL1). Além disso, mesmo com o aumento da intensidade absoluta do exercício físico na MFEL, os indivíduos foram capazes de permanecer um tempo semelhante em relação à situação pré-treinamento realizada em uma menor potência. No exercício físico realizado após o treinamento aeróbio na intensidade absoluta do pré-treinamento (PÓS-MFEL1), as menores concentrações de lactato e valores de FC e PSE poderiam indicar uma maior capacidade oxidativa muscular e cardiovascular.

No grupo que realizou o treinamento aeróbio foi observado um aumento do VO_{2MAX} relativo e absoluto de 11,2 e 10,3%, respectivamente. Esses resultados corroboram com os resultados obtidos por Carter *et al.* (1999) e Philp *et al.* (2008) que encontraram aumentos de 10% no VO_{2MAX} após um período de treinamento contínuo e de 6% após treinamento intervalado (Philp *et al.*, 2008). Jones & Carter (2000) em um estudo de revisão descreveram aumentos de 5 a 10% no VO_{2MAX} decorrentes de programas de treinamento aeróbio de 3 a 9 semanas. Gormley *et al.* (2008) observaram aumentos no VO_{2MAX} de 10,0 e 14,3% após seis semanas de treinamento de intensidade moderada (50% VO_2 reserva) e elevada (75% VO_2 reserva), respectivamente, em indivíduos que não participavam de treinamento aeróbio. Entretanto, a resposta do VO_{2MAX} ao treinamento aeróbio, possui uma ampla variabilidade, podendo chegar a aumentos de até 25% em programas de treinamento de longa duração (Bouchard & Rankinen, 2001). De acordo com esses autores, essa variabilidade na resposta do VO_{2MAX} ao treinamento aeróbio pode não ser associada ao sexo, idade, massa corporal ou características étnicas; mas em alguns casos relacionada ao nível de exercício físico inicial dos participantes.

O aumento da intensidade de exercício físico na MFEL após o período de treinamento observado no presente estudo corrobora os resultados de Carter *et al.* (1999) e Philp *et al.* (2008) que também observaram aumento da intensidade de exercício na MFEL após um período de treinamento de oito e seis semanas de treinamento aeróbio, respectivamente, em corredores moderadamente treinados (Philp *et al.*, 2008) e estudantes não participantes de treinamento aeróbio (Carter *et al.*, 1999). Entretanto, o aumento da intensidade de exercício físico na MFEL de $14,7 \pm 2,5\%$ após o período de treinamento foi maior do que os encontrados por Philp *et al.* (2008) de 8,8% e 5,7% (treinamento contínuo e intermitente na MFEL, respectivamente) e por Carter *et al.* (1999) de 4,5% (treinamento na intensidade de exercício correspondente a concentração fixa de lactato de 3,0mM); apesar de ambos terem um número de semanas de treinamento e/ou sessões semelhantes ao do presente estudo.

Contudo, a intensidade do treinamento escolhida por Carter *et al.* (1999) foi significativamente menor do que a velocidade de corrida na MFEL. Assim, apesar da amostra ser semelhante à do presente estudo, Carter *et al.* (1999) podem ter encontrado um aumento da MFEL menos acentuada devido a menor intensidade utilizada no período de treinamento. Diferentemente, Philp *et al.* (2008) prescreveram o treinamento aeróbio na intensidade da MFEL, mas utilizaram indivíduos moderadamente treinados como voluntários. A intensidade de exercício físico é considerada por diversos autores como uma das variáveis mais determinantes para prescrição do treinamento e é contribui para as adaptações decorrentes desse (Midgley *et al.*, 2007; Gormley *et al.*, 2008). Não somente a intensidade, mas o estado de treinamento inicial dos indivíduos pode explicar as diferenças nas respostas decorrentes a um programa de treinamento (Bouchard & Rankinen, 2001). Desse modo, um programa de treinamento aeróbio de longa duração e de intensidade moderada/alta, em indivíduos com baixo nível de exercício físico inicial, poderia resultar em uma melhora acentuada de sua capacidade física (aumento do consumo máximo de oxigênio).

7.2. Leucócitos circulantes

O treinamento aeróbio utilizado no presente trabalho não modificou o número dos leucócitos analisadas em repouso no sangue periférico. Yeh e colaboradores (2006) demonstraram que 12 semanas de um programa de exercícios induziu a um aumento do número de células T: $CD4^+CD25^+$ e de IL-10 e TFG- β após o exercício físico regular, sugerindo um papel regulador.

Em relação, aos linfócitos e células NK, também, não observamos alteração após o período de seis semanas de treinamento aeróbio. Para esses parâmetros, a literatura apresenta resultados contraditórios. Em relação aos sedentários, os atletas apresentaram uma resposta linfocitária proliferativa reduzida (Papa *et al.*, 1989), elevada (Nieman *et al.*, 1993; Baj *et al.*, 1994) ou inalterada (Oshida *et al.*, 1988; Pedersen *et al.*, 1989; Tvede *et al.*, 1991; Nieman *et al.*, 1995a; Nieman *et al.*, 1995b). Além dessas células, as NK podem ter sua atividade elevada em maratonistas e ciclistas em comparação com as dos sedentários (Tvede *et al.*, 1991; Nieman *et al.*, 1995b). Além disso, um protocolo de caminhada aumentou a atividade das células NK em mulheres moderadamente obesas (Nieman *et al.*, 1990). Por outro lado, em mulheres idosas, o exercício crônico não influenciou a atividade de células NK (Nieman *et al.*, 1993).

Pelo exposto acima, a controversa na literatura e o presente estudo podem ser em decorrência a protocolos de exercícios físicos crônicos, com duração e intensidade diferentes e ao estado de treinamento inicial dos voluntários. Além disso, a população estudada pode influenciar (saudáveis, com alguma doença crônica, disfunção metabólica, dentre outros) os parâmetros avaliados. Desse modo, as seis semanas de treinamento aeróbio não alteraram o número dos leucócitos em indivíduos jovens, saudáveis e fisicamente ativos.

7.3. Mediadores

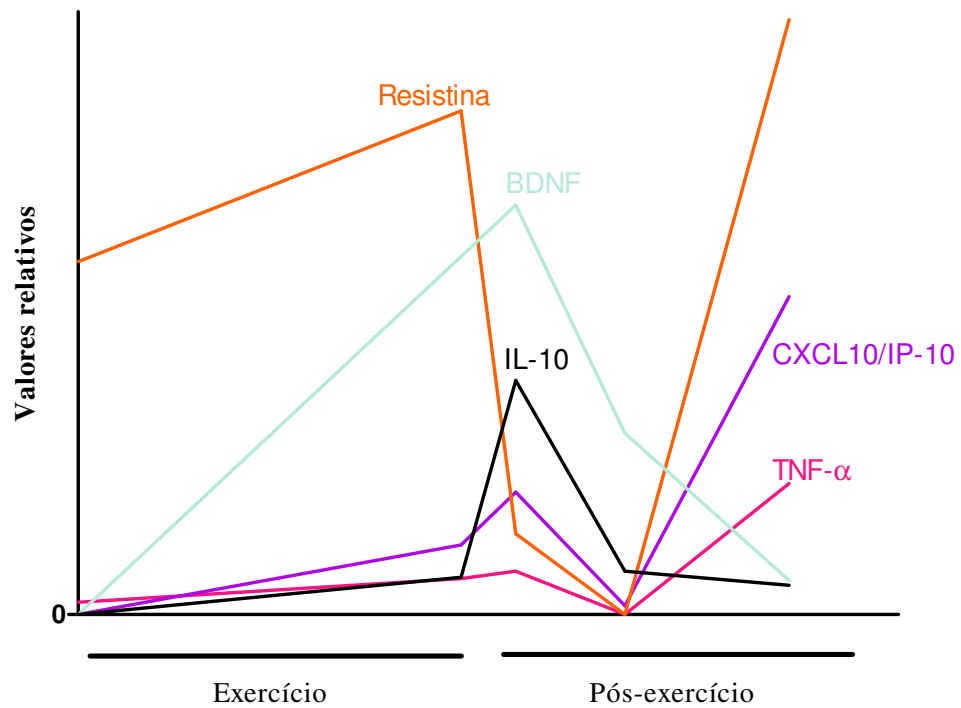
De forma geral, o exercício físico agudo (PRÉ-MFEL1) alterou as concentrações de algumas citocinas na circulação. Uma vez que, levou ao aumento das concentrações plasmáticas de IL-6, sTNFR1, CXCL10/IP-10, leptina, resistina e o BDNF constatado no término do exercício e de TNF- α , sTNFR2, IL-10, CXCL10/IP-10 e adiponectina no durante a recuperação do exercício físico. A resposta desses parâmetros ao exercício físico agudo até a fadiga (PRÉ-MFEL1), com valores normalizados, está representada na FIGURA 27. Os mediadores foram apresentados em dois gráficos, sendo que no segundo (FIGURA 27B) estão representados alguns que obtiveram variações em grandeza similar ao TNF- α . Esse aumento induzido pelo exercício agudo de IL-6, sTNFR, IL-10 (FIGURA 3, p.37) e BDNF está de acordo com o relatado, anteriormente, pela literatura (Suzuki *et al.*, 2003; Margeli *et al.*, 2005; Nieman *et al.*, 2005; Petersen & Pedersen, 2005; Rojas Vega *et al.*, 2006; Ferris *et al.*,

2007; Gustafsson *et al.*, 2009). O efeito do exercício físico agudo sobre tais parâmetros será discutido com mais detalhes.

Nos voluntários treinados ocorreram as seguintes respostas aos exercícios físicos agudos:

- 1) O exercício físico agudo com a mesma intensidade absoluta do pré-treinamento (PÓS-MFEL) gerou uma elevação menos acentuada dos seguintes marcadores: IL-6, sTNFR2, leptina e BDNF e ainda, promoveu um retorno das concentrações plasmáticas do sTNFR1 aos valores de repouso mais rápido após o exercício físico. Por outro lado, esse exercício físico induziu a elevações circulantes de TNF- α , IL-10, CXCL10/IP-10, resistina e adiponectina similares ao exercício até a fadiga do pré-treinamento (PRÉ-MFEL).
- 2) Após a realização do exercício físico agudo com a mesma intensidade relativa do pré-treinamento (PÓS-MFEL2) foram constatadas concentrações circulantes menores de sTNFR1 e de BDNF no período de recuperação após exercício físico, em relação ao pré-treinamento (PRÉ-MFEL1).

A



B

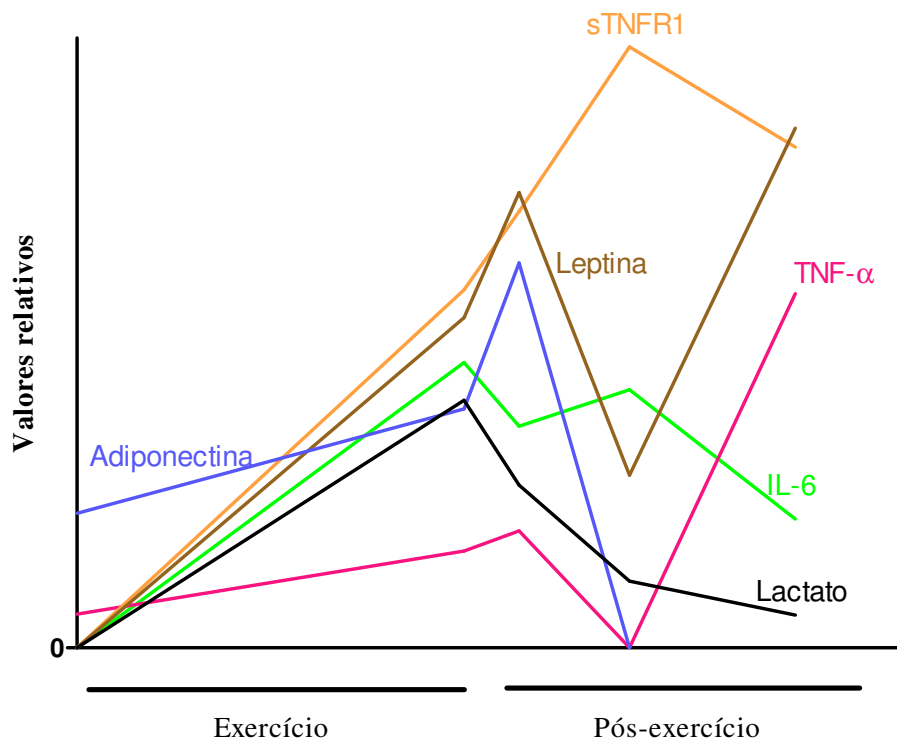


FIGURA 27. A resposta dos mediadores avaliados ao exercício físico agudo até a fadiga (PRÉ-MFEL1). Sendo: BDNF: fator neurotrófico derivado do cérebro; TNF- α : fator de necrose tumoral- α , sTNFR1: receptor solúvel do TNF, IL-6: interleucina-6, IL-10: interleucina-10, CXCL10/IP-10: proteína-10 induzível por interferon-gama.

7.3.1. Concentrações plasmáticas de repouso de citocinas, quimiocinas, adipocinas e do fator neurotrófico

No presente trabalho, após o período de treinamento aeróbio não foram observadas diferenças nas concentrações plasmáticas de repouso em relação ao pré-treinamento de nenhuma das citocinas, quimiocinas, adipocinas e do fator neurotrófico avaliados. Esses achados, provavelmente, são decorrentes do fato de todos os sujeitos envolvidos serem indivíduos saudáveis. De maneira semelhante, alguns estudos demonstraram que o exercício físico crônico não exerceu um papel modulador nas concentrações plasmáticas no repouso desses mediadores.

Com relação às adipocinas, Jurimae *et al.* (2006) não observaram modificações nas concentrações de repouso da adiponectina, após seis meses de treinamento em remadores de elite, por outro lado, as concentrações basais de adiponectina eram maiores em remadores com melhor capacidade de desempenho aeróbio do que os de menor capacidade. As concentrações de leptina de repouso na circulação são semelhantes entre sedentários e atletas, tanto nos treinamentos aeróbios (Noland *et al.*, 2001) como naqueles que executam treinamento de força (Sudi *et al.*, 2001).

Alguns estudos avaliaram o efeito do exercício físico crônico sobre a concentração de BDNF. Goekint *et al.* (2010a) e Yarrow *et al.* (2010) avaliaram a influência dos treinamentos físicos de força de 10 semanas, em indivíduos saudáveis, e observaram que o mesmo não promoveu alterações nas concentrações de BDNF no repouso. Esses dados estão em concordância com os resultados de Schiffer *et al.* (2009) que demonstraram que a concentração do BDNF no basal não é influenciada por treinamento de força em indivíduos jovens. Com relação ao treinamento aeróbio, Goekint e colaboradores (2010b) relataram que 8 semanas de treinamento não modificaram as concentrações basais de BDNF, em indivíduos jovens e sedentários.

Por outro lado, ao analisar as concentrações plasmáticas basais de alguns desses marcadores em indivíduos com alguma doença crônica foram constatadas alterações em resposta ao exercício físico crônico. Em pacientes com doenças cardiovasculares, o exercício físico diminuiu a concentração de MCP-1, IL-1 β e IL-6 e aumentou a IL-10 que tem ação anti-inflamatória (Adamopoulos *et al.*, 2001; Goldhammer *et al.*, 2005).

Em homens com síndrome metabólica, Reseland *et al.* (2001) observaram redução das concentrações de leptina, após a modificação do estilo de vida, que consistiu em restrição alimentar de lipídios e no aumento do exercício físico no período de um ano. De forma

semelhante, reduções da leptina também foram relatadas por outros estudos envolvendo indivíduos com sobrepeso ou obesidade, os quais realizaram um programa de treinamento físico, com e sem restrição dietética (Crampes *et al.*, 2003; Miyatake *et al.*, 2004; Murakami *et al.*, 2007). Com relação à adiponectina, Fatouros *et al.* (2005) constataram o aumento das concentrações dessa adipocina nos indivíduos que participaram de treinamentos de força de seis meses, em idosos. Também, foi demonstrada uma redução da produção de resistina após 16 semanas de treinamento aeróbio em pacientes com diabetes do tipo 2 (Kadoglou *et al.*, 2007).

Alguns trabalhos mostram resultados controversos em relação ao efeito do exercício físico crônico na produção basal de alguns marcadores. No estudo de Zoladz *et al.* (2008) houve aumento das concentrações plasmática de BDNF em indivíduos jovens saudáveis submetidos a um treinamento de resistência com duração de 5 semanas. O que não condiz com os resultados previamente citados dos estudos realizados também em indivíduos saudáveis. No que diz respeito, ao treinamento físico em indivíduos com patologias, observou-se que um programa de exercícios físicos com três semanas de duração, em pacientes com diabetes tipo 2, não alterou a concentração de adiponectina apesar de melhorar a ação da insulina (Hulver *et al.*, 2002). Além disso, um treinamento de oito semanas, com diferentes intensidades, em homens de meia idade com diabetes tipo 2, não afetou as concentrações de adiponectina (Boudou *et al.*, 2003). Esses resultados contrapõem com os trabalhos relatados anteriormente, no que diz respeito aos efeitos do exercício físico crônico nesses parâmetros nos voluntários com algum processo que envolva uma inflamação sistêmica de baixo grau.

Diante desses resultados aparentemente conflitantes, é plausível sugerir que essas alterações controversas, nas concentrações de mediadores em resposta ao exercício físico crônico, sejam devidas à utilização de protocolos de treinamento físico diferentes em cada estudo. Como observado por Sloan *et al.* (2007), os quais demonstraram que o treinamento aeróbio de alta intensidade atenuou a produção de TNF- α induzida por LPS em indivíduos saudáveis. Entretanto, o mesmo estudo não detectou alteração na liberação de TNF- α quando o treinamento aeróbio realizado foi de intensidade moderada.

Em conjunto, os resultados descritos no presente estudo, para as concentrações no repouso de tais parâmetros, e os dados da literatura sugerem que as peculiaridades da população em teste (como: saudáveis ou presença de doenças crônicas) e os programas de treinamentos físicos administrados são fatores relevantes na determinação das alterações nas concentrações de repouso dos marcadores imunológicos, cuja modulação pode ou não ser

afetada pelo exercício físico crônico. Desse modo, as seis semanas de treinamento aeróbio não promoveram alterações nas concentrações basais de tais citocinas avaliadas, visto que os indivíduos eram jovens, saudáveis e fisicamente ativos.

7.3.2. Interleucina-6

Neste trabalho houve aumento das concentrações plasmáticas de IL-6, constatado, no momento do término do exercício físico até a fadiga (PRÉ-MFEL1). Esse resultado é compatível com os dados da literatura, visto que a interleucina-6 está presente na circulação durante e/ou no momento do término da realização de exercícios físicos agudos (Ostrowski *et al.*, 1998; Ostrowski *et al.*, 1999; Suzuki *et al.*, 2003; Margeli *et al.*, 2005). Pedersen & Febbraio (2008) sugerem que a IL-6 produzida no músculo esquelético durante o exercício físico agudo atue na ativação da AMPK, para aumentar a oxidação de gordura e da captação de glicose nas fibras musculares. E que, dessa forma, a produção muscular de IL-6 seja modulada pelos estoques de glicogênio no tecido envolvido na contração.

Na realização do exercício físico agudo, o músculo não treinado é dependente do glicogênio como substrato. Por outro lado, o treinamento aeróbio leva ao aumento das enzimas da oxidação (Schantz *et al.*, 1983) e o aumento da oxidação de triglicérides intramusculares (Phillips *et al.*, 1996) e, portanto, uma capacidade aumentada de oxidar gordura e utilizá-la como um substrato durante o exercício físico (Holloszy & Booth, 1976; Saltin & Ropoço, 1980). Além disso, o treinamento aeróbio promove o aumento do conteúdo de glicogênio muscular (Schantz *et al.*, 1983). Assim, o músculo esquelético treinado é menos dependente da glicose plasmática e do glicogênio muscular como substrato durante o exercício físico (Phillips *et al.*, 1996).

Além disso, a IL-6 é uma citocina com ações pró-inflamatórias. E essa pode ser produzida pelo tecido muscular em resposta ao exercício físico agudo (Penkowa *et al.*, 2003; Hiscock *et al.*, 2004). Assim, uma hipótese é de que essa citocina na circulação induzida pela contração muscular poderia ativar vias que promovam o crescimento e a diferenciação de células B e T, gerando um processo inflamatório (Abbas & Lichtman, 2005).

Diante dos conhecimentos em relação à adaptação ao treinamento aeróbio e as possíveis ações da IL-6 produzida pelo músculo esquelético, há a hipótese de que a resposta

plasmática de IL-6 induzida pelo exercício físico agudo seja menor em indivíduos treinados em comparação com indivíduos sedentários (Pedersen & Febbraio, 2008).

No presente trabalho foi observado no PÓS-MFEL1 um menor aumento de IL-6 em relação ao PRÉ-MFEL1. Isso se deve, provavelmente, ao fato dos voluntários estarem treinados aerobicamente, com o aumento do VO_{2MAX} , da potência máxima e da intensidade correspondente a MFEL. Assim, o exercício físico agudo nesse estágio representou uma menor intensidade relativa em comparação com o PRÉ-MFEL1 e, possivelmente, promoveu um menor estímulo inflamatório e/ou gerou uma menor necessidade de consumo de glicogênio muscular. Em decorrência disso, uma menor concentração de IL-6 foi detectada na circulação em relação aos valores pré-treinamento. Isso pode ser confirmado, com o PÓS-MFEL2, o qual representou a mesma intensidade relativa e aumento de IL-6 similares ao PRÉ-MFEL1. Logo, nossos resultados sugerem que o treinamento aeróbio promove adaptações no organismo que refletem em uma atenuação do estímulo para a produção de IL-6 induzida pelo exercício físico agudo à mesma intensidade absoluta do pré-treinamento. Em outras palavras, há uma menor concentração plasmática de IL-6 observada no PÓS-MFEL1, porém não houve modificação no PÓS-MFEL2.

De maneira semelhante, Fisher e colaboradores (2004) observaram a mesma concentração plasmática de IL-6 induzida pelo exercício físico agudo de mesma intensidade relativa antes e após treinamento aeróbio. Devido às adaptações promovidas por um treinamento aeróbio, a intensidade absoluta do exercício físico agudo foi 44% maior no pós-treinamento em relação à intensidade pré-treinamento. Entretanto o aumento de IL-6 induzido pelo exercício físico foi semelhante no pré e pós-treinamento (exercícios com a mesma intensidade relativa), como no presente estudo no PRÉ-MFEL1 e PÓS-MFEL2.

7.3.2.1. Correlações entre IL-6 e a duração e intensidade dos exercícios físicos na MFEL

Neste estudo foi observada uma correlação positiva entre a concentração plasmática de IL-6 e a duração dos exercícios físicos na intensidade da MFEL realizados antes e depois do treinamento aeróbio. Em concordância com esses resultados, dados da literatura demonstram que a magnitude do aumento de IL-6 circulante em resposta ao exercício físico agudo é dependente da duração do exercício físico (Petersen & Pedersen, 2005; Fischer, 2006; Pedersen & Febbraio, 2008).

De acordo com a literatura, o aumento das concentrações de IL-6 também é influenciado pela intensidade do exercício físico agudo (Ostrowski *et al.*, 2000). A contração da musculatura esquelética *per se* é um processo que altera a concentração plasmática de IL-6 (Steensberg *et al.*, 2000; Fischer *et al.*, 2004; Pedersen & Febbraio, 2008). Logo, as concentrações dessa citocina dependem também da massa muscular exercitada. Por exemplo, exercícios físicos realizados com grupo musculares menores podem ser insuficientes para induzir um aumento significativo na produção plasmática de IL-6 (Nosaka & Clarkson, 1996; Hirose *et al.*, 2004; Pedersen & Febbraio, 2008). Por outro lado, a corrida, que envolve grupos musculares grandes, é uma modalidade de exercício físico que gera aumentos de IL-6 circulante (Fischer, 2006; Pedersen & Febbraio, 2008).

No presente trabalho, depois do período de seis semanas de treinamento aeróbio foi observado que no exercício físico agudo realizado a uma intensidade relativa menor (PÓS-MFEL1) que ao pré-treinamento (PRÉ-MFEL1) ocorreu um menor aumento da IL-6 na circulação em relação ao pré-treinamento. Desse modo, a intensidade do exercício físico agudo parece influenciar nas alterações das concentrações de IL-6 plasmático induzidas por exercício, uma vez que a duração dos exercícios foi a mesma. De forma semelhante, Edwards e colaboradores (2006) demonstraram diferenças entre as concentrações circulantes de IL-6 no exercício físico máximo em relação ao submáximo, ambos de duração de 45min. Houve um aumento de IL-6 no momento do término do teste para o exercício físico máximo, entretanto, no submáximo o aumento ocorreu a partir dos 30min do período de recuperação pós-exercício. Por outro lado, os resultados apresentados no presente estudo demonstram uma correlação negativa entre as concentrações plasmáticas de IL-6 e a intensidade do exercício físico até a fadiga.

Inversamente aos nossos resultados, Ostrowski *et al.* (2000) demonstraram uma correlação positiva entre a intensidade da corrida e a concentração de IL-6 imediatamente após a maratona e, em contrapartida, foi observada uma correlação negativa entre o pico da concentração de IL-6 e o tempo de corrida. Cabe ressaltar que, um exercício físico de alta intensidade está frequentemente associado com menor duração e vice versa (Fischer, 2006). O que poderia explicar, a correlação positiva com a duração e a negativa com a intensidade do exercício físico do presente estudo e os resultados de Ostrowski *et al.* (2000).

Neste trabalho, a intensidade foi padronizada pela MFEL, ou seja, todos os exercícios físicos foram realizados pelos voluntários na intensidade correspondente a MFEL - logo, o aspecto variável que foi fundamental para influenciar a concentração de IL-6 foi a duração dos exercícios físicos. Consequentemente, a duração do exercício teve relação positiva com as

concentrações da citocina em questão. De fato, Fischer (2006) demonstrou que mais de 50% da variação da concentração de IL-6 na circulação após o exercício físico agudo pode ser explicada pela duração do mesmo.

7.3.3. TNF- α e IL- β

No que diz respeito às outras citocinas pró- inflamatórias avaliadas, foi demonstrado o aumento de TNF- α no período de recuperação (60min após o término do exercício) nos exercícios físicos agudos antes e após o treinamento aeróbio. Esses resultados concordam com os dados da literatura, visto que outros trabalhos relataram aumentos discretos de TNF- α após exercícios físicos extenuantes. Os exercícios físicos prolongados como a maratona resultam em um pequeno aumento no TNF plasmático (Bruunsgaard *et al.*, 1997; Suzuki *et al.*, 2000).

Além de seu papel pró-inflamatório, o TNF- α induz a lipólise no tecido adiposo e aumento da liberação de ácidos graxos, e promove resistência a insulina (Bruunsgaard, 2005). Dessa forma, o TNF- α reduz vias anabólicas e aumenta substrato energético lipídico para o músculo e fígado. Desse modo, esse mediador poderia contribuir com o balanço energético no pós-exercício, uma vez que, o metabolismo no período de recuperação no pós-exercício físico continua elevado por vários minutos. Isso ocorre em decorrência do consumo de oxigênio que permanece aumentado no período de recuperação. A intensidade do exercício físico agudo determina a magnitude e o tempo em que ocorre esse metabolismo no pós-exercício, visto que o exercício físico de maior intensidade representa uma maior EPOC (consumo de oxigênio em excesso após exercício) (Powers & Howley, 2000). Relata-se que na porção rápida do EPOC, parte do oxigênio consumido pode ser utilizado para repor a creatina fosfato no músculo e os estoques de oxihemoglobina e oximioglobina. E que a parte lenta seria para a conversão de ácido láctico em glicose. Além do aumento no metabolismo dos ácidos graxos (Powers & Howley, 2000; Castinheiras Neto & Farinatti, 2009). Portanto, o TNF- α induzido pelo exercício físico agudo poderia atuar com ações imunológicas e/ou metabólicas.

Já as concentrações de IL- β não foram alteradas após os exercícios físicos agudos, antes e após o treinamento aeróbio. Por outro lado, Ostrowski *et al.* (1999) e Nieman *et al.* (2001) constataram alterações nas concentrações de IL- β após exercício físico agudo. Essas diferenças podem ser em decorrência de protocolos de exercício físico agudo e crônico diferentes.

7.3.4. Mediadores anti-inflamatórios: sTNFR e IL-10

Com relação aos mediadores anti-inflamatórios, após o exercício físico agudo no PRÉ-MFEL1 foram observadas concentrações plasmáticas elevadas de sTNFR e IL-10. Como já descrito, o exercício físico agudo induz ao aumento de fatores com propriedades anti-inflamatórias, como o sTNFR1 e IL-10 (Ostrowski *et al.*, 1999; Toft *et al.*, 2002; Petersen & Pedersen, 2005). Ostrowski *et al.* (1999) constataram o aumento de sTNFR e de IL-10 no término do exercício e Drenth *et al.* (1998) detectaram um aumento de sTNFR no momento do término de 5km de corrida (com um aumento maior de sTNFRp55 do que sTNFRp75).

Têm-se atribuído, também, à IL-6 ações anti-inflamatórias (Wilund, 2007). Essas incluem: a inibição da produção de TNF- α em resposta a estímulos pró-inflamatórias, como a endotoxina (Starkie *et al.*, 2003) e estimula a produção de citocinas anti-inflamatórias, como a IL-10 e sTNFRs *in vitro* e em modelos animais (Petersen & Pedersen, 2005). Além disso, a literatura relata que após o exercício físico agudo, as concentrações circulantes de IL-6 são seguidas de um aumento de IL-1ra e IL-10 (Steensberg *et al.*, 2003; Pedersen & Fischer, 2007) e, como já assinalado, há a hipótese de que o aumento dessas citocinas, após a realização de exercícios físicos agudos, poderia ser induzido por IL-6 (Steensberg *et al.*, 2003). Em concordância com os dados da literatura, nossos resultados demonstram que há um aumento de IL-6 ao término do exercício seguido de um aumento de IL-10 e sTNFR1 e R2 no período de recuperação.

Entretanto, após o treinamento aeróbio, o incremento de IL-10 no PÓS-MFEL1 não foi proporcional ao aumento de IL-6 nessa etapa. No PÓS-MFEL1 houve um menor aumento de IL-6 em relação ao PRÉ-MFEL1, logo, seria esperado um menor aumento de IL-10. Porém, a concentração dessa citocina foi semelhante nas duas etapas, ou seja, ao realizar um exercício físico agudo com a intensidade relativa menor (PÓS-MFEL1 em relação ao PRÉ-

MFEL1), o indivíduo treinado apresentou uma concentração plasmática de IL-10 semelhante àquela detectada quando ele executou o exercício físico até a fadiga (PRÉ-MFEL1).

Por outro lado, além da IL-6 outros mediadores pró-inflamatórios podem estar elevados em decorrência do exercício físico agudo, tanto antes quanto depois do treinamento aeróbio. O que promoveria o posterior aumento de fatores anti-inflamatórios em prol de contrabalancear o aumento de fatores pró-inflamatórios, mantendo a homeostase.

7.3.5. Quimiocinas

Algumas quimiocinas, também, foram avaliadas no presente estudo. A elevação das concentrações circulantes de CXCL10/IP-10 foi observada no momento do término e nos 60min da recuperação dos exercícios físicos agudos, tanto antes quanto após o treinamento aeróbio. Durante a realização de exercícios físicos agudos, há leucocitose na circulação (Nieman *et al.*, 1998a; Robson *et al.*, 1999; Chinda *et al.*, 2003; Suzuki *et al.*, 2003), o que poderia contribuir para o aumento dessa quimiocina. Além disso, foi observado o aumento das concentrações plasmáticas de CCL2/MCP-1 nos 60min da recuperação nos exercícios físicos agudos realizados depois do período do treinamento.

No presente trabalho, não foi observada alteração na concentração plasmática de IL-8 após os exercícios físicos nas intensidades da MFEL quando comparada com os valores pré-exercícios. Semelhantemente, Frydelund-Larsen *et al.* (2007) demonstraram que após exercício físico concêntrico não houve alteração nas concentrações plasmáticas de IL-8. Esses pesquisadores avaliaram a expressão do receptor de IL-8: CXCR2 em tecido muscular esquelético humano (vasto lateral da coxa) em voluntários saudáveis após exercício físico em cicloergômetro com duração de 3h. Esse estudo demonstrou que o exercício físico concêntrico induz a expressão de RNAm CXCR2 nas células endoteliais vasculares das fibras musculares, mas a concentração plasmática de IL-8 permaneceu constante. Sugerindo que a IL-8 derivada da musculatura age localmente para estimular a angiogênese por meio da sinalização do receptor CXCR2.

Outros estudos também demonstraram que os exercícios físicos concêntricos de intensidade moderada em cicloergômetro (Chan *et al.*, 2004) ou remo (Henson *et al.*, 2000), não aumenta a concentração plasmática de IL-8. Por outro lado, a concentração plasmática de IL-8 aumenta em resposta ao exercício físico que envolve contrações musculares excêntricas

(Ostrowski *et al.*, 2001; Nieman *et al.*, 2003), sugerindo o envolvimento dessa quimiocina em um processo inflamatório. Portanto, a expressão local de IL-8 em um músculo que contrai em resposta ao exercício físico agudo, parece ser um estímulo para a angiogênese. E o não aumento dessa quimiocina na circulação pode indicar a não indução de efeitos imunológicos sistêmicos (Frydelund-Larsen *et al.*, 2007).

7.3.6. Leptina, resistina e adiponectina

No presente estudo, o exercício físico agudo promoveu o aumento das concentrações plasmáticas de leptina observado no término dos exercícios físicos realizados nas intensidades da MFEL, tanto antes quanto após o treinamento aeróbio. Fisher *et al.* (2001), também, constataram o aumento das concentrações de leptina circulantes após exercício físico agudo em cicloergômetro em indivíduos jovens. Entretanto, a literatura apresenta resultados contraditórios com relação à resposta da leptina ao exercício físico agudo. Alguns estudos não verificaram alterações nas concentrações plasmáticas de leptina após exercício físico agudo (Perusse *et al.*, 1997; Leal-Cerro *et al.*, 1998; Zoladz *et al.*, 2005; Varady *et al.*, 2010). A leptina parece ser alterada em exercícios físicos agudos de baixa a moderada intensidade, somente se esses forem de longa duração (McMurray & Hackney, 2005). Além disso, autores constataram que as concentrações na circulação de leptina são diminuídas apenas 9 e 48h após o término dos exercícios agudos em homens fisicamente ativos (Olive & Miller, 2001; Nindl *et al.*, 2002). Portanto, até o presente não existem resultados conclusivos sobre os efeitos do exercício físico agudo sobre as concentrações plasmáticas de leptina em humanos.

A leptina atua no metabolismo, ativando a AMPK no músculo (Minokoshi *et al.*, 2002; Minokoshi & Kahn, 2003) e no sistema imunológico com ações pró-inflamatórias (Fantuzzi, 2005). O que gera a hipótese do envolvimento da leptina em um processo metabólico e inflamatório, visto que foi observado o aumento das concentrações dessa adipocina na circulação após a execução dos exercícios físicos nas MFEL, juntamente com a IL-6, CXCL10/IP-10, resistina e o BDNF.

Como já abordado, houve o aumento das concentrações de resistina, com ações pró-inflamatórias, detectado no momento do término dos exercícios físicos na intensidade da MFEL. Posteriormente, ocorreu uma redução da resistina no período da recuperação, coincidindo com o aumento da adiponectina, uma citocina com papéis anti-inflamatórios e

que pode ter aumentado para contrabalançar o aumento de fatores pró-inflamatórios. Diferentemente, Varady e colaboradores (2010) observaram redução das concentrações de resistina, e Jamurtas *et al.* (2006) relataram que a resistina não é alterada por únicas sessões de exercício físico. Com relação à adiponectina, foi observado o aumento de suas concentrações plasmáticas no período da recuperação após a realização de exercício físico agudo. De forma semelhante ao presente trabalho, Jurimae *et al.* (2005) investigaram a resposta das concentrações de adiponectina após exercício agudo, em remadores treinados, e verificaram aumentos significativos depois de 0,5h de recuperação. Entretanto, outros estudos demonstraram nenhum efeito do exercício físico agudo sobre as concentrações de adiponectina em indivíduos saudáveis (Kraemer *et al.*, 2003; Ferguson *et al.*, 2004; Punyadeera *et al.*, 2005). Yatagai e colaboradores (2003) constataram uma diminuição das concentrações de adiponectina circulantes em relação aos valores de repouso, após 16h da última sessão de exercício retornando aos valores basais após uma semana do treinamento.

A adiponectina elevou no momento de queda da resistina, o que poderia representar um estímulo para oxidação lipídica e melhora da sensibilidade à insulina no músculo e no fígado e estímulo da captação de glicose no músculo. O que contribuiria com a reposição de energia no período de recuperação do exercício físico agudo (Rabe *et al.*, 2008). De modo semelhante, Varady *et al.* (2010) observaram que, no grupo treinado, ocorreu a diminuição de resistina e aumento da adiponectina após uma sessão de exercício físico de força.

7.3.7. BDNF

Neste estudo foram observadas elevadas concentrações plasmáticas de BDNF no término do exercício físico agudo, na intensidade da MFEL no pré-treinamento (PRÉ-MFEL1). Nossos dados estão em concordância com os trabalhos que avaliaram a concentração sérica desse mediador após a realização do exercício físico agudo, visto que demonstraram um aumento das concentrações circulantes de BDNF seguido por um rápido retorno aos valores basais no período de recuperação (Rojas Vega *et al.*, 2006; Ferris *et al.*, 2007; Gustafsson *et al.*, 2009).

Ainda não foram esclarecidos os exatos efeitos metabólicos, neurobiológicos e imunológicos resultantes desse aumento transitório do BDNF na circulação induzido pelo exercício físico agudo. Por outro lado, há evidências de que o exercício físico preserva a

função cerebral pela proteção neuronal e aprimoramento da neuroplasticidade (Cotman & Berchtold, 2002). Estudos em animais demonstraram aumento BDNF e outros fatores neurotróficos no cérebro e em outras áreas do sistema nervoso central após o exercício (Cotman & Engesser-Cesar, 2002; Neeper *et al.*, 1995; Neeper *et al.*, 1996). Cotman & Berchtold (2002) constataram que a produção de neurotrofina induzida pelo exercício não se restringe às áreas sensório-motores do SNC. A maior expressão de RNAm de BDNF foi detectada em áreas do hipocampo, tendo associação com as funções cognitivas em ratos após exercício físico voluntário durante vários dias (Neeper *et al.*, 1995). O aumento de BDNF foi mais intenso e duradouro que das outras neurotrofinas. Tais achados sugerem que o BDNF é um mediador dos benefícios promovidos pelo exercício físico. Assim, é possível que o aumento agudo e transitório das concentrações plasmáticas de BDNF, observado no presente estudo, possa contribuir para a melhoria da plasticidade sináptica, das funções cognitivas (van Praag *et al.*, 1999; Vaynman *et al.*, 2004) e do desempenho durante o exercício físico (Rhodes *et al.*, 2003).

Nossos achados sugerem que o treinamento aeróbio tem um efeito modulador sobre a produção de BDNF. No PRÉ-MFEL1 houve aumento das concentrações plasmáticas de BDNF. Já as elevações das concentrações circulantes de BDNF no PÓS-MFEL1 foi menos intenso que aquele detectado no PRÉ-MFEL1. Nessa fase, o exercício físico agudo realizado não alcançou a fadiga. Logo, nossos dados demonstram que a produção de BDNF é induzida pelo exercício mesmo quando não é alcançada a fadiga. Ademais, o exercício físico até a fadiga realizado com a mesma intensidade relativa (PÓS-MFEL2) do pré-treinamento induziu a um aumento das concentrações plasmáticas de BDNF similares do PRÉ-MFEL1, entretanto os valores de BDNF na fase de recuperação foram menores no PÓS-MFEL2 em relação ao pré-treinamento (PRÉ-MFEL1). Portanto, o exercício físico crônico teve um efeito modulador sobre o retorno das concentrações de BDNF aos valores de repouso.

Diferentes resultados foram relatados em um estudo anterior, entretanto tais diferenças podem estar relacionadas com o protocolo de exercício agudo e treinamento físico utilizados. Yarrow *et al.* (2010) demonstraram um aumento mais intenso de BDNF (após exercício físico agudo de força) em indivíduos treinados em relação à concentração de BDNF detectada antes do treinamento. Enquanto, nesse estudo, foi realizado um protocolo de treinamento de força, o presente trabalho utilizou um treinamento aeróbio.

Finalmente, não foi observado correlação entre a concentração plasmática de BDNF e o consumo máximo de oxigênio. Por outro lado, Jung *et al.* (2011) e Currie *et al.* (2009) constataram uma relação inversa entre o BDNF sérico e o VO_{2MAX} . Esses autores sugeriram

que as concentrações mais baixas de BDNF poderiam estar relacionadas à melhora do condicionamento cardio-respiratório em humanos saudáveis. Do mesmo modo, alguns estudos demonstraram uma relação inversa entre o desempenho físico e concentração de BDNF no sangue (Chan *et al.*, 2008; Currie *et al.*, 2009; Nofuji *et al.*, 2008). Nofuji *et al.* (2008) demonstraram uma relação inversa entre a concentração sérica do BDNF e o exercício físico diária, determinada pela contagem de passos e gasto energético. Chan *et al.* (2008) detectaram uma concentração baixa de BDNF em um grupo fisicamente ativo quando comparado a indivíduos sedentários. A ausência de correlação entre tais parâmetros no presente estudo não é clara. O treinamento aeróbio de seis semanas promoveu aumento do VO_{2MAX} de repouso, porém não modificou as concentrações plasmáticas no repouso do BDNF, o que poderia justificar a ausência de tal relação.

As ações do BDNF circulante no exercício físico não são totalmente compreendidas, mas essa neurotrofina parece estar envolvida em algumas condições psiquiátricas e em ações neuroprotetoras (Nakazato *et al.*, 2003; Lang *et al.*, 2004; Groves, 2007; Lang *et al.*, 2007; Martinowich *et al.*, 2007; Ehrlich *et al.*, 2009; Diniz *et al.*, 2010; Scalzo *et al.*, 2010), e potencialmente apresenta funções imunológicas (Ejiri *et al.*, 2005; Yang *et al.*, 2006; Makar *et al.*, 2008). Ferris e colaboradores (2007) relataram que os aumentos transitórios do BDNF em resposta ao exercício físico agudo são, possivelmente, o principal mecanismo responsável pela relação entre exercício físico e saúde neural. Além disso, tem sido relatado que as concentrações circulantes de BDNF apresentam-se reduzidas em algumas doenças que possuem relação com a inflamação sistêmica de baixo grau, como as doenças cardiovasculares (Pedersen *et al.*, 2009). Tais condições são positivamente afetadas pelo exercício físico regular e há trabalhos demonstrando que o exercício físico modula o BDNF (Widenfalk *et al.*, 1999; Cotman & Berchtold, 2002; Gold *et al.*, 2003; Rojas Vega *et al.*, 2006; Tang *et al.*, 2008). Assim, sugerimos que a ação moduladora do treinamento aeróbio sobre as concentrações de BDNF induzidas por exercício físico agudo, observada no presente estudo, poderia estar associada ao efeito protetor do exercício físico regular sobre os componentes inflamatórios nas doenças cardiovasculares.

8. RESULTADOS PRINCIPAIS E CONCLUSÕES

- O treinamento aeróbio de seis semanas utilizado foi eficaz, visto que aumentou o VO_{2MAX} e a intensidade de exercício físico na MFEL;
- O treinamento aeróbio, o período de seis semanas, em indivíduos jovens, saudáveis e fisicamente ativos, não foi capaz de alterar as concentrações circulantes de células T reguladoras, células T ativadas e células NK; e nem as concentrações plasmáticas de repouso dos mediadores avaliados. Sugerindo que em indivíduos com tais características, o treinamento aeróbio utilizado não seria traduzido em melhora da função imune do ponto de vista da regulação.
- O exercício físico agudo na intensidade da MFEL foi capaz de alterar as concentrações circulantes das citocinas, corroborando com os dados da literatura, visto que promoveu o aumento das concentrações plasmáticas de IL-6, sTNFR1, CXCL10/IP-10, leptina, resistina e o BDNF detectado no momento do término do exercício e de TNF- α , sTNFR2, IL-10, CXCL10/IP-10 e adiponectina no momento de recuperação do exercício. Desse modo, o exercício físico agudo utilizado é um estímulo inflamatório. O aumento de IL-6 constatado após uma sessão de exercício físico agudo na intensidade da MFEL é influenciada pela duração do mesmo.
- Após o treinamento aeróbio e em indivíduos que foram retestados, com a mesma intensidade absoluta e duração de MFEL (MFEL1) ou para o novo valor de intensidade absoluta (MFEL2), notamos as seguintes respostas aos exercícios físicos agudos:
 - 1) PÓS-MFEL1: O treinamento aeróbio promoveu um aumento menor de IL-6, sTNFR2, leptina e BDNF e uma redução mais rápida do sTNFR1 no término do exercício físico com a mesma intensidade absoluta do pré-treinamento, sugerindo que para esses parâmetros avaliados há treinamento. Já as elevações das concentrações de TNF- α , IL-10, CXCL10/IP-10, resistina e adiponectina induzido pelo exercício físico agudo foram similares ao pré-treinamento, logo os aumentos desses mediadores ocorrem mesmo quando a fadiga não foi alcançada.
 - Essas respostas diferentes, após treinamento aeróbio, sugerem que existe um controle fino na produção de citocinas, quimiocinas e adipocinas durante o exercício físico agudo e que, possivelmente, esses parâmetros liberados em menor esforço agudo (PÓS-MFEL1) em relação ao pré-treinamento, possam ter papel fisiológico dominante.

- 2) PÓS-MFEL2: Na fase de recuperação, o treinamento aeróbio resultou em concentrações menores de sTNFR1 e de BDNF após exercício físico agudo com a mesma intensidade relativa do pré-treinamento. Demonstrando que, o sTNFR1 e o BDNF foram os únicos mediadores avaliados que foram influenciados pelo treinamento de seis semanas no exercício físico agudo com esforço relativo similar ao pré-treinamento.

9. CONCLUSÃO GERAL

O exercício físico agudo na MFEL é um estímulo inflamatório, visto que induziu a produção de mediadores pró e anti-inflamatórios. O treinamento aeróbio de seis semanas reduz essa resposta para apenas alguns dos mediadores avaliados. Além disso, o treinamento aeróbio não modifica o número de leucócitos circulantes, no repouso, em indivíduos jovens e saudáveis.

10. REFERÊNCIAS

- Abbas, A.; Lichtman, A. (2005). *Imunologia Celular e Molecular*. 5ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier.
- Abbott, R.D.; White, L.R.; Ross, G.W.; Masaki, K.H.; Curb, J.D.; Petrovitch, H. (2004). Walking and dementia in physically capable elderly men. *Jama* 292, 1447-1453.
- Acheson, A.; Barde, Y.A.; Thoenen, H. (1987). High K⁺-mediated survival of spinal sensory neurons depends on developmental stage. *Exp Cell Res* 170, 56-63.
- ACSM - American College of Sports Medicine (1996). *Manual para teste de esforço e prescrição de exercício*. 4ª ed. Rio de Janeiro: Revinter.
- Adamopoulos, S.; Parissis, J.; Kroupis, C.; Georgiadis, M.; Karatzas, D.; Karavolias, G.; Koniavitou, K.; Coats, A.J.; Kremastinos, D.T. (2001). Physical training reduces peripheral markers of inflammation in patients with chronic heart failure. *Eur Heart J* 22, 791-797.
- Adhihetty, P.J.; Irrcher, I.; Joseph, A.M.; Ljubicic, V.; Hood, D.A. (2003). Plasticity of skeletal muscle mitochondria in response to contractile activity. *Exp Physiol* 88, 99-107.
- Akerstrom, T.; Steensberg, A.; Keller, P.; Keller, C.; Penkowa, M.; Pedersen, B.K. (2005). Exercise induces interleukin-8 expression in human skeletal muscle. *J Physiol* 563, 507-516.
- Akira, S.; Taga, T.; Kishimoto, T. (1993). Interleukin-6 in biology and medicine. *Adv Immunol* 54, 1-78.
- Akiyama, H.; Barger, S.; Barnum, S.; Bradt, B.; Bauer, J.; Cole, G.M.; Cooper, N.R.; Eikelenboom, P.; Emmerling, M.; Fiebich, B.L.; *et al.* (2000). Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 21, 383-421.
- Alessandri A.L.; Souza A.L.; Oliveira S.C.; Macedo G.C.; Teixeira M.M.; Teixeira A.L. (2006). Concentrations of CXCL8, CXCL9 and sTNF α 1 in plasma of patients with pulmonary tuberculosis undergoing treatment. *Inflamm Res* 55, 528-533.
- Al-Khalili, L.; Bouzakri, K.; Glund, S.; Lonqvist, F.; Koistinen, H.A.; Krook, A. (2006). Signaling specificity of interleukin-6 action on glucose and lipid metabolism in skeletal muscle. *Mol Endocrinol* 20, 3364-3375.
- Al-Lamki, R.S.; Wang, J.; Skepper, J.N.; Thiru, S.; Pober, J.S.; Bradley, J.R. (2001). Expression of tumor necrosis factor receptors in normal kidney and rejecting renal transplants. *Lab Invest* 81, 1503-1515.
- Allsop, P.; Peters, A.M.; Arnot, R.N.; Stuttle, A.W.; Deenmamode, M.; Gwilliam, M.E.; Myers, M.J.; Hall, G.M. (1992). Intrasplenic blood cell kinetics in man before and after brief maximal exercise. *Clin Sci (Lond)* 83, 47-54.
- Andersen, P.; Henriksson, J. (1977). Training induced changes in the subgroups of human type II skeletal muscle fibres. *Acta Physiol Scand* 99, 123-125.

Angelis, P.; Scharf, S.; Mander, A.; Vajda, F.; Christophidis, N. (1998). Serum interleukin-6 and interleukin-6 soluble receptor in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 244, 106-108.

Armstrong, L.E. (2000). *Performing in Extreme Environments*. USA: Human Kinetics Publishers.

Baj, Z.; Kantorski, J.; Majewska, E.; Zeman, K., Pokoca, L.; Fornalczyk, E.; Tchorzewski, H.; Sulowska, Z.; Lewicki, R. (1994). Immunological status of competitive cyclists before and after the training season. *Int J Sports Med* 15, 319-324.

Beneke, R. (2003). Methodological aspects of maximal lactate steady state-implications for performance testing. *Eur J Appl Physiol* 89, 95-99.

Benitez, S.; Sanchez-Quesada, J.L.; Lucero, L.; Arcelus, R.; Ribas, V.; Jorba, O.; Castellvi, A.; Alonso, E.; Blanco-Vaca, F.; Ordonez-Llanos, J. (2002). Changes in low-density lipoprotein electronegativity and oxidizability after aerobic exercise are related to the increase in associated non-esterified fatty acids. *Atherosclerosis* 160, 223-232.

Biasucci, L.M.; Vitelli, A.; Liuzzo, G.; Altamura, S.; Caligiuri, G.; Monaco, C.; Rebuzzi, A. G.; Ciliberto, G.; Maseri, A. (1996). Elevated levels of interleukin-6 in unstable angina. *Circulation* 94, 874-877.

Bieger, W.P.; Weiss, M.; Michel, G.; Weicker, H. (1980). Exercise-Induced Monocytosis and Modulation of Monocyte Function. *Int J Sports Med* 1, 30-36.

Billat, V.L.; Sirvent, P.; Py, G.; Koralsztejn, J.P.; Mercier, J. (2003). The concept of maximal lactate steady state: a bridge between biochemistry, physiology and sport science. *Sports Med* 33, 407-426.

Blair, S.N.; Cheng, Y.; Holder, J.S. (2001). Is physical activity or physical fitness more important in defining health benefits? *Med Sci Sports Exerc* 33, S379-399; discussion S419-320.

Blannin, A.K. (2006). *Acute exercise and innate immune function*. In: Gleeson, M. *Immune function in sport and exercise*. 1^a ed. Philadelphia: Elsevier.

Blannin, A.K.; Chatwin, L.J.; Cave, R.; Gleeson, M. (1996). Effects of submaximal cycling and long-term endurance training on neutrophil phagocytic activity in middle aged men. *Br J Sports Med* 30, 125-129.

Bonaccorso, S.; Lin, A.; Song, C.; Verkerk, R.; Kenis, G.; Bosmans, E.; Scharpe, S.; Vandewoude, M.; Dossche, A.; Maes, M. (1998). Serotonin-immune interactions in elderly volunteers and in patients with Alzheimer's disease (DAT): lower plasma tryptophan availability to the brain in the elderly and increased serum interleukin-6 in DAT. *Aging (Milano)* 10, 316-323.

Borg, G.A. (1982). Psychophysical bases of perceived exertion. *Med Sci Sports Exerc* 14, 377-381.

Borish, L.C.; Steinke, J.W. (2003). 2. Cytokines and chemokines. *J Allergy Clin Immunol* 111, S460-475.

Bouchard, C.; Rankinen, T. (2001). Individual differences in response to regular physical activity. *Med Sci Sports Exerc* 33, S446-451; discussion S452-443.

Boudou, P.; Sobngwi, E.; Mauvais-Jarvis, F.; Vexiau, P.; Gautier, J.F. (2003). Absence of exercise-induced variations in adiponectin levels despite decreased abdominal adiposity and improved insulin sensitivity in type 2 diabetic men. *Eur J Endocrinol* 149, 421-424.

Boule, N.G.; Haddad, E.; Kenny, G.P.; Poços, G.A.; Sigal, R.J. (2001). Effects of exercise on glycemic control and body mass in type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of controlled clinical trials. *Jama* 286, 1218-1227.

Boxer, L.A.; Allen, J.M.; Baehner, R.L. (1980). Diminished polymorphonuclear leukocyte adherence. Function dependent on release of cyclic AMP by endothelial cells after stimulation of beta-receptors by epinephrine. *J Clin Invest* 66, 268-274.

Bradley, J.R. (2008). TNF-mediated inflammatory disease. *J Pathol* 214, 149-160.

Bruce, C.R.; Dyck, D.J. (2004). Cytokine regulation of skeletal muscle fatty acid metabolism: effect of interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 287, E616-621.

Bruder, D.; Probst-Kepper, M.; Westendorf, A.M.; Geffers, R.; Beissert, S.; Loser, K.; von Boehmer, H.; Buer, J.; Hansen, W. (2004). Neuropilin-1: a surface marker of regulatory T cells. *Eur J Immunol* 34, 623-630.

Brunsgaard, H. (2005). Physical activity and modulation of systemic low-level inflammation. *J Leukoc Biol* 78, 819-835.

Brunsgaard, H.; Bjerregaard, E.; Schroll, M.; Pedersen, B.K. (2004). Muscle strength after resistance training is inversely correlated with baseline levels of soluble tumor necrosis factor receptors in the oldest old. *J Am Geriatr Soc* 52, 237-241.

Brunsgaard, H.; Hartkopp, A.; Mohr, T.; Konradsen, H.; Heron, I.; Mordhorst, C.H.; Pedersen, B.K. (1997). In vivo cell-mediated immunity and vaccination response following prolonged, intense exercise. *Med Sci Sports Exerc* 29, 1176-1181.

Brunsgaard, H.; Pedersen, B.K. (2003). Age-related inflammatory cytokines and disease. *Immunol Allergy Clin North Am* 23, 15-39.

Busso, N.; So, A.; Chobaz-Peclat, V.; Morard, C.; Martinez-Soria, E.; Talabot-Ayer, D.; Gabay, C. (2002). Leptin signaling deficiency impairs humoral and cellular immune responses and attenuates experimental arthritis. *J Immunol* 168, 875-882.

Cabot, R.C.; Blake, J. B.; Hubbard, J.C. (1901). II. Studies of the Blood in its Relation to Surgical Diagnosis. *Ann Surg* 34, 361-374.

Carey, A.L.; Steinberg, G.R.; Macaulay, S.L.; Thomas, W.G.; Holmes, A.G.; Ramm, G.; Prelovsek, O.; Hohnen-Behrens, C.; Watt, M.J.; James, D.E.; *et al.* (2006). Interleukin-6 increases insulin-stimulated glucose disposal in humans and glucose uptake and fatty acid oxidation in vitro via AMP-activated protein kinase. *Diabetes* 55, 2688-2697.

Carling, D. (2004). The AMP-activated protein kinase cascade--a unifying system for energy control. *Trends Biochem Sci* 29, 18-24.

Carroll, M.C. (1998). The role of complement and complement receptors in induction and regulation of immunity. *Annu Rev Immunol* 16, 545-568.

Carter, H.; Jones, A.M.; Doust, J.H. (1999). Effect of 6 weeks of endurance training on the lactate minimum speed. *J Sports Sci* 17, 957-967.

Carvalho, J.B.C.; Zecchin, H.G.; Saad, M.J.A. (2002). Bases moleculares e fisiológicas da resistência à insulina. *Hipertensão* 5, 33-38.

Carvalho, M.H.; Colaço, A.L.; Fortes, Z.B. (2006). Citocinas, disfunção endotelial e resistência à insulina. *Arq Bras Endocrinol Metab* 50, 304-312.

Castinheiras Neto, A.G.; Farinatti, P.T.V. (2009). Oxygen consumption after resisted exercise: a critical approach about the determinant factors of its magnitude and duration. *Braz J Biomotr* 3, 96-110.

Cerwenka, A.; Lanier, L.L. (2001). Natural killer cells, viruses and cancer. *Nat Rev Immunol* 1, 41-49.

Chan, K.L.; Tong, K.Y.; Yip, S.P. (2008). Relationship of serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and health-related lifestyle in healthy human subjects. *Neurosci Lett* 447, 124-128.

Chan, M.H.; Carey, A.L.; Watt, M.J.; Febbraio, M.A. (2004). 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, R322-327.

Chao, C.C.; Ala, T.A.; Hu, S.; Crossley, K.B.; Sherman, R.E.; Peterson, P.K.; Frey, W.H. 2nd (1994). Serum cytokine levels in patients with Alzheimer's disease. *Clin Diagn Lab Immunol* 1, 433-436.

Charo, I.F.; Taubman, M.B. (2004). Chemokines in the pathogenesis of vascular disease. *Circ Res* 95, 858-866.

Chinda, D.; Nakaji, S.; Umeda, T.; Shimoyama, T.; Kurakake, S.; Okamura, N.; Kumae, T.; Sugawara, K. (2003). A competitive marathon race decreases neutrophil functions in athletes. *Luminescence* 18, 324-329.

Coffey, V.G.; Hawley, J.A. (2007). The molecular bases of training adaptation. *Sports Med* 37, 737-763.

Coggan, A.R.; Kohrt, W.M.; Spina, R.J.; Bier, D.M.; Holloszy, J.O. (1990). Endurance training decreases plasma glucose turnover and oxidation during moderate-intensity exercise in men. *J Appl Physiol* 68, 990-996.

Collaziol, D.; Luz, C.; Dornelles, F.; da Cruz, I.M.; Bauer, M.E. (2004). Psychoneuroendocrine correlates of lymphocyte subsets during healthy ageing. *Mech Ageing Dev* 125, 219-227.

Commins, S.P.; Borish, L.; Steinke, J.W. (2010). Immunologic messenger molecules: cytokines, interferons, and chemokines. *J Allergy Clin Immunol* 125, S53-72.

Conraads, V.M.; Beckers, P.; Bosmans, J.; De Clerck, L.S.; Stevens, W.J.; Vrints, C.J.; Brutsaert, D.L. (2002). Combined endurance/resistance training reduces plasma TNF-alpha receptor levels in patients with chronic heart failure and coronary artery disease. *Eur Heart J* 23, 1854-1860.

Corthay, A. (2009). How do regulatory T cells work? *Scand J Immunol* 70, 326-336.

Cotman, C.W.; Berchtold, N.C. (2002). Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci* 25, 295-301.

Cotman, C.W.; Berchtold, N.C.; Christie, L.A. (2007). Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. *Trends Neurosci* 30, 464-472.

Cotman, C.W.; Engesser-Cesar, C. (2002). Exercise enhances and protects brain function. *Exerc Sport Sci Rev* 30, 75-79.

Crampes, F.; Marion-Latard, F.; Zakaroff-Girard, A.; De Glisezinski, I.; Harant, I.; Thalamas, C.; Stich, V.; Riviere, D.; Lafontan, M.; Berlan, M. (2003). Effects of a longitudinal training program on responses to exercise in overweight men. *Obes Res* 11, 247-256.

Crist, D.M.; Mackinnon, L.T.; Thompson, R.F.; Atterbom, H.A.; Egan, P.A. (1989). Physical exercise increases natural cellular-mediated tumor cytotoxicity in elderly women. *Gerontology* 35, 66-71.

Croisier, J.L.; Camus, G.; Venneman, I.; Deby-Dupont, G.; Juchmes-Ferir, A.; Lamy, M.; Crielaard, J.M.; Deby, C.; Duchateau, J. (1999). Effects of training on exercise-induced muscle damage and interleukin 6 production. *Muscle Nerve* 22, 208-212.

Currie, J.; Ramsbottom, R.; Ludlow, H.; Nevill, A.; Gilder, M. (2009). Cardio-respiratory fitness, habitual physical activity and serum brain derived neurotrophic factor (BDNF) in men and women. *Neurosci Lett* 451, 152-155.

Damoiseaux, J. (2006). Regulatory T cells: back to the future. *Neth J Med* 64, 4-9.

DeBarros, C.L.M. (2007). Influência do calor sobre a máxima fase estável do lactato, concentração fixa de 4mm e limiar anaeróbio individual. 2007. 128 f. Dissertação (Mestrado em Educação Física) - Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

Denadai, B.S.; Figueira, T.R.; Favaro, O.R.; Goncalves, M. (2004). Effect of the aerobic capacity on the validity of the anaerobic threshold for determination of the maximal lactate steady state in cycling. *Braz J Med Biol Res* 37, 1551-1556.

Dill, D.B.; Costill, D.L. (1974). Calculation of percentage changes in volumes of blood, plasma, and red cells in dehydration. *J Appl Physiol* 37, 247-248.

Diniz, B.S. ; Teixeira, A.L. ; Talib, L.; Mendonça, V.A.; Gattaz, W.F.; Forlenza, O.V. (2010). Serum brain-derived neurotrophic factor level is reduced in antidepressant-free patients with late-life depression. *World J Biol Psychiatry* 11, 187-192.

Dishman, R.K.; Berthoud, H.R.; Booth, F.W.; Cotman, C.W.; Edgerton, V.R.; Fleshner, M. R.; Gandevia, S.C.; Gomez-Pinilla, F.; Greenwood, B.N.; Hillman, C.H.; *et al.* (2006). Neurobiology of exercise. *Obesity (Silver Spring)* 14, 345-356.

Dorner, B.G.; Dorner, M.B.; Zhou, X.; Opitz, C.; Mora, A.; Guttler, S.; Hutloff, A.; Mages, H.W.; Ranke, K.; Schaefer, M.; *et al.* (2009). Selective expression of the chemokine receptor XCR1 on cross-presenting dendritic cells determines cooperation with CD8+ T cells. *Immunity* 31, 823-833.

Drenth, J.P.; Krebbers, R.J.; Bijzet, J.; van der Meer, J.W. (1998). Increased circulating cytokine receptors and ex vivo interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-1beta production but decreased tumour necrosis factor-alpha production after a 5-km run. *Eur J Clin Invest* 28, 866-872.

Duan, C.; Winder, W.W. (1994). Effect of endurance training on activators of glycolysis in muscle during exercise. *J Appl Physiol* 76, 846-852.

Duclos, M.; Corcuff, J.B.; Ruffie, A.; Roger, P.; Manier, G. (1999). Rapid leptin decrease in immediate post-exercise recovery. *Clin Endocrinol (Oxf)* 50, 337-342.

Edling, A.E.; Nanavati, T.; Johnson, J.M.; Tuohy, V.K. (2004). Human and murine lymphocyte neurotrophin expression is confined to B cells. *J Neurosci Res* 77, 709-717.

Edwards, K.M.; Burns, V.E.; Ring, C.; Carroll, D. (2006). Individual differences in the interleukin-6 response to maximal and submaximal exercise tasks. *J Sports Sci* 24, 855-862.

Ehrlich, S.; Salbach-Andrae, H.; Eckart, S.; Merle, J. V.; Burghardt, R.; Pfeiffer, E.; Franke, L.; Uebelhack, R.; Lehmkuhl, U.; Hellweg, R. (2009). Serum brain-derived neurotrophic factor and peripheral indicators of the serotonin system in underweight and weight-recovered adolescent girls and women with anorexia nervosa. *J Psychiatry Neurosci* 34, 323-329.

Ejiri, J.; Inoue, N.; Kobayashi, S.; Shiraki, R.; Otsui, K.; Honjo, T.; Takahashi, M.; Ohashi, Y.; Ichikawa, S.; Terashima, M.; *et al.* (2005). Possible role of brain-derived neurotrophic factor in the pathogenesis of coronary artery disease. *Circulation* 112, 2114-2120.

Elias, A.N.; Pandian, M.R.; Wang, L.; Suarez, E.; James, N.; Wilson, A.F. (2000). Leptin and IGF-I levels in unconditioned male volunteers after short-term exercise. *Psychoneuroendocrinology* 25, 453-461.

Ensign, W.Y.; McNamara, D.J.; Fernandez, M.L. (2002). Exercise improves plasma lipid profiles and modifies lipoprotein composition in guinea pigs. *J Nutr Biochem* 13, 747-753.

Essig, D.A.; Alderson, N.L.; Ferguson, M.A.; Bartoli, W.P.; Durstine, J.L. (2000). Delayed effects of exercise on the plasma leptin concentration. *Metabolism* 49, 395-399.

Faggioni, R.; Jones-Carson, J.; Reed, D.A.; Dinarello, C.A.; Feingold, K.R.; Grunfeld, C.; Fantuzzi, G. (2000). Leptin-deficient (ob/ob) mice are protected from T cell-mediated hepatotoxicity: role of tumor necrosis factor alpha and IL-18. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97, 2367-2372.

Fantuzzi, G. (2005). Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 115, 911-919; quiz 920.

Fatouros, I.G.; Tournis, S.; Leontsini, D.; Jamurtas, A.Z.; Sxina, M.; Thomakos, P.; Manousaki, M.; Douroudos, I.; Taxildaris, K.; Mitrakou, A. (2005). Leptin and adiponectin responses in overweight inactive elderly following resistance training and detraining are intensity related. *J Clin Endocrinol Metab* 90, 5970-5977.

Faude, O.; Kindermann, W.; Meyer, T. (2009). Lactate threshold concepts: how valid are they? *Sports Med* 39, 469-490.

Febbraio, M.A.; Pedersen, B.K. (2005). Contraction-induced myokine production and release: is skeletal muscle an endocrine organ? *Exerc Sport Sci Rev* 33, 114-119.

Ferguson, M.A.; White, L.J.; McCoy, S.; Kim, H.W.; Petty, T.; Wilsey, J. (2004). Plasma adiponectin response to acute exercise in healthy subjects. *Eur J Appl Physiol* 91, 324-329.

Fernandez-Botran, R. (1999). Soluble cytokine receptors: basic immunology and clinical applications. *Crit Rev Clin Lab Sci* 36, 165-224.

Ferris, L.T.; Williams, J.S.; Shen, C.L. (2007). The effect of acute exercise on serum brain-derived neurotrophic factor levels and cognitive function. *Med Sci Sports Exerc* 39, 728-734.

Field, C.J.; Gougeon, R.; Marliss, E.B. (1991). Circulating mononuclear cell numbers and function during intense exercise and recovery. *J Appl Physiol* 71, 1089-1097.

Figueira, T.R.; Caputo, F.; Pelarigo, J.G.; Denadai, B.S. (2008). Influence of exercise mode and maximal lactate-steady-state concentration on the validity of OBLA to predict maximal lactate-steady-state in active individuals. *J Sci Med Sport* 11, 280-286.

Fischer, C.P. (2006). Interleukin-6 in acute exercise and training: what is the biological relevance? *Exerc Immunol Rev* 12, 6-33.

Fischer, C.P.; Plomgaard, P.; Hansen, A.K.; Pilegaard, H.; Saltin, B.; Pedersen, B.K. (2004). Endurance training reduces the contraction-induced interleukin-6 mRNA expression in human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 287, E1189-E1194.

Fisher, J.S.; Van Pelt, R.E.; Zinder, O.; Landt, M.; Kohrt, W.M. (2001). Acute exercise effect on postabsorptive serum leptin. *J Appl Physiol* 91, 680-686.

- Fonseca-Alaniz, M.H.; Takada, J.; Alonso-Vale, M.I.C.; Lima, F.B. (2006). O tecido adiposo como centro regulador do metabolismo. *Arq Bras Endocrinol Metab* 50, 216-229.
- Fontenot, J.D.; Gavin, M.A.; Rudensky, A.Y. (2003). Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Nat Immunol* 4, 330-336.
- Foster, N.K.; Martyn, J.B.; Rangno, R.E.; Hogg, J.C.; Pardy, R.L. (1986). Leukocytosis of exercise: role of cardiac output and catecholamines. *J Appl Physiol* 61, 2218-2223.
- Frydelund-Larsen, L.; Penkowa, M.; Akerstrom, T.; Zankari, A.; Nielsen, S.; Pedersen, B.K. (2007). Exercise induces interleukin-8 receptor (CXCR2) expression in human skeletal muscle. *Exp Physiol* 92, 233-240.
- Fujinami, A.; Ohta, K.; Obayashi, H.; Fukui, M.; Hasegawa, G.; Nakamura, N.; Kozai, H.; Imai, S.; Ohta, M. (2008). Serum brain-derived neurotrophic factor in patients with type 2 diabetes mellitus: Relationship to glucose metabolism and biomarkers of insulin resistance. *Clin Biochem* 41, 812-817.
- Furtado, G.C.; Curotto de Lafaille, M.A.; Kutchukhidze, N.; Lafaille, J.J. (2002). Interleukin 2 signaling is required for CD4(+) regulatory T cell function. *J Exp Med* 196, 851-857.
- Gabriel, H.; Schwarz, L.; Steffens, G.; Kindermann, W. (1992a). Immunoregulatory hormones, circulating leucocyte and lymphocyte subpopulations before and after endurance exercise of different intensities. *Int J Sports Med* 13, 359-366.
- Gabriel, H.; Urhausen, A.; Kindermann, W. (1992b). Mobilization of circulating leucocyte and lymphocyte subpopulations during and after short, anaerobic exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 65, 164-170.
- Gainsford, T.; Willson, T. A.; Metcalf, D.; Handman, E.; McFarlane, C.; Ng, A.; Nicola, N. A.; Alexander, W.S.; Hilton, D.J. (1996). Leptin can induce proliferation, differentiation, and functional activation of hemopoietic cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93, 14564-14568.
- Gama, C.S.; Andreazza, A.C.; Kunz, M.; Berk, M.; Belmonte-de-Abreu, P.S.; Kapczinski, F. (2007). Serum levels of brain-derived neurotrophic factor in patients with schizophrenia and bipolar disorder. *Neurosci Lett* 420, 45-48.
- Gan, W.Q.; Man, S.F.; Senthilselvan, A.; Sin, D.D. (2004). Association between chronic obstructive pulmonary disease and systemic inflammation: a systematic review and a meta-analysis. *Thorax* 59, 574-580.
- Gielen, S.; Adams, V.; Mobius-Winkler, S.; Linke, A.; Erbs, S.; Yu, J.; Kempf, W.; Schubert, A.; Schuler, G.; Hambrecht, R. (2003). Anti-inflammatory effects of exercise training in the skeletal muscle of patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 42, 861-868.
- Gimenez, M.; Mohan-Kumar, T.; Humbert, J.C.; De Talance, N.; Buisine, J. (1986). Leukocyte, lymphocyte and platelet response to dynamic exercise. Duration or intensity effect? *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 55, 465-470.

Gleeson, M. (2006). Introduction to the immune system. In: Gleeson, M. Immune function in sport and exercise. 1^a ed. Philadelphia: Elsevier.

Glund, S.; Deshmukh, A.; Long, Y.C.; Moller, T.; Koistinen, H.A.; Caidahl, K.; Zierath, J.R.; Krook, A. (2007). Interleukin-6 directly increases glucose metabolism in resting human skeletal muscle. *Diabetes* 56, 1630-1637.

Goekint, M.; De Pauw, K.; Roelands, B.; Njemini, R.; Bautmans, I.; Mets, T.; Meeusen, R. (2010a). Strength training does not influence serum brain-derived neurotrophic factor. *Eur J Appl Physiol* 110, 285-293.

Goekint, M.; Roelands, B.; De Pauw, K.; Knaepen, K.; Bos, I.; Meeusen, R. (2010b). Does a period of detraining cause a decrease in serum brain-derived neurotrophic factor? *Neurosci Lett* 486, 146-149.

Gold, S.M.; Schulz, K.H.; Hartmann, S.; Mladek, M.; Lang, U.E.; Hellweg, R.; Reer, R.; Braumann, K.M.; Heesen, C. (2003). Basal serum levels and reactivity of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor to standardized acute exercise in multiple sclerosis and controls. *J Neuroimmunol* 138, 99-105.

Goldhammer, E.; Tanchilevitch, A.; Maor, I.; Beniamini, Y.; Rosenschein, U.; Sagiv, M. (2005). Exercise training modulates cytokines activity in coronary heart disease patients. *Int J Cardiol* 100, 93-99.

Gomez-Pinilla, F.; Dao, L.; So, V. (1997). Physical exercise induces FGF-2 and its mRNA in the hippocampus. *Brain Res* 764, 1-8.

Gormley, S.E.; Swain, D.P.; High, R.; Spina, R.J.; Dowling, E.A.; Kotipalli, U.S.; Gandrakota, R. (2008). Effect of intensity of aerobic training on VO_{2max} . *Med Sci Sports Exerc* 40, 1336-1343.

Green, H.J.; Chin, E.R.; Ball-Burnett, M.; Ranney, D. (1993). Increases in human skeletal muscle Na(+)-K(+)-ATPase concentration with short-term training. *Am J Physiol* 264, C1538-1541.

Green, H.J.; Jones, S.; Ball-Burnett, M.; Farrance, B.; Ranney, D. (1995). Adaptations in muscle metabolism to prolonged voluntary exercise and training. *J Appl Physiol* 78, 138-145.

Green, R.L.; Kaplan, S.S.; Rabin, B.S.; Stanitski, C.L.; Zdziarski, U. (1981). Immune function in marathon runners. *Ann Allergy* 47, 73-75.

Greiwe, J.S.; Hickner, R.C.; Hansen, P.A.; Racette, S.B.; Chen, M.M.; Holloszy, J.O. (1999). Effects of endurance exercise training on muscle glycogen accumulation in humans. *J Appl Physiol* 87, 222-226.

Groves, J. O. (2007). Is it time to reassess the BDNF hypothesis of depression? *Mol Psychiatry* 12, 1079-1088.

Gustafsson, G.; Lira, C.M.; Johansson, J.; Wisen, A.; Wohlfart, B.; Ekman, R.; Westrin, A. (2009). The acute response of plasma brain-derived neurotrophic factor as a result of exercise in major depressive disorder. *Psychiatry Res* 169, 244-248.

Hack, V.; Strobel, G.; Rau, J.P.; Weicker, H. (1992). The effect of maximal exercise on the activity of neutrophil granulocytes in highly trained athletes in a moderate training period. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 65, 520-524.

Hallenbeck, J.M. (2002). The many faces of tumor necrosis factor in stroke. *Nat Med* 8, 1363-1368.

Hansson, G.K. (2005). Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 352, 1685-1695.

Harms, S.J.; Hickson, R.C. (1983). Skeletal muscle mitochondria and myoglobin, endurance, and intensity of training. *J Appl Physiol* 54, 798-802.

Harris, T.B.; Ferrucci, L.; Tracy, R.P.; Corti, M.C.; Wacholder, S.; Ettinger, W.H. Jr.; Heimovitz, H.; Cohen, H.J.; Wallace, R. (1999). Associations of elevated interleukin-6 and C-reactive protein levels with mortality in the elderly. *Am J Med* 106, 506-512.

Heck, H.; Mader, A.; Hess, G.; Mucke, S.; Muller, R.; Hollmann, W. (1985). Justification of the 4-mmol/l lactate threshold. *Int J Sports Med* 6, 117-130.

Hennigan, A.; O'Callaghan, R.M.; Kelly, A.M. (2007). Neurotrophins and their receptors: roles in plasticity, neurodegeneration and neuroprotection. *Biochem Soc Trans* 35, 424-427.

Henson, D.A.; Nieman, D.C.; Nehlsen-Cannarella, S.L.; Fagoaga, O.R.; Shannon, M.; Bolton, M.R.; Davis, J.M.; Gaffney, C.T.; Kelln, W.J.; Austin, M. D.; *et al.* (2000). Influence of carbohydrate on cytokine and phagocytic responses to 2 h of rowing. *Med Sci Sports Exerc* 32, 1384-1389.

Hickey, M.S.; Considine, R.V.; Israel, R.G.; Mahar, T.L.; McCammon, M.R.; Tyndall, G.L.; Houmard, J.A.; Caro, J.F. (1996). Leptin is related to body fat content in male distance runners. *Am J Physiol* 271, E938-940.

Hickey, M.S.; Houmard, J.A.; Considine, R.V.; Tyndall, G.L.; Midgett, J.B.; Gavigan, K.E.; Weidner, M.L.; McCammon, M.R.; Israel, R.G.; Caro, J.F. (1997). Gender-dependent effects of exercise training on serum leptin levels in humans. *Am J Physiol* 272, E562-566.

Hirose, L.; Nosaka, K.; Newton, M.; Laveder, A.; Kano, M.; Peake, J.; Suzuki, K. (2004). Changes in inflammatory mediators following eccentric exercise of the elbow flexors. *Exerc Immunol Rev* 10, 75-90.

Hiscock, N.; Chan, M.H.; Bisucci, T.; Darby, I.A.; Febbraio, M.A. (2004). Skeletal myocytes are a source of interleukin-6 mRNA expression and protein release during contraction: evidence of fiber type specificity. *Faseb J* 18, 992-994.

- Hoffman-Goetz, L.; Simpson, J.R.; Cipp, N.; Arumugam, Y.; Houston, M.E. (1990). Lymphocyte subset responses to repeated submaximal exercise in men. *J Appl Physiol* 68, 1069-1074.
- Holloszy, J.O.; Booth, F.W. (1976). Biochemical adaptations to endurance exercise in muscle. *Annu Rev Physiol* 38, 273-291.
- Holmes, M.D.; Chen, W.Y.; Feskanich, D.; Kroenke, C.H.; Colditz, G.A. (2005). Physical activity and survival after breast cancer diagnosis. *Jama* 293, 2479-2486.
- Hotamisligil, G.S. (2003). Inflammatory pathways and insulin action. *Int J Obes Relat Metab Disord* 27 Suppl 3, S53-55.
- Hotamisligil, G.S.; Arner, P.; Caro, J.F.; Atkinson, R.L.; Spiegelman, B.M. (1995). Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor-alpha in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 95, 2409-2415.
- Hotamisligil, G.S.; Spiegelman, B.M. (1994). Tumor necrosis factor alpha: a key component of the obesity-diabetes link. *Diabetes* 43, 1271-1278.
- Hu, F.B.; Willett, W.C.; Li, T.; Stampfer, M.J.; Colditz, G.A.; Manson, J.E. (2004). Adiposity as compared with physical activity in predicting mortality among women. *N Engl J Med* 351, 2694-2703.
- Hulver, M.W.; Zheng, D.; Tanner, C.J.; Houmard, J.A.; Kraus, W.E.; Slentz, C.A.; Sinha, M.K.; Pories, W.J.; MacDonald, K.G.; Dohm, G.L. (2002). Adiponectin is not altered with exercise training despite enhanced insulin action. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 283, E861-865.
- Hurley, B.F.; Nemeth, P.M.; Martin, W.H., 3rd; Hagberg, J.M.; Dalsky, G.P.; Holloszy, J.O. (1986). Muscle triglyceride utilization during exercise: effect of training. *J Appl Physiol* 60, 562-567.
- Ingjer, F. (1979). Effects of endurance training on muscle fibre ATP-ase activity, capillary supply and mitochondrial content in man. *J Physiol* 294, 419-432.
- Ishii, T.; Yamakita, T.; Yamagami, K.; Yamamoto, T.; Miyamoto, M.; Kawasaki, K.; Hosoi, M.; Yoshioka, K.; Sato, T.; Tanaka, S.; Fujii, S. (2001). Effect of exercise training on serum leptin levels in type 2 diabetic patients. *Metabolism* 50, 1136-1140.
- Ivy, J.L.; Withers, R.T.; Van Handel, P.J.; Elger, D.H.; Costill, D.L. (1980). Muscle respiratory capacity and fiber type as determinants of the lactate threshold. *J Appl Physiol* 48, 523-527.
- Jackson, A.S.; Pollock, M.L. (1978). Generalized equations for predicting body density of men. *Br J Nutr* 40, 497-504.
- Jamurtas, A.Z.; Theocharis, V.; Koukoulis, G.; Stakias, N.; Fatouros, I.G.; Kouretas, D.; Koutedakis, Y. (2006). The effects of acute exercise on serum adiponectin and resistin levels and their relation to insulin sensitivity in overweight males. *Eur J Appl Physiol* 97, 122-126.

Jones, A.M.; Carter, H. (2000). The effect of endurance training on parameters of aerobic fitness. *Sports Med* 29, 373-386.

Jung, S.H.; Kim, J.; Davis, J.M.; Blair, S.N.; Cho, H.C. (2011). Association among basal serum BDNF, cardiorespiratory fitness and cardiovascular disease risk factors in untrained healthy Korean men. *Eur J Appl Physiol* 111, 303-311.

Jurimae, J.; Purge, P.; Jurimae, T. (2005). Adiponectin is altered after maximal exercise in highly trained male rowers. *Eur J Appl Physiol* 93, 502-505.

Jurimae, J.; Purge, P.; Jurimae, T. (2006). Adiponectin and stress hormone responses to maximal sculling after volume-extended training season in elite rowers. *Metabolism* 55, 13-19.

Kadoglou, N.P.; Perrea, D.; Iliadis, F.; Angelopoulou, N.; Liapis, C.; Alevizos, M. (2007). Exercise reduces resistin and inflammatory cytokines in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 30, 719-721.

Kanaley, J.A.; Fenicchia, L.M.; Miller, C.S.; Ploutz-Snyder, L.L.; Weinstock, R. S.; Carhart, R.; Azevedo, J.L., Jr. (2001). Resting leptin responses to acute and chronic resistance training in type 2 diabetic men and women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 25, 1474-1480.

Kanda, T.; Takahashi, T.; Kudo, S.; Takeda, T.; Tsugawa, H.; Takekoshi, N. (2004). Leptin deficiency enhances myocardial necrosis and lethality in a murine model of viral myocarditis. *Life Sci* 75, 1435-1447.

Karege, F.; Perret, G.; Bondolfi, G.; Schwald, M.; Bertschy, G.; Aubry, J-M. (2002). Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels in major depressed patients. *Psychiatry Res* 109, 143-148.

Kelly, M.; Keller, C.; Avilucea, P.R.; Keller, P.; Luo, Z.; Xiang, X.; Giralt, M.; Hidalgo, J.; Saha, A.K.; Pedersen, B.K.; Ruderman, N.B. (2004). AMPK activity is diminished in tissues of IL-6 knockout mice: the effect of exercise. *Biochem Biophys Res Commun* 320, 449-454.

Kerschensteiner, M.; Gallmeier, E.; Behrens, L.; Leal, V.V.; Misgeld, T.; Klinkert, W.E.; *et al.* (1999). Activated human T cells, B cells, and monocytes produce brain-derived neurotrophic factor in vitro and in inflammatory brain lesions: a neuroprotective role of inflammation? *J Exper Med* 189, 865-870.

Kiens, B.; Essen-Gustavsson, B.; Christensen, N.J.; Saltin, B. (1993). Skeletal muscle substrate utilization during submaximal exercise in man: effect of endurance training. *J Physiol* 469, 459-478.

Kindt, T.J.; Goldsby, R.A.; Osborne, B.A. (2008). *Imunologia*. 6^a ed. Porto Alegre: Artmed.

Knowler, W.C.; Barrett-Connor, E.; Fowler, S.E.; Hamman, R.F.; Lachin, J.M.; Walker, E. A.; Nathan, D.M. (2002). Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med* 346, 393-403.

Koistinen, H.A.; Tuominen, J.A.; Ebeling, P.; Heiman, M.L.; Stephens, T.W.; Koivisto, V. A. (1998). The effect of exercise on leptin concentration in healthy men and in type 1 diabetic patients. *Med Sci Sports Exerc* 30, 805-810.

Krabbe, K.S.; Nielsen, A.R.; Krogh-Madsen, R.; Plomgaard, P.; Rasmussen, P.; Erikstrup, C.; Fischer, C.P.; Lindgaard, B.; Petersen, A.M.; Taudorf, S.; *et al.* (2007). Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and type 2 diabetes. *Diabetologia* 50, 431-438.

Kraemer, R.R.; Aboudehen, K.S.; Carruth, A.K.; Durand, R.T.; Acevedo, E.O.; Hebert, E.P.; Johnson, L.G.; Castracane, V.D. (2003). Adiponectin responses to continuous and progressively intense intermittent exercise. *Med Sci Sports Exerc* 35, 1320-1325.

Kriketos, A.D.; Gan, S.K.; Poynten, A.M.; Furler, S.M.; Chisholm, D.J.; Campbell, L.V. (2004). Exercise increases adiponectin levels and insulin sensitivity in humans. *Diabetes Care* 27, 629-630.

Kubota, N.; Yano, W.; Kubota, T.; Yamauchi, T.; Itoh, S.; Kumagai, H.; Kozono, H.; Takamoto, I.; Okamoto, S.; Shiuchi, T.; *et al.* (2007). Adiponectin stimulates AMP-activated protein kinase in the hypothalamus and increases food intake. *Cell Metab* 6, 55-68.

Kuipers, H.; Verstappen, F.T.; Keizer, H.A.; Geurten, P.; van Kranenburg, G. (1985). Variability of aerobic performance in the laboratory and its physiologic correlates. *Int J Sports Med* 6, 197-201.

Kuna, P.; Alam, R.; Ruta, U.; Gorski, P. (1998). RANTES induces nasal mucosal inflammation rich in eosinophils, basophils, and lymphocytes in vivo. *Am J Respir Crit Care Med* 157, 873-879.

Lambiase, A.; Bracci-Laudiero, L.; Bonini, S.; Starace, G.; D'Elia, M.M.; De Carli, M.; Aloe, L. (1997). Human CD4+ T cell clones produce and release nerve growth factor and express high-affinity nerve growth factor receptors. *J Allergy Clin Immunol* 100, 408-414.

Lancaster, G.I. (2006). Exercise and Cytokines. In: Gleeson, M. *Immune function in sport and exercise*. 1st ed. Philadelphia: Elsevier.

Lancaster, G.I.; Jentjens, R.L.; Moseley, L.; Jeukendrup, A.E.; Gleeson, M. (2003). Effect of pre-exercise carbohydrate ingestion on plasma cytokine, stress hormone, and neutrophil degranulation responses to continuous, high-intensity exercise. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 13, 436-453.

Lang, U.E.; Hellweg, R.; Gallinat, J. (2004). BDNF serum concentrations in healthy volunteers are associated with depression-related personality traits. *Neuropsychopharmacology* 29, 795-798.

Lang, U.E.; Hellweg, R.; Seifert, F.; Schubert, F.; Gallinat, J. (2007). Correlation between serum brain-derived neurotrophic factor level and an in vivo marker of cortical integrity. *Biol Psychiatry* 62, 530-535.

Lanzrein, A.S.; Johnston, C.M.; Perry, V.H.; Jobst, K.A.; King, E.M.; Smith, A.D. (1998). Longitudinal study of inflammatory factors in serum, cerebrospinal fluid, and brain tissue in

Alzheimer disease: interleukin-1beta, interleukin-6, interleukin-1 receptor antagonist, tumor necrosis factor-alpha, the soluble tumor necrosis factor receptors I and II, and alpha-1-antichymotrypsin. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 12, 215-227.

Larrabee, R.C. (1902). Leucocytosis after violent Exercise. *J Med Res* 7, 76-82.

Larsen, A.I.; Aukrust, P.; Aarsland, T.; Dickstein, K. (2001). Effect of aerobic exercise training on plasma levels of tumor necrosis factor alpha in patients with heart failure. *Am J Cardiol* 88, 805-808.

Leal-Cerro, A.; Garcia-Luna, P.P.; Astorga, R.; Parejo, J.; Peino, R.; Dieguez, C.; Casanueva, F.F. (1998). Serum leptin levels in male marathon athletes before and after the marathon run. *J Clin Endocrinol Metab* 83, 2376-2379.

Lehmann, J.; Huehn, J.; de la Rosa, M.; Maszyrna, F.; Kretschmer, U.; Krenn, V.; Brunner, M.; Scheffold, A.; Hamann, A. (2002). Expression of the integrin alpha Ebeta 7 identifies unique subsets of CD25+ as poço as CD25- regulatory T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99, 13031-13036.

Lewicki, R.; Tchorzewski, H.; Majewska, E.; Nowak, Z.; Baj, Z. (1988). Effect of maximal physical exercise on T-lymphocyte subpopulations and on interleukin 1 (IL 1) and interleukin 2 (IL 2) production in vitro. *Int J Sports Med* 9, 114-117.

Li, T.L.; Gleeson, M. (2005). The effects of carbohydrate supplementation during the second of two prolonged cycling bouts on immunoendocrine responses. *Eur J Appl Physiol* 95, 391-399.

Licastro, F.; Pedrini, S.; Caputo, L.; Annoni, G.; Davis, L.J.; Ferri, C.; Casadei, V.; Grimaldi, L.M. (2000). Increased plasma levels of interleukin-1, interleukin-6 and alpha-1-antichymotrypsin in patients with Alzheimer's disease: peripheral inflammation or signals from the brain? *J Neuroimmunol* 103, 97-102.

Locati, M.; Murphy, P.M. (1999). Chemokines and chemokine receptors: biology and clinical relevance in inflammation and AIDS. *Annu Rev Med* 50, 425-440.

Locati, M.; Otero, K.; Schioppa, T.; Signorelli, P.; Perrier, P.; Baviera, S.; Sozzani, S.; Mantovani, A. (2002). The chemokine system: tuning and shaping by regulation of receptor expression and coupling in polarized responses. *Allergy* 57, 972-982.

Loetscher, P.; Seitz, M.; Clark-Lewis, I.; Baggiolini, M.; Moser, B. (1996). Activation of NK cells by CC chemokines. Chemotaxis, Ca²⁺ mobilization, and enzyme release. *J Immunol* 156, 322-327.

Luster, A.D. (1998). Chemokines--chemotactic cytokines that mediate inflammation. *N Engl J Med* 338, 436-445.

Maes, M.; DeVos, N.; Wauters, A.; Demedts, P.; Maurits, V.W.; Neels, H.; Bosmans, E.; Altamura, C.; Lin, A.; Song, C.; *et al.* (1999). Inflammatory markers in younger vs elderly normal volunteers and in patients with Alzheimer's disease. *J Psychiatr Res* 33, 397-405.

Makar, T.K.; Trisler, D.; Sura, K.T.; Sultana, S.; Patel, N.; Bever, C.T. (2008). Brain derived neurotrophic factor treatment reduces inflammation and apoptosis in experimental allergic encephalomyelitis. *J Neurol Sci* 270, 70-76.

Mancuso, P.; Gottschalk, A.; Phare, S.M.; Peters-Golden, M.; Lukacs, N.W.; Huffnagle, G. B. (2002). Leptin-deficient mice exhibit impaired host defense in Gram-negative pneumonia. *J Immunol* 168, 4018-4024.

Manson, J.E.; Greenland, P.; LaCroix, A.Z.; Stefanick, M.L.; Mouton, C.P.; Oberman, A.; Perri, M.G.; Sheps, D.S.; Pettinger, M.B.; Siscovick, D.S. (2002). Walking compared with vigorous exercise for the prevention of cardiovascular events in women. *N Engl J Med* 347, 716-725.

Mantovani, A. (1999). The chemokine system: redundancy for robust outputs. *Immunol Today* 20, 254-257.

Margeli, A.; Skenderi, K.; Tsironi, M.; Hantzi, E.; Matalas, A.L.; Vrettou, C.; Kanavakis, E.; Chrousos, G.; Papassotiropoulos, I. (2005). Dramatic elevations of interleukin-6 and acute-phase reactants in athletes participating in the ultradistance foot race spartathlon: severe systemic inflammation and lipid and lipoprotein changes in protracted exercise. *J Clin Endocrinol Metab* 90, 3914-3918.

Margolius, H.S. (1995). Theodore Cooper Memorial Lecture. Kallikreins and kinins. Some unanswered questions about system characteristics and roles in human disease. *Hypertension* 26, 221-229.

Martin, W.H., 3rd; Dalsky, G.P.; Hurley, B.F.; Matthews, D.E.; Bier, D.M.; Hagberg, J.M.; Rogers, M.A.; King, D.S.; Holloszy, J.O. (1993). Effect of endurance training on plasma free fatty acid turnover and oxidation during exercise. *Am J Physiol* 265, E708-714.

Martinowich, K.; Manji, H.; Lu, B. (2007). New insights into BDNF function in depression and anxiety. *Nat Neurosci* 10, 1089-1093.

Matarese, G.; Di Giacomo, A.; Sanna, V.; Lord, G.M.; Howard, J.K.; Di Tuoro, A.; Bloom, S. R.; Lechler, R.I.; Zappacosta, S.; Fontana, S. (2001). Requirement for leptin in the induction and progression of autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol* 166, 5909-5916.

Matthews, V.B.; Astrom, M.B.; Chan, M.H.; Bruce, C.R.; Krabbe, K.S.; Prelovsek, O.; Akerstrom, T.; Yfanti, C.; Broholm, C.; Mortensen, O.H.; *et al.* (2009). Brain-derived neurotrophic factor is produced by skeletal muscle cells in response to contraction and enhances fat oxidation via activation of AMP-activated protein kinase. *Diabetologia* 52, 1409-1418.

Mattson, M.P.; Maudsley, S.; Martin, B. (2004). BDNF and 5-HT: a dynamic duo in age-related neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends Neurosci* 27, 589-594.

Mattusch, F.; Dufaux, B.; Heine, O.; Mertens, I.; Rost, R. (2000). Reduction of the plasma concentration of C-reactive protein following nine months of endurance training. *Int J Sports Med* 21, 21-24.

- McArdle, W.W.; Katch, R.I.; Katch, V.L. (2003). *Fisiologia do Exercício: Energia, Nutrição e Desempenho Humano*. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- McCarthy, D.A.; Dale, M.M. (1988). The leucocytosis of exercise. A review and model. *Sports Med* 6, 333-363.
- McCullagh, K.J.; Poole, R.C.; Halestrap, A.P.; O'Brien, M.; Bonen, A. (1996). Role of the lactate transporter (MCT1) in skeletal muscles. *Am J Physiol* 271, E143-150.
- McMurray, R.G.; Hackney, A.C. (2005). Interactions of metabolic hormones, adipose tissue and exercise. *Sports Med* 35, 393-412.
- Mendenhall, L.A.; Swanson, S.C.; Habash, D.L.; Coggan, A.R. (1994). Ten days of exercise training reduces glucose production and utilization during moderate-intensity exercise. *Am J Physiol* 266, E136-143.
- Mendoza-Nunez, V.M.; Garcia-Sanchez, A.; Sanchez-Rodriguez, M.; Galvan-Duarte, R.E.; Fonseca-Yerena, M.E. (2002). Overweight, waist circumference, age, gender, and insulin resistance as risk factors for hyperleptinemia. *Obes Res* 10, 253-259.
- Midgley, A.W.; McNaughton, L.R.; Jones, A.M. (2007). Training to enhance the physiological determinants of long-distance running performance: can valid recommendations be given to runners and coaches based on current scientific knowledge? *Sports Med* 37, 857-880.
- Minokoshi, Y.; Kahn, B.B. (2003). Role of AMP-activated protein kinase in leptin-induced fatty acid oxidation in muscle. *Biochem Soc Trans* 31, 196-201.
- Minokoshi, Y.; Kim, Y.B.; Peroni, O.D.; Fryer, L.G.; Muller, C.; Carling, D.; Kahn, B.B. (2002). Leptin stimulates fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature* 415, 339-343.
- Miyatake, N.; Takahashi, K.; Wada, J.; Nishikawa, H.; Morishita, A.; Suzuki, H.; Kunitomi, M.; Makino, H.; Kira, S.; Fujii, M. (2004). Changes in serum leptin concentrations in overweight Japanese men after exercise. *Diabetes Obes Metab* 6, 332-337.
- Moll, H. (2003). Dendritic cells and host resistance to infection. *Cell Microbiol* 5, 493-500.
- Moritani, T., Takaishi, T., Matsumoto, T. (1993). Determination of maximal power output at neuromuscular fatigue threshold. *J Appl Physiol* 74, 1729-1734.
- Murakami, T.; Horigome, H.; Tanaka, K.; Nakata, Y.; Katayama, Y.; Matsui, A. (2007). Effects of diet with or without exercise on leptin and anticoagulation proteins levels in obesity. *Blood Coagul Fibrinolysis* 18, 389-394.
- Murphy, P.M. (1994). The molecular biology of leukocyte chemoattractant receptors. *Annu Rev Immunol* 12, 593-633.

Nakazato, M.; Hashimoto, K.; Shimizu, E.; Kumakiri, C.; Koizumi, H.; Okamura, N.; Mitsumori, M.; Komatsu, N.; Iyo, M. (2003). Decreased levels of serum brain-derived neurotrophic factor in female patients with eating disorders. *Biol Psychiatry* 54, 485-490.

Nathan, C. (2002). Points of control in inflammation. *Nature* 420, 846-852.

Neeper, S.A.; Gomez-Pinilla, F.; Choi, J.; Cotman, C. (1995). Exercise and brain neurotrophins. *Nature* 373, 109.

Neeper, S.A.; Gomez-Pinilla, F.; Choi, J.; Cotman, C.W. (1996). Physical activity increases mRNA for brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain. *Brain Res* 726, 49-56.

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. *J Appl Physiol* 82, 1662-1667.

Nieman, D.C. (1994a). Exercise, infection, and immunity. *Int J Sports Med* 15 Suppl 3, S131-141.

Nieman, D.C. (1994b). Exercise, upper respiratory tract infection, and the immune system. *Med Sci Sports Exerc* 26, 128-139.

Nieman, D.C.; Brendle, D.; Henson, D.A.; Suttles, J.; Cook, V.D.; Warren, B.J.; Butterworth, D.E.; Fagoaga, O.R.; Nehlsen-Cannarella, S.L. (1995a). Immune function in athletes versus nonathletes. *Int J Sports Med* 16, 329-333.

Nieman, D.C.; Buckley, K.S.; Henson, D.A.; Warren, B.J.; Suttles, J.; Ahle, J.C.; Simandle, S.; Fagoaga, O.R.; Nehlsen-Cannarella, S.L. (1995b). Immune function in marathon runners versus sedentary controls. *Med Sci Sports Exerc* 27, 986-992.

Nieman, D.C.; Davis, J.M.; Brown, V.A.; Henson, D.A.; Dumke, C.L.; Utter, A.C.; Vinci, D.M.; Downs, M.F.; Smith, J.C.; Carson, J.; *et al.* (2004). Influence of carbohydrate ingestion on immune changes after 2 h of intensive resistance training. *J Appl Physiol* 96, 1292-1298.

Nieman, D.C.; Davis, J.M.; Henson, D.A.; Walberg-Rankin, J.; Shute, M.; Dumke, C.L.; Utter, A.C.; Vinci, D.M.; Carson, J.A.; Brown, A.; *et al.* (2003). Carbohydrate ingestion influences skeletal muscle cytokine mRNA and plasma cytokine levels after a 3-h run. *J Appl Physiol* 94, 1917-1925.

Nieman, D.C.; Dumke, C.L.; Henson, D.A.; McAnulty, S.R.; Gross, S.J.; Lind, R.H. (2005). Muscle damage is linked to cytokine changes following a 160-km race. *Brain Behav Immun* 19, 398-403.

Nieman, D.C.; Henson, D.A.; Gusewitch, G.; Warren, B.J.; Dotson, R.C.; Butterworth, D.E.; Nehlsen-Cannarella, S.L. (1993). Physical activity and immune function in elderly women. *Med Sci Sports Exerc* 25, 823-831.

Nieman, D.C.; Henson, D.A.; Smith, L.L.; Utter, A.C.; Vinci, D.M.; Davis, J.M.; Kaminsky, D.E.; Shute, M. (2001). Cytokine changes after a marathon race. *J Appl Physiol* 91, 109-114.

Nieman, D.C.; Miller, A.R.; Henson, D.A.; Warren, B.J.; Gusewitch, G.; Johnson, R.L.; Davis, J.M.; Butterworth, D.E.; Herring, J.L.; Nehlsen-Cannarella, S.L. (1994). Effect of high- versus moderate-intensity exercise on lymphocyte subpopulations and proliferative response. *Int J Sports Med* 15, 199-206.

Nieman, D.C.; Nehlsen-Cannarella, S.L.; Fagoaga, O.R.; Henson, D.A.; Utter, A.; Davis, J. M.; Williams, F.; Butterworth, D.E. (1998a). Effects of mode and carbohydrate on the granulocyte and monocyte response to intensive, prolonged exercise. *J Appl Physiol* 84, 1252-1259.

Nieman, D.C.; Nehlsen-Cannarella, S.L.; Fagoaga, O.R.; Henson, D.A.; Utter, A.; Davis, J.M.; Williams, F.; Butterworth, D.E. (1998b). Influence of mode and carbohydrate on the cytokine response to heavy exertion. *Med Sci Sports Exerc* 30, 671-678.

Nieman, D.C.; Nehlsen-Cannarella, S.L.; Markoff, P.A.; Balk-Lamberton, A.J.; Yang, H.; Chritton, D.B.; Lee, J.W.; Arabatzis, K. (1990). The effects of moderate exercise training on natural killer cells and acute upper respiratory tract infections. *Int J Sports Med* 11, 467-473.

Nindl, B.C.; Kraemer, W.J.; Arciero, P.J.; Samatallee, N.; Leone, C.D.; Mayo, M.F.; Hafeman, D.L. (2002). Leptin concentrations experience a delayed reduction after resistance exercise in men. *Med Sci Sports Exerc* 34, 608-613.

Nocon, M.; Hiemann, T.; Muller-Riemenschneider, F.; Thalau, F.; Roll, S.; Willich, S.N. (2008). Association of physical activity with all-cause and cardiovascular mortality: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 15, 239-246.

Nofuji, Y.; Suwa, M.; Moriyama, Y.; Nakano, H.; Ichimiya, A.; Nishichi, R.; Sasaki, H.; Radak, Z.; Kumagai, S. (2008). Decreased serum brain-derived neurotrophic factor in trained men. *Neurosci Lett* 437, 29-32.

Noland, R.C.; Baker, J.T.; Boudreau, S.R.; Kobe, R.W.; Tanner, C.J.; Hickner, R.C.; McCammon, M.R.; Houmard, J.A. (2001). Effect of intense training on plasma leptin in male and female swimmers. *Med Sci Sports Exerc* 33, 227-231.

Nonogaki, K.; Fuller, G.M.; Fuentes, N.L.; Moser, A.H.; Staprans, I.; Grunfeld, C.; Feingold, K.R. (1995). Interleukin-6 stimulates hepatic triglyceride secretion in rats. *Endocrinology* 136, 2143-2149.

Norrby, K. (1996). Interleukin-8 and de novo mammalian angiogenesis. *Cell Prolif* 29, 315-323.

Nosaka, K.; Clarkson, P.M. (1996). Changes in indicators of inflammation after eccentric exercise of the elbow flexors. *Med Sci Sports Exerc* 28, 953-961.

Olive, J.L.; Miller, G.D. (2001). Differential effects of maximal- and moderate-intensity runs on plasma leptin in healthy trained subjects. *Nutrition* 17, 365-369.

Ortega, E.; Barriga, C.; De la Fuente, M. (1993a). Study of the phagocytic process in neutrophils from elite sportswomen. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 66, 37-42.

- Ortega, E.; Collazos, M.E.; Maynar, M.; Barriga, C.; De la Fuente, M. (1993b). Stimulation of the phagocytic function of neutrophils in sedentary men after acute moderate exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 66, 60-64.
- Oshida, Y.; Yamanouchi, K.; Hayamizu, S.; Sato, Y. (1988). Effect of acute physical exercise on lymphocyte subpopulations in trained and untrained subjects. *Int J Sports Med* 9, 137-140.
- Ostrowski, K.; Rohde, T.; Asp, S.; Schjerling, P.; Pedersen, B.K. (1999). Pro- and anti-inflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans. *J Physiol* 515 (Pt 1), 287-291.
- Ostrowski, K.; Rohde, T.; Asp, S.; Schjerling, P.; Pedersen, B.K. (2001). Chemokines are elevated in plasma after strenuous exercise in humans. *Eur J Appl Physiol* 84, 244-245.
- Ostrowski, K.; Rohde, T.; Zacho, M.; Asp, S.; Pedersen, B.K. (1998). Evidence that interleukin-6 is produced in human skeletal muscle during prolonged running. *J Physiol* 508 (Pt 3), 949-953.
- Ostrowski, K.; Schjerling, P.; Pedersen, B.K. (2000). Physical activity and plasma interleukin-6 in humans--effect of intensity of exercise. *Eur J Appl Physiol* 83, 512-515.
- Paffenbarger, R.S., Jr.; Lee, I.M.; Leung, R. (1994). Physical activity and personal characteristics associated with depression and suicide in American college men. *Acta Psychiatr Scand Suppl* 377, 16-22.
- Pang, S.S.; Le, Y.Y. (2006). Role of resistin in inflammation and inflammation-related diseases. *Cell Mol Immunol* 3, 29-34.
- Papa, S.; Vitale, M.; Mazzotti, G.; Neri, L.M.; Monti, G.; Manzoli, F.A. (1989). Impaired lymphocyte stimulation induced by long-term training. *Immunol Lett* 22, 29-33.
- Pasman, W.J.; Westerterp-Plantenga, M.S.; Saris, W.H. (1998). The effect of exercise training on leptin levels in obese males. *Am J Physiol* 274, E280-286.
- Path, G.; Bornstein, S.R.; Gurniak, M.; Chrousos, G.P.; Scherbaum, W.A.; Hauner, H. (2001). Human breast adipocytes express interleukin-6 (IL-6) and its receptor system: increased IL-6 production by beta-adrenergic activation and effects of IL-6 on adipocyte function. *J Clin Endocrinol Metab* 86, 2281-2288.
- Pedersen, B.K.; Febbraio, M.A. (2008). Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6. *Physiol Rev* 88, 1379-1406.
- Pedersen, B.K.; Fischer, C.P. (2007). Beneficial health effects of exercise--the role of IL-6 as a myokine. *Trends Pharmacol Sci* 28, 152-156.
- Pedersen, B.K.; Pedersen, M.; Krabbe, K.S.; Bruunsgaard, H.; Matthews, V.B.; Febbraio, M.A. (2009). Role of exercise-induced brain-derived neurotrophic factor production in the regulation of energy homeostasis in mammals. *Exp Physiol* 94, 1153-1160.

Pedersen, B.K.; Toft, A.D. (2000). Effects of exercise lymphocytes and cytokines. *Br J Sports Med* 34, 246-251.

Pedersen, B.K.; Tvede, N.; Christensen, L.D.; Klarlund, K.; Kragbak, S.; Halkjr-Kristensen, J. (1989). Natural killer cell activity in peripheral blood of highly trained and untrained persons. *Int J Sports Med* 10, 129-131.

Penkowa, M.; Keller, C.; Keller, P.; Jauffred, S.; Pedersen, B.K. (2003). Immunohistochemical detection of interleukin-6 in human skeletal muscle fibers following exercise. *Faseb J* 17, 2166-2168.

Perusse, L.; Collier, G.; Gagnon, J.; Leon, A.S.; Rao, D.C.; Skinner, J.S.; Wilmore, J.H.; Nadeau, A.; Zimmet, P.Z.; Bouchard, C. (1997). Acute and chronic effects of exercise on leptin levels in humans. *J Appl Physiol* 83, 5-10.

Petersen, A.M.; Pedersen, B.K. (2005). The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol* 98, 1154-1162.

Petersen, E.W.; Carey, A.L.; Sacchetti, M.; Steinberg, G.R.; Macaulay, S.L.; Febbraio, M.A.; Pedersen, B.K. (2005). Acute IL-6 treatment increases fatty acid turnover in elderly humans in vivo and in tissue culture in vitro. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 288, E155-162.

Phillips, S.M.; Green, H.J.; Tarnopolsky, M.A.; Heigenhauser, G.F.; Hill, R.E.; Grant, S.M. (1996). Effects of training duration on substrate turnover and oxidation during exercise. *J Appl Physiol* 81, 2182-2191.

Philp, A.; Macdonald, A.L.; Carter, H.; Watt, P.W.; Pringle, J.S. (2008). Maximal lactate steady state as a training stimulus. *Int J Sports Med* 29, 475-479.

Piepoli, M.F.; Davos, C.; Francis, D.P.; Coats, A.J. (2004). Exercise training meta-analysis of trials in patients with chronic heart failure (ExTraMATCH). *BMJ* 328, 189.

Pilegaard, H.; Bangsbo, J.; Richter, E.A.; Juel, C. (1994). Lactate transport studied in sarcolemmal giant vesicles from human muscle biopsies: relation to training status. *J Appl Physiol* 77, 1858-1862.

Powers, S.K.; Howley, E.T. (2000) *Fisiologia do exercício: teoria e aplicação ao condicionamento e ao desempenho*. 3ª ed., São Paulo: Manole.

Powrie, F.; Leach, M.W.; Mauze, S.; Caddle, L.B.; Coffman, R.L. (1993). Phenotypically distinct subsets of CD4+ T cells induce or protect from chronic intestinal inflammation in C. B-17 scid mice. *Int Immunol* 5, 1461-1471.

Pradhan, A.D.; Manson, J.E.; Rifai, N.; Buring, J.E.; Ridker, P.M. (2001). C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *Jama* 286, 327-334.

Proudfoot, A.E. (2006). The biological relevance of chemokine-proteoglycan interactions. *Biochem Soc Trans* 34, 422-426.

- Punyadeera, C.; Zorenc, A.H.; Koopman, R.; McAinch, A.J.; Smit, E.; Manders, R.; Keizer, H.A.; Cameron-Smith, D.; van Loon, L.J. (2005). The effects of exercise and adipose tissue lipolysis on plasma adiponectin concentration and adiponectin receptor expression in human skeletal muscle. *Eur J Endocrinol* *152*, 427-436.
- Pyne, D.B. (1994). Regulation of neutrophil function during exercise. *Sports Med* *17*, 245-258.
- Rabe, K.; Lehrke, M.; Parhofer, K.G.; Broedl, U.C. (2008). Adipokines and Insulin Resistance. *Mol Med* *14*, 741-751.
- Racette, S.B.; Coppack, S.W.; Landt, M., Klein, S. (1997). Leptin production during moderate-intensity aerobic exercise. *J Clin Endocrinol Metab* *82*, 2275-2277.
- Read, S.; Malmstrom, V.; Powrie, F. (2000). Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 plays an essential role in the function of CD25(+)CD4(+) regulatory cells that control intestinal inflammation. *J Exp Med* *192*, 295-302.
- Reilly, M.P.; Iqbal, N.; Schutta, M.; Wolfe, M.L.; Scally, M.; Localio, A.R.; Rader, D.J.; Kimmel, S.E. (2004). Plasma leptin levels are associated with coronary atherosclerosis in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* *89*, 3872-3878.
- Reseland, J.E.; Anderssen, S.A.; Solvoll, K.; Hjermann, I.; Urdal, P.; Holme, I.; Drevon, C.A. (2001). Effect of long-term changes in diet and exercise on plasma leptin concentrations. *Am J Clin Nutr* *73*, 240-245.
- Rhodes, J.S.; van Praag, H.; Jeffrey, S.; Girard, I.; Mitchell, G.S.; Garland, T., Jr.; Gage, F.H. (2003). Exercise increases hippocampal neurogenesis to high levels but does not improve spatial learning in mice bred for increased voluntary wheel running. *Behav Neurosci* *117*, 1006-1016.
- Ridker, P.M.; Rifai, N.; Stampfer, M.J.; Hennekens, C.H. (2000). Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation* *101*, 1767-1772.
- Robson, P.J.; Blannin, A.K.; Walsh, N.P.; Castell, L.M.; Gleeson, M. (1999). Effects of exercise intensity, duration and recovery on in vitro neutrophil function in male athletes. *Int J Sports Med* *20*, 128-135.
- Rochlitzer, S.; Nassenstein, C.; Braun, A. (2006). The contribution of neurotrophins to the pathogenesis of allergic asthma. *Biochem Soc Trans* *34*, 594-599.
- Rodriguez, A.B.; Barriga, C.; De la Fuente, M. (1991). Phagocytic function of blood neutrophils in sedentary young people after physical exercise. *Int J Sports Med* *12*, 276-280.
- Rojas Vega, S.; Struder, H.K.; Vera Wahrman, B.; Schmidt, A.; Bloch, W.; Hollmann, W. (2006). Acute BDNF and cortisol response to low intensity exercise and following ramp incremental exercise to exhaustion in humans. *Brain Res* *1121*, 59-65.

Romero, C.E.M.; Zanesco, A. (2006). O papel dos hormônios leptina e grelina na gênese da obesidade. *Rev Nutr* 19, 85-91.

Rosenkilde, M.M.; Schwartz, T.W. (2004). The chemokine system -- a major regulator of angiogenesis in health and disease. *Apmis* 112, 481-495.

Rovio, S.; Kareholt, I.; Helkala, E.L.; Viitanen, M.; Winblad, B.; Tuomilehto, J.; Soininen, H.; Nissinen, A.; Kivipelto, M. (2005). Leisure-time physical activity at midlife and the risk of dementia and Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 4, 705-711.

Ruderman, N.B.; Keller, C.; Richard, A.M.; Saha, A.K.; Luo, Z.; Xiang, X.; Giralt, M.; Ritov, V.B.; Menshikova, E.V.; Kelley, D.E.; *et al.* (2006). Interleukin-6 regulation of AMP-activated protein kinase. Potential role in the systemic response to exercise and prevention of the metabolic syndrome. *Diabetes* 55 Suppl 2, S48-54.

Sakaguchi, S.; Sakaguchi, N.; Asano, M.; Itoh, M.; Toda, M. (1995). Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol* 155, 1151-1164.

Saltin, B.; Ropogo, L.B. (1980). Functional adaptations to physical activity and inactivity. *Fed Proc* 39, 1506-1513.

Samad, A.K.; Taylor, R.S.; Marshall, T.; Chapman, M.A. (2005). A meta-analysis of the association of physical activity with reduced risk of colorectal cancer. *Colorectal Dis* 7, 204-213.

Sandmand, M.; Bruunsgaard, H.; Kemp, K.; Andersen-Ranberg, K.; Pedersen, A.N.; Skinhoj, P.; Pedersen, B.K. (2002). Is ageing associated with a shift in the balance between Type 1 and Type 2 cytokines in humans? *Clin Exp Immunol* 127, 107-114.

SBPC/ML – SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (2005). Recomendações para coleta de sangue venoso. 1ª ed. São Paulo: [s.n.].

Scalzo, P.L.; Kummer, A.; Bretas, T.L.; Cardoso, F.; Teixeira, A.L. (2010). Serum levels of brain-derived neurotrophic factor correlate with motor impairment in Parkinson's disease. *J Neurol* 257, 540-545.

Schabitz, W.R.; Steigleder, T.; Cooper-Kuhn, C.M.; Schwab, S.; Sommer, C.; Schneider, A.; Kuhn, H.G. (2007). Intravenous brain-derived neurotrophic factor enhances poststroke sensorimotor recovery and stimulates neurogenesis. *Stroke* 38, 2165-2172.

Schantz, P.; Henriksson, J.; Jansson, E. (1983). Adaptation of human skeletal muscle to endurance training of long duration. *Clin Physiol* 3, 141-151.

Schantz, P.G.; Sjoberg, B.; Svedenhag, J. (1986). Malate-aspartate and alpha-glycerophosphate shuttle enzyme levels in human skeletal muscle: methodological considerations and effect of endurance training. *Acta Physiol Scand* 128, 397-407.

Schiffer, T.; Schulte, S.; Hollmann, W.; Bloch, W.; Struder, H.K. (2009). Effects of strength and endurance training on brain-derived neurotrophic factor and insulin-like growth factor 1 in humans. *Horm Metab Res* 41, 250-254.

Schindowski, K.; Belarbi, K.; Buee, L. (2008). Neurotrophic factors in Alzheimer's disease: role of axonal transport. *Genes Brain Behav* 7 *Suppl 1*, 43-56.

Schmidt, M.I.; Duncan, B.B. (2003). Diabesity: an inflammatory metabolic condition. *Clin Chem Lab Med* 41, 1120-1130.

Schulte-Herbruggen, O.; Nassenstein, C.; Lommatzsch, M.; Quarcoo, D.; Renz, H.; Braun, A. (2005). Tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 regulate secretion of brain-derived neurotrophic factor in human monocytes. *J Neuroimmunol* 160, 204-209.

Schwartz, M.W.; Woods, S.C.; Porte, D., Jr.; Seeley, R.J.; Baskin, D.G. (2000). Central nervous system control of food intake. *Nature* 404, 661-671.

Shephard, R.J. (1992). Exercise physiology and performance of sport. *Sports Sciences* 1, 1-12.

Sjodin, B.; Jacobs, I. (1981). Onset of blood lactate accumulation and marathon running performance. *Int J Sports Med* 2, 23-26.

Skaper, S.D.; Walsh, F.S. (1998). Neurotrophic molecules: strategies for designing effective therapeutic molecules in neurodegeneration. *Mol Cell Neurosci* 12, 179-193.

Sliwowski, Z.; Lorens, K.; Konturek, S.J.; Bielanski, W.; Zoladz, J.A. (2001). Leptin, gastrointestinal and stress hormones in response to exercise in fasted or fed subjects and before or after blood donation. *J Physiol Pharmacol* 52, 53-70.

Sloan, R.P.; Shapiro, P.A.; Demeersman, R.E.; McKinley, P.S.; Tracey, K.J.; Slavov, I.; Fang, Y.; Flood, P.D. (2007). Aerobic exercise attenuates inducible TNF production in humans. *J Appl Physiol* 103, 1007-1011.

Smith, J.K. (2001). Exercise and atherogenesis. *Exerc Sport Sci Rev* 29, 49-53.

Sousa, L.; Botoni, F.A.; Britto, R.R.; Rocha, M.O.C.; Teixeira, A.L.; Teixeira, M.M.; Reis, A.M.; Oliveira, B.M.; Ribeiro, A.L. (2008). Six-minute walk test in chagas cardiomyopathy. *Int J Cardiol* 125, 139-41.

Spina, R.J. (1999). Cardiovascular adaptations to endurance exercise training in older men and women. *Exerc Sport Sci Rev* 27, 317-332.

Spranger, J.; Kroke, A.; Mohlig, M.; Bergmann, M.M.; Ristow, M.; Boeing, H.; Pfeiffer, A.F. (2003a). Adiponectin and protection against type 2 diabetes mellitus. *Lancet* 361, 226-228.

Spranger, J.; Kroke, A.; Mohlig, M.; Hoffmann, K.; Bergmann, M.M.; Ristow, M.; Boeing, H.; Pfeiffer, A.F. (2003b). Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes: results of the prospective population-based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study. *Diabetes* 52, 812-817.

- Starkie, R.; Ostrowski, S.R.; Jauffred, S.; Febbraio, M.; Pedersen, B.K. (2003). Exercise and IL-6 infusion inhibit endotoxin-induced TNF- α production in humans. *Faseb J* 17, 884-886.
- Starkie, R.L.; Angus, D.J.; Rolland, J.; Hargreaves, M.; Febbraio, M.A. (2000). Effect of prolonged, submaximal exercise and carbohydrate ingestion on monocyte intracellular cytokine production in humans. *J Physiol* 528, 647-655.
- Starkie, R.L.; Arkinstall, M.J.; Koukoulas, I.; Hawley, J.A.; Febbraio, M.A. (2001). Carbohydrate ingestion attenuates the increase in plasma interleukin-6, but not skeletal muscle interleukin-6 mRNA, during exercise in humans. *J Physiol* 533, 585-591.
- Steensberg, A.; Fischer, C.P.; Keller, C.; Moller, K.; Pedersen, B.K. (2003). IL-6 enhances plasma IL-1 α , IL-10, and cortisol in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 285, E433-437.
- Steensberg, A.; van Hall, G.; Osada, T.; Sacchetti, M.; Saltin, B.; Klarlund Pedersen, B. (2000). Production of interleukin-6 in contracting human skeletal muscles can account for the exercise-induced increase in plasma interleukin-6. *J Physiol* 529 Pt 1, 237-242.
- Stegmann, H.; Kindermann, W.; Schnabel, A. (1981). Lactate kinetics and individual anaerobic threshold. *Int J Sports Med* 2, 160-165.
- Stouthard, J. M.; Romijn, J. A.; Van der Poll, T.; Endert, E.; Klein, S.; Bakker, P.J.; Veenhof, C.H.; Sauerwein, H.P. (1995). Endocrinologic and metabolic effects of interleukin-6 in humans. *Am J Physiol* 268, E813-819.
- Sudi, K.; Jurimae, J.; Payerl, D.; Pihl, E.; Moller, R.; Tafeit, E.; Jurimae, T. (2001). Relationship between subcutaneous fatness and leptin in male athletes. *Med Sci Sports Exerc* 33, 1324-1329.
- Suter, E.; Hoppeler, H.; Claassen, H.; Billeter, R.; Aebi, U.; Horber, F.; Jaeger, P.; Marti, B. (1995). Ultrastructural modification of human skeletal muscle tissue with 6-month moderate-intensity exercise training. *Int J Sports Med* 16, 160-166.
- Suzuki, K.; Nakaji, S.; Yamada, M.; Liu, Q.; Kurakake, S.; Okamura, N.; Kumae, T.; Umeda, T.; Sugawara, K. (2003). Impact of a competitive marathon race on systemic cytokine and neutrophil responses. *Med Sci Sports Exerc* 35, 348-355.
- Suzuki, K.; Yamada, M.; Kurakake, S.; Okamura, N.; Yamaya, K.; Liu, Q.; Kudoh, S.; Kowatari, K.; Nakaji, S.; Sugawara, K. (2000). Circulating cytokines and hormones with immunosuppressive but neutrophil-priming potentials rise after endurance exercise in humans. *Eur J Appl Physiol* 81, 281-287.
- Tang, S.W.; Chu, E.; Hui, T.; Helmeste, D.; Law, C. (2008). Influence of exercise on serum brain-derived neurotrophic factor concentrations in healthy human subjects. *Neurosci Lett* 431, 62-65.

Tarkowski, E.; Blennow, K.; Wallin, A.; Tarkowski, A. (1999). Intracerebral production of tumor necrosis factor-alpha, a local neuroprotective agent, in Alzheimer disease and vascular dementia. *J Clin Immunol* 19, 223-230.

Taylor, R.S.; Brown, A.; Ebrahim, S.; Jolliffe, J.; Noorani, H.; Rees, K.; Skidmore, B.; Stone, J.A.; Thompson, D.R.; Oldridge, N. (2004). Exercise-based rehabilitation for patients with coronary heart disease: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Med* 116, 682-692.

Thelen, M.; Stein, J.V. (2008). How chemokines invite leukocytes to dance. *Nat Immunol* 9, 953-959.

Thompson, P.D.; Buchner, D.; Pina, I.L.; Balady, G.J.; Williams, M.A.; Marcus, B.H.; Berra, K.; Blair, S.N.; Costa, F.; Franklin, B.; *et al.* (2003). Exercise and physical activity in the prevention and treatment of atherosclerotic cardiovascular disease: a statement from the Council on Clinical Cardiology (Subcommittee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention) and the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism (Subcommittee on Physical Activity). *Circulation* 107, 3109-3116.

Thong, F.S.; McLean, C.; Graham, T.E. (2000). Plasma leptin in female athletes: relationship with body fat, reproductive, nutritional, and endocrine factors. *J Appl Physiol* 88, 2037-2044.

Tilg, H.; Moschen, A.R. (2006). Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol* 6, 772-783.

Toft, A.D.; Jensen, L.B.; Bruunsgaard, H.; Ibfelt, T.; Halkjaer-Kristensen, J.; Febbraio, M.; Pedersen, B.K. (2002). Cytokine response to eccentric exercise in young and elderly humans. *Am J Physiol Cell Physiol* 283, C289-295.

Torjman, M.C.; Zafeiridis, A.; Paolone, A.M.; Wilkerson, C.; Considine, R.V. (1999). Serum leptin during recovery following maximal incremental and prolonged exercise. *Int J Sports Med* 20, 444-450.

Trayhurn, P.; Bing, C. (2006). Appetite and energy balance signals from adipocytes. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 361, 1237-1249.

Trayhurn, P.; Wood, I.S. (2004). Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr* 92, 347-355.

Tuomilehto, J.; Lindstrom, J.; Eriksson, J.G.; Valle, T.T.; Hamalainen, H.; Ilanne-Parikka, P.; Keinanen-Kiukaanniemi, S.; Laakso, M.; Louheranta, A.; Rastas, M.; *et al.* (2001). Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med* 344, 1343-1350.

Tvede, N.; Kappel, M.; Klarlund, K.; Duhn, S.; Halkjaer-Kristensen, J.; Kjaer, M.; Galbo, H.; Pedersen, B.K. (1994). Evidence that the effect of bicycle exercise on blood mononuclear cell proliferative responses and subsets is mediated by epinephrine. *Int J Sports Med* 15, 100-104.

Tvede, N.; Steensberg, J.; Baslund, B.; Halkjaer-Kristensen, J.; Pedersen, B.K. (1991). Cellular immunity in highly trained elite racing cyclists during periods of training with high and low intensity. *Scand J Med Sci Sports* 1, 163–166.

Tyler, W.J.; Alonso, M.; Bramham, C.R.; Pozzo-Miller, L.D. (2002). From acquisition to consolidation: on the role of brain-derived neurotrophic factor signaling in hippocampal-dependent learning. *Learn Mem* 9, 224-237.

Ullum, H.; Haahr, P.M.; Diamant, M.; Palmo, J.; Halkjaer-Kristensen, J.; Pedersen, B.K. (1994). Bicycle exercise enhances plasma IL-6 but does not change IL-1 alpha, IL-1 beta, IL-6, or TNF-alpha pre-mRNA in BMNC. *J Appl Physiol* 77, 93-97.

van Gelder, B.M.; Tijhuis, M.A.; Kalmijn, S.; Giampaoli, S.; Nissinen, A.; Kromhout, D. (2004). Physical activity in relation to cognitive decline in elderly men: the FINE Study. *Neurology* 63, 2316-2321.

van Hall, G.; Steensberg, A.; Sacchetti, M.; Fischer, C.; Keller, C.; Schjerling, P.; Hiscock, N.; Moller, K.; Saltin, B.; Febbraio, M.A.; Pedersen, B.K. (2003). Interleukin-6 stimulates lipolysis and fat oxidation in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 88, 3005-3010.

van Praag, H.; Christie, B.R.; Sejnowski, T.J.; Gage, F.H. (1999). Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96, 13427-13431.

Varady, K.A.; Bhutani, S.; Church, E.C.; Phillips, S.A. (2010). Adipokine responses to acute resistance exercise in trained and untrained men. *Med Sci Sports Exerc* 42, 456-462.

Vaynman, S.; Ying, Z.; Gomez-Pinilla, F. (2004). Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. *Eur J Neurosci* 20, 2580-2590.

Verma, S.; Li, S.H.; Wang, C.H.; Fedak, P.W.; Li, R.K.; Weisel, R.D.; Mickle, D.A. (2003). Resistin promotes endothelial cell activation: further evidence of adipokine-endothelial interaction. *Circulation* 108, 736-740.

Vignali, D.A.; Collison, L.W.; Workman, C.J. (2008). How regulatory T cells work. *Nat Rev Immunol* 8, 523-532.

Wallach, D.; Varfolomeev, E.E.; Malinin, N.L.; Goltsev, Y.V.; Kovalenko, A.V.; Boldin, M.P. (1999). Tumor necrosis factor receptor and Fas signaling mechanisms. *Annu Rev Immunol* 17, 331-367.

Wallenius, V.; Wallenius, K.; Ahren, B.; Rudling, M.; Carlsten, H.; Dickson, S.L.; Ohlsson, C.; Jansson, J.O. (2002). Interleukin-6-deficient mice develop mature-onset obesity. *Nat Med* 8, 75-79.

Walsh, B.; Tonkonogi, M.; Sahlin, K. (2001). Effect of endurance training on oxidative and antioxidative function in human permeabilized muscle fibres. *Pflugers Arch* 442, 420-425.

Weltman, A.; Pritzlaff, C.J.; Wideman, L.; Considine, R.V.; Fryburg, D.A.; Gutgesell, M.E.; Hartman, M.L.; Veldhuis, J.D. (2000). Intensity of acute exercise does not affect serum leptin concentrations in young men. *Med Sci Sports Exerc* 32, 1556-1561.

Weston, A.R.; Karamizrak, O.; Smith, A.; Noakes, T.D.; Myburgh, K.H. (1999). African runners exhibit greater fatigue resistance, lower lactate accumulation, and higher oxidative enzyme activity. *J Appl Physiol* 86, 915-923.

Weuve, J.; Kang, J.H.; Manson, J.E.; Breteler, M.M.; Ware, J.H.; Grodstein, F. (2004). Physical activity, including walking, and cognitive function in older women. *Jama* 292, 1454-1461.

Widenfalk, J.; Olson, L.; Thoren, P. (1999). Deprived of habitual running, rats downregulate BDNF and TrkB messages in the brain. *Neurosci Res* 34, 125-132.

Wilund, K.R. (2007). Is the anti-inflammatory effect of regular exercise responsible for reduced cardiovascular disease? *Clin Sci (Lond)* 112, 543-555.

Wing, K.; Fehervari, Z.; Sakaguchi, S. (2006). Emerging possibilities in the development and function of regulatory T cells. *Int Immunol* 18, 991-1000.

Wynn, T.A. (2008). Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J Pathol* 214, 199-210.

Yamamoto, H.; Gurney, M. E. (1990). Human platelets contain brain-derived neurotrophic factor. *J Neurosci* 10, 3469-3478.

Yamauchi, T.; Kamon, J.; Minokoshi, Y.; Ito, Y.; Waki, H.; Uchida, S.; Yamashita, S.; Noda, M.; Kita, S.; Ueki, K.; *et al.* (2002). Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med* 8, 1288-1295.

Yamauchi, T.; Kamon, J.; Waki, H.; Terauchi, Y.; Kubota, N.; Hara, K.; Mori, Y.; Ide, T.; Murakami, K.; Tsuboyama-Kasaoka, N.; *et al.* (2001). The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipotrophy and obesity. *Nat Med* 7, 941-946.

Yang, Z.F.; Ho, D.W.; Lau, C.K.; Tam, K.H.; Lam, C.T.; Poon, R.T.; Fan, S.T. (2006). Platelet activation during tumor development, the potential role of BDNF-TrkB autocrine loop. *Biochem Biophys Res Commun* 346, 981-985.

Yarrow, J.F.; White, L.J.; McCoy, S.C.; Borst, S.E. (2010). Training augments resistance exercise induced elevation of circulating brain derived neurotrophic factor (BDNF). *Neurosci Lett* 479, 161-165.

Yasutake, C.; Kuroda, K.; Yanagawa, T.; Okamura, T.; Yoneda, H. (2006). Serum BDNF, TNF-alpha and IL-1beta levels in dementia patients: comparison between Alzheimer's disease and vascular dementia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 256, 402-406.

Yatagai, T.; Nishida, Y.; Nagasaka, S.; Nakamura, T.; Tokuyama, K.; Shindo, M.; Tanaka, H.; Ishibashi, S. (2003). Relationship between exercise training-induced increase in insulin sensitivity and adiponectinemia in healthy men. *Endocr J* 50, 233-238.

Yeh, S.H.; Chuang, H.; Lin, L.W.; Hsiao, C.Y.; Eng, H.L. (2006). Regular tai chi chuan exercise enhances functional mobility and CD4CD25 regulatory T cells. *Br J Sports Med* 40, 239-243.

Yudkin, J.S.; Kumari, M.; Humphries, S.E.; Mohamed-Ali, V. (2000). Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link? *Atherosclerosis* 148, 209-214.

Zaccaria, M.; Ermolao, A.; Roi, G.S.; Englaro, P.; Tegon, G.; Varnier, M. (2002). Leptin reduction after endurance races differing in duration and energy expenditure. *Eur J Appl Physiol* 87, 108-111.

Zoladz, J.A.; Konturek, S.J.; Duda, K.; Majerczak, J.; Sliwowski, Z.; Grandys, M.; Bielanski, W. (2005). Effect of moderate incremental exercise, performed in fed and fasted state on cardio-respiratory variables and leptin and ghrelin concentrations in young healthy men. *J Physiol Pharmacol* 56, 63-85.

Zoladz, J.A.; Pilc, A.; Majerczak, J.; Grandys, M.; Zapart-Bukowska, J.; Duda, K. (2008). Endurance training increases plasma brain-derived neurotrophic factor concentration in young healthy men. *J Physiol Pharmacol* 59 Suppl 7, 119-132.

11. ANEXOS

ANEXO I – Parecer Comitê de Ética



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Parecer nº. ETIC 261/09

Interessado(a): Prof. Mauro Martins Teixeira
Departamento de Bioquímica e Imunologia
Instituto de Ciências Biológicas - UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 04 de agosto de 2009, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado **"Efeitos do treinamento físico sobre alterações imunológicas induzidas por exercício extenuante em humanos"** bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Maria Teresa Marques Amaral', is written over a horizontal line.

Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG

ANEXO II – Questionário 01

Data: _____ Data de nascimento: ____/____/____

Nome: _____

Instruções:

- As respostas a esses questionários são confidenciais.
- Somente o médico responsável pela sua avaliação e os pesquisadores desse estudo terão acesso às suas respostas.

Você tem alguma queixa sobre seu estado de saúde atualmente?

(Caso positivo, descreva o que sente, há quanto tempo começou e o que tem feito para melhorar o problema.)

- 1) Quando foi seu último exame médico completo? Qual foi o motivo?
- 2) Você teve ou tem alguma doença ou ferimento desde seu último exame médico?
- 3) Já esteve internado em hospital? Qual foi o motivo?
- 4) Já fez alguma cirurgia? Qual e quando?
- 5) Está tomando regularmente algum medicamento ou pílula? Qual?
- 6) Alguma vez tomou algum tipo de suplemento alimentar ou vitaminas para ajudá-lo a ganhar ou perder peso?
- 7) Você tem períodos de alergia que necessitam de tratamento médico? (pólen, medicamentos, comida, insetos)
- 8) Já passou mal durante ou após exercitar-se?
- 9) Já desmaiou durante ou depois do exercício?
- 10) Já sentiu tontura durante ou após o exercício?
- 11) Alguma vez já teve dores no peito durante ou após o exercício?
- 12) Você se cansa mais rápido do que seus amigos durante o exercício?
- 13) Já teve palpitações, disparos do coração ou batimentos descontínuos?
- 14) Já mediu sua pressão arterial? Qual foi o resultado?
- 15) Já mediu o seu colesterol sanguíneo? Qual foi o resultado?
- 16) Você já mediu a sua glicose sanguínea? Qual foi o resultado?
- 17) Algum médico já disse que você tem um sopro no coração?
- 18) Algum membro de sua família ou parente morreu de problemas no coração ou teve morte súbita antes dos 50 anos? Quem?
- 19) Algum médico alguma vez proibiu ou limitou sua participação em esportes?
- 20) Você teve alguma infecção no último mês?
- 21) Já teve convulsão?
- 22) Você tem dores de cabeça frequentes ou muito fortes?
- 23) Já teve dormência ou formigamento nos braços, mãos, pernas ou pés?
- 24) Você já usou ou usa bebida alcoólica? Qual frequência?

- 25) Você fuma ou já fumou? Quantos cigarros por dia?
- 26) Você tosse, chia ou tem dificuldade para respirar durante ou após o exercício?
- 27) Você tem asma?
- 28) Já usou inalador (bombinha)?
- 29) Usa ou já usou equipamentos corretivos (joelheiras, colete de pescoço, calçados ortopédicos, protetores nos dentes, aparelho de surdez)?
- 30) Apresenta algum problema nos olhos ou na visão?
- 31) Seu peso está estável?
- 32) Você faz alguma dieta para controlar seu peso?
- 33) Alguma vez teve torção, distensão ou inchaço depois de um acidente esportivo?
- 34) Já fraturou algum osso ou luxou alguma articulação?
- 35) Já teve algum problema de dor ou inchaço nos músculos, tendões, ossos ou articulações?
Se sim, descreva a região onde ocorreu.

Declaro que as respostas acima estão respondidas da forma mais completa e corretas.

Assinatura do voluntário

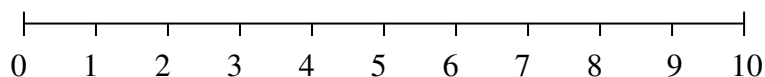
Data: ____/____/____

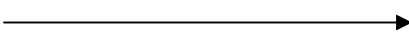
Adaptado do consenso das Sociedades Norte-americanas de Pediatria, Medicina de Família, Medicina Desportiva, Ortopedia e Osteopatia Desportiva, 1997. In: The Physician and Sportsmedicine, McGraw-Hill Healthcare, 2nd edition, Minneapolis, New York, USA.

ANEXO III – Questionário 02

Procedimento de coleta de sangue a vácuo

- a) Você já foi a um laboratório para fazer exame de sangue? Há quanto tempo?
- b) Houve alguma complicação ao retirar o sangue? Em caso afirmativo, você teve algum dos seguintes sintomas?
- () tontura () suor frio () palidez da face
- () fraqueza () desmaio
- c) Após a retirada do sangue, ocorreram hematomas ou perda de sensibilidade da pele no local da punção venosa?
- d) Em uma escala de 01 a 10, classifique o seu incômodo em relação à coleta de sangue em geral, considerando a sensação de dor produzida pela agulha e o momento de visualização do sangue. Dentro da escala, os menores valores significam pouco incômodo e os maiores valores significam muito incômodo.



Pouco incômodo  Muito incômodo

Assinatura do voluntário

Data: ____/____/____

ANEXO IV – Termo de consentimento livre e esclarecido

(DE ACORDO COM O ITEM IV DA RESOLUÇÃO 196/96 DO CNS)

Você está sendo convidado para participar do projeto de pesquisa de doutorado intitulado: **“Efeitos do treinamento aeróbio em parâmetros imunológicos e metabólicos basais e induzidos por exercício físico agudo em humanos”** que será realizado pelo Laboratório de Imunofarmacologia do Instituto de Ciências Biológicas em parceria com o Laboratório de Fisiologia do Exercício da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional, ambos da Universidade Federal de Minas Gerais. Todas as coletas de dados serão realizadas no Laboratório de Fisiologia do Exercício.

O objetivo deste estudo será avaliar os efeitos do treinamento físico de seis semanas sobre a quantidade de células e produção de proteínas no sangue envolvidas em processos inflamatórios e anti-inflamatórios em repouso e após um exercício intenso.

Primeiramente, você realizará uma avaliação médica para saber se poderá participar do estudo e, então, você passará por uma avaliação física. Os resultados dessas avaliações serão entregues a você ao final da pesquisa. Após essas avaliações, serão coletados 10mL de sangue do seu braço para análise das células.

Em seguida, você realizará exercícios em bicicleta ergométrica. Entre cada um dos exercícios, haverá um período de, no mínimo, 72 horas, em que você não poderá realizar exercícios físicos. Serão realizados 3 testes diferentes:

Teste 1: Nesse primeiro teste, você realizará um exercício com cargas (pesos) crescentes. De 3 em 3min, a carga será aumentada e você deverá pedalar em velocidade constante até o máximo que conseguir. Antes desse teste, a cada 3min durante o exercício e 1, 3, 5 e 10min após o término do exercício será coletada uma pequena quantidade (25 microlitros) de sangue do lobo da orelha.

Teste 2: Nesse teste, você realizará um exercício com intensidade constante. Você deverá pedalar em velocidade constante durante 30min. Esse teste deverá ser realizado 3 a 4 vezes (em dias diferentes com intervalo mínimo de 72 horas). Antes desse teste e de 5 em 5min durante a realização do exercício, será coletada uma pequena quantidade (25 microlitros) de sangue do lobo da orelha.

Teste 3: Após a análise dos resultados dos testes anteriores, um pesquisador definirá a intensidade em que será realizado o último teste. Nesse teste, você deverá pedalar com a intensidade definida a uma velocidade constante até o máximo de tempo que conseguir (até a fadiga). Antes desse teste e de 10 em 10min durante a realização do exercício, será coletada uma pequena amostra (25 microlitros) de sangue do lobo da orelha.

Durante o período preparatório para o terceiro teste, um pesquisador, devidamente treinado, afixará, com auxílio de uma agulha, uma cânula plástica fina, em uma veia do seu antebraço para coleta de sangue. Essa cânula permanecerá afixada nessa região até o final do exercício. As amostras de sangue serão coletadas nos seguintes momentos: em repouso (antes do exercício), imediatamente

após a fadiga e 10, 30 e 60min após o término exercício. Em cada momento, serão coletados 5mL de sangue. Essas amostras serão utilizadas para análise das proteínas.

Em todos os momentos de coleta de sangue no lobo da orelha, serão utilizadas lancetas descartáveis. Pode haver algum desconforto, mas tal procedimento é bem tolerado por todos.

Os seguintes critérios serão considerados para a interrupção de qualquer um dos testes:

- Você solicitar o término do exercício;
- Você der nota igual a 20 na escala de Percepção Subjetiva do Esforço – o que corresponde a um exercício exaustivo/máximo (um pesquisador dará explicações a você sobre essa escala);
- A frequência cardíaca não se elevar mesmo aumentando de intensidade;
- Os pesquisadores notarem a presença de sintomas como tontura, confusão, falta de coordenação dos movimentos, palidez, pele azulada, náusea, pele fria e úmida.

Após a realização dos testes descritos acima, ocorrerá um treinamento físico que será realizado três vezes por semana em bicicleta ergométrica, com duração aproximada de 24 a 39min. O treinamento terá a duração de 6 semanas. Em todas essas situações, um pesquisador estará presente monitorando todas as atividades realizadas. Após o fim do treinamento físico, todas as avaliações e testes relatados anteriormente serão repetidos. Além disso, você realizará mais um teste até a fadiga (teste 3) com uma nova intensidade.

Durante a pesquisa, você poderá apresentar dores musculares, durante ou após os exercícios, e sensação de cansaço, que devem desaparecer entre 2 e 5 dias. Hematomas também podem aparecer no local da colheita de sangue, regredindo no máximo após uma semana. Riscos gerais que envolvem a prática de atividades físicas devem ser considerados, como lesões músculo-esqueléticas, traumatismo em geral e ataques cardíacos. Entretanto, você realizará um exercício físico em condições laboratoriais estritamente controladas, com procedimentos tecnicamente bem executados.

Como benefício, essa pesquisa é uma boa oportunidade para você aprender como o seu próprio organismo se ajusta diante de um período de treinamento físico. Além disso, você receberá os resultados de todas as avaliações físicas e dos testes. Caso seja do seu interesse, os pesquisadores interpretarão e apresentarão todos os resultados para você saber como foi o seu desempenho ao longo dos testes.

Não está prevista qualquer forma de remuneração ou pagamento de eventuais despesas médicas para os voluntários. Todas as despesas especificamente relacionadas com o estudo são de responsabilidade do Laboratório de Imunofarmacologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG.

Além disso, você dispõe de total liberdade para esclarecer questões que possam surgir durante o andamento da pesquisa. Qualquer dúvida, por favor, entre em contato com os pesquisadores responsáveis pelo estudo: Mauro Martins Teixeira (orientador), tel. 3409-2651 e Tatiana Ramos Fonseca (doutoranda), tel. 96747898.

Você também poderá recusar-se a participar deste estudo e/ou abandoná-lo a qualquer momento, sem precisar se justificar. Você também deve compreender que os pesquisadores podem

decidir sobre a sua exclusão do estudo por razões científicas, sobre as quais você será devidamente informado.

Todos os seus dados são confidenciais, sua identidade não será revelada publicamente em hipótese alguma e somente os pesquisadores envolvidos neste estudo terão acesso a essas informações que serão utilizadas para fins de pesquisa.

CONSENTIMENTO

Concordo com tudo o que foi exposto acima e, voluntariamente, aceito participar deste estudo, que será realizado no Laboratório de Imunofarmacologia do Instituto de Ciências Biológicas com parceria do Laboratório de Fisiologia do Exercício da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional, ambos da Universidade Federal de Minas Gerais. Os resultados dessa pesquisa serão utilizados na elaboração de uma tese de doutorado.

Belo Horizonte, ____ de _____ de 2009

Assinatura do voluntário: _____

Assinatura da testemunha: _____

Declaro que expliquei os objetivos deste estudo para o voluntário, dentro dos limites dos meus conhecimentos científicos.

Tatiana Ramos Fonseca
Doutoranda / Pesquisadora

Dr. Mauro Martins Teixeira
Prof. Titular do ICB – UFMG

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da Universidade Federal de Minas Gerais e pela Câmara do Departamento de Bioquímica e Imunologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais. Qualquer consideração ou reclamação, entre em contato com o COEP/ UFMG: Av. Antônio Carlos, 6627. Unidade Administrativa II, 2º andar, sala 2005. Campus Pampulha. Belo Horizonte – MG CEP 31270-901. Tel: 34094592. E-mail: coep@prpq.ufmg.br.