

Daniele Sirineu Pereira

**INTERAÇÃO ENTRE OS POLIMORFISMOS DOS GENES DAS CITOCINAS
TNF- α , IL6, IL10 E BDNF E OS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO EM IDOSAS**

Belo Horizonte

2012

Daniele Sirineu Pereira

**INTERAÇÃO ENTRE OS POLIMORFISMOS DOS GENES DAS CITOCINAS
TNF- α , IL6, IL10 E BDNF E OS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO EM IDOSAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Reabilitação, da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito à obtenção do título de Doutor em Ciências da Reabilitação

Área de Concentração: Desempenho Funcional Humano

Linha de pesquisa: Saúde e Reabilitação do Idoso

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Leani SM Pereira

Co-Orientador: Prof. Dr. Antonio Lúcio Teixeira

Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Danielle A Gomes Pereira

Belo Horizonte

2012

P436i Pereira, Daniele Sirineu
2012 Interação entre os polimorfismos dos genes das citocinas TNF- α , IL6, IL10 e os efeitos do exercício físico em idosas . [manuscrito] / Daniele Sirineu Pereira – 2012.
211 f., enc.:il.

Orientadora: Leani Souza Máximo Pereira
Co-orientador: Antonio Lúcio Teixeira
Co-orientadora: Danielle A Gomes Pereira

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional
Bibliografia: f. 46-54

1. Citocinas - Teses. 2. Idosos - Teses. 3. Exercícios físicos - Teses. 4. Capacidade motora - Teses. I. Pereira, Leani Souza Máximo. II. Teixeira, Antonio Lúcio. III. Pereira, Danielle A Gomes Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional. IV. Título.

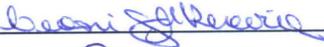
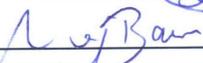
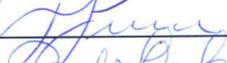
CDU: 615.851.3-053.9

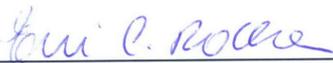
Ficha catalográfica elaborada pela equipe de bibliotecários da Biblioteca da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais.

COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS EM REABILITAÇÃO
DEPARTAMENTOS DE FISIOTERAPIA E DE TERAPIA OCUPACIONAL
SITE: www.eeffto.ufmg.br/mreab E-MAIL: mreab@eeffto.ufmg.br FONE/FAX: (31) 3409-4781

ATA DE NÚMERO 16 (DEZESSEIS) DA SESSÃO DE ARGUIÇÃO E DEFESA DE
TESE APRESENTADA PELA CANDIDATA **DANIELE SIRINEU PEREIRA** DO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA REABILITAÇÃO.....

Aos 16 (dezesseis) dias do mês de março do ano de dois mil e doze, realizou-se na Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional, a sessão pública para apresentação e defesa da tese "**INTERAÇÃO ENTRE OS POLIMORFISMOS DOS GENES DAS CITOCINAS TNF-alfa, IL6, IL10 e BDNF E OS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO EM IDOSAS,**" de **DANIELE SIRINEU PEREIRA**. A comissão examinadora foi constituída pelos seguintes Professores Doutores: Leani Souza Máximo Pereira, Moisés Evandro Bauer, Ricardo de Oliveira Guerra, Paula Luciana Scalzo, Raquel Rodrigues Britto sob a presidência da primeira. Os trabalhos iniciaram-se às 14 horas com apresentação oral da candidata, seguida de arguição dos membros da Comissão Examinadora. Após avaliação, os examinadores consideraram a candidata **aprovada e apta a receber o título de Doutor após a entrega da versão definitiva da Tese**. Nada mais havendo a tratar, eu, Eni da Conceição Rocha, secretária do Colegiado de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação dos Departamentos de Fisioterapia e de Terapia Ocupacional da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional, lavrei a presente Ata, que depois de lida e aprovada será assinada por mim e pelos membros da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 16 de março de 2012.

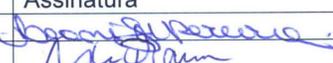
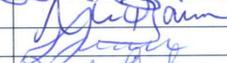
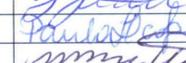
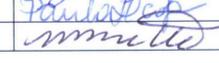
Professora Dra. Leani Souza Máximo Pereira 
Professor Dr. Moisés Evandro Bauer 
Professor Dr. Ricardo de Oliveira Guerra 
Professora Dra. Paula Luciana Scalzo 
Professora Dra. Raquel Rodrigues Britto 

Eni da Conceição Rocha 
Secretária do Colegiado de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação

COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS EM REABILITAÇÃO
 DEPARTAMENTOS DE FISIOTERAPIA E DE TERAPIA OCUPACIONAL
 SITE: www.eeffto.ufmg.br/mreab E-MAIL: mreab@eeffto.ufmg.br FONE/FAX: (31) 3409-4781

PARECER

Considerando que a Tese de Doutorado de **DANIELE SIRINEU PEREIRA** intitulada “**INTERAÇÃO ENTRE OS POLIMORFISMOS DOS GENES DAS CITOCINAS TNF-alfa, IL6, IL10 e BDNF E OS EFEITOS DO EXERCICIO FÍSICO EM IDOSAS**”, defendida junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação, nível: Doutorado cumpriu sua função didática, atendendo a todos os critérios científicos, a Comissão Examinadora **APROVOU** a Tese de doutorado, conferindo-lhe as seguintes indicações:

Nome do Professor (a)/Banca	Aprovação	Assinatura
Profa. Dra. Leani Souza Máximo Pereira	APROVADA	
Prof. Dr. Moisés Evandro Bauer	APROVADA	
Prof. Dr. Ricardo de Oliveira Guerra	APROVADA	
Profa. Dra. Paula Luciana Scalzo	APROVADA	
Profa. Dra. Raquel Rodrigues Britto	APROVADA	

Belo Horizonte, 16 março de 2012.



Colegiado de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação/EEFFTO/UFMG

Luci Fúscaldi Teixeira-Salmela
 Sub-coordenadora do Colegiado
 Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação
 Inscrição UFMG: 222844 Inscrição Siano: 0217057

“Opte por aquilo que faz o seu coração vibrar...
Apesar de todas as consequências.”
(Osho)

Às idosas, por cada exemplo de vida, feliz ou sofrida,
por me permitirem ver a beleza que todas as etapas da vida têm.

À professora Leani, que mais uma vez, sem colocar limites à
minha sede de aprendizado, tornou possível a realização desse sonho.

AGRADECIMENTOS

*"E aprendi que se depende sempre,
de tanta, muita, diferente gente.
Toda pessoa sempre é as marcas
das lições diárias de outras tantas pessoas.
E é tão bonito quando a gente entende
que a gente é tanta gente
onde quer que a gente vá.
E é tão bonito quando a gente sente
que nunca está sozinho,
por mais que pense estar."*

Gonzaguinha

À todas as idosas que participaram desta pesquisa, pela colaboração fundamental para a realização deste estudo. Obrigada pelos vários exemplos de vida e de coragem!

À professora Leani Souza Máximo Pereira, que muito mais que minha orientadora é meu exemplo, como fisioterapeuta, gerontóloga, pesquisadora e educadora. Obrigada por me permitir ir além dos meus sonhos e concretizar um ideal, possibilitando toda essa trajetória. Obrigada pela confiança e por proporcionar oportunidades ímpares de crescimento profissional e pessoal.

À professora Danielle Aparecida Gomes Pereira pela amizade e pelo exemplo de competência em toda essa jornada. Você foi essencial para a realização deste sonho. Obrigada pelas palavras de incentivo e apoio nos momentos de dificuldade.

Ao professor Antonio Lucio Teixeira pela co-orientação e por possibilitar a concretização de várias etapas desse trabalho. Obrigada principalmente por ampliar minhas oportunidades de crescimento. Espero que esta tenha sido a primeira de muitas outras parcerias.

À Bárbara Zille de Queiroz, minha eterna dupla, pela amizade e companheirismo incondicionais durante esses vários anos. Sem seu apoio, alguns momentos teriam sido impossíveis...

À Aline Silva Miranda e Natália Pessoa Rocha pela amizade e parceria na para realização das dosagens dos mediadores inflamatórios. Esse projeto não teria se concretizado sem a ajuda de vocês.

Ao Elvis pela preciosa contribuição ao me ensinar e acompanhar no processo de genotipagem. Obrigada pela disponibilidade e amizade. Sua participação foi essencial para que o trabalho se efetivasse.

Aos companheiros do Ladire: Juscélio Pereira Silva, Fernanda Matos Coelho, Alexandra Miranda Assumpção, Diogo Carvalho Felício e Daniela Maria da Cruz dos Anjos pela troca de experiências e por terem participado dessa trajetória.

Aos bolsistas e voluntários, cuja colaboração foi essencial para a construção deste sonho. Foram eles: Michelle, Carol, Natália, Viviane, Amanda Faria, Raquel, Naysa, Tatiana, Rodner, Monique, Laura, Bruna Vieira, Bruna Espeschit, Giovana, Aline, Renata, Lidiane, Fabiana, Stéphanie, Rebecca, Ingrid, Flávia, Amanda Ramos, Débora Pantuso, Luana, Adriana, Isabela, Rômulo, Stephanie Ádila, Matheus, Bárbara Alves, Bárbara Murta, Camila, Bárbara Coutinho, Débora Abreu, Pedro Henrique, Daniele Freitas. As avaliações e intervenções não teriam acontecido sem o comprometimento, profissionalismo e competência de vocês.

À Fabianna Jesus-Moraleida pelo profissionalismo, disponibilidade e delicadeza na realização das traduções dos artigos.

À Ilma Marçal pela disponibilidade e auxílio no período em que realizei as extrações de DNA.

À Daniela Rodrigues Lacerda, Marilza Sileia de Almeida Jota, Latife Pereira Lacorte e José Raul Sandoval pela valiosa ajuda no processo de genotipagem. Ao Prof Fabrício Santos, por disponibilizar o Laboratório de Biodiversidade e Evolução Molecular e equipamentos para a realização dessa etapa.

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação, pelos momentos de convivência e discussões enriquecedoras, sempre valiosas para a minha formação.

Aos professores dos Departamentos de Fisioterapia e Terapia Ocupacional da UFMG responsáveis pela minha formação acadêmica, profissional, os quais participaram como colaboradores indiretos do desenvolvimento deste trabalho e me tornaram uma pessoa apta para cursar este doutorado.

Em especial, agradeço às professoras Rosângela Corrêa Dias e Raquel Rodrigues Brito pelo apoio e suporte em diferentes momentos de dificuldade e desafio. Minha profunda admiração, respeito e carinho.

Aos funcionários dos Departamentos de Fisioterapia e Terapia Ocupacional da UFMG pelo atencioso e carinhoso apoio diário, especialmente à Marilane Soares, Margaret Amaral de Moraes, Richard Marques Perdigão, Rivamar Conceição de Souza e Gilvana Gomes de Souza.

Aos meus pais, pelo amor, dedicação, confiança e apoio para seguir o caminho idealizado. Obrigada por terem compreendido cada dificuldade e ausência e por possibilitarem a transformação de meus ideais em realidade. Vocês foram (e continuam sendo) os meus primeiros grandes exemplos.

Ao Gustavo, amor, companheiro e cúmplice. Obrigada por compartilhar e participar ativamente da realização dos meus sonhos, ideais e objetivos. Obrigada por sua presença e paciência fundamentais. Parte deste trabalho é produção sua também. E, sobretudo, obrigada por me ensinar a caminhar com mais alegria e leveza.

Enfim, agradeço a Deus, pela oportunidade de encontrar pessoas tão especiais e pela dádiva desse enorme aprendizado!

RESUMO

O envelhecimento está relacionado a uma ativação crônica sublimiar do processo inflamatório, com aumento da produção de mediadores inflamatórios. Níveis elevados desses marcadores biológicos são preditores do declínio da função muscular e capacidade funcional na população idosa. A atividade física pode atenuar o processo inflamatório crônico decorrente do envelhecimento, no entanto, não há consenso sobre qual a modalidade e parâmetros de exercício que seriam os mais adequados para influenciar os mediadores inflamatórios. Com o aumento da idade ocorre também uma diminuição dos níveis de fatores neurotróficos os quais podem contribuir para o risco de depressão em idosos. Estudos relataram uma redução significativa dos níveis do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) em idosos deprimidos. O exercício físico apresenta efeitos benéficos sobre a depressão e induz um aumento dos níveis de BDNF. Entretanto, pouco é conhecido sobre o padrão de produção do BDNF em resposta ao exercício no idoso. Variações genéticas funcionais, denominadas de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) podem determinar diferenças na síntese e produção de mediadores inflamatórios. O objetivo geral desta tese foi comparar o efeito de dois programas de exercícios físicos, fortalecimento muscular e aeróbico, sobre os níveis plasmáticos de BDNF, receptores solúveis do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina-6 (IL-6), interleucina-10 (IL-10) e capacidade funcional; e, investigar se há interação entre os polimorfismos rs1800629 do gene TNF- α , rs1800795 do gene da IL6 e rs1800896 do gene da IL10 com o efeito do exercício físico em mulheres idosas. Foi realizado um ensaio clínico, registrado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC) sob identificador RBR9v9cwf, no qual participaram 451 idosas residentes na comunidade (71,03 \pm 4,8 anos). As dosagens de BDNF e dos mediadores inflamatórios foram mensuradas pelo método de ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*); a genotipagem dos SNPs foi realizada pelo método TaqMan (Applied Biosystems, Foster City, CA); a capacidade funcional foi pelos testes Timed Up and Go (TUG), sentar e levantar da cadeira (TSL) e velocidade da marcha de 10 metros (VM10M). A Escala de Depressão Geriátrica foi usada para rastreamento de transtornos depressivos. A capacidade aeróbica foi avaliada pelo Teste de Caminhada de 6 minutos (TC6M) e a força muscular de membros inferiores (FMI) por meio do

dinamômetro isocinético (Biodex Medical Systems Inc, USA). Foram realizados dois programas de exercícios físicos: fortalecimento muscular (GF) e aeróbico (GA), ambos com duração de dez semanas, totalizando trinta sessões, realizadas três vezes por semana. Os resultados foram apresentados em quatro estudos. No primeiro estudo foi investigado o impacto dos programas de exercício fortalecimento muscular e aeróbico sobre os níveis de BDNF e sintomas depressivos. Houve um aumento dos níveis de BDNF apenas no GF ($F = 17,63$, $p = 0,001$) e uma diminuição dos sintomas depressivos em ambos os grupos ($p = 0,001$). As dosagens de BDNF não se correlacionaram com a redução dos sintomas depressivos em resposta ao treinamento. No segundo estudo foi avaliado o efeito dos exercícios de fortalecimento muscular e aeróbico sobre os níveis plasmáticos dos mediadores inflamatórios sTNFR1, sTNFR2, IL-6 e IL-10, desempenho no TC6M e FMI. O programa de fortalecimento muscular diminuiu significativamente os níveis de sTNFR1 e sTNFR2 ($F = 4,58$, $p = 0,033$), mas não das citocinas IL-6 ($F = 0,96$, $p = 0,326$) ou IL-10 ($F = 1,87$, $p = 0,172$). Não foram observadas mudanças significativas nos níveis dos mediadores inflamatórios em resposta ao treinamento aeróbico ($p > 0,05$). Houve aumento significativo da FM no GF ($p = 0,001$) e aumento da distância percorrida no TC6M no GA ($p = 0,001$). No terceiro estudo foi analisado o efeito dos níveis plasmáticos dos receptores solúveis de TNF- α , IL-6 e IL-10 sobre as mudanças na funcionalidade após a intervenção. Ambos os programas de exercício promoveram aumento significativo do desempenho TUG ($F = 149,8$, $p = 0,001$); TSL ($F = 151,7$, $p = 0,001$); e VM10 ($F = 63,7$, $p = 0,001$). Os níveis plasmáticos dos mediadores inflamatórios no baseline não influenciaram os ganhos observados na CF, independentemente do tipo de exercício realizado ($p > 0,05$). Apesar da redução dos níveis de sTNFR1 e sTNFR2 no GF, essa alteração não influenciou o desempenho das idosas nos testes funcionais. No quarto estudo a interação entre os SNPs das citocinas TNF- α , IL-6 e IL-10 e o efeito do exercício foi investigada. Houve uma interação significativa do SNP -308 do gene do TNF- α e o efeito do exercício sobre a mobilidade das idosas, avaliada pelo TUG ($F = 10,5$; $p = 0,001$). Igualmente, foi observada interação significativa entre os genótipos dos três polimorfismos e a melhora no desempenho do TUG em resposta ao exercício ($F = 13,9$; $p = 0,001$). Idosas com a combinação dos genótipos GG do TNF- α , CC+CG do IL6 -174 e GG do IL10 -1082 (baixa produção de TNF- α e IL-6 e alta produção de IL-

10) apresentaram uma melhora maior no desempenho do TUG quando comparado aos outros genótipos. No entanto, os SNPs analisados não influenciaram o efeito do exercício sobre os parâmetros inflamatórios. Os resultados dos estudos demonstraram que os programas de exercício de fortalecimento muscular e aeróbico constituíram intervenções efetivas para a melhora de sintomas depressivos e da CF em idosas da comunidade. No entanto, apenas o programa de fortalecimento muscular promoveu aumento dos níveis de BDNF e diminuição dos parâmetros inflamatórios em idosas da comunidade. Idosas com uma combinação de genótipos relacionada a um perfil antiinflamatório apresentaram maior percentual de melhora na mobilidade funcional, independente da modalidade de exercício realizada. Esses achados dão suporte à influência interativa de fatores genéticos e ambientais, como a prática de exercício físico, contribuindo para a melhora da CF em idosas.

Palavras-chave: Polimorfismo. Citocinas. Idoso. Exercício Físico. Capacidade Funcional. BDNF

ABSTRACT

Aging is associated with a chronic low-grade inflammatory process with an elevation of the production of inflammatory mediators. High levels of these biological markers are predictors for muscle function and physical performance deterioration in the elderly. Even though physical activity can mitigate the chronic inflammatory process related to aging, there is no consensus neither on the exercise modality nor on the parameters that would be the most appropriate to influence these mediators. Aging is also related to a reduction on neurotrophic levels that could increase the risk for depression in the elderly. Studies report a significant reduction on levels of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed elderly. Physical activity has positive effects on depression and induces an elevation on BDNF levels. However, little is known about its pattern of production in response to exercise in the elderly. Functional genetic variations, named single nucleotide polymorphism, may lead to differences in the synthesis and production of inflammatory mediators. The general aim of this thesis was to compare the effect of two physical activity regimen, muscle strengthening exercise and aerobic exercise, in plasma levels of BDNF, soluble tumor necrosis factor alpha (TNF- α) receptors, interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10) and in physical performance; to investigate the occurrence of an interaction between TNF- α rs1800629, IL6 rs1800795, IL10 rs1800896, and BDNF rs6265 and rs4923463 genes polymorphisms and the effect of physical activity in elderly women. We performed a clinical trial, registered on the Brazilian Register of Clinical Trials - Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos (ReBEC: RBR9v9cwf), in which 451 community-dwelling older women were enrolled (71.03 ± 4.8 anos). BDNF and inflammatory mediators were measure by the ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) method; SNP genotyping was performed by the TaqMan method (Applied Biosystems, Foster City, CA); and physical performance by the Timed Up and Go (TUG), 5-chair sit to stand from a chair, and 10-meter walk (10MWT) tests. The Geriatric Depression Scale was selected as an instrument to screen for depressive disorders. Aerobic capacity was assessed by the 6-minute walk (6MWT) and the Shuttle Walking tests; lower limbs muscle strength, by an isokinetic dynamometer (Biodex Medical Systems Inc, USA). Two physical activity protocols were performed three times a week for ten weeks, 30 sessions in total: muscle strengthening exercise

(SE) and aerobic exercise (AE). Results were shown in four different studies. In the first study we investigated the impact of both SE and AE regimen over the BDNF levels and depressive symptoms. There was a significant increase in BDNF levels only for the SE group ($F = 17.63$, $p = 0.001$) and a reduction on depressive symptoms for both groups ($p = 0.001$). BDNF dosages did not correlate with the decrease of depressive symptoms in response to training. The second study aimed to assess the effect of SE and AE protocols on plasma levels of the inflammatory mediators TNFR1, sTNFR2, IL-6 e IL-10, and on performance in 6MWT and muscle strength. The SE regimen significantly reduced sTNFR1 and sTNFR2 levels ($F = 4.58$, $p = 0.033$), but not the IL-6 ($F = 0.96$; $p = 0.326$) nor the IL-10 ($F = 1.87$, $p = 0.172$) cytokine levels. No significant changes were seen on the inflammatory mediators in response to AE ($p > 0.05$). A significant increase in muscle strength happened for the SE ($p = 0.001$) and an increase in the walked distance in the 6MWT for the AE protocol ($p = 0.001$). In the third study we analyzed the effect of plasma levels of the soluble TNF- α receptors, IL-6 and IL10 on the physical performance changes after the intervention. Both exercise regimens promoted a significant increase in TUG ($F = 149.8$, $p = 0,001$); 5-chair sit to stand from a chair ($F = 151.7$, $p = 0. 001$); and 10MWT ($F = 63.7$, $p = 0.001$) performances. Baseline plasma levels of the inflammatory mediators did not have an influence on the observed effects for physical performance, regardless of the performed exercise modality ($p > 0.05$). Despite the reduction in sTNFR1 and sTNFR2 levels in the SE, this outcome did not influence the performance of the participants in the functional tests. Finally, we investigated the interaction between the SNPs of TNF- α , IL-6 e IL-10 cytokines and the effect of exercise in the fourth study. A significant interaction between the -308 SNP of TNF- α gene and the effect of exercise in mobility, assessed by TUG ($F = 10.5$, $p = 0.001$) occurred. Likewise, same interaction was observed between the three genotype polymorphisms and the improvement in TUG performance in response to intervention ($F = 13.9$, $p = 0.001$). Elderly women who had the combination of genotypes GG of TNF- α , CC+CG of IL6 -174 and GG of IL10 -1082 (low production of TNF- α and IL-6, high production of IL-10) presented a greater improvement in TUG performance. However, the analyzed SNPs had no influence on the effect of the exercise over the inflammatory parameters. The results of the study demonstrated that both SE and AE protocols were effective intervention to reduce depressive symptoms and physical performance in community-dwelling older women.

Still, only the SE regimen promoted an elevation of BDNF levels and a reduction of inflammatory parameters in the studied sample. Elderly women with a combination of genotypes related to an anti-inflammatory profile presented a higher percentage of improvement in functional mobility, regardless of the performed exercise modality. These findings give support to the interactive influence of genetic and environmental factors, such as the practice of physical activity, contributing to improve physical performance in elderly women.

Keywords: Polymorphism. Cytokines. Elderly. Exercise. Physical Performance. BDNF

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 Justificativa	19
1.2 Objetivos	20
1.2.1 Objetivo geral.....	20
1.2.2 Objetivos específicos.....	21
2 MATERIAL E MÉTODO	22
2.1 Desenho do estudo e aspectos éticos	22
2.2 Amostra	22
2.2.1 Critérios de inclusão.....	23
2.2.2 Critérios de exclusão.....	23
2.3 Instrumentos de medidas	23
2.3.1 Dosagens dos níveis plasmáticos de BDNF, sTNFR1, sTNFR2, IL-6, IL-10.....	24
2.3.2 Extração de DNA e genotipagem.....	24
2.3.3 Capacidade funcional.....	26
2.3.4 Desempenho muscular e capacidade aeróbica.....	27
2.3.5 Outras medidas.....	28
2.4 Intervenção	28
2.4.1 Treinamento de força muscular.....	29
2.4.2 Treinamento aeróbico.....	29
2.5 Procedimentos e coleta de dados	30
2.6 Análise estatística	34
3 ARTIGO 1	35
4 ARTIGO 2	56
5 ARTIGO 3	81
6 ARTIGO 4	110
7 ARTIGO 5	135
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	166
REFERÊNCIAS	168
APÊNDICES	180
ANEXOS	193

PREFÁCIO

A presente tese de doutorado foi elaborada de acordo com as normas estabelecidas pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação da Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG. Sua estrutura compreende nove capítulos.

O primeiro capítulo contém a introdução que abrange a contextualização do tema, justificativa do estudo e a descrição dos objetivos da tese. No segundo capítulo, a metodologia utilizada é descrita detalhadamente. Os capítulos terceiro ao sétimo contêm os cinco artigos científicos, produtos finais desta tese, que foram assim ordenados de acordo com os objetivos descritos no segundo capítulo.

O primeiro artigo intitulado “***Interaction between cytokines and BDNF gene polymorphisms and the effect of physical exercise on clinical and inflammatory parameters in the elderly women***” refere-se ao protocolo do estudo, em que as hipóteses, desenho e metodologia são relatados em detalhes. O mesmo foi elaborado e formatado de acordo com as normas da revista *Trials*, para a qual foi submetido. O segundo artigo “***Effects of physical exercise on plasma levels of BDNF and depressive symptoms in elderly women***” foi formatado seguindo as normas da revista *Neurobiology of Aging*, para o qual será enviado. O terceiro artigo “**Efeito do exercício de fortalecimento muscular e treinamento aeróbico sobre os níveis dos receptores solúveis do TNF- α e das citocinas IL-6 e IL-10**” será enviado para publicação na revista *Age: Journal of the American Aging Association*. O quarto artigo “**Influência dos níveis plasmáticos de mediadores inflamatórios na capacidade funcional após exercício físico em idosas fisicamente independentes**” foi redigido de acordo com as normas da revista *Journal of Gerontology: Medical Sciences*. O quinto artigo “**Interação entre os polimorfismos dos genes das citocinas TNF- α , IL6, IL10 e os efeitos do exercício físico sobre parâmetros inflamatórios e a capacidade funcional em idosas**” será enviado para a revista *Human Genetics*.

No oitavo capítulo são apresentadas as considerações finais relacionadas aos resultados encontrados.

1 INTRODUÇÃO

O crescimento do número de idosos é hoje uma realidade mundial e, no Brasil, as alterações na estrutura etária acontecem de forma intensa e acelerada. As projeções mais conservadoras indicam que em 2020, o Brasil será o sexto país do mundo em números de idosos, com um contingente superior a 30 milhões de pessoas. E, em 2050, essa faixa etária corresponderá à aproximadamente 20% da população total¹. O aumento do contingente de idosos e a maior expectativa de vida têm como conseqüências uma maior prevalência e incidência de doenças crônico-degenerativas que podem levar a condições de incapacidade e dependência^{1,2}. Esta realidade implica em uma complexidade crescente na demanda às necessidades desse novo grupo etário, por seu impacto na saúde e nos níveis de independência e autonomia do indivíduo idoso.

O envelhecimento fisiológico constitui um processo biológico, dinâmico e progressivo, no qual ocorre o declínio das capacidades físicas, psicológicas e comportamentais do indivíduo³. Por outro lado, a passagem do tempo traz consigo uma gama de experiências que compõem o meio psicossocial do idoso, de forma que há uma singularidade na maneira de envelhecer de cada indivíduo. O envelhecimento é, portanto, altamente variável, sendo determinado por diversos fatores, incluindo a predisposição genética, o efeito de condições ambientais, presença de doenças e também aspectos psicossociais⁴.

Em concordância com a realidade de outros países, no Brasil o contingente feminino aumenta de maneira mais expressiva que o masculino, caracterizando a feminização da velhice^{1,5}. Essa diferença se acentua com o aumento da idade, sendo que a expectativa de vida também acompanha a distribuição por sexo, com mais 19,3 anos de vida, em média, para as mulheres contra 16,8 anos para os homens¹. Entretanto, embora vivam mais, as mulheres passam por um período maior de debilitação física, o que as faz mais dependentes de cuidados⁵.

O aumento da idade está associado a uma atividade inflamatória crônica, subclínica, caracterizada pelo aumento sistêmico, de duas a quatro vezes, dos níveis plasmáticos de mediadores inflamatórios, tais como interleucina-1 (IL-1), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina-6 (IL-6), proteínas da fase aguda, receptores solúveis do TNF- α , dentre outras^{4,6,7}. O desequilíbrio na produção e

liberação desses marcadores tem sido associado ao desenvolvimento ou agravamento de condições crônicas relacionadas à idade, como Doença de Alzheimer, diabetes mellitus, osteoporose e aterosclerose^{6,8}. Altos níveis plasmáticos de proteína C reativa, TNF- α e IL-6, são apontados como fortes preditores de incapacidades e mortalidade em indivíduos idosos^{9,10,11} e também relacionados à síndrome da fragilidade¹². Além disso, o aumento da produção de mediadores inflamatórios são associados à redução da capacidade funcional e da função muscular em idosos^{13,14,15,16}.

O mecanismo pelo qual essas citocinas contribuem para o declínio funcional em idosos parece estar associado ao seu efeito catabólico, com a redução da massa e força musculares, estando relacionada à sarcopenia^{17,18,19}. Visser *et al.* (2002) observaram que elevados níveis de IL-6 e TNF- α foram relacionados à menor massa muscular (avaliada por tomografia e *dual energy x-ray, absorptiometry* - DEXA) e força muscular (avaliada pela força de preensão manual e força isocinética de extensores de joelho) em idosos com idade de 70 a 79 anos, sem alterações funcionais¹⁹. Gonzalo-Calvo *et al.*¹⁴. (2012), em uma amostra de idosos com faixa etária entre 68 e 105 anos demonstraram uma associação entre altos níveis de IL-6 e receptores solúveis de TNF- α e dependência funcional, avaliada pelo Índice de Barthel e Índice de Katz, usados para avaliar atividades de vida diária¹⁴. Em nonagenários, altos níveis de IL-6, receptor antagonista da IL-1 e proteína C reativa (CRP) foram associados a menor força de preensão manual e piores escores no Índice de Barthel¹³.

O TNF- α é um dos principais mediadores da resposta inflamatória, sendo responsável por muitos de seus efeitos sistêmicos. É considerada uma citocina “precoce” do processo inflamatório por iniciar e coordenar a resposta de fase aguda e induzir a produção de uma segunda onda de citocinas da resposta inflamatória²⁰. O TNF- α estimula a produção de receptores solúveis (sTNFR), que agem como seus inibidores naturais, regulando sua função biológica. Por serem moléculas mais estáveis na circulação, os receptores solúveis constituem marcadores mais confiáveis da atividade do O TNF- α e, assim, da resposta inflamatória^{21,22}. Segundo alguns autores, o TNF- α estaria por trás das alterações inflamatórias relacionadas a idade, levando a perda de massa e força muscular por sua ação catabólica^{17,23} e ao desenvolvimento da resistência a insulina e síndrome metabólica^{18,24}.

A IL-6 é uma citocina pleiotrópica multifuncional e encontra-se envolvida no controle e coordenação de respostas inflamatórias e imunológicas, além de atuar nos sistemas hematopoiético, nervoso e endócrino e participar também do metabolismo ósseo^{6,25}. É produzida por diferentes tipos celulares, incluindo as células músculo-esqueléticas^{8,26}. Já a interleucina-10 é uma citocina anti-inflamatória, essencial para o controle e resolução do processo inflamatório desencadeado e mantido por outros mediadores²⁷. O efeito inibitório da IL-10 sobre as citocinas IL-6 e TNF- α são bem estabelecidos em processos inflamatórios agudos²⁸, contudo, em processos inflamatórios crônicos, como o que ocorre durante o envelhecimento, sua ação ainda não é bem conhecida, assim como o impacto do exercício físico sobre seus níveis plasmáticos. Uma vez que a cascata inflamatória envolve a ação coordenada das citocinas, na qual suas funções podem ser modificadas, substituídas ou moduladas por outras²⁹, a análise de mais de um marcador inflamatório pode fornecer informações mais consistentes da influência da inflamação crônica sublimar sobre parâmetros clínicos e funcionais no idoso.

Com o aumento da idade ocorre também uma diminuição dos níveis de fatores neurotróficos, os quais podem contribuir para o risco de depressão em idosos³⁰. O fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) faz parte da família de neurotrofinas e desempenha importante papel na neurogênese, proteção contra morte neuronal e influencia positivamente a plasticidade cerebral, na melhora do aprendizado e memória^{31,32}. Baixos níveis de BDNF têm sido relacionados a diversas doenças neurológicas e psiquiátricas como Doença de Parkinson³³, Doença de Alzheimer^{34,35,36}, e depressão^{37,38}.

A depressão se configura como um dos transtornos psiquiátricos mais comuns em idosos, apresentando um curso crônico³⁹, sendo responsável pela perda de autonomia e agravamento de quadros patológicos preexistentes⁴⁰. Estudos demonstraram uma redução significativa dos níveis de BDNF em pacientes idosos deprimidos^{37,41}. Além disso, na população idosa a redução dos níveis plasmáticos dessa neurotrofina foi apontada como um biomarcador de déficit de memória e da função cognitiva em idosas⁴² e preditora do risco de mortalidade em idosos frágeis⁴³. A prática regular de atividade física promove adaptações neurobiológicas com efeitos benéficos sobre depressão^{44,45}, função cognitiva e memória^{46,47}. Estudos demonstraram que o exercício físico pode promover um aumento na produção de BDNF^{38,48} com importante ação em alterações psiquiátricas e desempenho

cognitivo^{38,49}. Entretanto, poucos estudos avaliaram o efeito do exercício sobre os níveis circulantes de BDNF na população idosa, sendo a maioria realizados em jovens^{50,51,52,53}.

Diferenças na expressão de proteínas entre indivíduos podem ocorrer como resultado de variações genéticas funcionais na região promotora do gene de marcadores biológicos^{29,54}. As variações genéticas funcionais mais comuns encontradas no genoma humano são os polimorfismos de nucleotídeo único (*single nucleotide polymorphism* - SNP), ou seja, variação pontual de um nucleotídeo na seqüência de um gene. Determinados polimorfismos estão associados a uma maior produção de mediadores inflamatórios⁵⁴. Assim, variantes genéticas podem determinar diferenças interindividuais e explicar, parcialmente, a variabilidade na produção de citocinas e neurotrofinas e a maior suscetibilidade de determinados indivíduos a condições clínicas, como doenças crônicas relacionadas ao envelhecimento e longevidade^{54,55,56,57}.

A expressão das citocinas TNF- α , IL-6 e IL-10 é influenciada por polimorfismos funcionais em suas regiões promotoras. Os polimorfismos TNF- α (rs1800629), IL-6 (rs1800795), IL-10 (rs1800896) vêm sendo estudados e associados com várias doenças agudas e crônicas e também com a longevidade^{54,55,56,57}. A presença do alelo A no locus -308 TNF- α e a homozigose para o alelo G no locus -174 G/C IL6 são associados a maiores níveis plasmáticos de TNF- α ⁵⁸ e IL-6^{59,60,61}, respectivamente. A presença do alelo A para o polimorfismo -1082G/A IL10 é relacionada a uma menor produção desse mediador^{62,63}.

A literatura apresenta resultados controversos em relação aos efeitos dos polimorfismos desses mediadores, especialmente ao considerarmos a população idosa^{62,64,65,66,67}. Possivelmente, as divergências quanto ao efeito dos polimorfismos observadas na literatura decorrem de diferenças culturais e étnicas das amostras dos estudos, juntamente com interações entre fatores genéticos e estilo de vida. Nesse aspecto, estudos recentes têm demonstrado que a expressão dos genes dos mediadores inflamatórios sofre rigorosa regulação por diferentes mecanismos e fatores^{54,68}. A região promotora dos genes comporta-se como um sofisticado biossensor em relação à homeostase do sistema imunológico, às alterações hormonais e diferentes fatores ambientais, como hábitos alimentares, atividade física e condições de estresse, determinadas por estilo de vida, questões sociais e psicoemocionais ao longo do curso da vida^{69,70}.

Estudos observacionais apontam que indivíduos fisicamente ativos apresentam menores concentrações de citocinas, sugerindo que o exercício físico regular pode atenuar o processo inflamatório crônico relacionado ao envelhecimento^{71,72,73,74,75}. Evidências consistentes demonstraram que a atividade física induz um aumento nos níveis sistêmicos de citocinas com propriedades anti-inflamatórias^{73,74,76,77}, sendo o tecido muscular esquelético indicado como um órgão endócrino, que produz e libera citocinas, denominadas então de miocinas^{77,78,79}.

Embora similares em alguns aspectos, a produção de citocinas em resposta ao exercício se difere daquela elicitada por processos como infecção, sepse ou trauma. Tipicamente, em consequência à contração muscular, a primeira citocina a ser produzida é a IL-6. A concentração plasmática de IL-6 aumenta cerca de cem vezes e declina no período pós-exercício. A IL-6 liberada durante o exercício é sintetizada pelas células musculares, como uma consequência direta da contração muscular, e não por células do sistema imunológico ou devido à lesão tecidual^{74,77}. O aumento de IL-6 é acompanhado pelo aparecimento das citocinas anti-inflamatórias IL-1ra, IL-10, sTNF. Na atividade muscular, diferentemente da cascata inflamatória induzida por infecção, as clássicas citocinas pro-inflamatórias IL-1 β e TNF- α não são produzidas⁷⁴. Além disso, a IL-6 tem como efeitos a lipólise, a quebra do glicogênio e a indução de um ambiente anti-inflamatório pela liberação de IL-1ra, IL-10, sTNFR, inibindo a produção de TNF- α ^{77,78}. Todos esses fatores conferem um efeito anti-inflamatório ao exercício, mediado por esta miocina^{74,80}.

O aumento dos níveis circulantes de IL-6 após o exercício é proporcional a duração, intensidade e massa muscular envolvida na atividade^{74,76}. Apesar dos possíveis benefícios do exercício físico sobre o processo inflamatório crônico, informações sobre os parâmetros ideais dos exercícios para regulação das citocinas ainda não foram estabelecidos e os resultados das investigações são conflitantes^{75,81,82,83,84}. Greiwe *et al.* (2001) verificaram o efeito do treinamento de resistência na expressão do TNF- α no músculo-esquelético de idosos frágeis, por meio de biópsia e análise de hibridização *in situ*. Após o programa de treinamento, foi observado uma diminuição de 34% do TNF- α e 46% RNAm de TNF- α no músculo, além de um aumento de 83% na taxa de síntese de proteína muscular após o treinamento⁸¹. Já Kohut *et al.* (2006) compararam dois tipos de intervenção: exercícios aeróbicos e exercícios de força e flexibilidade. Após um período de 12

meses, os exercícios aeróbicos resultaram em uma significativa redução de todos os mediadores inflamatórios analisados (TNF- α , IL-6, IL-8 e PCR), enquanto o programa de exercícios de força e flexibilidade diminuiu apenas os níveis de TNF- α ⁷⁵. Nicklas *et al.*(2008), ao investigarem o efeito de um programa de exercício, no qual foi realizada uma combinação de exercícios aeróbicos, fortalecimento muscular e flexibilidade, realizado por um período de 12 meses, sobre as concentrações de IL-6 e proteína C reativa em idosos, verificaram uma redução dos níveis sistêmicos de IL-6, mas não na concentração da proteína C reativa⁸³.

A discordância entre os achados dos diferentes estudos pode estar relacionada ao efeito dos polimorfismos sobre a produção de mediadores inflamatórios. Nesse sentido, Oberbach *et al.* (2008), identificaram que mudanças nos níveis plasmáticos de IL-6 em resposta ao exercício foram influenciados pelo polimorfismo -174G/C do gene da IL6, sugerindo que fatores genéticos podem ser determinantes para os efeitos individuais da resposta anti-inflamatória promovida pelo exercício⁸⁵. É importante destacar que a avaliação isolada do polimorfismo de uma única citocina, sem considerar sua interação com genótipos de outros mediadores, pode conduzir a interpretações errôneas, uma vez que a ação combinada dos mesmos pode resultar em efeitos diferenciados.

1.1 Justificativa

A elevação dos níveis plasmáticos de mediadores inflamatórias tem como uma das principais conseqüências a sarcopenia, com redução da funcionalidade e da independência do indivíduo^{10,15,23,86}. Nesse contexto, o exercício físico tem sido apontado como uma das estratégias mais efetivas, influenciando tanto a melhora da capacidade funcional^{87,88} dos idosos como a alteração dos níveis plasmáticos de marcadores biológicos^{75,83,84}. Entretanto, embora o exercício físico seja amplamente utilizado na prática clínica, ainda não há consenso sobre qual o tipo de exercício e quais são os parâmetros mais adequados para influenciar os marcadores inflamatórios. Os resultados desse ensaio clínico podem, portanto, contribuir para sistematização e norteamento da prática clínica direcionada ao tratamento e prevenção de alterações funcionais em idosos.

Evidências sugerem que os polimorfismos de nucleotídeo único podem afetar a produção de citocinas^{59,60}, podendo assim influenciar a capacidade funcional e função muscular^{89,90,91}. Em um estudo realizado recentemente, foi investigado o efeito do polimorfismo -174G/C do gene IL6 sobre os níveis plasmáticos de IL-6 de mulheres idosas comunitárias e institucionalizadas. Idosas homozigotas para o alelo G apresentaram maiores níveis de IL-6, sendo observada uma interação entre o polimorfismo e a procedência das idosas (institucionalizadas/comunidade), sendo o efeito do genótipo GG sobre os níveis da citocina maior nas idosas institucionalizadas⁶¹.

Os genes envolvidos na regulação do processo inflamatório crônico podem contribuir não apenas para a variação individual na produção das citocinas e capacidade funcional em idosos, mas também na resposta dessas variáveis ao exercício físico. Dessa forma, a análise e o entendimento da influência de fatores genéticos sobre os efeitos do exercício proposta por este estudo abrem novas perspectivas de ações preventivas e terapêuticas na área da fisioterapia e na abordagem do indivíduo idoso.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo geral

Comparar o efeito de dois programas de exercícios físicos, fortalecimento muscular e aeróbico, sobre os níveis plasmáticos de BDNF, receptores solúveis do TNF- α , IL-6, IL-10 e da capacidade funcional; e, investigar se há interação entre os polimorfismos rs1800629 do gene TNF- α , rs1800795 do gene da IL6 e rs1800896 do gene da IL10 com o efeito do exercício físico em mulheres idosas.

1.2.2 Objetivos específicos

- Comparar o efeito dos programas de exercícios físicos, fortalecimento muscular e treinamento aeróbico, sobre os níveis plasmáticos de BDNF e sintomas depressivos em idosas da comunidade.
- Comparar o efeito dos programas de exercícios físicos, fortalecimento muscular e treinamento aeróbico, sobre os níveis plasmáticos de IL-6, IL-10 e dos receptores solúveis do TNF- α em idosas da comunidade.
- Comparar o efeito dos programas de exercícios físicos, fortalecimento muscular e treinamento aeróbico, sobre a capacidade funcional de idosas da comunidade, e investigar o potencial efeito dos níveis plasmáticos dos receptores solúveis de TNF- α , IL-6 e IL-10 sobre as mudanças na funcionalidade após a intervenção.
- Investigar a interação entre os polimorfismos -308 do gene TNF- α (rs1800629), -174 do gene IL6 (rs1800795), e -1082 do gene da IL10 (rs1800896) e o efeito do exercício físico em parâmetros inflamatórios e físico-funcionais em mulheres idosas.

2 MATERIAL E MÉTODO

2.1 Desenho do estudo e aspectos éticos

O estudo é um ensaio clínico, o qual foi registrado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC) sob identificador RBR9v9cwf, no qual idosas residentes na comunidade foram alocadas para dois programas de exercício físico: programa de fortalecimento muscular ou programa de treinamento aeróbico. As participantes foram recrutadas por meio de folhetos de convocação em centros de convivência para idosos, contato telefônico a partir de listas de espera de projetos de atividade física e anúncios em jornais locais da região metropolitana de Belo Horizonte.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da UFMG (ETIC 038/2010) (Anexo A) e todas as voluntárias assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo B) concordando em participar do estudo, de acordo com os princípios da declaração de Helsinki (1969). O estudo foi conduzido no Departamento de Fisioterapia da Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil.

2.2 Amostra

O cálculo amostral foi realizado considerando um alfa de 5%, poder de 80% e tamanho de efeito $f = 0,15$, com intervalo de confiança de 95%. Considerando como desfecho os níveis plasmáticos de BDNF e mediadores inflamatórios, o cálculo mostrou a necessidade de 144 idosas por grupo de intervenção. Prevendo perdas durante a pesquisa, foi considerado um acréscimo de 30% no recrutamento. O tamanho de efeito pequeno foi definido com base na grande variabilidade apresentada pelos mediadores inflamatórios.

2.2.1 Critérios de inclusão

Foram incluídas 451 mulheres com 65 anos ou mais, residentes na comunidade e sedentárias. Foram consideradas sedentárias aquelas que não realizaram atividade física regular, três vezes por semana, por no mínimo 40 minutos, nos três meses anteriores ao recrutamento⁹².

2.2.2 Critérios de exclusão

Os critérios de exclusão foram: idosas com alterações cognitivas detectáveis pelo Mini-exame do Estado Mental^{93,94}, doença inflamatória ou infecciosa em fase aguda; neoplasia nos últimos cinco anos; uso de drogas imunossupressoras; amputações nos membros inferiores; cirurgias ou fraturas nos membros inferiores nos últimos seis meses; presença de doenças ou sequelas neurológicas; participação em outros programas de atividade física e frequência inferior a 85% nas sessões de treinamento. A presença de arritmia não controlada e fibrilação atrial crônica constituíram também critérios de exclusão para a participação no programa de exercício aeróbico.

2.3 Instrumentos de medidas

Para caracterização da amostra, os dados sócio-demográficos e as informações relativas às condições clínicas das idosas foram obtidos por meio de um questionário estruturado, aplicado por meio de entrevista, por pesquisadores treinados (Apêndice A e B).

2.3.1 Dosagens dos níveis plasmáticos de BDNF, sTNFR1, sTNFR2, IL-6, IL-10

Foram coletados cinco mililitros de sangue periférico dos participantes, em tubos à vácuo, com citrato, por profissional qualificado. Os tubos foram centrifugados (Modelo Fanem) em 1500 rpm, por 15 minutos e o plasma removido em ambiente estéril e estocado em tubos eppendorfs em freezer a -80°C.

A análise das concentrações plasmáticas foi realizada pelo método de ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*), por meio do kit DuoSet ELISA (R&D Systems, Minnesota, MN) para o BDNF, sTNFR1 e sTNFR2 e kits de alta sensibilidade (Quantikine®HS, R&D Systems Minneapolis) para a IL-6 e IL-10, segundo as instruções do fabricante. Os limites inferiores de detecção dos ensaios de BDNF, sTNFRs, IL-6 e IL-10 foram, respectivamente, 5 pg/ml, 5 pg/ml, 0,15 pg/ml e 0,75 pg/ml.

2.3.2 Extração de DNA e Genotipagem

Para a genotipagem foram coletados cinco ml de sangue periférico dos participantes, em vacutainers com EDTA, por profissional qualificado. O sangue foi removido em ambiente estéril e estocado em freezer a -80°C.

O DNA genômico foi extraído a partir de 500 µl de sangue periférico utilizando o protocolo de extração por Fenol-Cloroformio (Apêndice C). A qualidade e integridade do DNA foram avaliadas por espectrofotometria em equipamento *Nanodrop* (Thermo Scientific - GE), com leitura da absorbância nos comprimentos de ondas A_{260} e A_{280} . As amostras foram estocadas em freezer a -20°C até a análise.

A genotipagem dos polimorfismos foi realizada utilizando-se ensaios validados *TaqMan genotyping assay* (*Applied Biosystems, Inc, Foster City, CA, USA*) para os genes TNF (rs1800629; *assay IDs*: C___7514879_10) e IL10 (rs1800896; *assay IDs*: C___1747360_10). Para o SNP do gene IL6 (rs1800795) foi padronizado um ensaio utilizando os seguintes *primers*: *Forward* (GAGGACCTAAGCTGCACTTTTC) e *Reverse* (GGGCTGATTGGAACCTTATTAAGATTG); e sondas: sonda A (*VIC-*

CCTTTAGCATCGCAAGAC-MGB-NFQ) e sonda B (FAM-CCTTTAGCATGGCAAGAC-MGB-NFQ).

Cada ensaio inclui dois *primers* (*forward* e *reverse*) para a amplificação das regiões de interesse e duas sondas para detecção dos alelos. As sondas possuem:

- um corante *reporter* fluorescente na extremidade 5' (VIC para um alelo e FAM para o outro alelo);
- um *minor groove binder* (MGB) que aumenta a temperatura de anelamento da sonda sem aumentar o seu comprimento, permitindo uma discriminação mais precisa dos alelos;
- um *quencher* não fluorescente (NFQ) na terminação 3' da sonda.

As reações de amplificação e genotipagem do DNA foram realizadas em placas de 384 poços, em equipamento *GeneAmp PCR system 9700HT* (*Applied Biosystems, Inc, Foster City, CA, USA*). O protocolo foi otimizado utilizando 0.25 µl *TaqMan SNP Genotyping Assay* (20X), 2.5 µl *Master Mix* (2X) e 15 ng de DNA diluído em 2.25 µl de H₂O livre de DNase, totalizando um volume de 5 µl. As reações seguiram o ciclo de amplificação: 50°C por 2 min, 95°C por 10 min e 49 ciclos de 92°C por 30 seg e 60°C por 1 min. Durante a PCR ocorrem os seguintes eventos (Figura 1):

- Cada sonda anela especificamente à sequência complementar, entre os sítios dos *primers forward* e *reverse*. Quando a sonda está intacta, a proximidade do corante repórter com o NFQ resulta em supressão da fluorescência.
- A clivagem da sonda pela DNA polimerase *Amplitaq Gold*[®] separa o corante repórter do NFQ, o que resulta na fluorescência do corante repórter. Sendo que, a *Amplitaq Gold* cliva somente as sondas que estão hibridizadas.
- O sinal de fluorescência ocorre somente se a sequência alvo for complementar à sonda. Então o sinal gerado pela PCR indica que o alelo está presente na amostra.

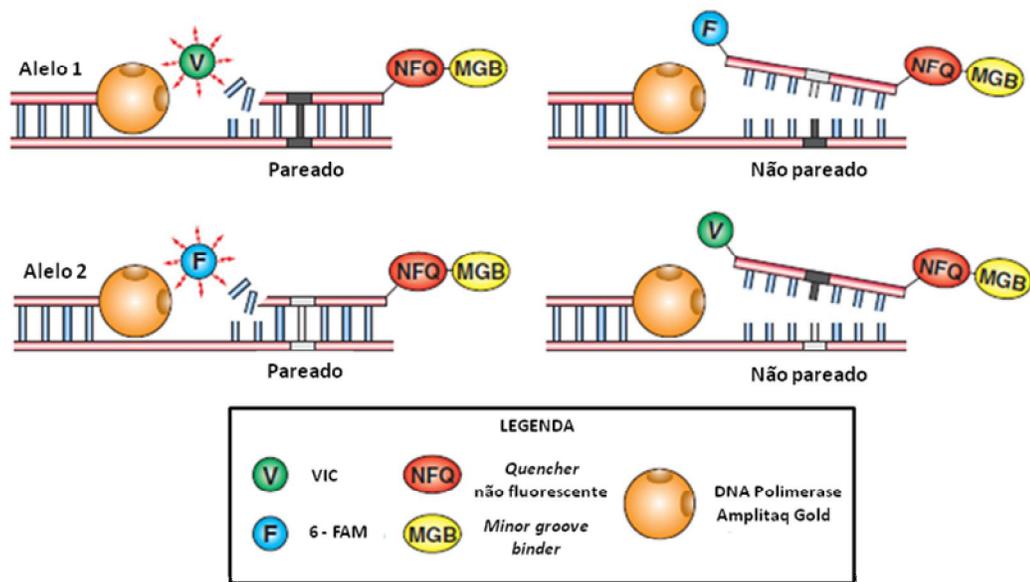


FIGURA 1: Esquema da reação com o ensaio Taqman

Em cada ensaio foi incluído pelo menos dois controles negativos e pelo menos um controle positivo.

A discriminação e plotagem dos genótipos foram realizadas pelo *TaqMan® Genotyper Software (Applied Biosystems)* (Figura 2).

2.3.3 Capacidade Funcional

A capacidade funcional foi avaliada por meio dos testes *Timed Up and Go*⁹⁵ (TUG), velocidade de marcha usual de 10 metros (VM10M)⁹⁶ e teste de sentar e levantar (TSL)⁹⁷ por cinco vezes. No TUG foi mensurado o tempo para o indivíduo realizar a tarefa de levantar-se a partir da posição sentada em uma cadeira padronizada (47 cm de altura do assento, sem braços) deambular três metros, girar 180°, retornar e sentar-se novamente na cadeira. O teste apresenta alta confiabilidade intra e inter observadores (ICC = 0,99; ICC = 0,99)⁹⁸.

Para avaliar a VM10M, as participantes foram orientadas a deambular com a velocidade de marcha usual (auto-selecionada), um percurso de 10 metros⁹⁶. Um comando verbal foi dado para o início do procedimento e registrado o tempo gasto

para completar os seis metros centrais do percurso, identificados lateralmente por marcas de fita. Para evitar viés de aceleração e desaceleração, os dois metros iniciais e finais do percurso foram desconsiderados. O VM10M tem demonstrado boa confiabilidade intra e inter observadores (ICC=0,78 e ICC=0,93)⁹⁶.

O TSL mensura o tempo necessário para o indivíduo completar a tarefa de passar da posição sentada para de pé, por cinco vezes, na maior velocidade possível, sem usar os membros superiores. Foi usada uma cadeira padronizada, com 47 cm de altura do assento, sem braços. Este teste é usado como medida de incapacidade⁹⁹ e um indicador da força de membros inferiores em idosos¹⁰⁰. Os escores apresentam boa confiabilidade teste/reteste (ICC=0,89)⁹⁷.

2.3.4 Desempenho muscular e capacidade aeróbica

Considerando a especificidade dos programas de treinamento, foram definidas como variável desfecho para o grupo de fortalecimento muscular (GF) a força muscular de membros inferiores, avaliada pelo dinamômetro isocinético^{101,102}, e para o grupo aeróbico (GA) a distância percorrida no Teste de Caminhada de Seis Minutos (TC6M)^{103,104}.

O desempenho muscular de extensores e flexores de joelho do membro dominante foi mensurada pelo dinamômetro isocinético *Biodex System 3 Pro*[®] (*Biodex Medical Systems Inc., Shirley, NY, USA*), que permite a obtenção de medidas objetivas, confiáveis e válidas dos parâmetros físicos da função muscular humana, caracterizando o método mais acurado disponível para medidas de desempenho muscular^{101,102}. Foram obtidas, por meio de contrações concêntricas, as variáveis trabalho normalizado pela massa corporal (%) na velocidade angular de 60°/s, com cinco repetições, e potência na velocidade angular de 180°/s, com 15 repetições.

O TC6M é um teste submáximo de *endurance*, que tem como objetivo avaliar a capacidade aeróbica para a prática de esportes e outras atividades e também avaliar programas terapêuticos e de reabilitação. Esse teste tem boa correlação com o VO₂ (consumo de oxigênio máximo), é facilmente aplicado, além de refletir atividades rotineiras^{103,104}.

2.3.5 Outras medidas

Foram verificadas as medidas antropométricas índice de massa corporal (IMC) expresso pela relação entre a massa corporal em kg e estatura em metros (Kg/m^2) e a circunferência de cintura (CC), mensurada como a menor curvatura no nível da cicatriz umbilical¹⁰⁵.

Fatores psicossociais, como níveis de estresse e sintomas depressivos, são associados alterações nos níveis de mediadores inflamatórios e BDNF^{106,107}. A presença de sintomas depressivos e níveis de estresse percebido foram avaliados na amostra para verificar se mudanças nessas variáveis influenciaram os efeitos do exercício sobre as citocinas. A Escala de Depressão Geriátrica (GDS) foi usada para o rastreamento de transtornos depressivos no *baseline* e após o programa de exercício físico^{108,109}. Esta escala tem sido amplamente usada na população geriátrica, apresentando medidas psicométricas válidas e confiáveis. Foi usada a versão GDS traduzida e adaptada para a população brasileira, com 15 itens de resposta dicotômicas (sim/não) e adotados os pontos de corte 5/6 (não caso/caso)¹⁰⁹.

O nível de estresse foi avaliado pela a Escala Estresse Percebido¹¹⁰. Esta escala, constituída por 14 itens, avalia três fatores considerados como componentes centrais na experiência de estresse: o quanto o indivíduo avalia sua vida como imprevisível, incontrolável e sobrecarregada. O instrumento aborda a experiência de estresse de forma global, independente de agentes ou eventos estressores específicos, o que confere uma característica multicultural a escala. Foi utilizada a versão validada para a população idosa brasileira (consistência interna, $r=0,82$) e validade de constructo¹¹⁰.

2.4 Intervenção

As idosas foram alocadas em dois grupos: GF - programa de exercício de fortalecimento muscular e GA - programa de treinamento aeróbico. Ambos os protocolos apresentaram uma duração de dez semanas, totalizando trinta sessões,

realizadas três vezes por semana, sob supervisão direta de fisioterapeutas treinados. Durante o período de treinamento as voluntárias foram orientadas a manter suas atividades habituais e não iniciar outros programas de exercício físico.

2.4.1 Treinamento de força muscular

A sessão de exercícios foi composta por dez minutos iniciais de caminhada, seguidos por alongamentos para os músculos: reto femoral e psoas, ísquiossurais e tríceps sural. Foram então realizados os exercícios de fortalecimento muscular: flexão, abdução, adução e extensão de quadril, flexão e extensão de joelhos e mini-agachamento. A carga, individualizada à cada participante, foi definida por meio do cálculo de uma resistência máxima (RM). As participantes iniciaram os exercícios com 50% de RM; após duas semanas (7ª sessão) a carga foi reajustada para 75% da RM inicial. Na 13ª e 22ª sessões a RM foi recalculada, sendo os exercícios realizados com 75% dessa nova RM¹¹². Medidas de pressão arterial e frequência cardíaca foram realizadas no início e ao final de cada sessão de exercícios (Apêndice D).

2.4.2 Treinamento aeróbico

O protocolo de exercícios aeróbicos consistiu de cinco minutos de aquecimento (warm up), 40 minutos de atividade aeróbica, que incluiu caminhada e exercícios livres de membros superiores e inferiores, e cinco minutos de recuperação (cool down) como preconizado pelo American College of Sports Medicine (2009)⁹². No período de aquecimento e recuperação a frequência cardíaca foi mantida em até 60% da frequência cardíaca máxima prevista para a idade (FC_{máx}) e durante a atividade aeróbica foi mantida entre 65% a 80% da frequência cardíaca máxima. Para garantir a manutenção da FC na faixa de treinamento adequada, as participantes foram monitoradas por meio de aparelhos cardio-frequencímetros (Marca POLAR FT1). Medidas de pressão arterial e frequência

cardíaca foram realizadas no início e ao final de cada sessão de exercícios (Apêndice E). Para as participantes em uso de beta-bloqueadores, a FC_{máx} foi ajustada pela porcentagem que atenua a FC_{máx} prevista pela idade, por meio da fórmula: (dosagem diária + 95,8) / 9,74.

2.5 Procedimentos e coleta de dados

Os procedimentos e coleta de dados do estudo foram realizadas no Laboratório de Dor e Inflamação em Reabilitação e Estudos do Envelhecimento, Laboratório de Desempenho Motor e Funcional Humano, Laboratório de Imunofarmacologia e Laboratório de Biodiversidade e Evolução Molecular.

Com a aprovação pelo COEP/UFMG foi iniciado o recrutamento e seleção das participantes, segundo os critérios de inclusão e exclusão pré-estabelecidos. O recrutamento foi realizado por meio de busca ativa em centros de convivência, listas de espera de projetos para Terceira Idade e divulgação em jornais locais. Após contato inicial por telefone, eram agendadas reuniões nas quais o contexto, objetivos e procedimentos do projeto eram apresentados às idosas. Para aquelas interessadas em participar, era realizada uma avaliação inicial para coleta de dados clínico-demográficos e verificação dos critérios de inclusão e exclusão do estudo. Todas as participantes do estudo assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

Após a avaliação inicial (Apêndice A) as idosas foram alocadas para o GF ou GA. Em seguida, de acordo com a disponibilidade das participantes, foram agendadas as coletas de sangue, para mensuração das dosagens dos marcadores biológicos e genotipagem, e a avaliação física.

A coleta de sangue foi realizada no Laboratório de Dor e Inflamação em Reabilitação e Estudos do Envelhecimento em dias distintos da avaliação física. O sangue foi coletado em repouso, entre 8:00h e 10:00h da manhã para minimizar possíveis efeitos de mudanças circadianas, antes (com intervalo 48 horas após a realização dos testes físicos) e após o programa de treinamento (no mínimo 72 horas após a última sessão de exercício). Foram coletados 5 ml de sangue periférico em tubos a vácuo, por um profissional qualificado, de acordo com as normas de

biossegurança. Os tubos foram levados para centrifugação em 1500 rpm, por 15 minutos (Marca Fanem) e o plasma removido em ambiente estéril e estocado em tubos tipo eppendorfs em freezer a -80°C .

Na avaliação física foram realizados os testes funcionais e aplicação de questionários específicos, como a Escala de Depressão Geriátrica, Escala de Estresse Percebido, dentre outros (Apêndice B). As participantes foram orientadas a usar calçados e roupas apropriadas para a realização dos testes. Para avaliação da velocidade da marcha a idosa foi instruída a permanecer em pé com os dois pés atrás da linha de início e iniciar a marcha após um comando verbal específico, em velocidade auto-selecionada, por um percurso de 10 metros⁹⁶.

Para realização do TUG, a idosa foi solicitada a levantar-se a partir da posição sentada em uma cadeira padronizada com 47 cm de altura do assento e sem braços, deambular três metros, girar 180° , retornar para a cadeira e sentar-se novamente⁹⁵. No TSL a participante foi orientada a se levantar e sentar cinco vezes, na maior velocidade possível, em cadeira padronizada, descrita anteriormente, com os braços cruzados no tronco, na altura do tórax⁹⁷. A ordem de realização dos testes funcionais foi aleatorizada para cada participante.

A avaliação do desempenho muscular de membros inferiores e avaliação da capacidade aeróbica foi realizada considerando a especificidade de cada treinamento. O desempenho muscular de extensores e flexores de joelho foi avaliado por meio do dinamômetro isocinético no Laboratório de Desempenho Motor e Funcional Humano. As idosas foram posicionadas sentadas na cadeira com tronco, pelve e coxa estabilizados por cintos e as pernas pendentes. A distância utilizada entre a borda da cadeira e a fossa poplíteia das participantes foi de cinco centímetros. O encosto da cadeira foi posicionado em 85° , e o eixo rotacional do aparelho foi alinhado com o eixo rotacional da articulação do joelho, na altura do côndilo lateral do fêmur. O braço de alavanca foi posicionado paralelamente à perna, com almofada de apoio fixada no terço distal anterior da mesma, imediatamente acima do maléolo lateral (FIGURA 2). A amplitude de movimento de realização do teste foi de 85° , partindo do ângulo de 90° de flexão do joelho. As medidas foram coletadas em ambos os membros, utilizando contrações concêntricas e velocidade angular constante e predeterminada de $60^{\circ}/\text{s}$ e $180^{\circ}/\text{s}$ para flexão e extensão de joelho. A dominância do membro inferior foi avaliada através da pergunta: "Se você fosse chutar uma bola, com qual perna você chutaria?"¹¹². Apenas o membro

dominante foi considerado para a análise estatística, uma vez que não há diferença estatisticamente significativa no desempenho muscular entre membros, avaliado no dinamômetro isocinético^{113,114}.



FIGURA 2: Posicionamento da participante para realização do teste de força muscular no dinamômetro isocinético

As idosas foram inicialmente submetidas à familiarização do uso do instrumento, sendo realizadas, em média, três repetições com força sub-máxima. Em seguida, foi medido o torque produzido pelo peso do membro inferior, para correção do efeito da gravidade sobre a musculatura envolvida, conforme instruções do fabricante. Cada participante efetuou uma série de cinco repetições de flexo/extensão do joelho na velocidade angular de $60^{\circ}/s$ e 15 repetições de flexo/extensão do joelho na velocidade angular de $180^{\circ}/s$. Durante o teste, as idosas receberam estímulo verbal para mover a alavanca do dinamômetro “o mais rápido e com a maior força possível”. Para a realização do teste foram observados os seguintes princípios do teste isocinético: educação do paciente, familiarização, aquecimento prévio, posicionamento, estabilização e alinhamento articular, correção da gravidade, intervalo de repouso entre as várias repetições do teste e entre as velocidades de teste e encorajamento verbal¹⁰².

A capacidade aeróbica foi avaliada por meio do TC6M¹⁰⁴. As idosas foram orientadas a caminhar o mais rápido possível, sem correr, em um corredor de 30 metros, durante seis minutos. Antes do início do teste, a idosa foi equipada com um cardiofreqüencímetro (marca POLAR FT) para registro da freqüência cardíaca (FC) a

cada minuto durante o teste. Antes e após a realização do teste, foi aferida a pressão arterial. A escala de percepção subjetiva de esforço (escala de Borg) foi usada ao final do teste. As idosas foram informadas que se necessário poderiam interromper a caminhada durante o teste e permitido reassumir a caminhada a fim de completar os 6 minutos de teste.

Após completar o processo de avaliação, as idosas iniciaram o programa de exercício físico. Ambos os programas foram realizados três vezes por semana, por um período de 10 semanas, sob orientação direta de pesquisadores treinados. Medidas de pressão arterial foram realizadas no início e ao final de cada sessão de exercícios, sendo determinado um valor máximo de 160/90 mmHg para realização da sessão de exercícios. Quando necessário, foram realizadas orientações e encaminhamento médico para controle da PA. Com o objetivo de aumentar a adesão aos programas de exercício foi implementada a reposição das faltas. Após 10 semanas as voluntárias foram reavaliadas seguindo os mesmos procedimentos das avaliações iniciais.

A análise das concentrações plasmáticas de BDNF, receptores solúveis de TNF- α , IL-6 e IL-10 foi realizada pelo método de ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), conforme já descrito, no Laboratório de Imunofarmacologia do Departamento de Bioquímica e Imunologia, conforme previamente descrito. O DNA genômico foi realizada por meio de protocolo de extração por Fenol-Cloroformio no Laboratório de Imunofarmacologia do Departamento de Bioquímica e Imunologia, enquanto a genotipagem foi realizada no Laboratório de Biodiversidade e Evolução Molecular, de acordo com procedimentos já descritos.

Em retribuição a participação das idosas na pesquisa foram organizadas visitas educativas no Museu de Ciências Morfológicas do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, cuja proposta é difundir o conhecimento da estrutura e funcionamento do organismo humano, como forma de despertar a consciência para a necessidade e importância do cuidado e da preservação da vida com qualidade. Após a finalização dos programas de intervenção as idosas foram encaminhadas para outros projetos como incentivo à continuidade aos exercícios e manutenção de uma vida ativa.

2.6 Análise estatística

Análise estatística descritiva, utilizando medidas de tendência central (média e mediana) e de variabilidade (amplitude e desvio padrão), foi realizada para a caracterização da amostra. A normalidade da distribuição dos dados foi verificada pelo teste *Kolmogorov-Smirnov*. Uma vez que as variáveis não apresentaram distribuição normal, as comparações entre os grupos GF e GA no *baseline* foram realizadas pelo teste não paramétrico *Mann Whitney*. As correlações foram verificadas por meio do coeficiente de correlação de *Spearman*.

A análise comparativa intra e inter grupos foi realizada por meio de análise de variância ANOVA 2 x 2 com teste *post hoc Mann Whitney* e *Wilcoxon*.

Análise de regressão linear foi realizada para investigar possíveis fatores que poderiam influenciar o efeito do exercício. Foi usado o método *stepwise*, que utiliza das correlações parciais entre as variáveis para definição do modelo final.

Cada polimorfismo de nucleotídeo único foi primeiramente testado para a consistência com as proporções Hardy-Weinberg, usando o teste qui-quadrado. Para analisar a interação entre os polimorfismos e os efeitos do exercício foi utilizada análise de covariância ANCOVA.

As análises estatísticas foram realizadas no programa *Statistical Package for Social Sciences*, versão 17.0.1. (SPSS Inc., Chicago, IL). Um alpha igual a 5% foi considerado para significância estatística de todas as análises.

3 Artigo 1

Title: Interaction between cytokines and BDNF gene polymorphisms and the effect of physical exercise on clinical and inflammatory parameters in the elderly women.

Authors:

Daniele S Pereira¹, Bárbara Z Queiroz¹, Elvis CC Mateo², Alexandra M Assumpção¹, Diogo C Felício¹, Aline Silva Miranda², Daniela MC Anjos¹, Fabianna Jesus-Moraleida¹, Rosângela C Dias¹, Danielle AG Pereira¹, Antônio L Teixeira², Leani S M Pereira¹

Affiliation:

¹ Graduate Program in Rehabilitation Sciences, Department of Physical Therapy, School of Physical Education, Physical Therapy and Occupational Therapy, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil.

² Department of Internal Medicine, School of Medicine, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brazil

Corresponding author: Leani Souza Máximo Pereira

Departamento de Fisioterapia - Universidade Federal de Minas Gerais / UFMG

Av. Antônio Carlos, 6627, CEP 31270-901, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. Telephone: (55-31-3409-4783. Fax: 55-31-3409-4781

E-mail: leanismp.bh@terra.com.br; daniele.sirineu@gmail.com;

Este artigo refere-se ao protocolo do estudo, em que as hipóteses, desenho e metodologia são relatados em detalhes. Artigo submetido a Trials

Abstract:

Background: Aging is associated with chronic low-grade inflammatory activity with an elevation of cytokine levels. An association between regular physical activity and reduction of blood levels of anti-inflammatory cytokines is demonstrated in the literature pointing to an anti-inflammatory effect related to exercise. However, there is no consensus regarding on which type of exercise and which parameters are the most appropriate to influence inflammatory markers. Evidence indicates that the single nucleotide polymorphism (SNP) can influence the synthesis of those cytokines affecting their production.

Methods/Design: The design is a randomized controlled trial. The aim of this study is to compare the effect of two protocols of exercises, aerobic and muscle strengthening, on the physical performance (PP) and the plasma levels of sTNFR-1, sTNFR-2, IL-6, IL-10 e BDNF; and to investigate the interaction between the cytokines genes SNP and the effect of physical activity on elderly women. The main outcomes are: serum levels of sTNFR-1, sTNFR-2, IL-6, IL-10 e BDNF, measured by the ELISA method; genotyping of TNF-alpha (rs1800629), IL6 (rs1800795), IL10 (rs1800896) and BDNF (rs6265 e rs4923463) SNP by the TaqMan Method (Applied Biosystems, Foster City, CA); and PP assessed by Timed Up and Go, 5-chair sit to stand from a chair and 10-meter walk tests. Secondary outcomes include: *Geriatric Depression Scale*, aerobic capacity, assessed by the 6-minute walk and the Shuttle Walking tests; lower limbs muscle strength, using an isokinetic dynamometer (Biodex Medical Systems Inc, USA); cortisol awakening response and Perceived Stress Scale. Both exercise protocols will be performed three times a week for ten weeks, 30 sessions in total.

Discussion: Investigate the effect of both protocols of exercise on the levels of inflammatory cytokine levels can contribute to standardize and to guide clinical practice related to treatment and prevention of functional changes due to chronic inflammatory activity in elderly. This will be the first study to analyze the interaction between genetic factors and exercise effects in

elderly. This approach could develop new perspectives on preventive and treatment proposals in Physical Therapy and in the management of the elderly. **Trial Registration:** RBR9v9cwf.

Keywords: polymorphism, cytokines, elderly, exercise, physical performance, BDNF

Background

Aging is associated with a chronic low-grade inflammatory process characterized by a systemic elevation, from two to four times, of plasma levels of cytokines as interleukin (IL) – 1, tumor necrosis factor alpha (TNF- α), IL-6, acute phase proteins, soluble TNF receptors (sTNFR), IL-10, among others [1]. Balance between production and release of those cytokines has been related to the emerging or aggravation of chronic conditions related to aging, disability and increased mortality in the elderly [1,2]. High levels of cytokines are associated with a reduction of physical performance and muscle function [3-7]. The underlying mechanism by which these cytokines contribute to a functional deterioration of the elderly seems to be their catabolic effect, leading to a reduction on muscle mass and strength that are related to sarcopenia [1,8].

TNF- α is an early mediator of inflammation since it starts and coordinates the acute phase response and induces the production of a second wave of cytokine expression, such as IL-6, IL-8 and C-reactive protein [9]. It also stimulates the production of sTNFR that act as its natural inhibitors, therefore regulating its biological function. Since these receptors are more stable molecules than TNF- α in circulation, they are more reliable markers of plasma TNF- α levels, hence of the inflammatory response [10]. A few authors argue that TNF- α is behind the age-related inflammatory changes [11,12], being associated with the development of insulin resistance and metabolic syndrome [13], and also with reduction of muscle mass and strength loss due to its catabolic action [14].

IL-6 is a cytokine that has both pro and anti-inflammatory roles and is involved in controlling and coordinating inflammatory responses. It is produced by different cell types, which include the skeletal muscle cells [15]. On the other hand, IL-10 is an anti-inflammatory cytokine that is essential to inflammatory activity control and resolution that is triggered and sustained by other mediators [16]. The IL-10 inhibitory effect on IL-6 and TNF- α cytokines is

well established in acute inflammatory processes [17], but not in chronic inflammation, such as we see during aging, nor the impact of physical exercises on their plasma levels is known.

The brain-derived neurotrophic factor (BDNF), which takes part of the neurotrophins family, plays an important role in regulating the survival, growth and maintenance of neurons, prevention of cell death due to stress-related processes, and neural plasticity [18]. Low BDNF levels are associated with mortality in frail elderly, and these altered levels have been related to several neurological and psychiatric conditions such as depression [19], Alzheimer's disease [20], Parkinson's disease [21]. Literature demonstrates that physical exercise can promote an increase in the production of these neurotrophin [22,23], what could mediate psychiatric changes and cognitive performance [24].

Differences seen in protein expression among people can occur as a result of functional genetic variations in the promoter area of these molecules gene [25]. The most common variations seen on human genome are the single nucleotide polymorphism (SNP). Evidence points that SNP which are present in the genes of several molecules involved in inflammation could affect their gene transcription and synthesis [25], modulating the inflammatory response severity. Some polymorphisms are associated with a greater production of inflammatory mediators. Thus, gene variations could explain in part the variability in the production of cytokines and neurotrophins, and the greater liability of certain people to clinical conditions that are mediated by the elevation of these markers production, such as chronic conditions related to aging and longevity [26-28].

The expression of TNF- α , IL-6, IL-10 and BDNF is influenced by functional polymorphisms at their promoter areas. The polymorphisms in TNF- α (rs1800629), IL-6 (rs1800795), IL-10 (rs1800896) and BDNF (rs6265 e rs4923463) have been associated with several acute and chronic diseases and with longevity as well [1,26,29]. For instance, Oberbach *et al* [28] identified that changes in the IL-6 plasma levels in response to exercise

were influenced by the -174G/C polymorphism, suggesting that genetic factors related to cytokine production could be determinant to individual effects of the anti-inflammatory response promoted by exercise. However, literature presents contradictory results related to their activity and effects on plasma levels of these mediators, especially considering the elderly population. One possibility is that differences shown in literature are due to interactions between lifestyle and gene factors, along with cultural and ethnic differences of the different studied samples.

Observational studies have pointed that physically active people have lower concentrations of inflammatory cytokines, suggesting that regular exercise may alleviate the chronic inflammatory activity associated with aging [15,30,31]. Consistent evidence have demonstrated that physical activity induces an elevation of anti-inflammatory cytokines systemic levels [32-34], with the skeletal muscle tissue being indicated as an endocrine organ that produces and releases cytokines named miokines [15].

The production and release of IL-6 during physical activity seem to rely on factors as type, intensity and duration of exercise [33]. Despite the possible benefits of physical exercise on chronic inflammatory process, information about the parameters of the ideal exercises for regulating cytokines have not been established [31,35-37], with research results being conflicting.

Therefore, the primary objectives of this clinical trial are: to compare the effect of two physical exercise programs, muscle strength and aerobic exercise, on the plasmatic levels of sTNFR-1, IL-6, IL-10 cytokines, of the BDNF neurotrophin and physical performance; to investigate the existence of an interaction between TNF- α rs1800629, IL6 rs1800795, IL10 rs1800896, and BDNF rs6265 and rs4923463 genes polymorphisms with the effect of physical exercise in elderly women.

Methods / Design

Recruitment of participants

This study is a randomized controlled trial for which community-dweller elderly women will be recruited and randomly assigned to either one of the following physical activity protocol: muscle strengthening exercises (MSE) or aerobic exercises (AE). The study will be conducted at the Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil.

After the initial evaluation, participants will be randomized into either MSE or AE group. This randomization will take place with an equal number of envelopes. The researcher responsible for the evaluations will be blinded to the participants' group.

The study was approved by the Ethics Committee of Universidade Federal de Minas Gerais (ETIC 038/2010) and all volunteers will give their written informed consent to participate, according to the principles of the Helsinki Declaration (1964).

Sample

Inclusion criteria

Community-dweller elderly women who are sedentary and aged 65 years or more will be included in the study. Sedentary elderly women are those who do not practice any regular physical activity (i.e., at least three times a week, 40 minutes minimum) in the last three months.

Exclusion criteria

Older people with cognitive impairment detectable by the Mini Mental State Examination[38], acute phase inflammatory disease, tumor growth in the last five years, current use of immunomodulatory medications, amputation or lower limb fracture in the last 6 months, presence of neurological sequelae and current participation in an alternative exercise program will be excluded from the study.

Baseline Assessment

A standardized questionnaire will be applied by trained researchers to collect sample characteristics, socio-demographic data and information on the clinical condition of the elderly.

Primary outcome measure

1. Plasma levels of TNF- α , sTNFR-1, sTNFR-2, IL-6, IL-10 e BDNF: 5 ml of blood will be withdrawn from the participants and immediately centrifuged at 1500 rpm to obtain plasma. Aliquots will be removed in a laminar flow hood and stored at -80°C . Plasma levels of cytokines will be determined by ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) method with high sensitivity kits (Quantikine®HS, R&D Systems Minneapolis, USA).

2. *Genotyping* – Blood samples will be obtained from all individuals in EDTA anti-coagulant and genomic DNA will be extracted using a phenol-chloroform method from unfractionated whole blood, and stored at -20°C . TaqMan genotyping assays will be obtained from Applied Biosystems, Inc. (Foster City, CA). The assay identification code for each respective SNP is IL-10 (rs1800896), TNF (rs1800629), ACTN3 (rs1815739), BDNF (rs6265 e rs4923463). A customized assay will be used for the IL-6 SNP gene. All amplifications will be carried out in an ABI 7900HT thermal cycler (Applied Biosystems, Inc.) using TaqMan Genotyping Master Mix and following the manufacturer's recommended amplification conditions.

3. Physical Performance will be assessed by means of Timed Up and Go (TUG) test, 5-chair Sit-to-stand test, and 10-Meter Walk Test (10MWT) [39-41]. These tests will be used because they have demonstrated high reliability and are commonly used to assess function in elderly people. The TUGT measures, in seconds, the time taken to stand up from a standard chair, walk a distance of 3 meters, turn, walk back to the chair and sit down. The TUG score demonstrates high inter-rater and intra-rater reliability (intraclass correlation coefficients

(ICCs) 0.99 and 0.99 respectively). The 10MWT has good reliability (ICC=0,78 e ICC=0,93), and is a good marker for mobility and fall risk [42]. On the other hand, the 5-chair Sit-to-stand test measures the needed time to perform the task of sitting to stand for five times as fast as possible. It has been used as an assessment tool for disability and risk for falls and as an indicator of lower limb strength in the elderly, with scores presenting excellent test-retest reliability (ICC=0.89)[43].

Secondary outcome measure

1. Muscle strength will be assessed using a Biodex[®] System 3 Pro isokinetic dynamometer (Biodex Medical Systems Inc., USA). This instrument has been accepted as the “gold standard” for assessment of muscular performance [44]. The muscle groups assessed will be the knee joint extensors and flexors of the dominant limb at angular speeds of 60°/s and 180°/s in concentric contractions, with five and fifteen repetitions respectively, at intervals of 30 seconds between each velocity. All procedures will be performed according to the assessment protocol suggested by the manufacturer, such as positioning of the volunteer, calibration, correction for gravity, familiarization and strong verbal encouragement. Variables chosen for analysis are peak tork/body mass and work normalized by body mass (%) at 60°/s, and Power at 180°/s.

2. Aerobic capacity, as measured by the 6-minute Walk test (6MWT) and by the Shuttle Walking Test (SWT). The first test has been used in patients who have different disorders such as neurological, cardiothoracic, infant or rheumatologic dysfunctions, and its correlation with maximum aerobic capacity is considered to be satisfactory [45,46]. The SWT has the advantage of having its intensity gradually increased by the external control of speed, which is increased every minute by 0,17m/s and is controlled by audio signals that are generated by a portable audio system. SWT is consisted of 12 levels, lasting one minute each, with the initial

velocity of 0.5 m/s, up to a maximum of 2.37 m/s [46,47]. Data related to systemic blood pressure, heart rate and subjective perception of effort using the Borg scale will be recorded.

3. Geriatric Depression Scale (GDS) is a screen for the presence of depression in older people. It comprises 15 individual questions; the cut-off-points will be 5/6 (non-case/case) [48].

4. The level of stress will be assessed by the 14-item Perceived Stress Scale validated for the Brazilian elderly. This scale assesses three factors considered to be keys in the experience of stress: how the subject evaluates his life as unpredictable, uncontrollable and overloaded [49]. The salivary cortisol level will be measured as an objective measurement of stress [50]. The salivary cortisol level will be collected with cortisol specific Salivette tubes (Sarstedt.Salivette-swab). The dosage of the salivary levels will be performed using the ELISA method (*Salimetrics*).

Intervention

The participants will be divided into two groups: strengthening exercises (SE) and aerobic exercises (AE) groups. Both groups will be submitted to a protocol lasting 10 weeks, 30 sessions in total, three times a week, under the direct supervision of a physical therapist.

AE Protocol: This protocol will consist of aerobic activities, including a 5- minute warm up routine, 40 minutes of aerobic exercises – walking and free weight exercises for both upper and lower limbs, and a 5-minute cool down period, as recommended by the American College of Sports Medicine (2009). Heart rate will be maintained at 60% of age-predicted maximum heart rate during both warm-up and cool-down periods, and between 65% to 80% levels during the aerobic activity.

Blood pressure and heart rate will be measured at the beginning and at the end of every session. To ensure the safety of participants and to guarantee the proper training zone, each one of them will be monitored by a cardiac monitor.

SE Protocol: This program was based on a previous study (ISRCTN62824599) [51] developed by the Pain and Inflammation in Rehabilitation and Aging Studies Laboratory (Laboratório de Dor e Inflamação em Reabilitação e Estudos do Envelhecimento - LADIRE) research group.

The session will consist of a ten minute walk, followed by stretching the rectus femoris, psoas, hamstrings and triceps surae muscles. Strengthening exercises will be performed for the following movements: hip flexion, abduction, adduction and extension; knee flexion and extension; mini-squat. The load, suitable for each participant, will be calculated by 1 repetition maximum (RM) test. Participants will initiate the exercises at 50% of 1RM, adjusting the load after two weeks (7th session) to 75% of 1RM. The RM will be recalculated for sessions 13 and 22, and the exercises will be performed at 75% of the newly established RM. Participants will be reassessed after 30 sessions.

Sample size

Based on the multivariate logistic regression analysis that will be performed in this study to explore the SNP influence on the effects of exercise on plasma levels of cytokines and physical performance, 140 older adults need to be included, considering the sample calculation of $(10 \times (K + 1))$, where K is the number of explanatory variables of the model. Analyses will be adjusted for variables age, anthropometric measurements, physical activity level, presence of depression and stress levels.

Statistical Analyses

Insight into the sample characterization will be provided using descriptive statistics, including measures of central tendency (mean and median) and variability (range and standard deviation). Violation of Hardy-Weinberg equilibrium will be tested by the chi-square test.

The Kolmogorov-Smirnov test will be used to verify the normal distribution of data. The comparison for between and within groups data will be analyzed using an analysis of variance (ANOVA). Post hoc testing will be undertaken with LSD tests.

The multivariate logistic regression analysis will be performed to explore the effect of polymorphisms on the variables: plasma levels of cytokines and physical performance, considering the genotype of each investigated. The interaction between polymorphisms and effects of exercise will be investigated using an analysis of covariance (ANCOVA).

Statistical analysis will be performed using the *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS Inc., Chicago, IL), version 17.0, and α level will be set at .05.

Discussion

The elevation of the plasma inflammatory cytokine levels has as one of its main consequence sarcopenia [6,25,26], reduction of function and independence of the older adult. We have previously demonstrated a weak to moderate negative correlation between high plasma levels of IL-6 and sTNF-R1, and reduced muscle strength and physical performance in elderly women [3,4].

Within this context, physical exercise has been presented as one of the most effective strategies to influence both an improvement on physical performance and a decrease on plasma levels of inflammatory markers in the elderly [31,35,52]. However, even though physical exercise has been widely performed in clinical practice, there is no consensus on which type of exercise and what clinical parameters are the most influential on the inflammatory markers. Thus, the results of this clinical trial could contribute in the standardization and management of clinical practice related to prevention and treatment of functional changes in the elderly.

A series of evidence suggests that the SNP could affect the production of cytokines and neutrophins, also influencing physical, cognitive and behavioral performance, muscle strength in the elderly [25,26,29]. We have recently investigated the effect of the -174G/C polymorphism of the IL-6 gene on the plasma IL-6 levels in both community dweller and institutionalized elderly women. Homozygotes women for the G allele showed high IL-6 levels, and an interaction between polymorphism and housing conditions (community / institution) was observed, with a higher effect of GG genotype on IL-6 levels in the institutionalized women [53].

The genes involved in the regulation of the chronic inflammatory process can contribute not only to the individual variability of cytokine production and physical performance in the elderly, but also to the response of these variables to physical exercise. Still, it is important to note that the evaluation of a single cytokine genotype without considering its interaction with other genotypes from different biological markers could lead us to misinterpretations, as their combined action could result in different effects. Therefore, analyzing and understanding the influence of genetic factors on the effects of different exercise protocols as proposed by this study may contribute to the development of new perspectives on preventive and therapeutic approaches in Physical Therapy and in general management of the elderly patient. This trial was designed to be reproducible in both research and clinical environments.

Authors' contributions

DSP, LSMP, ALT and DAGP were responsible for the conception and implementation of the study, as well as for its writing and final corrections. RCD helped in the implementation and supervision of the study. DMCA and BZQ were responsible for supervision of the intervention. AMA and DCF were responsible for the evaluations. DSP, ECCM and BZQ

carried out the molecular genetic studies. ASM and DSP carried out the immunoassays. DSP, DAGP and FJM conducted the data analysis. All authors contributed to and approved the final manuscript.

Competing interests

The author(s) declare that they have no competing interests'.

Acknowledgments

This work was funded by the Brazilian funding agencies Fapemig and CNPq. Dr. D.S. Pereira was the recipient of a CAPES scholarship during her doctorate.

References

1. Krabbe KS, Perderson M, Bruunsgaard H: Inflammatory mediators in the elderly. *Exp Gerontol* 2004, 39:687-699.
2. Tiainen K, Hurme M, Hervonen A, Luukkaala T, Jylha M: Inflammatory markers and physical performance among nonagenarians. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2010, 65:658-663.
3. Oliveira DM, Narciso FM, Santos ML, Pereira DS, Coelho FM, Dias JM, Pereira LS: Muscle strength but not functional capacity is associated with plasma interleukin-6 levels of community-dwelling elderly women. *Braz J Med Biol Res* 2008, 41:1148-1153.
4. Pereira LSM, Narciso FMS, Oliveira DMG, Coelho FM, Souza DG, Dias RC: Correlation between manual muscle strength and interleukin-6 (IL-6) plasma levels in elderly community-dwelling women. *Arch Gerontol Geriatr* 2009, 48:313-6.
5. Brinkley TE, Leng X, Miller ME, Kitzman DW, Pahor M, Berry MJ, Marsh AP, Kritchevsky SB, Nicklas BJ: Chronic inflammation is associated with low physical function in older adults across multiple comorbidities. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2009, 64:455-461.
6. Ferrucci L, Pennix BWJH, Volpato S, Harris TB, Banden-Roche K, Balfour J, Leveille SG, Fried LP, Guralnik JM: Change in Muscle Strength Explains Accelerated Decline of Physical Function in Older Women With High Interleukin-6 Serum Levels. *J Am Geriatr Soc* 2002, 50:1947-1954.
7. Coelho FM, Pereira DS, Lustosa LP, Silva JP, Dias JM, Dias RC, Queiroz BZ, Teixeira AL, Teixeira MM, Pereira LS: Physical therapy intervention (PTI) increases plasma brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in non-frail and pre-frail elderly women. *Arch Gerontol Geriatr* 2011, 54:415-20.

8. Roubenoff R: Physical activity, inflammation, and muscle loss. *Nutr Rev* 2007, 65:S208-S212.
9. Makhatadze NJ: Tumor necrosis factor locus: genetic organisation and biological implications. *Hum Immunol* 1998, 59:571-579.
10. Aderka D, Engelmann H, Shemer-Avni Y, Hornik V, Galil A, Sarov B, Wallach D: Variation in serum levels of the soluble TNF receptors among healthy individuals. *Lymphokine Cytokine Res* 1992, 11:157-159.
11. Roubenoff R: Catabolism of aging: is it an inflammatory process? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2003, 6:295-299.
12. Bruunsgaard H: Physical activity and modulation of systemic low-level inflammation. *J Leukoc Biol* 2005, 78:819-835.
13. Plomgaard P, Nielsen AR, Fischer CP, Mortensen OH, Broholm C, Penkowa M, Krogh-Madsen R, Erikstrup C, Lindegaard B, Petersen AM et al.: Associations between insulin resistance and TNF-alpha in plasma, skeletal muscle and adipose tissue in humans with and without type 2 diabetes. *Diabetologia* 2007, 50:2562-2571.
14. Reid MB, Li Y-P: Tumor necrosis factor- α and muscle wasting: a cellular perspective. *Respir Res* 2001, 2:269-272.
15. Pedersen BK, Febbraio MA: Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6. *Physiol Rev* 2008, 88:1379-1406.
16. Moore KW, Malefyt RW, Coffman RL: A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol* 2001, 19:683-765.

17. Hempel L, Korholz D, Bonig H: Interleukin-10 directly inhibits the interleukin-6 production in T-Cells. *Scand J Immunol* 1995, 41:462-466.
18. Zoladz JA, Pilc A: The effect of physical activity on the brain derived neurotrophic factor: from animal to human studies. *J Physiol Pharmacol* 2010, 61:533-541.
19. Diniz BS, Teixeira AL, Talib LL, Mendonca VA, Gattaz WF, Forlenza OV: Serum brain-derived neurotrophic factor level is reduced in antidepressant-free patients with late-life depression. *World J Biol Psychiatry* 2010, 11:550-555.
20. Diniz BS, Teixeira AL: Brain-derived neurotrophic factor and Alzheimer's disease: physiopathology and beyond. *Neuromolecular Med* 2011, 13:217-222.
21. Scalzo P, Kummer A, Bretas TL, Cardoso F, Teixeira AL: Serum levels of brain-derived neurotrophic factor correlate with motor impairment in Parkinson's disease. *J Neurol* 2010, 257:540-545.
22. Coelho FM, Pereira DS, Lustosa LP, Silva JP, Dias JM, Dias RC, Queiroz BZ, Teixeira AL, Teixeira MM, Pereira LS: Physical therapy intervention (PTI) increases plasma brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in non-frail and pre-frail elderly women. *Arch Gerontol Geriatr* 2011, 54:415-20.
23. Laske C, Banschbach S, Stransky E, Bosch S, Straten G, Machann J, Fritsche A, Hipp A, Niess A, Eschweiler GW: Exercise-induced normalization of decreased BDNF serum concentration in elderly women with remitted major depression. *Int J Neuropsychopharmacol* 2010, 13:595-602.
24. Zoladz JA, Pilc A: The effect of physical activity on the brain derived neurotrophic factor: from animal to human studies. *J Physiol Pharmacol* 2010, 61:533-541.

25. Maat MPM, Bladbjerg EM, Hjelmberg JB, Bathum L, Jespersen J, Christensen K: Genetic influence on inflammation variables in the elderly. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004, 24:2168-2173.
26. Lio D, Scola L, Crivello A, Colonna RG, Candore G, Bonafè M, Cavallone L, Marchegiani F, Olivieri F, Franceschi C et al.: Inflammation, genetics, and longevity: further studies on the protective effects in men of IL-10 -1082 promoter SNP and its interaction with TNF -308 promoter SNP. *J Med Genet* 2003, 40:296-299.
27. Stephens JW, Hurel SJH, Lowe GDO, Rumley A, Humphries SE: Association between plasma IL-6, the IL-6 -174G>C gene variant and the metabolic syndrome in type 2 diabetes mellitus. *Mol Genet Metab* 2007, 90:422-428.
28. Di BD, Vasto S, Capurso C, Christiansen L, Deiana L, Franceschi C, Hurme M, Mocchegiani E, Rea M, Lio D et al.: Effect of interleukin-6 polymorphisms on human longevity: a systematic review and meta-analysis. *Ageing Res Rev* 2009, 8:36-42.
29. Oberbach A, Lehmann S, Kirsch K, Krist J, Sonnabend M, Linke A, Tonjes A, Stumvoll M, Bluher M, Kovacs P: Long-term exercise training decreases interleukin-6 (IL-6) serum levels in subjects with impaired glucose tolerance: effect of the -174G/C variant in IL-6 gene. *Eur J Endocrinol* 2008, 159:129-136.
30. Colbert LH, Visser M, Simonsick EM, Tracy RP, Newman AB, Kritchevsky SB, Pahor M, Taaffe DR, Brach J, Rubin S: Physical Activity, Exercise, and Inflammatory Markers in Older Adults: Findings from The Health, Aging and Body Composition Study. *J Am Geriatr Soc* 2004, 52:1098-1104.
31. Kohut ML, McCann DA, Russell DW, Konopka DN, Cunnick JE, Franke WD, Castillo MC, Reighard AE, Vanderah E: Aerobic exercise, but not flexibility/resistance

exercise, reduces serum IL-18, CRP, and IL-6 independent of β -blockers, BMI, and psychosocial factors in older adults. *Brain Behav Immun* 2006, 20:201-209.

32. Ostrowski K, Schjerling P, Pedersen BK: Physical activity and plasma interleukin-6 in humans--effect of intensity of exercise. *Eur J Appl Physiol* 2000, 83:512-515.

33. Petersen AMW, Pedersen BK: The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol* 2005, 98:1154-1162.

34. Mathur N, Pedersen BK: Exercise as a mean to control low-grade systemic inflammation. *Mediators Inflamm* 2008, 2008:109502.

35. Greiwe JS, Cheng B, Rubin DC, Yarasheski KE, Semenkovich CF: Resistance exercise decreases skeletal muscle tumor necrosis factor α in frail elderly humans. *FASEB Journal* 2001, 15:475-482.

36. Nicklas BJ, Ambrosius W, Messier SP, Miller GD, Penninx BW, Loeser RF, Palla S, Bleecker E, Pahor M: Diet-induced weight loss, exercise, and chronic inflammation in older, obese adults: a randomized controlled clinical trial. *Am J Clin Nutr* 2004, 79:544-551.

37. Phillips MD, Flynn MG, McFarlin BK, Stewart LK, Timmerman KL: Resistance training at eight-repetition maximum reduces the inflammatory milieu in elderly women. *Med Sci Sports Exerc* 2010, 42:314-325.

38. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR: "Mini-mental state": A practical method for grading the clinician. *J Psychiatr Res* 1975, 12:129-138.

39. Podsiadlo D, Richardson S: The Timed Up & Go: a test of basic functional mobility for frail elderly persons. *J Am Geriatr Soc* 1991, 39:142-148.

40. Shinkai S, Watanabe S, Kumagai S, Fujiwara Y, Amano H, Yoshida H, Ishizaki T, Yukawa H, Suzuki T, Shibata H: Walking speed as a good predictor for the onset of functional dependence in a Japanese rural community population *Age Ageing* 2000, 29:441-446.
41. Whitney SL, Wrisley DM, Marchetti GF, Gee MA, Redfern JMF: Clinical measurement of sit-to-stand performance in people with balance disorders: validity of data for the Five-Times-Sit-to-Stand test. *Phys Ther* 2005, 85:1034-1045.
42. VanSwearingen JM, Brach JS: Making geriatric assessment work: selecting useful measures. *Phys Ther* 2001, 81:1233-1252.
43. Tiedemann A, Shimada H, Sherrington C, Murray S, Lord S: The comparative ability of eight functional mobility tests for predicting falls in community-dwelling older people. *Age Ageing* 2008, 37:430-435.
44. Perrin DH: *Isokinetic Exercise and Assessment*. 1993.
45. Solway S, Brooks D, Lacasse Y, Thomas S: A qualitative systematic overview of the measurement properties of functional walk tests used in the cardiorespiratory domain. *Chest* 2001, 119:256-270.
46. Cunha-Filho IT, Pereira DAG, Carvalho AMB, Campedeli L, Soares M, Sousa Freitas JS: *Reliability of walking tests in claudicating patients: a pilot study*. *J Vasc Bras* 2008, 7:106-111.
47. Singh SJ, Morgan MD, Scott S, Walters D, Hardman AE: Development of a shuttle walking test of disability in patients with chronic airways obstruction. *Thorax* 1992, 47:1019-1024.

48. Almeida OP, Almeida SA: Confiabilidade da versão brasileira da Escala de Depressão em Geriatria (GDS) versão reduzida. *Arq Neuropsiquiatr* 1999, 57:421-426.
49. Luft CD, Sanches SO, Mazo GZ, Andrade A. Brazilian version of the Perceived Stress Scale: translation and validation for the elderly. *Rev Saude Publica* 2007, 41:606-615.
50. Fries E, Dettenborn L, Kirschbaum C: The cortisol awakening response (CAR): facts and future directions. *Int J Psychophysiol* 2009, 72:67-73.
51. Lustosa LP, Coelho FM, Silva JP, Pereira DS, Parentoni AN, Dias JM, Dias RC, Pereira LS: The effects of a muscle resistance program on the functional capacity, knee extensor muscle strength and plasma levels of IL-6 and TNF-alpha in pre-frail elderly women: a randomized crossover clinical trial-a study protocol. *Trials* 2010, 11:82.
52. Coelho FM, Pereira DS, Lustosa LP, Silva JP, Dias JM, Dias RC, Queiroz BZ, Teixeira AL, Teixeira MM, Pereira LS: Physical therapy intervention (PTI) increases plasma brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in non-frail and pre-frail elderly women. *Arch Gerontol Geriatr* 2011.
53. Pereira DS, Garcia DM, Narciso FM, Santos ML, Dias JM, Queiroz BZ, Souza ER, Nobrega OT, Pereira LS: Effects of 174 G/C polymorphism in the promoter region of the interleukin-6 gene on plasma IL-6 levels and muscle strength in elderly women. *Braz J Med Biol Res* 2011, 44:123-129.

4 ARTIGO 2

Title: Effects of physical exercise on plasma levels of BDNF and depressive symptoms in elderly women

Authors: Daniele Sirineu Pereira¹, Bárbara Zille de Queiroz¹, Aline Silva Miranda², Natália Pessoa Rocha², Elvis CC Mateo², Fabianna Jesus-Moraleida¹, Danielle Aparecida Gomes Pereira¹, Antonio Lucio Teixeira², Leani SM Pereira¹

Affiliation: ¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação, Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil.

² Laboratório de Imunofarmacologia, Departamento de Bioquímica e Imunologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brazil.

Correspondence author: Daniele Sirineu Pereira

Av. Antônio Carlos, 6627, CEP 31270-901, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. Telephone: +55-31-3409-4783. Fax: +55-31-3409-4781

E-mail: daniele.sirineu@gmail.com

Abstract

Aging is associated with decreased levels of neurotrophic factors which could contribute to the risk of depression in elderly subjects. Physical exercise can increase BDNF levels, however, little is known about its production pattern in response to exercise in the elderly. We investigated the effect of two standardized exercise programs, muscle strength training (SE) and aerobic training (AE), on the plasma levels of BDNF and depressive symptoms in 451 elderly women (65-89 years old) (ReBEC:RBR9v9cwf). BDNF levels were measured by ELISA and the Geriatric Depression Scale was used to assess depression. Both protocols lasted 10 weeks, 30 sessions in total performed three times a week and improved the depressive symptoms in this elderly sample. There was no association between mood improvement and BDNF changes. Interestingly only SE significantly increased the plasma levels of BDNF in our sample. In conclusion the positive effects of physical exercise on depressive symptoms in the elderly were not mediated by BDNF.

Keywords: elderly, brain-derived neurotrophic factor, exercise, depression

Introduction

Brain-derived neurotrophic factor (BDNF), a member of the neurotrophin family, plays an important role in neurogenesis, protection against neuronal death, and positively influences brain plasticity in improving learning and memory (Hu and Russek, 2008; Murer et al., 2001). Evidence also suggests that BDNF plays a central role in energy metabolism by altering skeletal muscle fat oxidation in an AMPK (AMP-Activated protein kinase) dependent-manner (Krabbe et al., 2007). BDNF is especially abundant in the hippocampus and the cerebral cortex, though significant BDNF levels can also be detected in the peripheral blood (Brunoni et al., 2008; Sen et al., 2008). A high correlation between the expression of this neurotrophin in the brain and its serum levels is demonstrated in animals, suggesting a similar association in humans (Karege et al., 2002).

Altered levels of BDNF are seen in people with neurological and psychiatric conditions such as Parkinson's disease (Scalzo et al., 2010), Alzheimer's disease (Diniz and Teixeira, 2011; Forlenza et al., 2010; Yasutake et al., 2006), and depression (Diniz et al., 2010; Laske et al., 2010). Two recent meta-analyses have confirmed a significant association between low circulating levels of BDNF and the presence of depression in humans (Brunoni et al., 2008; Sen et al., 2008).

Depression is one of the most common psychiatric disorder in the elderly, with a chronic course (Alexopoulos, 2005), being responsible for loss of autonomy and aggravation of pre-existing pathological conditions (Heikkinen and Kauppinen, 2004). Recent studies have demonstrated a significant reduction in BDNF levels in depressed elderly patients (Bus et al., 2012; Diniz et al., 2010). Moreover, the reduction of the plasma levels of this neurotrophin in the elderly was pointed as a biological marker of memory and cognition deficits in elderly women (Komulainen et al., 2008) and a predictor of mortality risk in frail elderly (Krabbe et al., 2009).

Participation in regular exercise promotes neurobiological adaptations with positive effects on depression (Kerse et al., 2010; Lampinen and Heikkinen, 2003), and memory and other cognitive functions (Cotman and Berchtold, 2002; Liu-Ambrose and Donaldson, 2009). While the mechanisms underlying these outcomes remain unclear, it is suggested that BDNF is somewhat involved in this process since physical exercise can influence the production of this neurotrophin known to be involved in neurogenesis and brain plasticity (Coelho et al., 2011; Cotman and Berchtold, 2002; Laske et al., 2010; Pedersen et al., 2009).

Studies have demonstrated an acute elevation of BDNF levels in response to a single bout of exercise (Ferris et al., 2007; Gustafsson et al., 2009; Zoladz and Pilc, 2010). Rather, the evidence on the effect of regular intervention on the basal levels of BDNF, which would feature a chronic effect, is conflicting (Goekint et al., 2010; Levinger et al., 2008; Yarrow et al., 2010). Besides, the majority of these studies was performed in young, healthy individuals. We recently demonstrated that a muscle strengthening program promoted an elevation of BDNF levels in community-dwelling elderly after 10 weeks of intervention (Coelho et al., 2011). This is the modality of exercise of particular interest in the elderly for its positive effects on the prevention and treatment of sarcopenia (Kryger and Andersen, 2007). On the other hand, aerobic exercise stands out for its benefits over cardiovascular risk factors and metabolic syndrome (Chodzko-Zajko et al., 2009). However, the effects of this type of intervention on circulating levels of BDNF has not been investigated in the elderly, nor these different types of modalities have been compared in relation to possible benefits on BDNF production.

Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of two physical exercise programs, muscle strengthening and aerobic intervention, on the plasma levels of BDNF and depressive symptoms in elderly women.

2. Methods

The present study is part of a clinical trial registered on the Brazilian Register of Clinical Trials (ReBEC: RBR9v9cwf) that aimed to investigate the interaction between polymorphisms of cytokines and the effect of physical exercise on inflammatory and clinical parameters in elderly women. The study was approved by the Ethics Committee of Universidade Federal de Minas Gerais –UFMG (ETIC 038/2010) and all volunteers gave their written informed consent to participate, according to the principles of the Helsinki Declaration (1969).

The study protocol and methods have been previously described in detail (Pereira, et al. 2012 *In Press*). Community-dwelling older women who were sedentary and aged 65 years or more were included in the study. The sedentary criterion was established as those elderly who did not practice any regular physical exercise,

The following exclusion criteria were considered: elderly people with cognitive impairment detectable by the Mini Mental State Examination (Bertolucci et al., 1994; Folstein et al., 1975), acute phase inflammatory disease, cancer in the past five years, use of immunomodulatory medications, lower limb amputation or fracture in the past 6 months, presence of neurological sequelae or disease and participation in alternative physical exercise programs

Plasma levels of BDNF

A trained professional collected 5 ml of blood from the ulnar vein of the participants in citrate vacutainers. Blood sample collection was performed between 8 am and 10 am in order to minimize possible effects of circadian changes. Vacutainers tubes were processed in a Fanem Centrifuge by centrifugation at 1500 rpm, for 15 minutes. The plasma was removed in a sterile environment and stored in eppendorf tubes at -80°C.

Plasma levels analysis was performed by ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) method with DuoSet ELISA kits (R&D Systems, Minnesota, MN). The detection level of the method was 5 pg/ml. Blood collection was performed at rest pre (48 hours after the completion of physical tests) and post intervention (minimum of 72 hours after the last session of exercise).

Depressive Symptoms

The Geriatric Depression Scale (GDS) was used as a screen for the presence of depression in participants both at baseline and post intervention (Yesavage et al., 1982). This scale has been widely used as a screen tool for depressive disorders in older people, with valid and reliable psychometric measures (Almeida and Almeida, 1999; Yesavage et al., 1982). We used the translated and adapted Brazilian-Portuguese version of the GDS comprising 15 questions with dichotomous responses, with adopted cut-off-points of 5/6 (non-case/case) (Almeida and Almeida, 1999).

Other Measurements

Information on sample characteristics in terms of socio-demographic data and information on the clinical condition of the elderly were obtained using a standardized questionnaire which was applied by trained researchers.

Anthropometric measurements (Body Mass Index and Waist Circumference) were also assessed since they are factors that may affect BDNF levels.

Intervention

Participants were divided into two groups: strengthening exercises (SE) and aerobic exercises (AE) groups. Both protocols lasted 10 weeks, 30 sessions in total performed three

times a week, under the direct supervision of physical therapists. During this period, participants were instructed to maintain their usual activities and to refrain from initiating other physical exercise programs.

Strengthening exercises: The exercises of the SE protocol consisted of a ten minute walk, followed by stretching the rectus femoris, psoas, hamstrings and triceps surae muscles. Strengthening exercises were then performed for the following movements: hip flexion, abduction, adduction and extension; knee flexion and extension; mini-squat. The load, suitable for each participant, was calculated by the 1 Repetition Maximum (RM) test. Participants began the exercises at 50% of 1RM, adjusting the load after two weeks (7th session) to 75% of 1RM. The RM was also recalculated for sessions 13 and 22, with exercises being performed at 75% of the newly established RM (Lustosa et al., 2010). Blood pressure and heart rate were monitored at the beginning and at the end of every session.

Aerobic exercises: The AE protocol consisted of a 5- minute warm up routine, 40 minutes of aerobic exercises, including walking and free weight exercises for both upper and lower limbs, and a 5-minute cool down period, as recommended by the American College of Sports Medicine (Chodzko-Zajko et al., 2009). Heart rate was maintained at 60% of age-predicted maximum heart rate during both warm-up and cool-down periods, and between 65% to 80% levels during the aerobic activity. Participants were monitored by a heart rate meter in order to guarantee the proper intervention zone.

Statistical Analysis

Statistical analysis was performed using the *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS Inc., Chicago, IL), version 17.0, and α level set at .05.

Descriptive statistics, including measures of central tendency (mean and median) and variability (range and standard deviation), was used to describe sample characterization. The

Kolmogorov-Smirnov test was used to verify the normal distribution of data, which were not normally distributed.

The non-parametric Mann Whitney test was performed to compare baseline data between AE and SE groups and to verify possible differences at BDNF levels in elderly who were classified as case/non case in the GDS and in relation to antidepressant medication intake. Correlation between BDNF and changes in depression symptoms were measured by the Spearman correlation coefficient.

Subsequently, a 2-way analysis of variance (ANCOVA) was built to investigate the effect of intervention on plasma level changes of BDNF, scores and case/non case GDS classification and to identify differences between AE and SE groups. Post-hoc testing was undertaken with *Wilcoxon e Mann Whitney* tests. All analyses were adjusted for the co-variable anti-depression medication intake. Differences between post-intervention and baseline (delta) values were used in post-hoc analyses to avoid possible differences between groups at baseline.

Results

The inclusion criteria for this study were met by 451 community-dwelling older women. 229 participants were allocated to the SE and 222 to the AE groups. Dropout rates were 21.3% for the SE group and 25% for the AE group. Throughout the trial, 2 participants were excluded due to cancer diagnosis. Participants who did and who did not finish the exercise programs were similar for sociodemographic and clinical variables.

Demographic data is shown in table 1. In relation to depressive symptoms, 24% and 19.5% of the participants were considered cases in the SE and AE groups, respectively. The most frequent co morbidities were hypertension (69%), osteoarthritis (39.6%), diabetes mellitus (20.5%), with no significant differences between groups ($p>0.05$). BDNF levels did

not differ between elderly classified as case/non case according to GDS score for neither SE ($p=0.45$) or AE ($p=0.93$) groups.

There was a significant pre and post intervention difference for the BDNF plasma levels $F(2, 345) = 17.63$, $p = 0.001$ with a significant difference between SE and AE groups $F(2, 345) = 6.85$, $p = 0.009$. Post-hoc analysis revealed a pre-post intervention difference in BDNF levels only for the SE group ($p=0.008$) (Figure 1).

A statistically significant difference was found for pre and post intervention GDS scores in both groups $F(2, 345) = 38.18$, $p = 0.001$. Post-hoc analysis revealed a significant difference in this variable for both SE ($p=0.001$) and AE ($p=0.001$) groups. No differences were found for between groups values post intervention $F(2, 345) = 1.76$, $p = 0.185$, showing that the effects of both exercise protocols were comparable for depressive symptoms. Similar findings were noted considering the case/no case GDS classification (Table 2).

The antidepressant intake did not influence the results observed in ANOVA for neither depressive symptoms nor plasma levels of BDNF. No significant difference was found in BDNF levels between elderly classified as case/non case according to GDS score. There was no correlation between baseline plasma levels of BDNF and pre or post intervention GDS scores, and no correlation was found between changes in BDNF levels and reduction in depressive symptoms in response to exercise in our sample.

Discussion

To the best of our knowledge this is the first study that investigated the effect of two types of exercise program over BDNF levels in the elderly. The SE protocol significantly increased the plasma levels of BDNF in our sample. Conversely, no differences were found in BDNF dosages after the aerobic training. A significant difference between GDS scores and its case/no case depression classification post intervention was shown, demonstrating positive

effects of different exercise modalities over depressive symptoms in community-dwelling elderly women. Our results suggest that the effects of physical exercise on depressive symptoms were not associated by BDNF action.

Though several studies have explored the effect of exercise on BDNF levels, little is known about the pattern of BDNF production in response to exercise in the elderly. In the present study, there was a significant difference in BDNF levels prior and post muscle strengthening program. This result differs from others that did not find any significant differences on circulating levels of BDNF in response to this modality of intervention in young adults (Goekint et al., 2010; Levinger et al., 2008; Yarrow et al., 2010). Recently, we have demonstrated the positive impact of a muscle endurance program on plasma levels of BDNF in pre-frail and not frail elderly women who lived in the community. After 10 weeks of intervention, there was a significant elevation of the plasma levels of BDNF, followed by an improvement on functional parameters such as muscle strength and mobility (Coelho et al., 2011).

Regarding the aerobic exercise, we did not find a significant increase in the plasma levels of BDNF after intervention. The effects of aerobic intervention on BDNF levels are conflicting in young adults, with some studies demonstrating elevation of its basal levels (Castellano and White, 2008; Zoladz and Pilc, 2010), while others did not find any change (Seifert et al., 2010). A study that assessed the acute effect of an aerobic intervention session on BDNF levels in women over 50 years-old (with and without the diagnosis of depression) found an increase in this neurotrophin only in depressed women (Laske et al., 2010). In contrast, no other changes were found for the control group, indicating that BDNF production in response to this type of exercise could be influenced by age. Erickson *et al.* studied the effects of aerobic exercise on hippocampus volume and on BDNF levels in community-dwelling elderly with no cognitive dysfunction. After 12 months of mild to moderate intensity

training, an increase on hippocampus volume was noted, but BDNF levels did not change significantly (Erickson et al., 2011), which corroborates our findings.

Circulating BDNF can be produced by both central and peripheral nervous systems, and also by non neural tissues, including vascular endothelial cells (Donovan et al., 2000; Nakahashi et al., 2000) and immune system cells (Kerschensteiner et al., 1999). *In vitro* experiments point out that muscle cells when electrically stimulated produce BDNF (Matthews et al., 2009). However, Matthews et al. have also shown that the kinetics of BDNF mRNA expression indicated that the acute increase on BDNF levels in response to a single bout of aerobic exercise session did not have its origin in the muscle (Matthews et al., 2009). There is an increase in BDNF production in specific areas of the brain during exercise (Neeper et al., 1996; Rasmussen et al., 2009), with these areas being one of the main sources of circulating BDNF (Rasmussen et al., 2009). However, these finding must be seen with caution, since other peripheral sources that produce BDNF during exercise have not been sufficiently investigated. Moreover, chronic elevation of plasma levels of BDNF due to regular physical exercise may be partially related to an increase on the production of this neurotrophin in the muscle, especially if we consider the great volumes of muscle mass involved in progressive muscle strength intervention. Therefore, the source of the increase on BDNF levels is uncertain in our study.

Exercise has been shown to be an effective therapeutic option for treating mild to moderate depression (Carek et al., 2011; Conn, 2010; Mead et al., 2009) and for reducing depressive symptoms in elderly, even when they do not fulfill the criteria for major depression (Conn, 2010; Sjosten and Kivela, 2006). Furthermore regular physical exercise plays a protective role in the incidence of depressive disorders in the elderly (Pasco et al., 2011; Strawbridge et al., 2002). Our results are in agreement with systematic reviews that indicate that both muscle strengthening and aerobic exercises have posite effect on depressive

symptoms (Lawlor and Hopker, 2001; Martinsen, 1994; Mead et al., 2009). Both exercise regimens promoted the reduction of GDS scores and the number of possible depression cases post intervention. This is an important result considering the potential risks of antidepressant intake in this age group.

Different mechanisms may explain the decrease in depressive symptoms as a result of physical exercise. It is hypothesized that regular physical exercise can influence mental health by means of psychological factors, since it promotes greater social contact, improves self-efficacy and self-esteem, acting as a distracter from negative feelings as well (Salmon, 2001). The effectiveness of exercise on depression is also credited to its impact on neurobiological mechanisms, although they are not yet fully understood. Changes in monoamine oxidase metabolism, with increased levels of serotonin in the central nervous system, decrease of cortisol basal levels (Archer et al., 2011) and also on cytokine levels (Beavers et al., 2010) may contribute to mediate the action of physical exercise on depression.

The increased production of neurotrophic factors such as BDNF has also been indicated as one of the potential mechanisms of action of exercise on depression, particularly because of its effects on neuroplasticity (Cotman and Berchtold, 2002; Diniz et al., 2010). It has been well established that depressed patients have lower BDNF levels when compared to controls (Bus et al., 2012; Diniz et al., 2010). Moreover, the intake of antidepressant seems to increase the levels of BDNF in patients with depression, with associated improvement of their symptoms (Aydemir et al., 2007; Brunoni et al., 2008; Sen et al., 2008). Genetic studies also indicate that polymorphisms of BDNF gene are associated with a higher risk of depression in elderly patients (Taylor et al., 2007).

Our findings have demonstrated a difference in BDNF levels pre and post intervention, with significant differences only for the SE group. Even though the effects of both protocols on depressive symptoms were similar, the aerobic intervention did not promote

any significant change in BDNF levels. Still, in the present study, we did not find a correlation between BDNF levels and GDS pre or post-intervention. These results suggest that alterations on BDNF levels did not influence the effect of exercise on depressive symptoms.

There are a few limitations in this study that must be stressed. The fact that the sample was consisted exclusively of women restricts generalizing our findings for the elderly population, limiting the external validity of the present study. GDS is widely used in clinical settings, being a valid and reliable screening instrument for depression in the older people; still, it is not the gold standard for diagnosing depression (Paradela et al., 2005). On the other hand, we can highlight as strength of this study the significant sample of community-dwelling older women, since previous studies that investigated the effect of exercise on BDNF levels involved small samples.

The present findings have demonstrated the positive effect of muscle strengthening and aerobic intervention on depressive symptoms in community-dwelling elderly. However, BDNF levels did not influence the benefits of exercise on depressive symptoms, as only the muscle strengthening program promoted a significant elevation in BDNF levels. Currently available information related to physical exercise effect on BDNF levels in the elderly suggests a unique pattern of production and release of this neurotrophin when compared to young adults. Moreover, specific modalities of exercise may act through different mechanisms on BDNF during the aging process. Future studies should investigate the acute production of BDNF in response to exercise and which parameters are the most influential for its production in the elderly, such as intensity, volume and duration of intervention.

Acknowledgements:

This work was funded by the Brazilian funding agencies Fapemig and CNPq. Dr. D.S.Pereira was the recipient of a CAPES scholarship during her doctorate.

References

- Alexopoulos, GS, 2005. Depression in the elderly. *Lancet*. 365, 1961-1970.
- Almeida, O.P., Almeida, S.A., 1999. Confiabilidade da versão brasileira da Escala de Depressão em Geriatria, GDS. versão reduzida. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*. 57, 421-426.
- Archer, T., Fredriksson, A., Schutz, E., Kostrzewa, R.M., 2011. Influence of physical exercise on neuroimmunological functioning and health: aging and stress. *Neurotox Res*. 20, 69-83.
- Aydemir, O., Deveci, A., Taskin, O.E., Taneli, F., Esen-Danaci, A., 2007. Serum brain-derived neurotrophic factor level in dysthymia: a comparative study with major depressive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 31, 1023-1026.
- Beavers, K.M., Brinkley, T.E., Nicklas, B.J., 2010. Effect of exercise training on chronic inflammation. *Clin Chim Acta*. 411, 785-793.
- Bertolucci, P.H., Brucki, S.M., Campacci, S.R., Juliano, Y., 1994. O Mini-exame do estado mental em uma população geral: impacto da escolaridade. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*. 52, 1-7.
- Brunoni, A.R., Lopes, M., Fregni, F., 2008. A systematic review and meta-analysis of clinical studies on major depression and BDNF levels: implications for the role of neuroplasticity in depression. *Int J Neuropsychopharmacol*. 11, 1169-1180.
- Bus, B.A.A., Tendolkar, I., Franke, B., Graaf, J., Heijer, M.D., Buitelaar, J.K., Voshaar, R.C.O., 2012. Serum brain-derived neurotrophic factor: Determinants and relationship with depressive symptoms in a community population of middle-aged and elderly people. *World J Biol Psychiatry*. 13, 39-47.
- Carek, P.J., Laibstain, S.E., Carek, S.M., 2011. Exercise for the treatment of depression and anxiety. *Int J Psychiatry Med*. 41, 15-28.

Castellano, V., White, L.J., 2008. Serum brain-derived neurotrophic factor response to aerobic exercise in multiple sclerosis. *J Neurol Sci.* 269, 85-91.

Chodzko-Zajko, W.J., Proctor, D.N., Fiatarone Singh, M.A., Minson, C.T., Nigg, C.R., Salem, G.J., Skinner, J.S., 2009. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and physical activity for older adults. *Med Sci Sports Exerc.* 41, 1510-1530.

Coelho, F.M., Pereira, D.S., Lustosa, L.P., Silva J.P., Dias, J.M., Dias, R.C., Queiroz, B.Z., Teixeira, A.L., Teixeira, M.M., Pereira, L.S., 2011. Physical therapy intervention , PTI, increases plasma brain-derived neurotrophic factor , BDNF levels in non-frail and pre-frail elderly women. *Arch Gerontol Geriatr.* 54, 415-20.

Conn, V.S., 2010. Depressive symptom outcomes of physical activity interventions: meta-analysis findings. *Ann Behav Med.* 39, 128-138.

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

Diniz, B.S., Teixeira, A.L., 2011. Brain-derived neurotrophic factor and Alzheimer's disease: physiopathology and beyond. *Neuromolecular Med.* 13, 217-222.

Diniz, B.S., Teixeira, A.L., Talib, L.L., Mendonca, 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, 550-555.

Donovan, M.J., Lin, M.I., Wiegand, P., Ringstedt, T., Kraemer, R., Hahn, R., Wang, S., Ibanez, C.F., Rafii, S., Hempstead, B.L., 2000. Brain derived neurotrophic factor is an endothelial cell survival factor required for intramyocardial vessel stabilization. *Development.* 127, 4531-4540.

Erickson, K.I., Voss, M.W., Prakash, R.S., Basak, C., Szabo, A., Chaddock, L., Kim, J.S., Heo, S., Alves, H., White, S.M., Wojcicki, T.R., Mailey, E., Vieira, V.J., Martin, S.A., Pence,

- B.D., Woods, J.A., McAuley, E., Kramer, A.F., 2011. Exercise training increases size of hippocampus and improves memory. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 108, 3017-3022.
- 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.
- Folstein, M.F., Folstein, S.E., McHugh, P.R., 1975. Minimental state. A practical method for grading the cognitive status of patients for the clinician. *J Psychiatr Res.* 12, 189-198.
- Forlenza, O.V., Diniz, B.S., Gattaz, W.F., 2010. Diagnosis and biomarkers of predementia in Alzheimer's disease. *BMC Med.* 8, 89.
- Goekint, M., De, P.K., Roelands, B., Njemini, R., Bautmans, I., Mets, T., Meeusen, R., 2010. Strength training does not influence serum brain-derived neurotrophic factor. *Eur J Appl Physiol.* 110, 285-293.
- 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.
- Heikkinen, R.L., Kauppinen, M., 2004. Depressive symptoms in late life: a 10-year follow-up. *Arch Gerontol Geriatr.* 38, 239-250.
- Hu, Y., Russek, S.J., 2008. BDNF and the diseased nervous system: a delicate balance between adaptive and pathological processes of gene regulation. *J Neurochem.* 105, 1-17.
- 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.
- Kerschensteiner, M., Gallmeier, E., Behrens, L., Leal, V.V., Misgeld, T., Klinkert, W.E., Kolbeck, R., Hoppe, E., Oropeza-Wekerle, R.L., Bartke, I., Stadelmann, C., Lassmann, H., Wekerle, H., Hohlfeld, R., 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 Exp Med.* 189, 865-870.

Kerse, N., Hayman, K.J., Moyes, S.A., Peri, K., Robinson, E., Dowell, A., Kolt, G.S., Elley, C.R., Hatcher, S., Kiata, L., Wiles, J., Keeling, S., Parsons, J., Arroll, B., 2010. Home-based activity program for older people with depressive symptoms: DeLLITE--a randomized controlled trial. *Ann Fam Med.* 8, 214-223.

Komulainen, P., Pedersen, M., Hanninen, T., Bruunsgaard, H., Lakka, T.A., Kivipelto, M., Hassinen, M., Rauramaa, T.H., Pedersen, B.K., Rauramaa, R., 2008. BDNF is a novel marker of cognitive function in ageing women: the DR's EXTRA Study. *Neurobiol Learn Mem.* 90, 596-603.

Krabbe, K.S., Mortensen, E.L., Avlund, K., Pedersen, A.N., Pedersen, B.K., Jorgensen, T., Bruunsgaard, H., 2009. Brain-derived neurotrophic factor predicts mortality risk in older women. *J Am Geriatr Soc.* 57, 1447-1452.

Krabbe, K.S., Nielsen, A.R., Krogh-Madsen, R., Plomgaard, P., Rasmussen, P., Erikstrup, C., Fischer, C.P., Lindegaard, B., Petersen, A.M., Taudorf, S., Secher, N.H., Pilegaard, H., Bruunsgaard, H., Pedersen, B.K., 2007. Brain-derived neurotrophic factor, BDNF and type 2 diabetes. *Diabetologia.* 50, 431-438.

Kryger, A.I., Andersen, J.L., 2007. Resistance training in the oldest old: consequences for muscle strength, fiber types, fiber size, and MHC isoforms. *Scand J Med Sci Sports.* 17, 422-430.

Lampinen, P., Heikkinen, E., 2003. Reduced mobility and physical activity as predictors of depressive symptoms among community-dwelling older adults: an eight-year follow-up study. *Aging Clin Exp Res.* 15, 205-211.

Laske, C., Banschbach, S., Stransky, E., Bosch, S., Straten, G., Machann, J., Fritsche, A., Hipp, A., Niess, A., Eschweiler, G.W., 2010. Exercise-induced normalization of decreased BDNF serum concentration in elderly women with remitted major depression. *Int J Neuropsychopharmacol.* 13, 595-602.

Lawlor, D.A., Hopker, S.W., 2001. The effectiveness of exercise as an intervention in the management of depression: systematic review and meta-regression analysis of randomised controlled trials. *BMJ.* 322, 763-767.

Levinger, I., Goodman, C., Matthews, V., Hare, D.L., Jerums, G., Garnham, A., Selig, S., 2008. BDNF, metabolic risk factors, and resistance training in middle-aged individuals. *Med Sci Sports Exerc.* 40, 535-541.

Liu-Ambrose, T., Donaldson, M.G., 2009. Exercise and cognition in older adults: is there a role for resistance training programmes?. *Br J Sports Med.* 43, 25-27.

Lustosa, L.P., Coelho, F.M., Silva, J.P., Pereira, D.S., Parentoni, A.N., Dias, J.M., Dias, R.C., Pereira, L.S., 2010. The effects of a muscle resistance program on the functional capacity, knee extensor muscle strength and plasma levels of IL-6 and TNF-alpha in pre-frail elderly women: a randomized crossover clinical trial--a study protocol. *Trials.* 11, 82.

Martinsen, E.W., 1994. Physical activity and depression: clinical experience. *Acta Psychiatr Scand Suppl.* 377, 23-27.

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., Penkowa, M., Hojman, P., Zankari, A., Watt, M.J., Bruunsgaard, H., Pedersen, B.K., Febbraio, M.A., 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.

Mead, G.E., Morley, W., Campbell, P., Greig, C.A., McMurdo, M., Lawlor, D.A., 2009. Exercise for depression. *Cochrane Database Syst Rev* CD004366.

Murer, M.G., Yan, Q., Raisman-Vozari, R., 2001. Brain-derived neurotrophic factor in the control human brain, and in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Prog Neurobiol.* 63, 71-124.

Nakahashi, T., Fujimura, H., Altar, C.A., Li, J., Kambayashi, J., Tandon, N.N., Sun, B., 2000. Vascular endothelial cells synthesize and secrete brain-derived neurotrophic factor. *FEBS Lett* 470, 113-117.

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.

Paradela, E.M.P., Lourenço, R.A., Veras, R.P., 2005. Validation of geriatric depression scale in a general outpatient clinic. *Revista Saúde Pública.* 39, 918-923.

Pasco, J.A., Williams, L.J., Jacka, F.N., Henry, M.J., Coulson, C.E., Brennan, S.L., Leslie, E., Nicholson, G.C., Kotowicz, M.A., Berk, M., 2011. Habitual physical activity and the risk for depressive and anxiety disorders among older men and women. *Int Psychogeriatr.* 23, 292-298.

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.

Pereira DS, Queiroz BZ, Mateo ECC, Assumpção AM, Felício DC, Miranda AS, Anjos DMC, Jesus-Moraleida F, Dias RC, Pereira DAG, Teixeira AL, Pereira LSM (2012) Interaction between cytokines and BDNF gene polymorphisms and the effect of physical exercise on clinical and inflammatory parameters in the elderly women. *Trials (in press)*

Rasmussen, P., Brassard, P., Adser, H., Pedersen, M.V., Leick, L., Hart, E., Secher, N.H., Pedersen, B.K., Pilegaard, H., 2009. Evidence for a release of brain-derived neurotrophic factor from the brain during exercise. *Exp Physiol.* 94, 1062-1069.

Salmon, P., 2001. Effects of physical exercise on anxiety, depression, and sensitivity to stress: a unifying theory. *Clin Psychol Rev.* 21, 33-61.

Scalzo, P., 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.

Seifert, T., Brassard, P., Wissenberg, M., Rasmussen, P., Nordby, P., Stallknecht, B., Adser, H., Jakobsen, A.H., Pilegaard, H., Nielsen, H.B., Secher, N.H., 2010. Endurance training enhances BDNF release from the human brain. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 298, R372-R377.

Sen, S., Duman, R., Sanacora, G., 2008. Serum brain-derived neurotrophic factor, depression, and antidepressant medications: meta-analyses and implications. *Biol Psychiatry.* 64, 527-532.

Sjosten, N., Kivela, S.L., 2006. The effects of physical exercise on depressive symptoms among the aged: a systematic review. *Int J Geriatr Psychiatry.* 21, 410-418.

Strawbridge, W.J., Deleger, S., Roberts, R.E., Kaplan, G.A., 2002. Physical activity reduces the risk of subsequent depression for older adults. *Am J Epidemiol.* 156, 328-334.

Taylor, W.D., Zuchner, S., McQuoid, D.R., Steffens, D.C., Speer, M.C., Krishnan, K.R., 2007. Allelic differences in the brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism in late-life depression. *Am J Geriatr Psychiatry.* 15, 850-857.

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.

Yesavage, J.A., Brink, T.L., Rose, T.L., Lum, O., Huang, V., Adey, M., 1982. Development and validation of a geriatric depression screening scale: a preliminary report. *J Psychiatr Res.* 17, 37-49.

Zoladz, J.A., Pilc, A., 2010. The effect of physical activity on the brain derived neurotrophic factor: from animal to human studies. *J Physiol Pharmacol.* 61, 533-541.

Table 1: Clinic and sociodemographic data for strengthening and aerobic training groups

Characteristics	SE	AE	p*
Age (year)	71,03 ± 4,8 (70)	70,33 ± 4,5 (69)	0,123
Education (year)	6,12 ± 4,17 (4)	6,71 ± 4,42 (5)	0,144
Mini mental score	26,03 ± 2,97 (27)	25,9 ± 2,71 (27)	0,436
No. of medical conditions	2,63 ± 1,57 (2)	2,65 ± 1,70 (2)	0,775
BMI (Kg/m²)	29,12 ± 4,8 (28,53)	28,97 ± 4,79 (28,22)	0,874
Intake of antidepressants	20%	18%	0,608

SE = Strengthening Exercises; AE = Aerobic Exercises; BMI = Body mass index

Mann Whitney test, $\alpha = 5\%$

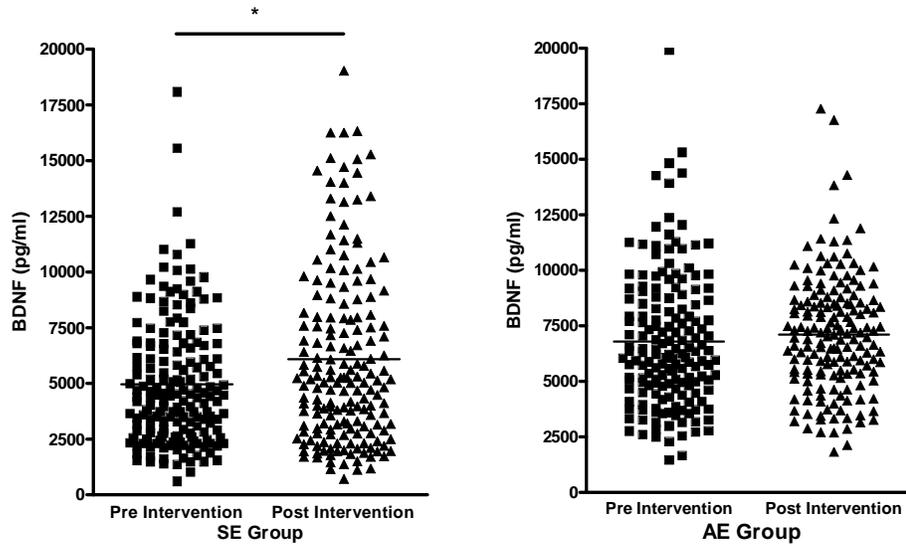
Table 2: GDS scores and classification pre-post intervention for elderly women in strengthening exercise and aerobic exercise groups.

Groups	GDS scores		Depression		p*
	Mean \pm SD		Percentage		
	Pre	Post	Pre	Post	
SE	3,76 ^a \pm 3,04	2,91 ^a \pm 2,56	24%	11,4%	P=0,001*
AE	3,21 ^b \pm 2,71	2,67 ^b \pm 2,40	19,5%	8,2%	P=0,001*

SE = Strengthening Exercises; AE = Aerobic Exercises.

2-way ANOVA. Means sharing the same superscript letter are not significantly different from each other, $\alpha = 5\%$

Figure 1: BDNF levels pre and post SE and AE intervention



SE = Strengthening Exercises; AE = Aerobic Exercises.

Wilcoxon test, * $p=0,008$; $\alpha = 5\%$

5 ARTIGO 3

Título: Efeito dos exercícios de fortalecimento muscular e treinamento aeróbico sobre os níveis dos receptores solúveis do TNF- α e das citocinas IL-6 e IL-10

Autores: Daniele Sirineu Pereira¹; Bárbara Zille de Queiroz¹; Aline Silva Miranda², Diogo Carvalho Felício¹; Alexandra Miranda Assumpção, Natália Pessoa Rocha², Fabianna Jesus-Moraleida¹, Danielle Aparecida Gomes Pereira¹, Antonio Lucio Teixeira², Leani Souza Máximo Pereira¹

Afiliação:

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação, Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil.

² Laboratório de Imunofarmacologia, Departamento de Bioquímica e Imunologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brazil

Autor para correspondência: Daniele Sirineu Pereira

Av. Antônio Carlos, 6627, CEP 31270-901, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. Telephone: +55-31-3409-4783. Fax: +55-31-3409-4781

E-mail: daniele.sirineu@gmail.com

Resumo

A atividade física regular pode atenuar o processo inflamatório crônico decorrente do envelhecimento. No entanto, não há consenso sobre qual a modalidade e parâmetros de exercício que seriam os mais adequados para influenciar os mediadores inflamatórios. O presente estudo comparou o efeito de dois programas de exercícios físicos, fortalecimento muscular e treinamento aeróbico, sobre os níveis plasmáticos dos receptores solúveis do TNF- α , IL-6, IL-10 em idosas da comunidade. Este estudo faz parte de um ensaio clínico (ReBEC:RBR9v9cwf), onde participaram de 451 idosas. Foram realizados dois programas de exercícios físicos: fortalecimento muscular e aeróbico, ambos com duração de dez semanas, totalizando trinta sessões, realizadas três vezes por semana. O programa de fortalecimento muscular diminuiu significativamente os níveis de sTNFR1 e sTNFR2, mas não das citocinas IL-6 ou IL-10. Não foram observadas mudanças significativas nos níveis dos mediadores inflamatórios em resposta ao treinamento aeróbico. Mudanças na composição corporal ou em fatores psicossociais não influenciam o efeito do exercício sobre os mediadores na amostra estudada. Nossos achados têm importante implicação clínica, uma vez que elevadas concentrações de mediadores inflamatórios tem ação deletéria sobre a força muscular e capacidade funcional de idosos.

Palavras-chave: Idosas, citocinas, exercício físico

Introdução

Evidências indicam a presença de um estado inflamatório crônico subliniar com o processo de envelhecimento, caracterizado por um aumento de duas a quatro vezes dos níveis plasmáticos de citocinas inflamatórias, como interleucina(IL)-1, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), IL-6 dentre outras (Franceschi et al., 2000; Grimble, 2003; Krabbe et al., 2004). O mecanismo subjacente ao aumento na produção e na liberação dessas citocinas ainda não é conhecido, mas diferentes fatores parecem estar relacionados, como a presença de doenças crônicas, diminuição da produção de esteróides sexuais, aumento do tecido adiposo (Kiecolt-Glaser et al., 2003; Krabbe et al., 2004; Zhu et al., 2009). A presença de estresse psicológico e depressão também está associada às alterações nas concentrações de mediadores inflamatórios, indicando uma relação entre os sistemas imunológico e neuroendócrino (Bremer et al., 2008; Gouin et al., 2008).

Estudos, transversais e prospectivos, apontam uma associação entre as concentrações aumentadas de TNF- α e IL-6 e o comprometimento da função muscular e capacidade funcional, perda da independência e aumento da mortalidade em idosos (Brinkley et al., 2009; Cesari et al., 2004; Oliveira et al., 2008; Tiainen et al., 2010). O mecanismo pelo qual essas citocinas contribuem para o declínio funcional em idosos ainda permanece incerto, mas parece estar relacionado ao seu efeito catabólico, com a redução da massa e força musculares, e consequente sarcopenia (Brinkley et al., 2009; Roubenoff, 2007).

A atividade física regular tem sido inversamente associada às concentrações de citocinas inflamatórias. O exercício físico regular altera o perfil inflamatório no músculo e em níveis sistêmicos (Beavers et al., 2010; Greiwe et al., 2001; Petersen and Pedersen, 2005). Durante o exercício físico, em consequência direta da contração muscular, há produção de IL-6, cuja liberação é acompanhada pela produção das citocinas anti-inflamatórias, promovendo a inibição sistêmica da ação do TNF- α e outras citocinas inflamatórias (Petersen and

Pedersen, 2005). Outro mecanismo pelo qual o exercício poderia reduzir os mediadores inflamatórios seria por seu efeito na gordura e peso corporal, uma vez que o tecido adiposo tem sido apontado como uma importante fonte de produção de citocinas, especialmente TNF- α (Kershaw and Flier, 2004; Mohamed-Ali et al., 1997). Neste contexto, o exercício aeróbico poderia ser mais efetivo para a redução dos mediadores inflamatórios por seus efeitos sobre a gordura corporal quando comparado aos exercícios resistidos (Kohut et al., 2006; Oberbach et al., 2008).

Embora os benefícios da atividade física sobre o processo inflamatório crônico venham sendo pesquisados na população idosa, a maioria dos dados existentes sobre perfil inflamatório em resposta ao treinamento é resultante de protocolos que utilizam a combinação de várias modalidades de exercício (Kohut et al., 2006; Lambert et al., 2008; Nicklas et al., 2008). Existem poucos dados sobre a influência de cada tipo específico de exercício sobre os mediadores inflamatórios. Além disso, os parâmetros adequados para a prescrição dos exercícios físicos para regulação das citocinas em indivíduos idosos, como intensidade, frequência e duração dos programas de treinamento, ainda não foram estabelecidos. Assim, a proposta do presente estudo foi comparar o efeito de dois tipos de programas de exercícios físicos, fortalecimento muscular e treinamento aeróbico, sobre os níveis plasmáticos de IL-6, IL-10 e dos receptores solúveis do TNF- α em idosos da comunidade, uma vez que estes são apontados como marcadores mais confiáveis da atividade do TNF- α (Aderka et al., 1992; Coelho et al., 2008).

Materiais e métodos:

O presente estudo faz parte de um ensaio clínico, registrado no Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos (ReBEC: RBR9v9cwf), cujo objetivo foi investigar a interação entre

polimorfismos de citocinas e o efeito do exercício físico em parâmetros inflamatórios e clínicos em idosas.

O protocolo e métodos do estudo foram descritos em detalhes anteriormente (Pereira, et al. 2012 *In Press*). Trata-se de um ensaio clínico com uma amostra de 451 idosas residentes na comunidade. Foram incluídas mulheres com 65 anos ou mais, residentes na comunidade e sedentárias. Foram consideradas sedentárias aquelas que não realizaram atividade física regular, três vezes por semana, por no mínimo 40 minutos, nos três meses anteriores ao recrutamento. Os critérios de exclusão foram: idosas com alterações cognitivas detectáveis pelo Mini-exame do Estado Mental (Bertolucci et al., 1994; Folstein et al., 1975), doença inflamatória ou infecciosa em fase aguda; neoplasia nos últimos 5 anos; uso de drogas imunossupressoras; amputações nos membros inferiores; cirurgias ou fraturas nos membros inferiores nos últimos seis meses; presença de doenças ou sequelas neurológicas; participação em outros programas de atividade física.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da UFMG (ETIC 038/2010) e todas as voluntárias assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido concordando em participar do estudo, de acordo com os princípios da declaração de Helsinki (1969).

Níveis plasmáticos de sTNFR1, sTNFR2, IL-6 e IL-10

Foram coletados 5 ml de sangue da veia ulnar dos participantes, em vacutainers com citrato, em ambiente estéril, por profissional qualificado. A coleta do sangue foi realizada entre 8 e 10h da manhã para minimizar possíveis efeitos de mudanças circadianas. Os tubos vacutainers foram centrifugados em Centrífuga Fanem, em 1500 rpm, por 15 minutos e o plasma removido em ambiente estéril e estocado em tubos eppendorfs em freezer a -80°C. A análise das concentrações plasmáticas das citocinas foi realizada pelo método de ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*), sendo usado o kit DuoSet ELISA (R&D Systems,

Minnesota, MN) para os sTNFR1 e sTNFR2 e kits de alta sensibilidade (Quantikine®HS, R&D Systems Minneapolis) para a IL-6 e IL-10. A coleta de sangue foi realizada em repouso antes (48 horas após a realização dos testes físicos) e após o programa de treinamento (no mínimo 72 horas após a última sessão de exercício). Os limites de detecção dos ensaios de sTNFRs, IL-6 e IL-10 foram, respectivamente, 5 pg/ml, 0,15 pg/ml e 0,75 pg/ml.

Outras medidas

Para caracterização da amostra, os dados sócio-demográficos e as informações relativas às condições clínicas das idosas foram obtidos por meio de um questionário estruturado, elaborado e aplicado por meio de entrevista, por pesquisadores treinados.

Foram verificadas as medidas antropométricas índice de massa corporal IMC (Kg/m^2), expresso pela relação entre a massa corporal em kg e estatura em metros, e a circunferência de cintura (CC), menor curvatura no nível da cicatriz umbilical (Hans et al., 1995).

Fatores psicossociais, como níveis de estresse e sintomas depressivos, são associados alterações nos níveis de mediadores inflamatórios (Gouin et al., 2008). A presença de sintomas depressivos e níveis de estresse percebido foram avaliados na amostra para verificar se mudanças nessas variáveis influenciaram os efeitos do exercício sobre as citocinas. A Escala de Depressão Geriátrica (GDS) foi usada para o rastreamento de transtornos depressivos no *baseline* e após o programa de exercício físico (Almeida and Almeida, 1999; Yesavage et al., 1982). Esta escala tem sido amplamente usada na população geriátrica, apresentando medidas psicométricas válidas e confiáveis. Foi usada a versão GDS traduzida e adaptada para a população brasileira, com 15 itens de resposta dicotômicas (sim/não) e adotados os pontos de corte 5/6 (não caso/caso) (Almeida and Almeida, 1999).

O nível de estresse foi avaliado pela a Escala Estresse Percebido (Luft et al., 2007). Esta escala, constituída por 14 itens, avalia três fatores considerados como componentes centrais na experiência de estresse: o quanto o indivíduo avalia sua vida como imprevisível, incontrolável e sobrecarregada. O instrumento aborda a experiência de estresse de forma global, independente de agentes ou eventos estressores específicos, o que confere uma característica multicultural a escala. Foi utilizada a versão validada para a população idosa brasileira (consistência interna, $r=0,82$) e validade de constructo (Luft et al., 2007).

Intervenção

As idosas foram divididas em dois grupos: GF - programa de exercício de fortalecimento muscular e GA - programa de treinamento aeróbico. Ambos os protocolos apresentaram uma duração de dez semanas, totalizando trinta sessões, realizadas três vezes por semana, sob supervisão direta de fisioterapeutas. Durante o período de treinamento as voluntárias foram orientadas a manter suas atividades habituais e não iniciar outros programas de exercício físico.

Treinamento de Força Muscular: A sessão de exercícios foi composta por dez minutos iniciais de caminhada, seguidos por alongamentos para os músculos: reto femoral e psoas, ísquiossurais e tríceps sural. Foram então realizados os exercícios de fortalecimento muscular: flexão, abdução, adução e extensão de quadril, flexão e extensão de joelhos e mini-agachamento. A carga, individualizada à cada participante, foi definida por meio do cálculo de uma resistência máxima (RM). As participantes iniciaram os exercícios com 50% da RM; após duas semanas (7^a sessão) a carga foi reajustada para 75% da RM inicial. Na 13^a e 22^a sessões a RM foi recalculada, sendo os exercícios realizados com 75% dessa nova RM (Lustosa et al., 2010). Medidas de pressão arterial e frequência cardíaca foram realizadas no início e ao final de cada sessão de exercícios.

Treino aeróbico: O protocolo de exercícios aeróbicos consistiu de cinco minutos de aquecimento (warm up), 40 minutos de atividade aeróbica, que incluiu caminhada e exercícios livres de membros superiores e inferiores, e cinco minutos de recuperação (cool down) como preconizado pelo American College of Sports Medicine (Chodzko-Zajko et al., 2009). No período de aquecimento e recuperação a frequência cardíaca foi mantida em até 60% da frequência cardíaca máxima prevista para a idade (FC_{máx}) e durante a atividade aeróbica foi mantida entre 65% a 80% da frequência cardíaca máxima. Para garantir a manutenção da FC na faixa de treinamento adequada, as participantes foram monitoradas por meio de aparelhos cardio-frequencímetros. Medidas de pressão arterial e frequência cardíaca foram realizadas no início e ao final de cada sessão de exercícios.

Força Muscular e Capacidade Aeróbica

Considerando a especificidade de treinamento, para avaliar a resposta aos programas de exercício foram definidas como variável desfecho para o GF a força muscular de membros inferiores, avaliada pelo dinamômetro isocinético (Drouin et al., 2004; Perrin, 1993) e para o GA a distância percorrida no Teste de Caminhada de Seis Minutos (TC6M) (Enright, 2003; Solway et al., 2001).

A força muscular de extensores e flexores de joelho do membro dominante foi mensurada pelo dinamômetro isocinético *Biodex System 3 Pro*[®] (*Biodex Medical Systems Inc., Shirley, NY, USA*), que permite a obtenção de medidas objetivas, confiáveis e válidas dos parâmetros físico da função muscular humana, caracterizando o método mais acurado disponível para medidas de desempenho muscular (Drouin et al., 2004; Perrin, 1993). Foram obtidas, por meio de contrações concêntricas, as variáveis trabalho normalizado pela massa corporal (%) na velocidade angular de 60°/s, com cinco repetições, e potência na velocidade angular de 180°/s, com 15 repetições. Todos os cuidados e ações do protocolo de avaliação

sugerido pelo fabricante, como posicionamento da voluntária, calibração, correção pela gravidade, familiarização e incentivo verbal vigoroso foram observados (Perrin, 1993).

O TC6M é um teste submáximo de *endurance*, que tem como objetivo avaliar a capacidade aeróbica para a prática de esportes e outras atividades e também avaliar programas terapêuticos e de reabilitação. Esse teste tem boa correlação com o VO_2 (consumo de oxigênio máximo), é facilmente aplicado, além de refletir atividades rotineiras (Enright, 2003; Solway et al., 2001).

Análise Estatística

As análises estatísticas foram processadas no programa *Statistical Package for Social Sciences*, versão 17.0.1. (SPSS Inc., Chicago, IL). Um alpha igual a 5% foi considerado para significância estatística de todas as análises.

Estatística descritiva, utilizando medidas de tendência central (média e mediana) e de variabilidade (amplitude e desvio padrão), foi realizada para a caracterização da amostra. A normalidade dos dados foi verificada por meio do teste *Kolmogorov-Smirnov*, os quais não apresentaram distribuição normal. As comparações entre os grupos GF e GA no *baseline* foram realizadas pelo teste não paramétrico *Mann Whitney*.

A análise de variância 2 X 2 (ANOVA two-way) foi usada para investigar as o efeito do treinamento nas mudanças nos níveis plasmáticos das citocinas decorrentes do treinamento e identificar interações intervenção x treinamento. A mudança no IMC e CC pré e pós intervenção foram incluídas nas análises como co-variáveis para verificar se alterações na composição corporal contribuíram para os efeitos do exercício sobre os mediadores inflamatórios. Foram usados como *post hoc* os testes de *Wilcoxon* e *Mann Whitney*. A diferença entre os valores pós-intervenção e baseline (delta) foi usado nas análises *post hoc* para evitar a influência de possíveis diferenças existentes entre os grupos no baseline.

Análise de regressão linear (*stepwise*) foi proposta para investigar o potencial efeito mediador dos fatores psicológicos nas mudanças induzidas pelo exercício nas citocinas. Essas análises foram usadas apenas para as variáveis inflamatórias e psicológicas que apresentaram mudança significativa com o treinamento.

As mudanças na força muscular e distância percorrida no TC6M após o treinamento foram verificadas pelo teste t pareado, nos grupos GF e GA, respectivamente.

Resultados

Cumpriram os critérios de inclusão do estudo 451 idosas residentes na comunidade, sendo 229 idosas alocadas para o GF e 222 para o GA, sendo a taxa de perda de 21,3% para o GF e 25% para o GA. Durante a realização do estudo, duas idosas foram excluídas do GA devido ao diagnóstico de câncer.

A caracterização da amostra é apresentada na tabela 1. As comorbidades mais frequentes foram hipertensão arterial sistêmica (69%), osteoartrite (39,6%), diabetes mellitus (20,5%), não existindo diferenças significativas entre os grupos ($p > 0,05$).

Em relação aos níveis plasmáticos de sTNFR-1 houve uma diferença significativa pré e pós treinamento $F(2, 345) = 4,58, p = 0,033$, assim como entre os grupos GF e GA $F(2, 345) = 7,46, p = 0,007$. A análise *post hoc* identificou diferença nos níveis de sTNFR1 antes e após o treinamento apenas para o GF ($p=0,001$), mas não para o GA ($p=0,499$). Resultados semelhantes foram observados para o sTNFR-2 (Tabela 2).

Após as 10 semanas de treinamento, seja para o programa de fortalecimento muscular ou aeróbico, não foi observada mudança significativa nos níveis de IL-6 ($F(2, 345) = 0,96, p = 0,326$), não sendo observada diferença significativa nas concentrações dessa citocina entre os grupos ($F(2, 345) = 1,87, p = 0,172$). Quanto a IL-10, foram verificados resultados semelhantes. Não houve diferença significativa pré e pós treinamento nas concentrações de

IL-10, tanto para o grupo GF quanto para o GA ($F(2, 345) = 3,62, p = 0,058$). Não foi observada diferença nas suas dosagens da IL-10 entre os grupos de exercício ($F(2, 345) = 0,038, p = 0,845$).

Houve uma diferença significativa no IMC $F(2, 345) = 22,91, p = 0,001$ antes e após o programa de exercício para o GF ($p=0,035$) e o GA ($p=0,001$), não sendo encontrada diferença significativa entre os grupos ($p=0,068$). Entretanto, a inclusão dessa variável na análise de variância não alterou a significância estatística para nenhuma das citocinas analisadas. Não foram observadas alterações significativas nas medidas de CC com o treinamento, seja para o GF ou GA.

Houve uma diferença significativa antes e após o treinamento para os escores na GDS $F(2, 345) = 38,18, p = 0,001$ e a escala EEP $F(2, 345) = 18,45, p=0,001$, para ambos os grupos, demonstrado um efeito benéfico do exercício sobre essas variáveis. Porém não foi observada diferença significativa entre os programas de exercício, demonstrando semelhança dos efeitos dos protocolos de exercícios sobre os sintomas depressivos $F(2, 345) = 1,76, p = 0,185$ e estresse percebido $F(2, 345) = 0,046, p = 0,830$.

Apenas alterações no estresse percebido apresentaram correlação significativa e inversa com a redução observada nas concentrações do sTNFR1 no grupo GF. Contudo, no modelo de regressão essa variável explicou apenas 2,9% ($p=0,024$) da variabilidade do sTNFR1 após o treinamento. Esses resultados demonstram que a diminuição das concentrações do sTNFR1 possivelmente não foi mediada por melhora de fatores estressantes. Não foi observada correlação entre as mudanças nos níveis de sTNFR2 e as alterações nos escores da GDS ($p=0,878$) ou da EEP e ($p=0,613$).

Foi observado um aumento significativo nas variáveis trabalho normalizado pela massa corporal na velocidade angular de $60^\circ/s$, potência na velocidade angular de $180^\circ/s$ após o treinamento de fortalecimento muscular, tanto para extensores quanto para flexores de

joelho ($p=0,001$) (Figura 1). Resultados positivos foram encontrados em relação ao treinamento aeróbico, com aumento da distância percorrida no TC6M ($p=0,001$) Figura 2.

Discussão

Dez semanas de treinamento de fortalecimento muscular de intensidade moderada, para membros inferiores, diminuiu significativamente as concentrações plasmáticas dos receptores solúveis do TNF- α . Embora tenha ocorrido melhora significativa nos sintomas depressivos, no estresse percebido e alterações positivas na composição corporal, esses fatores não influenciaram as mudanças nos níveis dos mediadores inflamatórios observadas em resposta ao treinamento de fortalecimento muscular. Mudanças significativas nos níveis das citocinas não foram observadas em resposta ao treinamento aeróbico, apesar da melhora significativa da capacidade aeróbica das idosas.

Em relação ao efeito do exercício de fortalecimento muscular, resultados semelhantes foram encontrados por outros estudos que verificaram um efeito anti-inflamatório desse tipo de exercício na população idosa (Greiwe et al., 2001; Kohut et al., 2006; Phillips et al., 2010). Por exemplo, Greiwe *et al.* (2001) verificaram uma diminuição significativa de 34% na produção de TNF- α e 46% RNAm de TNF- α no músculo de idosas frágeis (média de idade de 82 anos) após 12 semanas de fortalecimento muscular, além de um aumento de 83% na taxa de síntese de proteína muscular após o treinamento. Em concordância com esses resultados, em estudo de Phillips *et al.* (2010), em idosas híginas da comunidade (média de idade de $71,1 \pm 6,2$ anos), foi demonstrada uma diminuição significativa nos níveis plasmáticos de TNF- α , após 10 semanas de um programa de fortalecimento muscular global de moderada a alta intensidade (70 a 80% de 1RM).

Níveis aumentados de TNF- α estão relacionados à sarcopenia, ao aumento de incapacidade e mortalidade em indivíduos idosos (Reid and Li, 2001; Tiainen et al., 2010;

Visser et al., 2002). O TNF- α é considerado um mediador “precoce” do processo inflamatório por iniciar e coordenar a resposta de fase aguda e induzir uma segunda onda de citocinas da cascata inflamatória, como IL-6, IL-8 (Makhatadze, 1998). Estimula também a produção de receptores solúveis (sTNFR), que agem como seus inibidores naturais, regulando sua função biológica. Estudos demonstraram que por serem moléculas mais estáveis na circulação, os receptores solúveis constituem marcadores mais confiáveis da atividade do TNF- α e, portanto, da resposta inflamatória (Aderka et al., 1992; Coelho et al., 2008). No presente estudo, a diminuição das concentrações de sTNFR1 e sTNFR2, após o treinamento de fortalecimento muscular, sugere uma ação positiva do exercício de fortalecimento sobre o processo inflamatório crônico em idosos, contribuindo para a melhora da força muscular. Além disso, foi observado um aumento significativo nas variáveis trabalho normalizado pela massa corporal (velocidade angular de 60°/s) e potência (velocidade angular de 180°/s) após o treinamento de fortalecimento muscular, tanto para extensores quanto para flexores de joelho, demonstrando a efetividade do programa proposto.

Ao mensurarmos os níveis de IL-6 não foram detectadas alterações significativas em suas concentrações após o treinamento de força muscular. Evidências consistentes demonstram um aumento nas concentrações plasmáticas de IL-6 em resposta a contração muscular, durante e logo após o exercício (Petersen and Pedersen, 2005; Steensberg et al., 2000). A IL-6 produzida pelo músculo pode atuar no metabolismo corporal, estimulando a lipólise, oxidação lipídica e disponibilidade de glicose no músculo, além de promover a liberação de citocinas com propriedades anti-inflamatórias (Pedersen et al., 2001). Phillips *et al.* (2010) investigaram o efeito de 10 semanas de exercício de fortalecimento sobre as citocinas TNF- α , IL-6 e IL-1 β . Em relação aos efeitos crônicos do exercício sobre as concentrações plasmáticas em repouso, foi demonstrada uma redução significativa nos níveis plasmáticos de TNF- α , mas não de IL-6, o que corrobora nosso trabalho. No entanto, esses

autores ao avaliarem a produção de IL-6 em resposta a uma única sessão de exercício, foi observado, antes do período de treinamento, um aumento de 75% dos níveis plasmáticos dessa citocina imediatamente após o exercício (Phillips et al., 2010). Após a realização do programa de fortalecimento muscular, houve um aumento de apenas 34%, sugerindo potenciais adaptações ao treinamento, com diminuição do processo inflamatório, apesar de não terem sido observadas mudanças significativas nas dosagens de IL-6 em repouso (Phillips et al., 2010). Em estudo de outro grupo não foi encontrada diferença na produção de IL-6 induzida pelo exercício após 6 semanas de treinamento de força muscular em idosos (Bautmans et al., 2005). No presente estudo, as concentrações dos mediadores inflamatórios em resposta aguda aos programas de exercício não foi avaliada.

Na amostra estudada, não foram observadas alterações dos níveis dos mediadores inflamatórios em resposta ao treinamento aeróbico. Nossos resultados se contrapõem aos achados de Kohut *et al.* (2006). Esses autores, ao investigarem o efeito do exercício aeróbico e de um programa combinando exercícios de fortalecimento, flexibilidade e equilíbrio sobre as dosagens de TNF- α , IL-6, IL-8 e PCR, constataram que após 10 meses de treinamento, houve uma redução significativa de todos os mediadores avaliados no grupo aeróbico, enquanto no outro grupo de exercício houve redução apenas dos níveis de TNF- α .

Os achados conflitantes entre os dois estudos podem ser explicados pelas diferenças na duração e na intensidade do treinamento. Os participantes no estudo de Kohut *et al.* (2006) foram submetidas a um treinamento por 10 meses, comparado a 10 semanas no presente estudo, que pode não ter sido suficiente para promover mudanças significativas nas concentrações das citocinas, apesar da melhora significativa da capacidade aeróbica. Outro aspecto relevante a ser destacado é a intensidade do treinamento. No presente estudo, o programa de fortalecimento foi específico para aumento da força muscular de membros inferiores, utilizando carga individualizada e progressiva a cada participante, durante todo o

treinamento. Já em estudo de Kohut *et al.*(2006), o programa foi composto por exercícios resistidos, de flexibilidade e equilíbrio, sem a progressão de carga. Dessa forma, o protocolo usado por esses autores foi consideravelmente menos vigoroso em relação àquele usado em nosso estudo. Além disso, é importante considerarmos diferenças entre as amostras estudadas. Embora similares em relação à idade e parâmetros clínicos, como comorbidades, IMC, sintomas depressivos, as participantes estudo de Kohut *et al.*(2006) apresentaram níveis mais elevados de IL-6 (> 4,5 pg/ml) no baseline, quando comparados àqueles observados no presente estudo (2,16 pg/ml), o que também pode contribuir para as divergências observadas nos resultados em relação ao efeito do exercício sobre a IL-6.

Quanto aos efeitos do treinamento de força muscular e aeróbico, é importante considerarmos também os mecanismos pelos quais cada tipo de exercício atua sobre a produção de citocinas. De acordo com Petersen *et al.* (2005), durante o exercício físico, o aumento dos níveis de IL-6 está relacionado não apenas a intensidade e duração da atividade muscular, mas também à massa muscular recrutada. Nesse aspecto, o exercício de fortalecimento, com carga progressiva pode, não só recrutar maiores volumes de massa muscular, como também promover a hipertrofia muscular (Kryger and Andersen, 2007), gerando conseqüente diminuição do processo inflamatório crônico, em menores períodos de tempo.

A IL-10 é essencial para o controle e resolução do processo inflamatório (Moore, 2001), tendo efeito supressor de citocinas pró-inflamatórias, incluindo TNF- α e IL-6. Estudos sugerem que a IL-10 apresenta-se elevada em idosos saudáveis (Jankord and Jemiolo, 2004; Uyemura et al., 2002), mas declinam em idosos frágeis (Uyemura et al., 2002). A prática regular de atividade física parece exercer efeitos favoráveis sobre as dosagens dessa citocina. Idosos fisicamente ativos (atividades aeróbicas 5 vezes/semana) apresentaram níveis mais elevados de IL-10 e menores de IL-6 quando comparados a idosos pouco ativos (Jankord and

Jemiolo, 2004). No entanto, o impacto do exercício físico sobre a produção de IL-10 tem sido pouco investigado, especialmente em idosos. Na amostra pesquisada, não foram verificadas alterações significativas nas concentrações de IL-10 após o treinamento de força muscular ou aeróbico. Em linha com o nosso estudo, Bautmans *et al.*(2005), ao avaliarem o efeito de um programa de exercícios resistidos de 6 semanas em idosos comunitários (média de idade 68,4 \pm 5,4 anos), não verificaram alterações significativas nos níveis circulantes de IL-10 após o treinamento. Mais uma vez, o período de duração do treinamento deve ser considerado para a obtenção de adaptações significativas das citocinas em resposta ao exercício.

O tecido adiposo é uma das principais fontes de TNF- α e IL-6 (Kershaw and Flier, 2004; Makhatadze, 1998; Mohamed-Ali et al., 1997), sendo demonstrada uma associação entre medidas antropométricas e níveis de TNF- α , IL-6, além de outras adipocinas (Colbert et al., 2004; Nicklas et al., 2005; Perry et al., 2008). No presente estudo, após o treinamento, houve uma diminuição significativa do IMC para ambos os grupos, enquanto para CC não foram observadas mudanças significativas. A mudança no IMC não influenciou o efeito do treinamento sobre os mediadores, indicando que na amostra estudada, as alterações na composição corporal possivelmente não contribuíram para as mudanças observadas na diminuição do processo inflamatório, confirmando achados de estudos anteriores (Kohut et al., 2006; Oberbach et al., 2008).

Fatores psicossociais como estresse (Gouin et al., 2008; Sjögren et al., 2006) e depressão (Bremmer et al., 2008; Penninx et al., 2003), são associados a elevados níveis de mediadores inflamatórios. Uma vez que há ação benéfica da atividade física sobre tais fatores, a mudança nos níveis das citocinas em resposta ao exercício pode, em parte, ser relacionada a alterações nessas variáveis. No presente estudo, foi observada melhora significativa tanto nos sintomas depressivos, quanto no nível de estresse percebido das idosas de ambos os grupos de treinamento. Todavia, nossos resultados indicaram que alterações nesses fatores psicológicos

não influenciaram o efeito do exercício sobre os níveis de sTNFR1 ou sTNFR2. Esses achados estão em concordância com estudo de Kohut et al.(2006) que verificaram que sintomas depressivos, estresse, percepção de suporte social e senso de coerência não influenciaram a ação do exercício físico sobre a produção de marcadores inflamatórios (Kohut et al., 2006). Na amostra estudada não houve correlação entre sintomas depressivos e os níveis de sTNFR1 e sTNFR2.

Algumas limitações desse estudo devem ser consideradas. O fato de a amostra ser constituída apenas de mulheres restringe a generalização dos resultados para a população idosa, limitando a validade externa. Além disso, fatores que podem afetar a produção de mediadores inflamatórios, como dieta e doenças subclínicas não foram controlados. A produção das citocinas em resposta aguda ao exercício não foi avaliada, limitando as interpretações sobre o comportamento na liberação de citocinas no idoso. Porém, outras características do estudo destacam a relevância dos resultados observados, como a amostragem significativa e a aplicação de protocolos de tipos específicos de exercícios. A maioria dos estudos prévios envolve amostras reduzidas e utilizam programas de intervenção com a combinação de diferentes tipos de exercício, o que impede distinguir qual tipo de exercício apresenta maior benefício sobre o processo inflamatório crônico.

Os resultados do presente estudo demonstraram que o exercício de fortalecimento muscular de moderada intensidade, três vezes por semana, promoveu a redução dos níveis de sTNFR1 e sTNFR2, após um período de treinamento de 10 semanas, contribuindo para a redução do processo inflamatório crônico em idosas. Entretanto, mudanças nos níveis das citocinas não foram observadas no grupo de treinamento aeróbico. Mudanças na composição corporal, assim como em fatores psicossociais não influenciaram o efeito do exercício sobre os mediadores inflamatórios na amostra estudada. Nossos achados têm importante implicação clínica, uma vez que elevadas concentrações de mediadores inflamatórios tem ação deletéria

sobre a força muscular e capacidade funcional de idosos. Futuros estudos devem ser realizados no intuito de determinar qual o período mínimo para obtenção de resultados benéficos do exercício físico sobre os mediadores inflamatórios na população idosa.

Agradecimentos:

Este trabalho recebeu financiamento das agências FAPEMIG e CNPq. D.S. Pereira foi bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) durante o doutorado.

Referências

- Aderka D, Engelmann H, Shemer-Avni Y, Hornik V, Galil A, Sarov B, Wallach D (1992) Variation in serum levels of the soluble TNF receptors among healthy individuals. *Lymphokine Cytokine Res* 11(3):157-159
- Almeida OP, Almeida SA (1999) Confiabilidade da versão brasileira da Escala de Depressão em Geriatria (GDS) versão reduzida. *Arq Neuropsiquiatr*. 57(2B):421-426
- Bauer ME, Jeckel CM, Luz C (2009) The role of stress factors during aging of the immune system. *Ann N Y Acad Sci* 1153:139-152
- Bautmans I, Njemini R, Vasseur S, Chabert H, Moens L, Demanet C, Mets T (2005) Biochemical changes in response to intensive resistance exercise training in the elderly. *Gerontology* 51(4):253-265
- Beavers KM, Brinkley TE, Nicklas BJ (2010) Effect of exercise training on chronic inflammation. *Clin Chim Acta* 411(11-12):785-793
- Bertolucci PH, Brucki SM, Campacci SR, Juliano Y (1994) O Mini-exame do estado mental em uma população geral: impacto da escolaridade. *Arq Neuropsiquiatr*. 52(1):1-7
- Bremmer MA, Beekman AT, Deeg DJ, Penninx BW, Dik MG, Hack CE, Hoogendijk WJ (2008) Inflammatory markers in late-life depression: results from a population-based study. *J Affect Disord* 106(3):249-255
- Brinkley TE, Leng X, Miller ME, Kitzman DW, Pahor M, Berry MJ, Marsh AP, Kritchevsky SB, Nicklas BJ (2009) Chronic inflammation is associated with low physical function in older adults across multiple comorbidities. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 64(4):455-461
- Cesari M, Penninx BWJH, Pahor M, Lauretani F, Corsi AM, Williams GR, Guralnik JM, Ferrucci L (2004) Inflammatory Markers and Physical Performance in Older Persons: The InCHIANTI Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 59A(3):242-248

Chodzko-Zajko WJ, Proctor DN, Fiatarone Singh MA, Minson CT, Nigg CR, Salem GJ, Skinner J S (2009) American College of Sports Medicine position stand. Exercise and physical activity for older adults. *Med Sci Sports Exerc* 41(7):1510-1530

Coelho FM, Reis HJ, Nicolato R, Romano-Silva MA, Teixeira MM, Bauer ME, Teixeira AL (2008) Increased serum levels of inflammatory markers in chronic institutionalized patients with schizophrenia. *Neuroimmunomodulation* 15(2):140-144

Colbert LH, Visser M, Simonsick EM, Tracy RP, Newman Ab, Kritchevsky SB, Pahor M, Taaffe DR, Brach J, Rubin S (2004) Physical Activity, Exercise, and Inflammatory Markers in Older Adults: Findings from The Health, Aging and Body Composition Study. *J Am Geriatr Soc.* 52(7):1098-1104

Drouin JM, Valovich-mcLeod TC, Shultz SJ, Gansneder BM, Perrin DH (2004) Reliability and validity of the Biodex system 3 pro isokinetic dynamometer velocity, torque and position measurements. *Eur J Appl Physiol.* 91(1):22-29

Enright PL (2003) The six-minute walk test. *Respir Care* 48(8):783-785

Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR (1975) Minimal state. A practical method for grading the cognitive status of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 12:189-198

Franceschi C, Bonafè M, Valensin S, Olivieri F, De Luca M, Ottaviani E, Benedictis G (2000) Inflamm-aging. *Ann N Y Acad Sci.* 908:244-254

Gouin JP, Hantsoo L, Kiecolt-Glaser JK (2008) Immune dysregulation and chronic stress among older adults: a review. *Neuroimmunomodulation* 15(4-6):251-259

Greiwe JS, Cheng B, Rubin DC, Yarasheski KE, Semenkovich CF (2001) Resistance exercise decreases skeletal muscle tumor necrosis factor α in frail elderly humans. *FASEB Journal* 15:475-482

Grimble RF. Inflammatory response in the elderly (2003) *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 6:21-29

Hans TS, Van Leer EM, Seidell JC (1995) Waist circumference action levels in the identification of cardiovascular risk factors: prevalence study in a random sample. *Br Med J* 311:1401-1405

Jankord R, Jemiolo B (2004) Influence of physical activity on serum IL-6 and IL-10 levels in healthy older men. *Med Sci Sports Exerc* 36(6):960-964

Kershaw EE, Flier JS (2004) Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab* 89(6):2548-2556

Kiecolt-Glaser JK, Preacher KJ, MacCallum RC, Atkinson C, Malarkey WB, Glaser R (2003) Chronic stress and age-related increases in the proinflammatory cytokine IL-6. *PNAS* 100(15):9090-9095

Kohut ML, McCann DA, Russell DW, Konopka DN, Cunnick JE, Franke WD, Castillo MC, Reighard AE, Vanderah E (2006) Aerobic exercise, but not flexibility/resistance exercise, reduces serum IL-18, CRP, and IL-6 independent of β -blockers, BMI, and psychosocial factors in older adults. *Brain Behav Immun.* 20:201-209

Krabbe KS, Perderson M, Bruunsgaard H (2004) Inflammatory mediators in the elderly. *Exp Gerontol.* 39(5):687-699

Kryger AI, Andersen JL (2007) Resistance training in the oldest old: consequences for muscle strength, fiber types, fiber size, and MHC isoforms. *Scand J Med Sci Sports.* 17:422-430

Lambert CP, Wright NR, Finck BN, Villareal DT (2008) Exercise but not diet-induced weight loss decreases skeletal muscle inflammatory gene expression in frail obese elderly persons. *J Appl Physiol* 105(2):473-478

Luft CD, Sanches SO, Mazo GZ, Andrade A (2007) Brazilian version of the Perceived Stress Scale: translation and validation for the elderly. *Rev Saude Publica* 41(4):606-615

Lustosa LP, Coelho FM, Silva JP, Pereira DS, Parentoni AN, Dias JM, Dias RC, Pereira LS (2010) The effects of a muscle resistance program on the functional capacity, knee extensor muscle strength and plasma levels of IL-6 and TNF-alpha in pre-frail elderly women: a randomized crossover clinical trial--a study protocol. *Trials* 11:82

Makhatadze NJ (1998) Tumor necrosis factor locus: genetic organisation and biological implications. *Hum Immunol* 59(9):571-579

Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, Miles JM, Yudkin JS, Klein S, Coppack SW (1997) Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo. *J Clin Endocrinol Metab.* 82:4196-4200

Nicklas BJ, Hsu FC, Brinkley TJ, Church T, Goodpaster BH, Kritchevsky SB, Pahor M (2008) Exercise training and plasma C-reactive protein and interleukin-6 in elderly people. *J Am Geriatr Soc* 56(11):2045-2052

Nicklas BJ, Mychaleckyj J, Kritchevsky S, Palla S, Lange LA, Lange EM, Messier SP, Bowden D, Pahor M (2005) Physical function and its response to exercise: associations with cytokine gene variation in older adults with knee osteoarthritis. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 60A(10):1292-1298

Oberbach A, Lehmann S, Kirsch K, Krist J, Sonnabend M, Linke A, Tonjes A, Stumvoll M, Bluher M, Kovacs P (2008) Long-term exercise training decreases interleukin-6 (IL-6) serum levels in subjects with impaired glucose tolerance: effect of the -174G/C variant in IL-6 gene. *Eur J Endocrinol* 159(2):129-136

Oliveira DM, Narciso FM, Santos ML, Pereira DS, Coelho FM, Dias JM, Pereira LS (2008) Muscle strength but not functional capacity is associated with plasma interleukin-6 levels of community-dwelling elderly women. *Braz J Med Biol Res* 41(12):1148-1153

Pedersen BK, Steensberg A, Schjerling P (2001) Muscle-derived interleukin-6: possible biological effects. *J Physiol.* 536(2):329-337

Penninx BW, Kritchevsky SB, Yaffe K, Newman Ab, Simonsick EM, Rubin S, Ferrucci L, Harris T, Pahor M (2003) Inflammatory markers and depressed mood in older persons: results from the Health, Aging and Body Composition study. *Biol Psychiatry* 54(5):566-572

Pereira DS, Queiroz BZ, Mateo ECC, Assumpção AM, Felício DC, Miranda AS, Anjos DMC, Jesus-Moraleida F, Dias RC, Pereira DAG, Teixeira AL, Pereira LSM (2012) Interaction between cytokines and BDNF gene polymorphisms and the effect of physical exercise on clinical and inflammatory parameters in the elderly women. *Trials (in press)*

Perrin DH (1993) *Isokinetic Exercise and Assessment*. Human Kinetics Publishers, United States of America

Perry CD, Alekel DL, Ritland LM, Bhupathiraju SN, Stewart JW, Hanson LN, Matvienko OA, Kohut ML, Reddy MB, Van Loan MD, Genschel U (2008) Centrally located body fat is related to inflammatory markers in healthy postmenopausal women. *Menopause* 15(4):619-627

Petersen AMW, Pedersen BK (2005) The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol.* 98:1154-1162

Phillips MD, Flynn MG, McFarlin BK, Stewart LK, Timmerman KL (2010) Resistance training at eight-repetition maximum reduces the inflammatory milieu in elderly women *Med Sci Sports Exerc* 42(2):314-325

- Reid MB, Li Y-P (2001) Tumor necrosis factor- α and muscle wasting: a cellular perspective. *Respiratory Research* 2(5):269-272
- Roubenoff R (2007) Physical activity, inflammation, and muscle loss. *Nutr Rev* 65(12):S208-S212
- Sjögren E, Leanderson P, Kristenson M, Ernerudh J (2006) Interleukin-6 levels in relation to psychosocial factors: Studies on serum, saliva, and in vitro production by blood mononuclear cells. *Brain Behav Immun.* 20(3):270-278
- Solway S, Brooks D, Lacasse Y, Thomas S (2001) A qualitative systematic overview of the measurement properties of functional walk tests used in the cardiorespiratory domain *Chest* 119(1):256-270
- Steensberg A, Hall G, Osada T, Sacchetti M, Saltin B, Pedersen BK (2000) Production of interleukin-6 in contracting human skeletal muscles can account for the exercise-induced increase in plasma interleukin-6. *J Physiol.* 529(1):237-242
- Tiainen K, Hurme M, Hervonen A, Luukkaala T, Jylha M (2010) Inflammatory markers and physical performance among nonagenarians. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 65(6):658-663
- Uyemura K, Castle SC, Makinodan T (2002) The frailty elderly: role of dendritic cells in the susceptibility of infection. *Mech Ageing Dev.* 123:955-962
- Visser M, Pahor M, Taaffe DR, Goodpaster BH, Simonsick EM, Newman Ab, Nevitt M, Harris TB (2002) Relationship of Interleukin-6 and Tumor Necrosis Factor- α With Muscle Mass and Muscle Strength in Elderly Men and Women: The Health ABC Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 57A(5):M326-M332
- Yesavage JA, Brink TL, Rose TL, Lum O, Huang V, Adey M (1982) Development and validation of a geriatric depression screening scale: a preliminary report. *J Psychiatr Res.* 17:37-49

Zhu S, Patel KV, Bandinelli S, Ferrucci L, Guralnik JM (2009) Predictors of interleukin-6 elevation in older adults. *J Am Geriatr Soc* 57(9):1672-1677

Tabela 1: Características sócio-demográficas e clínicas das idosas avaliadas para os grupos de exercício de fortalecimento muscular e aeróbico, no período pré-treinamento.

Variáveis	GF		GA		Valor de p
	<i>Média</i>	<i>DP</i>	<i>Média</i>	<i>DP</i>	
Idade (anos)	71,03	4,8	70,33	4,5	0,123
Escolaridade (anos)	6,12	4,17	6,71	4,42	0,144
MEEM	26,03	2,97	25,9	2,71	0,436
Nº de Comorbidades	2,63	1,57	2,65	1,70	0,775
Nº de Medicamentos	3,2	2,03	3,1	2,04	0,473
GDS (escores)	3,76	3,04	3,21	2,71	0,332
EEP (escores)	20,84	9,84	19,05	9,91	0,057
IMC (Kg/m²)	29,12	4,8	28,97	4,79	0,874

GF = Grupo de Fortalecimento Muscular; GA = Grupo de Treinamento Aeróbico; MEEM = Mini-Exame do Estado Mental; GDS = Escala de Depressão Geriátrica; EEP = Escala de Estresse Percebido; IMC = Índice de Massa Corporal.

Teste Mann Whitney, $\alpha = 0,05$

Tabela 2: Comparação dos níveis das citocinas antes e após os programas de exercício físico, fortalecimento muscular e aeróbico, em idosas da comunidade.

Variáveis	Grupos	Pré-Treinamento		Pós-Treinamento		Valor p
		<i>Média</i>	<i>SD</i>	<i>Média</i>	<i>SD</i>	
sTNFR1	GF	1194,27 ^a	49,91	1105,15 ^a	43,4	p = 0,007*
	GA	1082,20	35,14	1093,03	38,39	
sTNFR2	GF	3425,64 ^b	126,49	3194,05 ^b	109,44	P=0,015*
	GA	2979,64	76,57	3049,50	84,13	
IL6	GF	1,23	0,14	1,18	0,13	p = 0,172
	GA	2,39	0,27	2,68	0,28	
IL10	GF	3,97	0,95	2,68	0,30	p = 0,845
	GA	6,61	0,84	5,55	0,75	

GF = Grupo de Fortalecimento Muscular; GA = Grupo de Treinamento Aeróbico Teste

Anova 2x2. Médias que compartilham sobrescritos iguais são significativamente diferentes, $\alpha = 5\%$.

Figura 1: Desempenho muscular, avaliado pelas variáveis trabalho/massa corporal (velocidade de 60°/seg) e potência (velocidade de 180°/seg), antes e após exercício de fortalecimento muscular.

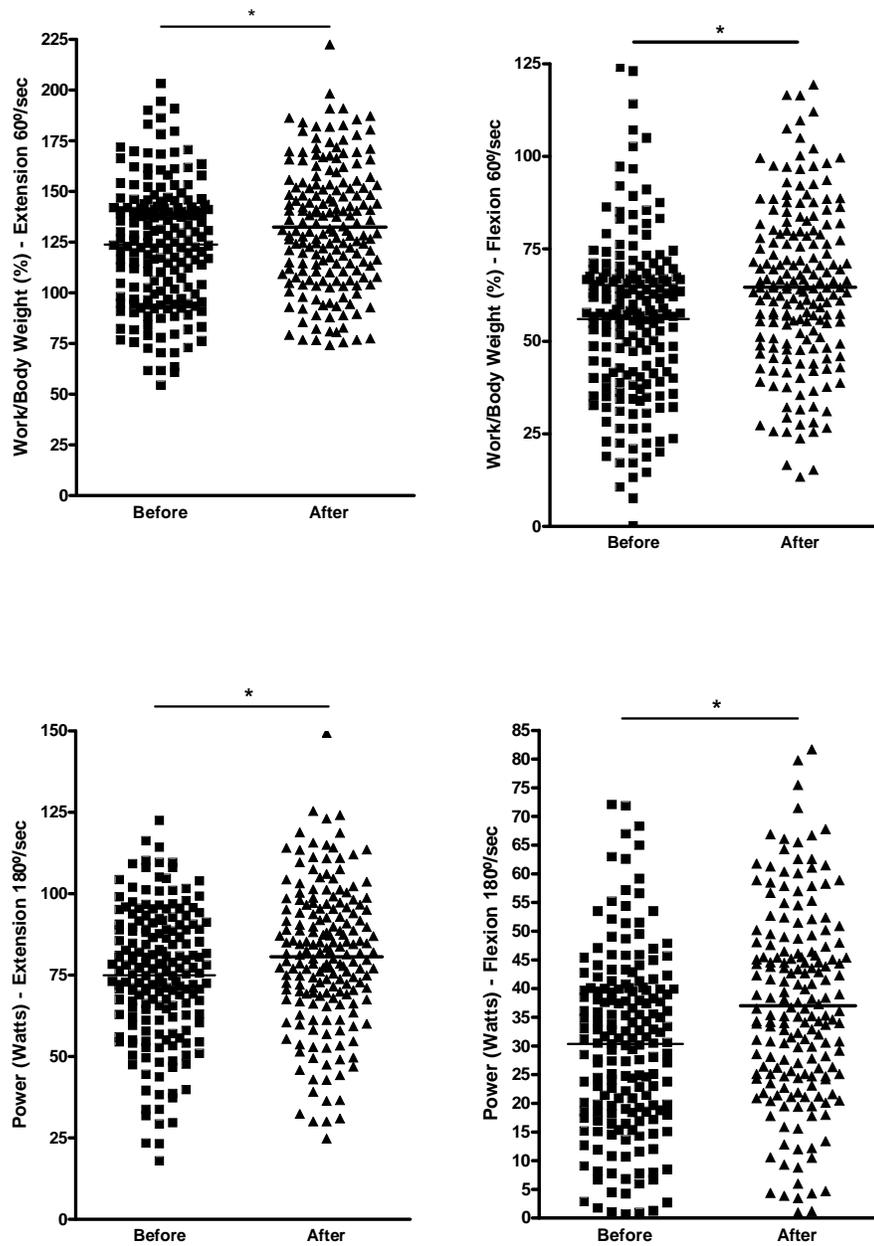
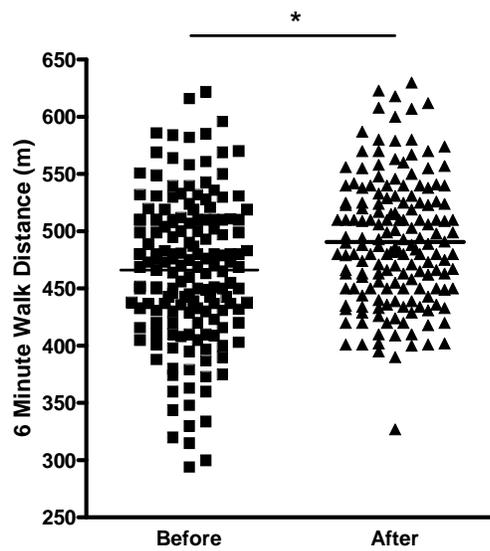


Figura 2: Distância percorrida no teste de caminhada de seis minutos antes e após o treinamento aeróbico.



6 ARTIGO 4

Título: Influência dos níveis plasmáticos de mediadores inflamatórios na capacidade funcional após exercício físico em idosas fisicamente independentes

Autores: Daniele Sirineu Pereira¹; Bárbara Zille de Queiroz¹; Alexandra Miranda Assumpção; Diogo Carvalho Felício¹; Juscélio Pereira Silva¹; Aline Silva Miranda²; Natália Pessoa Rocha²; Daniela Maria da Cruz dos Anjos¹; Fabianna Jesus-Moraleida¹; Danielle Aparecida Gomes Pereira¹; Antonio Lucio Teixeira²; Leani Souza Máximo Pereira¹

Affiliation:

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação, Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil.

² Laboratório de Imunofarmacologia, Departamento de Bioquímica e Imunologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brazil.

Autor para correspondência: Daniele Sirineu Pereira

Av. Antônio Carlos, 6627, CEP 31270-901, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. Telephone: +55-31-3409-4783. Fax: +55-31-3409-4781

E-mail: daniele.sirineu@gmail.com

Resumo

Introdução: Elevados níveis de mediadores inflamatórios são preditores do declínio da função muscular e capacidade funcional na população idosa. O exercício físico é apontado uma estratégia efetiva para aumento da força e massa muscular, promovendo também na melhora da funcionalidade de idosos. **Métodos:** O objetivo do presente estudo foi comparar o efeito de dois programas de exercícios físicos, fortalecimento muscular e treinamento aeróbico, sobre a capacidade funcional (CF) e investigar o efeito dos níveis plasmáticos dos receptores solúveis de TNF- α , IL-6 e IL-10 sobre as mudanças na funcionalidade após a intervenção. Este estudo faz parte de um ensaio clínico (ReBEC:RBR9v9cwf), onde participaram do 451 idosas comunitárias. A CF foi avaliada por meio dos testes *Timed Up and Go* (TUG), velocidade de marcha usual de 10 metros (TC10M) e teste de sentar e levantar da cadeira (TSL). Os níveis plasmáticos de sTNFR1, sTNFR2, IL-6, IL-10 foram mensurados pelo método de ELISA. **Resultados:** Ambos os programas de exercício físico promoveram aumento significativo do desempenho das idosas nos testes TUG, VM10M e TSL. Os níveis plasmáticos dos mediadores inflamatórios no baseline não influenciaram os ganhos observados na CF, independentemente do tipo de exercício realizado. Embora tenha ocorrido redução dos níveis de sTNFR1 e sTNFR2 em resposta ao programa de fortalecimento muscular, essa alteração não influenciou o desempenho das idosas nos testes funcionais. **Conclusão:** Os programas de exercício de fortalecimento muscular e aeróbico foram efetivos para a melhora da CF, no entanto, os níveis dos mediadores inflamatórios não influenciaram o efeito do exercício físico sobre parâmetros funcionais em idosas fisicamente independentes.

Palavras-chave: capacidade funcional, idosos, citocinas, exercício

Introdução

O processo de envelhecimento é acompanhado por um desequilíbrio na produção e liberação de citocinas inflamatórias, com um aumento de duas a quatro vezes nos níveis plasmáticos de mediadores inflamatórios, tais como interleucina (IL)-1, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), IL-6, receptores solúveis do TNF- α , caracterizando um processo inflamatório crônico subclínico, denominado por alguns autores de “*inflammaging*”(1;2). Estudos transversais e prospectivos demonstraram que elevados níveis de fator de necrose tumoral alpha (TNF- α) e seus receptores solúveis, interleucina(IL)-6 e proteína C reativa (PCR) são preditores da redução da massa e força muscular(3;4), mobilidade(5;6), capacidade de realizar atividades de vida diária e aumento da incidência de incapacidades e mortalidade na população idosa(7;8).

O TNF- α é um mediador “precoce” do processo inflamatório responsável por iniciar e coordenar a resposta de fase aguda e induzir a produção de uma segunda onda de citocinas da resposta inflamatória(9). Esta citocina estimula a produção de IL-6, a qual apresenta efeitos inibitórios na produção do TNF- α e estimula a expressão e liberação de mediadores com ação anti-inflamatória, como a IL-10, IL-1ra, dentre outros(9). Os receptores solúveis de TNF- α são mais estáveis na circulação comparados à própria citocina, de modo que sTNFR1 e sTNFR2 constituem marcadores mais confiáveis da inflamação crônica em relação ao TNF- α (10;11). A análise de mais de um marcador inflamatório pode fornecer informações mais consistentes da influência da inflamação crônica subclínica sobre parâmetros clínicos e funcionais no idoso.

Com o objetivo de diminuir ou reverter o declínio da função muscular, o exercício físico tem sido apontado como uma das estratégias mais efetivas, atuando também na melhora da capacidade funcional dos idosos(12;13). Além disso, evidências consistentes indicam que o exercício físico regular altera o perfil inflamatório em adultos e idosos(14-16). Assim, a

proposta do presente estudo foi comparar o efeito de dois tipos de programas de exercícios físicos, fortalecimento muscular e treinamento aeróbico, sobre a capacidade funcional de idosas da comunidade, e investigar o potencial efeito dos níveis plasmáticos dos receptores solúveis de TNF- α , IL-6 e IL-10 sobre as mudanças na funcionalidade após a intervenção.

Métodos

O presente estudo faz parte de um ensaio clínico, registrado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC: RBR9v9cwf), cujo objetivo foi investigar a interação entre polimorfismos de citocinas e o efeito do exercício físico em parâmetros inflamatórios e clínicos em idosas. O protocolo e métodos do estudo foram descritos em detalhes anteriormente (Pereira, et al. 2012 *In Press*).

Trata-se de um ensaio clínico com uma amostra de 451 idosas residentes na comunidade. Foram incluídas mulheres com 65 anos ou mais, residentes na comunidade e sedentárias. Foram consideradas sedentárias aquelas que não realizaram atividade física regular, três vezes por semana, por no mínimo 40 minutos, nos três meses anteriores ao recrutamento. Os critérios de exclusão foram: idosas com alterações cognitivas detectáveis pelo Mini-exame do Estado Mental(17;18), doença inflamatória ou infecciosa em fase aguda; neoplasia nos últimos 5 anos; uso de drogas imunossupressoras; amputações nos membros inferiores; cirurgias ou fraturas nos membros inferiores nos últimos seis meses; presença de doenças ou sequelas neurológicas; participação em outros programas de atividade física.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da UFMG (ETIC 038/2010) e todas as voluntárias assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido concordando em participar do estudo, de acordo com os princípios da declaração de Helsinki (1969).

Capacidade Funcional

A capacidade funcional foi avaliada por meio dos testes *Timed Up and Go* (TUG)(19), velocidade de marcha usual de 10 metros (VM10M)(20) e teste de sentar e levantar por cinco vezes(21). No TUG foi mensurado o tempo para o indivíduo realizar a tarefa de levantar-se a partir da posição sentada em uma cadeira padronizada (47 cm de altura do assento, sem braços) deambular três metros, girar 180°, retornar e sentar-se novamente na cadeira. O teste apresenta alta confiabilidade intra e inter observadores (ICC = 0,99; ICC = 0,99)(19).

Para avaliar a velocidade da marcha (VM10M), as participantes foram orientadas a deambular com a velocidade de marcha usual (auto-selecionada), um percurso de 10 metros(20). Um comando verbal foi dado para o início do procedimento e registrado o tempo gasto para completar os seis metros centrais do percurso, identificados lateralmente por marcas de fita. Para evitar viés de aceleração e desaceleração, os dois metros iniciais e finais do percurso foram desconsiderados. O VM10M tem demonstrando boa confiabilidade intra e inter observadores (ICC=0,78 e ICC=0,93)(20).

O teste de sentar e levantar da cadeira (TSL) mensura o tempo necessário para o indivíduo completar a tarefa de passar da posição sentada para de pé, por cinco vezes, na maior velocidade possível, sem usar os membros superiores(21). Foi usada uma cadeira padronizada, com 47 cm de altura do assento, sem braços. Os escores apresentam boa confiabilidade teste/reteste (ICC=0,89)(21).

Níveis plasmáticos de sTNFR1, sTNFR2, IL-6 e IL-10

A coleta de sangue foi realizada em repouso antes (48 horas após a realização dos testes físicos) e após o programa de treinamento (no mínimo 72 horas após a última sessão de exercício). Foram coletados cinco ml de sangue periférico das participantes, em vacutainers com citrato, por profissional qualificado. A coleta do sangue foi realizada entre 8 e 10h da

manhã para minimizar possíveis efeitos de mudanças circadianas. Os tubos vacutainers foram centrifugados em Centrífuga Fanem, em 1500 rpm, por 15 minutos e o plasma removido em ambiente estéril e estocado em tubos eppendorfs em freezer a -80°C. A análise das concentrações plasmáticas das citocinas foi realizada pelo método de ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*), por meio do kit DuoSet ELISA (R&D Systems, Minnesota, MN) para os sTNFR1 e sTNFR2 e kits de alta sensibilidade (Quantikine®HS, R&D Systems Minneapolis) para a IL-6 e IL-10, segundo as instruções do fabricante. As leituras das amostras foram realizadas por um leitor de microplacas ajustado para 490nm e correção do comprimento de onda a 650nm. Os limites inferiores de detecção dos ensaios de sTNFRs, IL-6 e IL-10 foram, respectivamente, 5 pg/ml, 0,15 pg/ml e 0,75 pg/ml.

Outras Medidas

Para caracterização da amostra, os dados sócio-demográficos e as informações relativas às condições clínicas das idosas foram obtidos por meio de um questionário estruturado, elaborado e aplicado por meio de entrevista, por pesquisadores treinados. Foram verificadas as medidas antropométricas índice de massa corporal IMC (Kg/m^2), expresso pela relação entre a massa corporal em kg e estatura em metros.

Sintomas depressivos são associados alterações nos níveis de mediadores inflamatórios e podem interferir no processo de avaliação da função física de idosos(22). A Escala de Depressão Geriátrica (GDS-15) foi usada para o rastreamento de transtornos depressivos no *baseline* e após o programa de exercício físico(23;24). Foram adotados os pontos de corte 5/6 (não caso/caso)(24).

Intervenção

As idosas foram divididas em dois grupos: GF - programa de exercício de fortalecimento muscular e GA - programa de exercício aeróbico. Ambos os protocolos apresentaram uma duração de dez semanas, totalizando trinta sessões, realizadas três vezes por semana, sob supervisão direta de fisioterapeutas. Durante o período de treinamento as voluntárias foram orientadas a manter suas atividades habituais e não iniciar outros programas de exercício físico.

Treinamento de Força Muscular: A sessão de exercícios foi composta por dez minutos iniciais de caminhada, seguidos por alongamentos para os músculos: reto femoral e psoas, ísquiossurais e tríceps sural. Foram então realizados os exercícios de fortalecimento muscular: flexão, abdução, adução e extensão de quadril, flexão e extensão de joelhos e mini-agachamento. A carga, individualizada à cada participante, foi definida por meio do cálculo de uma resistência máxima (RM). As participantes iniciaram os exercícios com 50% da RM; após duas semanas (7ª sessão) a carga foi reajustada para 75% da RM inicial. Na 13ª e 22ª sessões a RM foi recalculada, sendo os exercícios realizados com 75% dessa nova RM(25). Medidas de pressão arterial e frequência cardíaca foram realizadas no início e ao final de cada sessão de exercícios.

Treinamento aeróbico: O protocolo de exercícios aeróbicos consistiu de cinco minutos de aquecimento (warm up), 40 minutos de atividade aeróbica, que incluiu caminhada e exercícios livres de membros superiores e inferiores, e cinco minutos de recuperação (cool down) como preconizado pelo American College of Sports Medicine (2009) (26). No período de aquecimento e recuperação a frequência cardíaca foi mantida em até 60% da frequência cardíaca máxima prevista para a idade (FCmáx) e durante a atividade aeróbica foi mantida entre 65% a 80% da frequência cardíaca máxima. Para garantir a manutenção da FC na faixa de treinamento adequada, as participantes foram monitoradas por meio de aparelhos cardio-

frequencímetros. Medidas de pressão arterial e frequência cardíaca foram realizadas no início e ao final de cada sessão de exercícios.

Análise Estatística

Estatística descritiva, utilizando medidas de tendência central (média e mediana) e de variabilidade (amplitude e desvio padrão), foi realizada para a caracterização da amostra. A normalidade dos dados foi verificada por meio do teste *Kolmogorov-Smirnov*.

As comparações entre os grupos GF e GA no *baseline* foram realizadas pelo teste não paramétrico *Mann Whitney*. As correlações entre as variáveis funcionais e níveis dos mediadores inflamatórios foram verificadas por meio do coeficiente de correlação de *Spearman*.

A análise de variância 2 X 2 (ANOVA two-way) foi usada para investigar o efeito do treinamento sobre a capacidade funcional e parâmetros inflamatórios e identificar diferenças entre os programas de treinamento. Foram usados como *post hoc* os testes de Wilcoxon e Mann Whitney. A diferença entre os valores pós-intervenção e baseline (deltas) foi usado nas análises *post hoc* para evitar a influência de possíveis diferenças existentes entre os grupos no baseline. Um alpha igual a 5% foi considerado para significância estatística.

Análise de regressão linear foi realizada para investigar o potencial efeito dos níveis dos mediadores inflamatórios sobre as mudanças na capacidade funcional. Foi usado o método *stepwise*, que utiliza das correlações parciais entre as variáveis para definição do modelo final.

As análises estatísticas foram processadas no programa *Statistical Package for Social Sciences*, versão 17.0.1. (SPSS Inc., Chicago, IL). Um alpha igual a 5% foi considerado para significância estatística de todas as análises.

Resultados

Participaram do estudo 451 idosas residentes na comunidade, sendo 229 idosas alocadas para o GF e 222 para o GA, sendo a taxa de perda de 21,3% para o GF e 25% para o GA. Durante a realização do estudo, duas idosas foram excluídas do GA devido ao diagnóstico de câncer.

As características clínico-demográficas e os parâmetros inflamatórios no baseline são apresentados na Tabela 1. Em relação às variáveis no *baseline*, foi observada uma correlação inversa e fraca do sTNFR1 e o desempenho no TUG ($r_s = -0,097$; $p = 0,041$) e uma correlação inversa e fraca da IL-6 e velocidade de marcha ($r_s = -0,103$; $p = 0,029$). Nenhuma outra correlação foi verificada para as demais variáveis ($p > 0,05$).

Houve diferença estatisticamente significativa no desempenho do TUG ($F = 149,8$, $p = 0,001$); TSL ($F = 151,7$, $p = 0,001$); e VM10 ($F = 63,7$, $p = 0,001$) antes e após o programa de exercício (Figura 1). A análise *post hoc* identificou diferença significativa pré e pós-treinamento no desempenho de todos os testes funcionais tanto para o GF quanto para o GA ($p = 0,001$). Não foi verificada diferença significativa entre os grupos GF e GA após o treinamento para o TUG ($F = 2,56$, $p = 0,111$) e TSL ($F = 2,88$, $p = 0,09$) indicando comparabilidade dos efeitos dos programas de exercícios sobre a funcionalidade avaliada por estes testes. Para a velocidade de marcha foi observada diferença significativa entre os grupos ($F = 5,94$, $p = 0,015$), sendo que o GA apresentou maior percentual de melhora no desempenho no teste de marcha ($p = 0,037$) (Gráfico 1).

O programa de fortalecimento muscular resultou em uma diminuição significativa nos níveis dos receptores solúveis do TNF- α ($F = 4,58$, $p = 0,033$), mas não das citocinas IL-6 ($F = 0,96$, $p = 0,326$) ou IL-10 ($F = 1,87$, $p = 0,172$). Mudanças significativas nos níveis dos mediadores inflamatórios não foram observadas em resposta ao treinamento aeróbico ($p > 0,05$).

A influência dos níveis plasmáticos dos mediadores inflamatórios sobre as mudanças na capacidade funcional após o treinamento foi avaliada para verificar se o processo de inflamação crônica no idoso poderia limitar o efeito do treinamento. Foram realizados modelos de regressão (*stepwise*) para cada uma das variáveis, tendo os níveis dos mediadores inflamatórios antes da intervenção como variáveis independentes. As análises foram ajustadas para as variáveis: idade, IMC e GDS. Para as medidas de capacidade funcional, nenhum dos modelos foi significativo ($p > 0,05$), demonstrando que os receptores solúveis do TNF- α e as citocinas IL-6 e IL-10 não afetaram os ganhos observados na capacidade funcional após as 10 semanas de treinamento, independentemente do tipo de exercício realizado.

Como apenas o programa de fortalecimento muscular apresentou alterações nos níveis dos receptores solúveis do TNF- α , modelos de regressão (*stepwise*) foram realizados para investigar se as mudanças nesses parâmetros inflamatórios afetaram a capacidade funcional após a intervenção. As diferenças entre os valores pós-intervenção e baseline (delta) do sTNFR1 e sTNFR2 foram usadas como variáveis independentes. A diminuição dos níveis dos receptores solúveis do TNF- α não afetou o desempenho nos testes funcionais do GF, sendo que nenhum dos modelos de regressão foi significativo ($p > 0,05$).

Discussão

No presente estudo, ambos os programas de exercício físico promoveram aumento significativo na capacidade funcional, avaliada por meio dos testes Timed Up and Go, velocidade de marcha usual e teste de sentar e levantar da cadeira, demonstrando efeitos benéficos tanto do exercício de fortalecimento muscular quanto do treinamento aeróbico sobre a funcionalidade em idosas da comunidade. Os níveis plasmáticos de sTNFR1, sTNFR2, IL-6 e IL-10 no baseline não influenciaram os ganhos observados na capacidade funcional, independentemente do tipo de exercício realizado. Embora tenha ocorrido redução dos níveis

dos receptores solúveis do TNF- α em resposta ao programa de fortalecimento muscular, essa alteração não influenciou o desempenho das idosas nos testes funcionais.

O declínio da função física é comum no envelhecimento, estando relacionada à perda da independência, maior risco de institucionalização e mortalidade(27). A diminuição da massa e da força muscular é apontada como um dos principais fatores envolvidos no desenvolvimento de limitações funcionais(28). Nesse sentido, evidências demonstraram que o exercício físico é uma das medidas preventivas mais efetivas para alterações na força muscular e capacidade funcional no envelhecimento(12;13;29).

Ambos os programas de exercício físico aumentaram a capacidade funcional das idosas, avaliada pelos testes TUG, TSL e VM10, corroborando achados de outros estudos(12;30;31). Interessantemente, não houve diferença significativa no desempenho dos testes TUG e TSL entre as idosas submetidas a diferentes modalidades de exercício, fortalecimento muscular e aeróbico, indicando uma similaridade dos efeitos dos protocolos de exercícios sobre a funcionalidade das idosas. Em relação ao TSL, seria esperado que idosas do GF apresentassem melhor desempenho quando comparadas àquelas do GA, uma vez que a literatura aponta este teste como uma medida que reflete a força muscular de membros inferiores. Já para a VM10M, idosas do GA apresentaram melhor desempenho quando comparadas ao GF. Esse resultado pode ser explicado pelo fato de que o programa de intervenção aeróbica incluiu, além de exercícios livres de membros superiores e inferiores, a realização de caminhada.

Alterações na capacidade funcional com a idade estão relacionadas, em parte, com a perda da força muscular em idosos(28;32). Evidências indicaram que, tanto o exercício de fortalecimento muscular(13;31) quanto o treinamento aeróbico(29;33;34) podem diminuir o declínio na massa e força muscular com a idade, melhorando a função muscular e conseqüentemente a funcionalidade. Além dos benefícios sobre a capacidade aeróbica, o

treinamento aeróbico estimula a síntese protéica muscular, alterando o metabolismo protéico com um aumento da área de secção transversal das fibras musculares em idosos(33;35). Harber et al., verificaram um aumento no tamanho do músculo, avaliado por ressonância magnética, e melhora da função muscular após 12 semanas de treinamento aeróbico progressivo em idosos hígidos(29). Entretanto, apesar dos benefícios dessa modalidade de exercício, poucos estudos avaliaram o efeito específico do exercício aeróbico sobre medidas de capacidade funcional no idoso. As investigações utilizam programas de intervenção com a combinação de diferentes tipos de exercício além do aeróbico, como força muscular, equilíbrio e flexibilidade, dificultando a comparação dos resultados encontrados no presente estudo.

Em relação ao exercício de fortalecimento, estudos demonstraram resultados positivos do aumento da força muscular sobre as limitações funcionais na população idosa. Em concordância com o presente estudo, Kalapotharakos *et al.* verificaram que o exercício de força muscular de moderada intensidade melhorou o desempenho nos testes de TSL e velocidade de marcha(30). Em revisão sistemática, o exercício de fortalecimento progressivo apresentou um efeito benéfico, moderado a grande, para o desempenho no teste TSL e moderado sobre a velocidade da marcha(13). Contrapondo nossos resultados, nesta revisão o desempenho no TUG não foi influenciado por esta modalidade de treinamento, o que pode estar relacionado a diferenças nos protocolos dos estudos analisados. Recentemente, demonstramos que um protocolo de resistência muscular melhorou significativamente a funcionalidade de idosas pré-frágeis, avaliado por meio dos testes TUG e velocidade de marcha de 10 metros(36).

O aumento dos níveis de mediadores inflamatórios com a idade é apontado como um dos possíveis mecanismos relacionados ao declínio funcional no idoso. Essa associação pode ser explicada pela ação catabólica das citocinas, estando relacionada à diminuição da massa e

força muscular(6;32;37). O TNF- α pode comprometer a função muscular diretamente ao estimular a perda de proteína nas células musculares(38) e também ao induzir alterações na proteína muscular independente da perda protéica, resultando na diminuição da produção de força(39). Schaap et al. (2009) investigaram a relação entre mediadores inflamatórios e a massa e força muscular em uma amostra de 2177 idosos, por um período de 5 anos. Altos níveis de TNF- α , sTNFR1, sTNFR2 e IL-6 foram associados com a redução da massa muscular, enquanto apenas o TNF- α e seus receptores solúveis foram associados a diminuição da força muscular de quadríceps e preensão manual(3). Pennix *et al.*(2004) verificaram que altos índices de IL-6, TNF- α , e proteína C reativa foram preditores independentes de limitações na deambulação e na tarefa de subir escadas em uma coorte de idosos sem alterações funcionais, após um período de 30 meses(5).

Com o objetivo de verificar se a inflamação crônica no idoso poderia limitar o efeito do exercício físico, investigamos a influência dos mediadores inflamatórios sobre a capacidade funcional após a intervenção. Os níveis plasmáticos de sTNFR1, sTNFR2, IL-6 e IL-10 no baseline não influenciaram os ganhos observados na capacidade funcional das idosas, independentemente da modalidade de exercício realizado. Embora o programa de fortalecimento muscular tenha reduzido os níveis dos receptores solúveis do TNF- α , essa alteração não influenciou o desempenho das idosas nos testes funcionais. Esses resultados podem ser explicados pelas características da amostra estudada.

As idosas do presente estudo apresentaram boa condição de saúde, com poucas comorbidades, baixo percentual de sintomas depressivos e, embora sedentárias, bons níveis de independência funcional. Todos esses fatores contribuem para os baixos níveis de mediadores inflamatórios detectados no baseline, possivelmente não constituindo alterações suficientes para influenciar o desempenho nos testes funcionais. Em relação a IL-6, diferentes limiares têm sido identificados para a ação desta citocina sobre a força muscular e funcionalidade na

população idosa. Em uma coorte de 627 mulheres idosas, com incapacidades, Ferrucci et al. verificaram que aquelas com níveis plasmáticos de IL-6 acima de 3,1 pg/ml apresentaram maior redução na força muscular dos extensores de joelhos e também na capacidade de realizar atividades de vida diária(32). No presente estudo, os níveis plasmáticos de IL-6 se apresentaram abaixo desse limiar. Valores limítrofes para o início de alterações funcionais em idosos não foram relatados na literatura para os receptores do TNF- α .

Apesar da relevância dos resultados encontrados no presente estudo, os mesmos devem ser interpretados com cautela. A amostra constituída por idosas fisicamente independentes, limita a generalização dos resultados para a população idosa. Idosos funcionalmente dependentes ou fragilizados exibem um perfil inflamatório caracterizado por níveis de citocinas mais elevados e podem responder de forma diferenciada ao exercício físico. Porém, outras características destacam a relevância do estudo, como a amostragem significativa e a aplicação de testes padronizados e específicos para a população idosa, permitindo a integração de parâmetros clínicos e funcionais.

O presente estudo demonstrou que os programas de exercício de fortalecimento muscular e aeróbico constituíram intervenções efetivas para a melhora da capacidade funcional em idosas da comunidade. Uma redução significativa dos níveis dos receptores solúveis do TNF- α em resposta ao programa de fortalecimento muscular foi verificada. Entretanto, os níveis plasmáticos de sTNFR1, sTNFR2, IL-6 e IL-10, seja no baseline ou após a intervenção, não influenciaram o efeito do exercício físico sobre parâmetros funcionais em idosas fisicamente independentes.

Agradecimentos:

Este trabalho recebeu financiamento das agências FAPEMIG e CNPq. D.S. Pereira foi bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) durante o doutorado.

Referências

- (1) Franceschi C, Bonafè M, Valensin S, Olivieri F, De Luca M, Ottaviani E, et al. Inflamm-aging. *Annals New York Academy of Sciences*. 2000;908:244-254.
- (2) Krabbe KS, Perdersen M, Bruunsgaard H. Inflammatory mediators in the elderly. *Experimental Gerontology*. 2004;39(5):687-699.
- (3) Schaap LA, Pluijm SMF, Deeg DJH, Visser M. Inflammatory Markers and Loss of Muscle Mass (Sarcopenia) and Strength. *The American Journal of Medicine*. 2006;119(6):526e9-526e17.
- (4) Visser M, Pahor M, Taaffe DR, Goodpaster BH, Simonsick EM, Newman Ab, et al. Relationship of Interleukin-6 and Tumor Necrosis Factor- α With Muscle Mass and Muscle Strength in Elderly Men and Women: The Health ABC Study. *Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*. 2002;57A(5):M326-M332.
- (5) Penninx BW, Kritchevsky SB, Newman Ab, Nicklas BJ, Simonsick EM, Rubin S, et al. Inflammatory markers and incident mobility limitation in the elderly. *J Am Geriatr Soc*. 2004 Jul;52(7):1105-1113.
- (6) Tiainen K, Hurme M, Hervonen A, Luukkaala T, Jylha M. Inflammatory markers and physical performance among nonagenarians. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2010 Jun;65(6):658-663.
- (7) Gallucci M, Amici GP, Ongaro F, Gajo GB, De Angeli S, Forloni GL, et al. Associations of the plasma interleukin-6 (IL-6) levels with disability and mortality in the elderly in the Treviso Longeva (TRELONG) Study. *Archives of Gerontology and Geriatrics*. 2007;Suppl. 1:193-198.

- (8) Roubenoff R, Parise H, Payette HA, Abad LW, D'Agostino R, Jacques PF, et al. Cytokines, Insulin-Like Growth Factor 1, Sarcopenia, and Mortality in Very Old Community-Dwelling Men and Women: The Framingham Heart Study. *American Journal of Medicine*. 2003;115(6):429-435.
- (9) Makhatadze NJ. Tumor necrosis factor locus: genetic organisation and biological implications. *Hum Immunol*. 1998 Sep;59(9):571-579.
- (10) Aderka D, Engelmann H, Shemer-Avni Y, Hornik V, Galil A, Sarov B, et al. Variation in serum levels of the soluble TNF receptors among healthy individuals. *Lymphokine Cytokine Res*. 1992 Jun;11(3):157-159.
- (11) Coelho FM, Reis HJ, Nicolato R, Romano-Silva MA, Teixeira MM, Bauer ME, et al. Increased serum levels of inflammatory markers in chronic institutionalized patients with schizophrenia. *Neuroimmunomodulation*. 2008;15(2):140-144.
- (12) Gu MO, Conn VS. Meta-analysis of the effects of exercise interventions on functional status in older adults. *Res Nurs Health*. 2008 Dec;31(6):594-603.
- (13) Latham NK, Bennett DA, Stretton CM, Anderson CS. Systematic review of progressive resistance strength training in older adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2004 Jan;59(1):48-61.
- (14) Beavers KM, Brinkley TE, Nicklas BJ. Effect of exercise training on chronic inflammation. *Clin Chim Acta*. 2010 Jun 3;411(11-12):785-793.
- (15) Reuben DB, Judd-Hamilton L, Harris TB, Seeman TE. The associations between physical activity and inflammatory markers in high-functioning older persons: MacArthur

studies of successful aging. *Journal of the American Geriatrics Society*. 2003;51(8):1125-1130.

(16) Colbert LH, Visser M, Simonsick EM, Tracy RP, Newman Ab, Kritchevsky SB, et al. Physical Activity, Exercise, and Inflammatory Markers in Older Adults: Findings from The Health, Aging and Body Composition Study. *Journal of the American Geriatrics Society*. 2004;52(7):1098-1104.

(17) Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Minimal" state: A practical method for grading the clinician. *J Psychiatr Res*. 1975;12:189-198.

(18) Bertolucci PH, Brucki SM, Campacci SR, Juliano Y. O Mini-exame do estado mental em uma população geral: impacto da escolaridade. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*. 1994;52(1):1-7.

(19) Bohannon RW. Reference values for the Timed Up and Go Test: A descriptive Meta-Analysis. *Journal of Geriatric Physical Therapy*. 2006;29:64-68.

(20) VanSwearingen JM, Brach JS. Making geriatric assessment work: selecting useful measures. *Physical Therapy*. 2001;81:1233-252.

(21) Whitney SL, Wrisley DM, Marchetti GF, Gee MA, Redfern JMF. Clinical measurement of sit-to-stand performance in people with balance disorders: validity of data for the Five-Times-Sit-to-Stand test. *Physical Therapy*. 2005;85(10):1034-1045.

(22) Bremner MA, Beekman AT, Deeg DJ, Penninx BW, Dik MG, Hack CE, et al. Inflammatory markers in late-life depression: results from a population-based study. *J Affect Disord*. 2008 Mar;106(3):249-255.

(23) Yesavage JA, Brink TL, Rose TL, Lum O, Huang V, Adey M. Development and validation of a geriatric depression screening scale: a preliminary report. *Journal of Psychiatric Research*. 1982;17:37-49.

(24) Almeida OP, Almeida SA. Confiabilidade da versão brasileira da Escala de Depressão em Geriatria (GDS) versão reduzida. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*. 1999;57(2B):421-426.

(25) Lustosa LP, Coelho FM, Silva JP, Pereira DS, Parentoni AN, Dias JM, et al. The effects of a muscle resistance program on the functional capacity, knee extensor muscle strength and plasma levels of IL-6 and TNF-alpha in pre-frail elderly women: a randomized crossover clinical trial--a study protocol. *Trials*. 2010;11:82.

(26) Chodzko-Zajko WJ, Proctor DN, Fiatarone Singh MA, Minson CT, Nigg CR, Salem GJ, et al. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and physical activity for older adults. *Med Sci Sports Exerc* 2009. Jul;41(7):1510-1530.

(27) Hirvensalo M, Rantanen T, Heikkinen E. Mobility difficulties and physical activity as predictors of mortality and loss of independence in the community-living older population. *J Am Geriatr Soc*. 2000 May;48(5):493-498.

(28) Puthoff ML, Nielsen DH. Relationships among impairments in lower-extremity strength and power, functional limitations, and disability in older adults. *Phys Ther*. 2007 Oct;87(10):1334-1347.

(29) Harber MP, Konopka AR, Douglass MD, Minchev K, Kaminsky LA, Trappe TA, et al. Aerobic exercise training improves whole muscle and single myofiber size and function in older women. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2009 Nov;297(5):R1452-R1459.

(30) Kalapotharakos VI, Michalopoulos M, Tokmakidis SP, Godolias G, Gourgoulis V. Effects of a heavy and a moderate resistance training on functional performance in older adults. *J Strength Cond Res.* 2005 Aug;19(3):652-657.

(31) Fahlman M, Morgan A, McNevin N, Topp R, Boardley D. Combination training and resistance training as effective interventions to improve functioning in elders. *J Aging Phys. Act* 2007 Apr;15(2):195-205.

(32) Ferrucci L, Pennix BWJH, Volpato S, Harris TB, Banden-Roche K, Balfour J, et al. Change in Muscle Strength Explains Accelerated Decline of Physical Function in Older Women With High Interleukin-6 Serum Levels. *Journal of the American Geriatrics Society.* 2002;50(12):1947-1954.

(33) Konopka AR, Douglass MD, Kaminsky LA, Jemiolo B, Trappe TA, Trappe S, et al. Molecular adaptations to aerobic exercise training in skeletal muscle of older women. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2010 Nov;65(11):1201-1207.

(34) Frankel JE, Bean JF, Frontera WR. Exercise in the elderly: research and clinical practice. *Clin Geriatr Med.* 2006 May;22(2):239-256.

(35) Short KR, Vittone JL, Bigelow ML, Proctor DN, Nair KS. Age and aerobic exercise training effects on whole body and muscle protein metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2004 Jan;286(1):E92-101.

(36) Lustosa LP, Silva JP, Coelho FM, Pereira DS, Parentoni AN, Pereira LS. Impact of resistance exercise program on functional capacity and muscular strength of knee extensor in pre-frail community-dwelling older women: a randomized crossover trial. *Rev Bras Fisioter.* 2011 Aug;15(4):318-324.

(37) Cesari M, Pennix BWJH, Pahor M, Lauretani F, Corsi AM, Williams GR, et al. Inflammatory Markers and Physical Performance in Older Persons: The InCHIANTI Study. *Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*. 2004;59A(3):242-248.

(38) Li YP, Reid MB. NF-kappaB mediates the protein loss induced by TNF-alpha in differentiated skeletal muscle myotubes. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2000 Oct;279(4):R1165-R1170.

(39) Li X, Moody MR, Engel D, Walker S, Clubb FJ, Jr., Sivasubramanian N, et al. Cardiac-specific overexpression of tumor necrosis factor-alpha causes oxidative stress and contractile dysfunction in mouse diaphragm. *Circulation*. 2000 Oct 3;102(14):1690-1696.

Tabela 1: Características clínico-demográficas e parâmetros inflamatórios das idosas avaliadas para os grupos de exercício de fortalecimento muscular e aeróbico, no período pré-treinamento.

Variáveis	GF		GA	
	<i>Média</i>	<i>DP</i>	<i>Média</i>	<i>DP</i>
Idade (anos)	71,03	4,8	70,33	4,5
Nº de Comorbidades	2,63	1,57	2,65	1,70
GDS (escores)	3,76	3,04	3,21	2,71
IMC (Kg/m²)	29,12	4,8	28,97	4,79
sTNFR1 (pg/ml)	1194,27	49,91	1082,20	35,14
sTNFR2 (pg/ml)	3425,64	126,49	2979,64	76,57
IL6 (pg/ml)	1,23	0,14	2,39	0,27
IL10 (pg/ml)	3,97	0,95	6,61	0,84

GF = Grupo de Fortalecimento Muscular; GA = Grupo de Treinamento Aeróbico; GDS = Escala de Depressão Geriátrica; IMC = Índice de Massa Corporal; IL-6 = interleucina-6; IL-10 = Interleucina-10.

Figura 1: Desempenho no Timed Up and Go, antes e após os programas de exercício de fortalecimento muscular e aeróbico

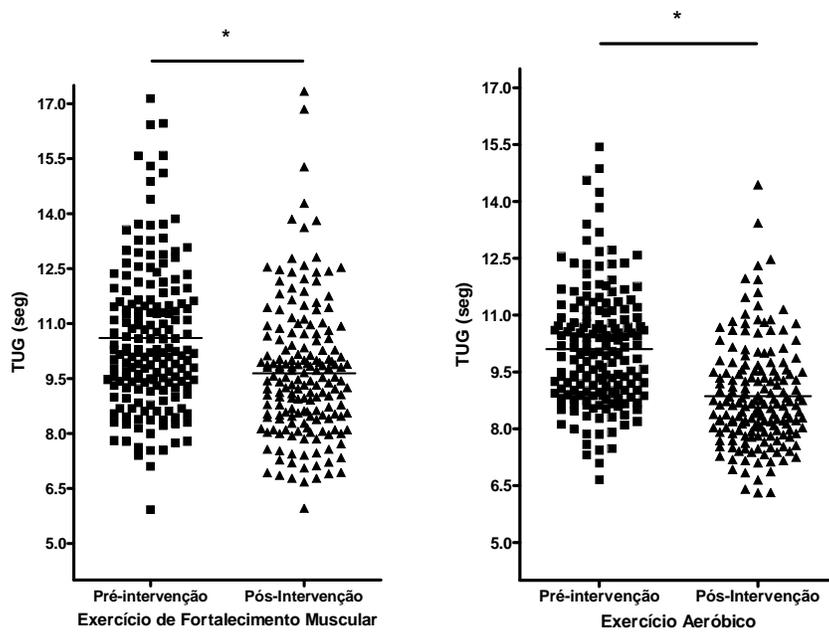


Figura 2: Desempenho no teste de sentar e levantar da cadeira, antes e após os programas de exercício de fortalecimento muscular e aeróbico

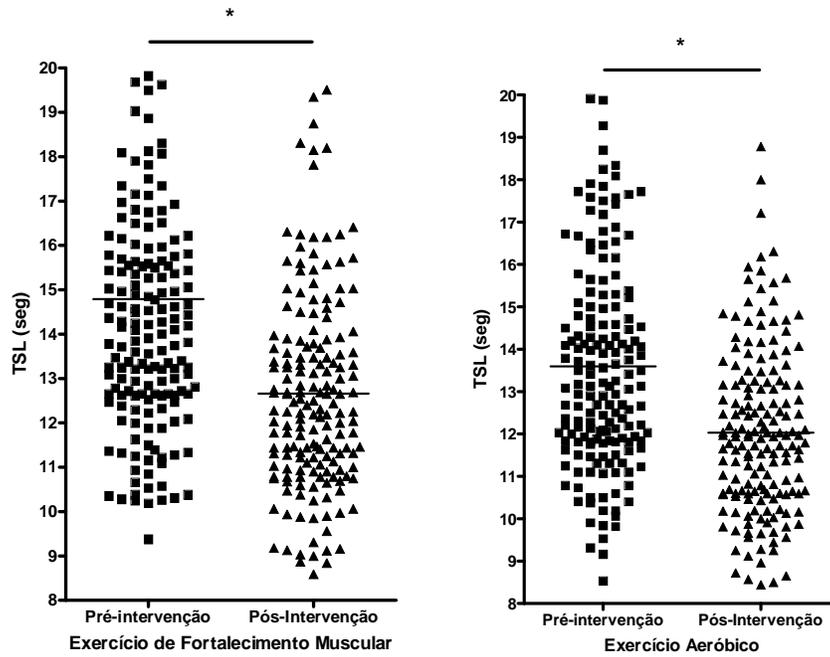
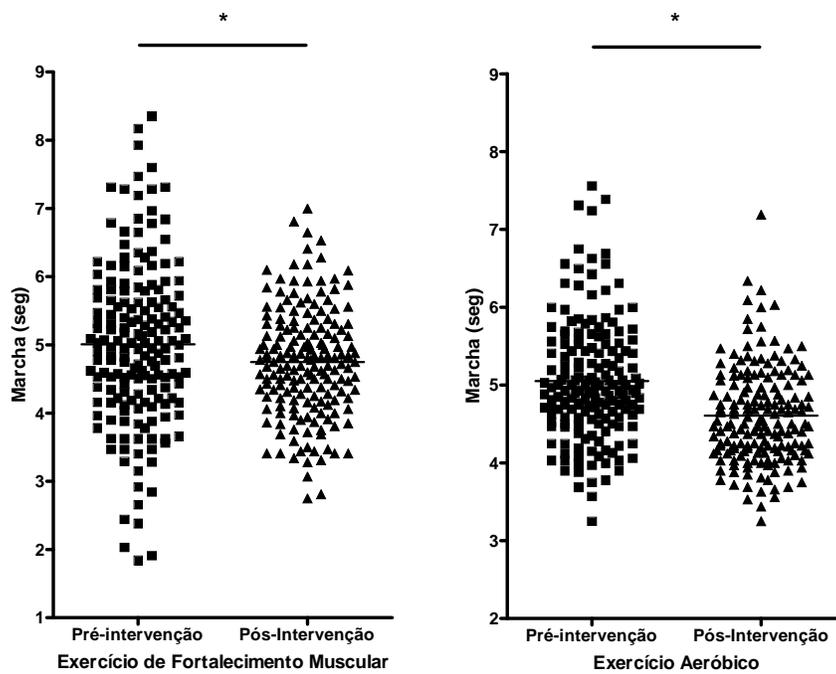


Figura 3: Desempenho na marcha usual, antes e após os programas de exercício de fortalecimento muscular e aeróbico



7 ARTIGO 5

Título: Interação entre polimorfismos dos genes das citocinas TNF- α , IL6, IL10 e os efeitos do exercício físico sobre parâmetros inflamatórios e a capacidade funcional em idosas

Autores: Daniele S Pereira¹, Bárbara Z Queiroz¹, Elvis CC Mateo², Aline Silva Miranda², Natália Pessoa Rocha², Fabianna Jesus-Moraleida¹, Danielle AG Pereira¹, Antônio L Teixeira², Leani SM Pereira¹

Afiliação:

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação, Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil.

² Laboratório de Imunofarmacologia, Departamento de Bioquímica e Imunologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brazil

Autor para correspondência:

Av. Antônio Carlos, 6627, CEP 31270-901, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. Telephone: +55-31-3409-4783. Fax: +55-31-3409-4781

E-mail: daniele.sirineu@gmail.com

Resumo

Níveis elevados de mediadores inflamatórios são associados a redução da capacidade funcional e da função muscular em idosos. Polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) podem afetar a transcrição gênica e a síntese dessas moléculas, afetando a intensidade da resposta inflamatória e a suscetibilidade do indivíduo a determinadas doenças. O exercício físico pode atenuar a inflamação crônica relacionada ao envelhecimento, além de melhorar a capacidade funcional (CF). O presente estudo avaliou a interação entre os SNPs rs1800629 do TNF- α rs1800795 da IL6 e rs1800896 da IL10 e o efeito do exercício físico sobre a CF e parâmetros inflamatórios em idosas da comunidade. Houve uma interação significativa entre o SNP rs1800629 do TNF- α e o efeito do exercício sobre a mobilidade e interação significativa entre a combinação dos genótipos dos três SNPs nas mudanças da CF em resposta ao exercício. Os SNPs analisados não influenciaram o efeito do exercício sobre os parâmetros inflamatórios. Idosas com uma combinação de genótipos relacionada a um perfil anti-inflamatório (baixa produção de TNF- α e IL-6 e alta produção de IL-10) apresentaram melhor mobilidade, independente da modalidade de exercício realizada evidenciando a influência interativa de fatores genéticos e ambientais na melhora da funcionalidade em idosas.

Palavras-chave: idosos, exercício, polimorfismos, citocinas

Introdução

O aumento da idade está associado a uma atividade inflamatória crônica, subclínica, caracterizada pelo aumento sistêmico, de duas a quatro vezes, dos níveis plasmáticos de mediadores inflamatórios, como interleucina (IL)-1, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), IL-6, dentre outros (Grimble, 2003; Krabbe et al., 2004). O desequilíbrio na produção e liberação dessas citocinas tem sido relacionado ao aparecimento ou agravamento de condições crônicas relacionadas à idade e aumento da mortalidade em idosos (Cesari et al., 2004; Gallucci et al., 2007; Krabbe et al., 2004). Níveis elevados de citocinas ainda se encontram associados à redução da capacidade funcional e da função muscular (Brinkley et al., 2009; Oliveira et al., 2008; Schaap et al., 2006).

Diferenças na expressão de mediadores inflamatórios entre indivíduos podem ocorrer como resultado de variações genéticas funcionais na região promotora do gene dessas moléculas (Bidwell et al., 1999; Maat et al., 2004), sendo as mais comuns os *single nucleotide polymorphisms* (SNPs). SNPs podem afetar a transcrição gênica e a síntese das citocinas (Bidwell et al., 1999; Maat et al., 2004), afetando a intensidade da resposta inflamatória e a suscetibilidade do indivíduo a determinadas doenças (Lio et al., 2003; Maat et al., 2004; Stephens et al., 2007).

Os polimorfismos -308G/A do gene TNF- α (rs1800629), -174 G/C IL6 (rs1800795) e -1082G/A IL10 (rs1800896) têm sido associados ao desenvolvimento de doenças relacionadas à idade, como Doença de Alzheimer (Vural et al., 2009), diabetes tipo 2 (Stephens et al., 2007), doenças cardiovasculares (Maat et al., 2004), bem como à longevidade (Christiansen et al., 2004; Khabour and Barnawi, 2010; Lio et al., 2003). Interessantemente, esses polimorfismos podem predispor a um perfil pró ou anti inflamatório de citocinas. Assim, a presença do alelo A no locus -308 TNF- α e a homozigose para o alelo G no locus -174 G/C IL6 são associados a maiores níveis plasmáticos de TNF- α (Karimi et al., 2009) e IL-6

(Olivieri et al., 2002; Pereira et al., 2011), respectivamente. A presença do alelo A para o polimorfismo -1082G/A IL10 é relacionada a uma menor produção desse mediador (Huizinga et al., 2000; Turner et al., 1997).

A atividade física regular pode reduzir os níveis de citocinas inflamatórias, atenuando o processo inflamatório crônico relacionado ao envelhecimento e doenças crônicas (Beavers et al., 2010; Petersen and Pedersen, 2005). Além disso, o exercício físico tem sido apontado como uma das estratégias mais efetivas para a melhora da capacidade funcional em idosos (Gu and Conn, 2008; Latham et al., 2004), assim como a diminuição dos níveis plasmáticos de mediadores inflamatórios (Kohut et al., 2006; Nicklas et al., 2008; Phillips et al., 2010). Nesse contexto, os genes envolvidos na regulação do processo inflamatório crônico podem contribuir não apenas para a variação individual na produção das citocinas, mas também na resposta dessas variáveis ao exercício físico.

As citocinas agem em uma rede complexa e coordenada, na qual suas funções podem ser modificadas, substituídas ou moduladas por outras (Bidwell et al., 1999). Dessa forma, a investigação do polimorfismo de uma única citocina, sem considerar sua interação com genótipos de outras citocinas, pode conduzir a interpretações equivocadas, uma vez que a ação combinada dos mesmos pode resultar em efeitos diferenciados.

Uma vez que variações genéticas podem influenciar a produção das citocinas, hipotetizamos que os polimorfismos de genes envolvidos na modulação do processo inflamatório podem interagir com o efeito do exercício físico sobre os parâmetros inflamatórios e físicos em indivíduos idosos. Assim, este ensaio clínico, registrado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC: RBR9v9cwf), teve como objetivo investigar a interação entre os polimorfismos -308 do gene TNF- α (rs1800629), -174 IL6 (rs1800795), e -1082 da IL10 (rs1800896) e o efeito do exercício físico em parâmetros inflamatórios e físicos em mulheres idosas.

Métodos

O protocolo e os métodos do estudo foram descritos em detalhes anteriormente (Pereira, et al. 2012 *In Press*). Foram incluídas 451 mulheres com 65 anos ou mais, residentes na comunidade e sedentárias. Foram consideradas sedentárias aquelas que não realizaram atividade física regular, três vezes por semana, por no mínimo 40 minutos, nos três meses anteriores ao recrutamento. Os critérios de exclusão foram: idosas com alterações cognitivas detectáveis pelo Mini-exame do Estado Mental (Bertolucci et al., 1994; Folstein et al., 1975) doença inflamatória ou infecciosa em fase aguda; neoplasia nos últimos cinco anos; uso de drogas imunossupressoras; amputações nos membros inferiores; cirurgias ou fraturas nos membros inferiores nos últimos seis meses; presença de doenças ou sequelas neurológicas; participação em outros programas de atividade física.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da UFMG (ETIC 038/2010) e todas as voluntárias assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido concordando em participar do estudo, de acordo com os princípios da declaração de Helsinki (1969).

Níveis plasmáticos de sTNFR1, sTNFR2, IL-6 e IL-10

Foram coletados cinco ml de sangue periférico dos participantes, em vacutainers com citrato, por profissional qualificado. A coleta do sangue foi realizada entre 8 e 10h da manhã para minimizar possíveis efeitos de mudanças circadianas. Os tubos vacutainers foram centrifugados em Centrífuga Fanem, em 1500 rpm, por 15 minutos e o plasma removido em ambiente estéril e estocado em tubos eppendorfs em freezer a -80°C. A análise das concentrações plasmáticas das citocinas foi realizada pelo método de ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*), por meio do kit DuoSet ELISA (R&D Systems, Minnesota, MN) para os sTNFR1 e sTNFR2 e kits de alta sensibilidade (Quantikine®HS, R&D Systems Minneapolis) para a IL-6 e IL-10, segundo as instruções do fabricante. A coleta de sangue foi

realizada em repouso antes (48 horas após a realização dos testes físicos) e após o programa de treinamento (no mínimo 72 horas após a última sessão de exercício). Os limites inferiores de detecção dos ensaios de sTNFRs, IL-6 e IL-10 foram, respectivamente, 5 pg/ml, 0,15 pg/ml e 0,75 pg/ml.

Capacidade Funcional

A capacidade funcional foi avaliada por meio dos testes *Timed Up and Go* (TUG) (Podsiadlo and Richardson, 1991) e velocidade de marcha de 10 metros (VM10M) (VanSwearingen and Brach, 2001). No TUG foi mensurado o tempo para o indivíduo realizar a tarefa de levantar-se a partir da posição sentada em uma cadeira padronizada (47 cm de altura do assento, sem braços) deambular três metros, girar 180°, retornar e sentar-se novamente na cadeira. O teste apresenta alta confiabilidade intra e inter observadores (ICC = 0,99; ICC = 0,99) (Bohannon, 2006).

Para avaliar a velocidade da marcha, as participantes foram orientadas a deambular com a velocidade de marcha usual (auto-selecionada), um percurso de 10 metros. Um comando verbal foi dado para o início do procedimento e registrado o tempo para os seis metros centrais, identificados lateralmente por marcas de fita, para evitar viés de aceleração e desaceleração dos dois metros iniciais e finais do percurso. O 10MWT tem demonstrando boa confiabilidade intra e inter observadores (ICC=0,78 e ICC=0,93) (VanSwearingen and Brach, 2001).

Outras Medidas

Para caracterização da amostra, os dados sócio-demográficos e as informações relativas às condições clínicas das idosas foram obtidos por meio de um questionário estruturado, elaborado e aplicado por meio de entrevista, por pesquisadores treinados. Foram

verificadas as medidas antropométricas índice de massa corporal IMC (Kg/m^2), expresso pela relação entre a massa corporal em kg e estatura em metros (Hans et al., 1995).

Fatores psicossociais, como níveis de estresse e sintomas depressivos, são associados alterações nos níveis de mediadores inflamatórios (Gouin et al., 2008; Sjögren et al., 2006). O nível de estresse foi avaliado pela a Escala Estresse Percebido (Luft et al., 2007). Foi utilizada a versão validada para a população idosa brasileira (consistência interna, $r=0,82$) e validade de constructo (Luft et al., 2007). A Escala de Depressão Geriátrica (GDS-15) foi usada para o rastreamento de transtornos depressivos no *baseline* e após o programa de exercício físico (Almeida and Almeida, 1999; Yesavage et al., 1982) Foram adotados os pontos de corte 5/6 (não caso/caso) (Almeida and Almeida, 1999).

Genotipagem

Para a genotipagem foram coletados cinco ml de sangue periférico dos participantes, em vacutainers com EDTA, por profissional qualificado. O sangue foi removido em ambiente estéril e estocado em freezer a -80°C . O DNA genômico foi extraído a partir de 500 μl de sangue periférico utilizando o protocolo de extração por Fenol-Cloroformio. A qualidade e integridade do DNA foram avaliadas por espectrofotometria em equipamento *Nanodrop* (Thermo Scientific - GE), com leitura da absorbância nos comprimentos de ondas A_{260} e A_{280} . As amostras foram estocadas em freezer a -20°C até a análise.

A genotipagem dos *single nucleotide polymorphisms* (SNPs) dos foi realizada utilizando-se ensaios validados *TaqMan genotyping assay* (*Applied Biosystems, Inc, Foster City, CA, USA*) para os genes TNF (rs1800629; *assay IDs: C__7514879_10*) e IL-10 (rs1800896; *assay IDs: C__1747360_10*). Para o SNP do gene IL-6 (rs1800795) foi padronizado um ensaio utilizando os seguintes *primers: Forward* (GAGGACCTAAGCTGCACTTTTC) e *Reverse*

(GGGCTGATTGGAAACCTTATTAAGATTG); e sondas: sonda A (*VIC-CCTTTAGCATCGCAAGAC-MGB-NFQ*) e sonda B (*FAM-CCTTTAGCATGGCAAGAC-MGB-NFQ*).

A amplificação e genotipagem do DNA foram realizadas em placas de 384 poços, em equipamento *GeneAmp PCR system 9700HT* (*Applied Biosystems, Inc, Foster City, CA, USA*). O protocolo foi otimizado utilizando 0.25 µl *TaqMan SNP Genotyping Assay* (20X), 2.5 µl *Master Mix* (2X) e 15 ng de DNA diluído em 2.25 µl de H₂O livre de DNase, totalizando um volume de 5 µl. Em cada ensaio foi incluído pelo menos dois controles negativos e pelo menos um controle positivo. A discriminação e plotagem dos genótipos foram realizadas pelo *TaqMan® Genotyper Software* (*Applied Biosystems*).

Intervenção

As idosas foram alocadas em dois grupos: GF - programa de exercício de fortalecimento muscular e GA - programa de treinamento aeróbico. Ambos os protocolos apresentaram uma duração de dez semanas, totalizando trinta sessões, realizadas três vezes por semana, sob supervisão direta de fisioterapeutas. Durante o período de treinamento as voluntárias foram orientadas a manter suas atividades habituais e não iniciar outros programas de exercício físico.

Treinamento de Força Muscular: A sessão de exercícios foi composta por dez minutos iniciais de caminhada, seguidos por alongamentos para os músculos: reto femoral e psoas, ísquiossurais e tríceps sural. Foram então realizados os exercícios de fortalecimento muscular: flexão, abdução, adução e extensão de quadril, flexão e extensão de joelhos e mini-agachamento. A carga, individualizada à cada participante, foi definida por meio do cálculo de uma resistência máxima (RM). As participantes iniciaram os exercícios com 50% da RM; após duas semanas (7^a sessão) a carga foi reajustada para 75% da RM inicial. Na 13^a e 22^a

sessões a RM foi recalculada, sendo os exercícios realizados com 75% dessa nova RM (Lustosa et al., 2010). Medidas de pressão arterial e frequência cardíaca foram realizadas no início e ao final de cada sessão de exercícios.

Treino aeróbico: O protocolo de exercícios aeróbicos consistiu de cinco minutos de aquecimento (warm up), 40 minutos de atividade aeróbica, que incluiu caminhada e exercícios livres de membros superiores e inferiores, e cinco minutos de recuperação (cool down) como preconizado pelo American College of Sports Medicine (Chodzko-Zajko et al., 2009). No período de aquecimento e recuperação a frequência cardíaca foi mantida em até 60% da frequência cardíaca máxima prevista para a idade (FC_{máx}) e durante a atividade aeróbica foi mantida entre 65% a 80% da frequência cardíaca máxima. Para garantir a manutenção da FC na faixa de treinamento adequada, as participantes foram monitoradas por meio de aparelhos cardio-frequencímetros. Medidas de pressão arterial e frequência cardíaca foram realizadas no início e ao final de cada sessão de exercícios.

Análise Estatística

Análise estatística descritiva, utilizando medidas de tendência central (média e mediana) e de variabilidade (amplitude e desvio padrão), foi realizada para a caracterização da amostra. A normalidade da distribuição dos dados foi verificada pelo teste *Kolmogorov-Smirnov*. A violação do equilíbrio de Hardy-Weinberg foi testada por meio do Teste *Qui-Quadrado*, para cada SNP.

ANOVA two-way foi usada para investigar o efeito do exercício sobre os níveis plasmáticos das citocinas e verificar diferenças entre os programas de treinamento. Foram usados como *post hoc* os testes de *Wilcoxon* e *Mann Whitney*.

Para as análises, os genótipos foram agrupados de acordo com as variantes alélicas relacionadas à modulação das dosagens plasmáticas dos mediadores inflamatórios, ou seja,

alta versus baixa produção das citocinas: IL6 (rs1800795): GG versus CC+GC; TNF- α (rs1800629): AA+AG versus GG e IL10 (rs1800896): GG versus AA+AG.

A interação entre os polimorfismos e o efeito do exercício sobre os parâmetros inflamatórios e a capacidade funcional, avaliada pelos testes TUG e velocidade de marcha, foi investigada por meio de análise de covariância (ANCOVA). A diferença entre os valores pós-intervenção e baseline (deltas) dos parâmetros inflamatórios e funcionais foi considerada como variável dependente, enquanto os polimorfismos e a intervenção constituíram as variáveis independentes (fatores fixos). As análises foram ajustadas para as variáveis IMC, nível de estresse e sintomas depressivos. Correção de Bonferroni foi usada para ajuste do nível de significância devido às múltiplas comparações. Foi considerado um alpha igual a 5% para significância estatística. As análises estatísticas foram processadas no programa *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS), versão 17.0.

Resultados

Cumpriram os critérios de inclusão do estudo 451 idosas residentes na comunidade, sendo 229 idosas alocadas para o GF e 222 para o GA, sendo a taxa de perda de 21,3% para o GF e 25% para o GA. Durante a realização do estudo, duas idosas foram excluídas do GA devido ao diagnóstico de câncer.

As características da amostra são apresentadas na tabela 1. Os genótipos de todos os SNP analisados foram consistentes com as proporções do equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p > 0,05$). A frequência dos genótipos para cada um dos polimorfismos é apresentada na Tabela 2. Não houve diferença significativa na distribuição dos genótipos entre os programas de exercício.

O programa de fortalecimento muscular resultou em uma diminuição significativa nos níveis dos receptores solúveis do TNF-alpha, mas não para IL-6 ou IL-10. Mudanças

significativas nos níveis dos mediadores inflamatórios não foram observadas em resposta ao treinamento aeróbico.

No baseline, não foi observada diferença significativa entre os genótipos dos polimorfismos dos genes IL6 (rs1800795): GG versus CC+GC; TNF- α (rs1800629): AA+AG versus GG e IL10 (rs1800896): GG versus AA+AG para nenhum dos parâmetros inflamatórios ou funcionais (Tabela 3). Não houve interação significativa entre os genótipos dos polimorfismos analisados para nenhuma das variáveis no baseline ($p > 0,05$).

Em relação à capacidade funcional, foi observada interação significativa entre o polimorfismo -308 do TNF- α e o efeito do exercício sobre o desempenho no teste TUG ($F = 10,5$; $p = 0,001$), independentemente da intervenção realizada ($F = 0,001$; $p = 0,996$). Idosas homozigotas para o alelo G apresentaram maior percentual de mudança com o exercício, com melhor capacidade funcional quando comparadas a idosas com os genótipos AA+AG (Figura 1). Não houve interação dos polimorfismos da IL6 -174 e IL10 -1082 com o efeito do exercício sobre o TUG ($p > 0,05$).

Foi observada também interação significativa entre os genótipos dos três polimorfismos e a melhora no desempenho do TUG em resposta ao exercício ($F = 13,9$; $p = 0,001$). Idosas com a combinação dos genótipos GG do TNF- α , CC+CG do IL6 -174 e GG do IL10 -1082 (baixa produção de TNF- α e IL-6 e alta produção de IL-10) apresentaram uma melhora maior no desempenho do TUG quando comparado aos outros genótipos (Figura 2). Essa interação foi significativa independente do programa de exercício, fortalecimento muscular ou treinamento aeróbico ($F = 0,001$; $p = 1,0$). Não foi verificada interação significativa entre nenhum dos polimorfismos investigados e o efeito do exercício sobre a variável velocidade de marcha usual. ($p > 0,05$).

Ao analisarmos as mudanças nos parâmetros inflamatórios, não houve interação entre os polimorfismos -308 TNF- α (rs1800629), -174 IL6 (rs1800795) e -1082 IL10 (rs1800896) e

o efeito do exercício para nenhuma das citocinas analisadas ($p > 0,05$). Interações entre os três polimorfismos também não foram verificadas para essas variáveis.

Discussão

No presente estudo, houve uma interação significativa entre o polimorfismo -308 do gene do TNF- α e o efeito do exercício, seja o treinamento aeróbico ou o treinamento de força muscular, sobre a mobilidade das idosas, avaliada pelo TUG. Igualmente, foi observada uma interação entre o efeito combinado dos três polimorfismos -308 A/G TNF- α , -174 G/C IL6 e -1082 A/G IL10 sobre a mudança na capacidade funcional, independentemente do tipo de exercício realizado. Idosas com genótipos relacionados à baixa produção de TNF- α (-308AA+AG) e IL-6 (-174GG) e a alta produção de IL-10 (-1082GG), o que estaria associado a um perfil “anti-inflamatório” (Lio et al., 2003), apresentaram maior percentual de melhora da capacidade funcional após a intervenção.

Em relação aos níveis das citocinas e capacidade funcional no baseline, não verificamos diferenças significativas entre os genótipos dos polimorfismos estudados, não sendo identificadas interações entre os mesmos para nenhuma das variáveis. Algumas investigações demonstraram o efeito dos polimorfismos -308 A/G TNF- α , -174 G/C IL6 e -1082 A/G IL10 sobre a produção de suas citocinas correspondentes (Hajeer and Hutchinson, 2001; Olivieri et al., 2002; Pereira et al., 2011; Turner et al., 1997) e em diferentes condições de saúde (Khabour and Barnawi, 2010; Stephens et al., 2007), enquanto outros estudos observaram resultados discordantes (Cederholm et al., 2007; Kubaszek et al., 2003; Liu et al., 2008). As divergências observadas quanto ao efeito dos polimorfismos podem estar relacionadas a diferentes fatores, desde a heterogeneidade das populações estudadas, incluindo características como idade, gênero e condições de saúde específicas, até pequenos tamanhos de amostra. Além disso, o envelhecimento e as condições de saúde relacionadas à

idade constituem fenótipos complexos influenciados por interações entre polimorfismos e fatores ambientais, que podem conferir uma modulação diferenciada sobre a expressão desses genes.

A elevação dos níveis plasmáticos de citocinas inflamatórias está associado à redução da capacidade funcional e da independência do idoso (Brinkley et al., 2009; Tiainen et al., 2010). O TNF- α é uma citocina pró-inflamatória, com potente efeito catabólico sobre o músculo (Reid and Li, 2001). Considerando a meia-vida curta e os baixos níveis circulantes de TNF- α , seus receptores solúveis constituem marcadores mais confiáveis de sua atividade e, portanto, da resposta inflamatória (Aderka et al., 1992; Coelho et al., 2008). Níveis aumentados de TNF- α , assim como de seus receptores solúveis, estão relacionados à sarcopenia, sendo apontados como fatores preditores de incapacidade e mortalidade em idosos (Cesari et al., 2004; Pennix et al., 2004; Visser et al., 2005). Estudos demonstraram que o polimorfismo -308 G/A do gene TNF- α pode determinar consequências não apenas sobre os níveis circulantes dessa citocina (Hajeer and Hutchinson, 2001), mas também sobre a longevidade (Khabour and Barnawi, 2010; Lio et al., 2003). O alelo A desse polimorfismo é um forte ativador da transcrição do TNF- α , estando associado a altos níveis plasmáticos do TNF- α e a maior expressão da citocina no músculo (Abraham and Kroeger, 1999; Wilson et al., 1997).

Embora não tenha influenciado as mudanças nos parâmetros inflamatórios, o polimorfismo -308 G/A do gene TNF- α apresentou interação significativa com o efeito do exercício físico sobre a capacidade funcional. Idosas com genótipo -308 GG, associado à menor produção de TNF- α , apresentaram maior percentual de melhora no teste TUG comparadas aquelas com presença do alelo A, independentemente da modalidade de exercício realizado. Em contraposição a esses resultados, Nicklas et al. (2005) ao investigarem a associação desse polimorfismo com a função física em resposta ao exercício, esses autores

observaram que indivíduos com o alelo A apresentaram melhor capacidade funcional após o programa de exercício em relação àqueles homocigotos para o alelo G (Nicklas et al., 2005). Essa discordância está possivelmente relacionada às características da amostra do estudo de Nicklas et al. (2005), constituída por pacientes com sobrepeso ou obesos, com osteoartrite de joelhos. A adiposidade corporal, assim como a osteoartrite constituem potenciais fatores de confusão, uma vez que ambas as condições são caracterizadas por maior produção de citocinas inflamatórias (Mohamed-Ali et al., 1999; Perry et al., 2008; Webb et al., 1998). Assim, o efeito dos polimorfismos nessas condições pode ocorrer de forma diferenciada, especialmente ao considerarmos que o tecido adiposo é apontado como uma das principais fontes de TNF- α circulante (Mohamed-Ali et al., 1999).

Ao analisarmos o efeito dos polimorfismos -174 G/C da IL6 e -1082 da IL10 separadamente, não foram identificadas interações dos mesmos com o efeito do exercício sobre nenhuma das variáveis de capacidade funcional. Em relação ao polimorfismo -174 G/C da IL6, nossos resultados foram semelhantes àqueles descritos por outro estudo (Nicklas et al., 2005). Quanto ao polimorfismo -1082 da IL10, não foi encontrada nenhuma investigação acerca da ação desse polimorfismo sobre o efeito do exercício em idosos.

Como as citocinas agem em uma rede complexa e coordenada (Bidwell et al., 1999), a investigação do polimorfismo de uma única citocina, pode constituir uma abordagem simplista, uma vez que a ação combinada dos genótipos pode resultar em efeitos diferenciados. Ao considerarmos os genótipos dos polimorfismos -308 G/A do TNF- α , -174G/C da IL6 e -1082 da IL10 em conjunto, identificamos uma interação entre os três polimorfismos sobre as mudanças na capacidade funcional das idosas após o exercício. A combinação de genótipos relacionada à baixa produção de TNF- α (-308AA+AG) e IL-6 (-174GG) e a alta produção de IL-10 (-1082GG), caracterizando um perfil “anti-inflamatório”, foi associado a um maior percentual de melhora no desempenho das idosas no teste TUG. No

entanto, não foi verificada interação significativa entre nenhum dos polimorfismos investigados e o efeito do exercício sobre a variável velocidade de marcha usual. A velocidade de marcha e o TUG são testes amplamente usados para avaliação da capacidade funcional do idoso, tanto em pesquisas como na prática clínica (Podsiadlo and Richardson, 1991; VanSwearingen and Brach, 2001). Embora, apontado como um preditor de eventos adversos na população idosa (Abellan van et al., 2009), a velocidade de marcha é um teste mais simples, no qual é avaliado o desempenho do indivíduo para deambular um percurso de 10 metros, em linha reta, em sua velocidade de marcha usual (VanSwearingen and Brach, 2001). Já o TUG é um teste que envolve uma série de tarefas motoras com integração do sistema motor, sensorial e cognitivo, refletindo atividades do cotidiano, fundamentais para a mobilidade independente (Podsiadlo and Richardson, 1991). Dessa forma, diferenças nos componentes e domínios da mobilidade envolvidos em cada teste, podem conferir uma maior sensibilidade ao TUG para avaliar a influência de fatores genéticos.

Elevados níveis plasmáticos de TNF- α e IL-6 são associados à redução da mobilidade (Brinkley et al., 2009; Schaap et al., 2006) e da capacidade de realizar atividades de vida diária (Gonzalo-Calvo et al., 2012), sendo apontados como preditores da incidência de incapacidades na população idosa (Gallucci et al., 2007). Por outro lado, citocinas anti-inflamatórias, como a IL-10, têm sido relacionadas ao envelhecimento bem sucedido e longevidade (Lio et al., 2002; Uyemura et al., 2002). Assim, variações nos níveis dessas citocinas têm impacto na resposta inflamatória no idoso, de modo que o equilíbrio entre a resposta pró e anti-inflamatória pode ser crítico para a manutenção da funcionalidade desses indivíduos. Assim, os resultados do presente estudo sugerem que um genótipo relacionado a uma resposta inflamatória de baixa intensidade responde melhor à intervenção física, o que pode contribuir para a melhor funcionalidade em idosos. Esta hipótese é suportada por achados de outros estudos em que a combinação de genótipos relacionados a um perfil anti-

inflamatório foram associados a longevidade (Lio et al., 2003), e constituiu um fator protetor contra o declínio cognitivo em nonagenários (Dato et al., 2010) e na Doença de Alzheimer (Vural et al., 2009).

Quanto aos parâmetros inflamatórios, não foi observada interação significativa entre o efeito do exercício físico e os polimorfismos 308 A/G TNF- α , -174 G/C IL6 e -1082 A/G IL10, considerados separadamente ou em combinação. Poucos estudos avaliaram a interação de polimorfismos e o efeito do exercício físico sobre a produção de citocinas (Kilpelainen et al., 2010; Oberbach et al., 2008). Por exemplo, Oberbach *et al.* (2008) verificaram que o polimorfismo -174 G/C IL6 foi um fator preditor de mudanças nos níveis plasmáticos de IL-6 em indivíduos pré-diabéticos, submetidos a um programa de exercícios aeróbicos, enquanto em estudo de Kilpeläinen *et al.* (2010), com amostra semelhante, as concentrações plasmáticas de IL-6 não foram afetadas pelo polimorfismo. Na população idosa, não foi encontrada nenhuma investigação sobre o tema.

Algumas limitações do presente estudo devem ser consideradas. O fato de a amostra ser constituída apenas de mulheres restringe a generalização dos resultados para a população idosa, uma vez que a diferença entre gêneros é um fator que pode influenciar a expressão gênica (Bonafè et al., 2001; Lio et al., 2002; Roth et al., 2003). Além disso, é importante considerar que outros polimorfismos não avaliados podem influenciar os efeitos do exercício na população idosa. Entretanto, podemos citar como força do estudo o tamanho da amostra e a abrangência de polimorfismos de genes de citocinas consideradas relevantes no processo inflamatório. Além disso, a análise de parâmetros genéticos, inflamatórios e funcionais integra dados experimentais e clínicos, ampliando o entendimento da associação desses fatores na abordagem preventiva e terapêutica do idoso.

Os resultados do presente estudo demonstraram que os polimorfismos -308 A/G TNF- α , -174 G/C IL6 e -1082 A/G IL10 interagiram significativamente entre si e com o efeito do

exercício sobre a capacidade funcional. Idosas com uma combinação de genótipos relacionada a um perfil anti-inflamatório apresentaram maior percentual de melhora na mobilidade funcional, independentemente da modalidade de treinamento realizada. Esses achados sugerem que fatores genéticos e ambientais, como a prática de exercício físico, interagem-se contribuindo para a melhora da funcionalidade em idosas.

Agradecimentos:

Este trabalho recebeu financiamento das agências FAPEMIG e CNPq. D.S. Pereira foi bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) durante o doutorado.

Referências

- Abellan van KG, Rolland Y, Andrieu S, Bauer J, Beauchet O, Bonnefoy M, Cesari M, Donini LM, Gillette GS, Inzitari M, Nourhashemi F, Onder G, Ritz P, Salva A, Visser M, Vellas B (2009) Gait speed at usual pace as a predictor of adverse outcomes in community-dwelling older people an International Academy on Nutrition and Aging (IANA) Task Force. *J Nutr Health Aging* 13:881-889
- Abraham LJ, Kroeger KM (1999) Impact of the -308 TNF promoter polymorphism on the transcriptional regulation of the TNF gene: relevance to disease. *J Leukoc Biol* 66:562-566
- Aderka D, Engelmann H, Shemer-Avni Y, Hornik V, Galil A, Sarov B, Wallach D (1992) Variation in serum levels of the soluble TNF receptors among healthy individuals. *Lymphokine Cytokine Res* 11:157-159
- Almeida OP, Almeida SA (1999) Confiabilidade da versão brasileira da Escala de Depressão em Geriatria (GDS) versão reduzida. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria* 57:421-426
- Beavers KM, Brinkley TE, Nicklas BJ (2010) Effect of exercise training on chronic inflammation. *Clin Chim Acta* 411:785-793
- Bertolucci PH, Brucki SM, Campacci SR, Juliano Y (1994) O Mini-exame do estado mental em uma população geral: impacto da escolaridade. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria* 52:1-7
- Bidwell J, Keen L, Gallagher G, Kimberly R, Huizinga T, McDermott MF, Oksenberg J, McNicholl J, Pociot F, Hardt C, D'Alfonso S (1999) Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line database. *Genes and Immunity* 1:3-19
- Bohannon RW (2006) Reference values for the Timed Up and Go Test: A descriptive Meta-Analysis. *Journal of Geriatric Physical Therapy* 29:64-68
- Bonafè M, Olivieri F, Cavallone L, Giovagnetti S, Marchegiani F, Cardelli M, Pieri C, Marra M, Antonicelli R, Lisa R, Rizzo MR, Paolisso G, Monti D, Franceschi C (2001) A gender-

dependent genetic predisposition to produce high levels of IL-6 is detrimental for longevity. *European Journal of Immunology* 31:2357-2361

Brinkley TE, Leng X, Miller ME, Kitzman DW, Pahor M, Berry MJ, Marsh AP, Kritchevsky SB, Nicklas BJ (2009) Chronic inflammation is associated with low physical function in older adults across multiple comorbidities. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 64:455-461

Cederholm T, Persson M, Andersson P, Stenvinkel P, Nordfors L, Madden J, Vedin I, Wretling B, Grimble RF, Palmblad J (2007) Polymorphisms in cytokine genes influence long-term survival differently in elderly male and female patients. *J Intern Med* 262:215-223

Cesari M, Pennix BWJH, Pahor M, Lauretani F, Corsi AM, Williams GR, Guralnik JM, Ferrucci L (2004) Inflammatory Markers and Physical Performance in Older Persons: The InCHIANTI Study. *Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences* 59A:242-248

Chodzko-Zajko WJ, Proctor DN, Fiatarone Singh MA, Minson CT, Nigg CR, Salem GJ, Skinner JS (2009) American College of Sports Medicine position stand. Exercise and physical activity for older adults. *Med Sci Sports Exerc* 41:1510-1530

Christiansen L, Bathum L, Andersen-Ranberg K, Jeune B, Christensen K (2004) Modest implication of interleukin-6 promoter polymorphisms in longevity. *Mechanisms of ageing and development* 125:391-395

Coelho FM, Reis HJ, Nicolato R, Romano-Silva MA, Teixeira MM, Bauer ME, Teixeira AL (2008) Increased serum levels of inflammatory markers in chronic institutionalized patients with schizophrenia. *Neuroimmunomodulation* 15:140-144

Dato S, Krabbe KS, Thinggaard M, Pedersen BK, Christensen K, Bruunsgaard H, Christiansen L (2010) Commonly studied polymorphisms in inflammatory cytokine genes

show only minor effects on mortality and related risk factors in nonagenarians. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 65:225-235

de Gonzalo-Calvo D, de Luxan-Delgado B, Rodriguez-Gonzalez S, Garcia-Macia M, Suarez FM, Solano JJ, Rodriguez-Colunga MJ, Coto-Montes A (2012) Interleukin 6, soluble tumor necrosis factor receptor I and red blood cell distribution width as biological markers of functional dependence in an elderly population: A translational approach. *Cytokine*

Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR (1975) "Minimal" state: A practical method for grading the clinician. *J Psychiatr Res* 12:189-198

Gallucci M, Amici GP, Ongaro F, Gajo GB, De Angeli S, Forloni GL, Albani D, Prato F, Polito L, Zanardo A, Regini C (2007) Associations of the plasma interleukin-6 (IL-6) levels with disability and mortality in the elderly in the Treviso Longeva (TRELONG) Study. *Archives of Gerontology and Geriatrics Suppl.* 1:193-198

Gouin JP, Hantsoo L, Kiecolt-Glaser JK (2008) Immune dysregulation and chronic stress among older adults: a review. *Neuroimmunomodulation* 15:251-259

Grimble RF (2003) Inflammatory response in the elderly. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 6:21-29

Gu MO, Conn VS (2008) Meta-analysis of the effects of exercise interventions on functional status in older adults. *Res Nurs Health* 31:594-603

Hajeer AH, Hutchinson IV (2001) Influence of TNFalpha gene polymorphisms on TNFalpha production and disease. *Hum Immunol* 62:1191-1199

Hans TS, Van Leer EM, Seidell JC (1995) Waist circumference action levels in the identification of cardiovascular risk factors: prevalence study in a random sample. *Br Med J* 311:1401-1405

Huizinga TW, Keijsers V, Yanni G, Hall M, Ramage W, Lanchbury J, Pitzalis C, Drossaers-Bakker WK, Westendorp RG, Breedveld FC, Panayi G, Verweij CL (2000) Are differences in interleukin 10 production associated with joint damage? *Rheumatology (Oxford)* 39:1180-1188

Karimi M, Goldie LC, Cruickshank MN, Moses EK, Abraham LJ (2009) A critical assessment of the factors affecting reporter gene assays for promoter SNP function: a reassessment of -308 TNF polymorphism function using a novel integrated reporter system. *Eur J Hum Genet* 17:1454-1462

Khabour OF, Barnawi JM (2010) Association of longevity with IL-10 -1082 G/A and TNF-alpha-308 G/A polymorphisms. *Int J Immunogenet* 37:293-298

Kilpelainen TO, Laaksonen DE, Lakka TA, Herder C, Koenig W, Lindstrom J, Eriksson JG, Uusitupa M, Kolb H, Laakso M, Tuomilehto J (2010) The rs1800629 polymorphism in the TNF gene interacts with physical activity on the changes in C-reactive protein levels in the Finnish Diabetes Prevention Study. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 118:757-759

Kohut ML, McCann DA, Russell DW, Konopka DN, Cunnick JE, Franke WD, Castillo MC, Reighard AE, Vanderah E (2006) Aerobic exercise, but not flexibility/resistance exercise, reduces serum IL-18, CRP, and IL-6 independent of β -blockers, BMI, and psychosocial factors in older adults. *Brain, Behavior, and Immunity* 20:201-209

Krabbe KS, Pedersen M, Bruunsgaard H (2004) Inflammatory mediators in the elderly. *Experimental Gerontology* 39:687-699

Kubaszek A, Pihlajamaki J, Komarovski V, Lindi V, Lindstrom J, Eriksson J, Valle TT, Hamalainen H, Ilanne-Parikka P, Keinanen-Kiukaanniemi S, Tuomilehto J, Uusitupa M, Laakso M (2003) Promoter polymorphisms of the TNF-alpha (G-308A) and IL-6 (C-174G)

genes predict the conversion from impaired glucose tolerance to type 2 diabetes: the Finnish Diabetes Prevention Study. *Diabetes* 52:1872-1876

Latham NK, Bennett DA, Stretton CM, Anderson CS (2004) Systematic review of progressive resistance strength training in older adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 59:48-61

Lio D, Scola L, Crivello A, Colonna RG, Candore G, Bonafè M, Cavallone L, Marchegiani F, Olivieri F, Franceschi C, Caruso C (2003) Inflammation, genetics, and longevity: further studies on the protective effects in men of IL-10 -1082 promoter SNP and its interaction with TNF -308 promoter SNP. *Journal of Medicine Genetics* 40:296-299

Lio D, Scola L, Crivello A, Colonna-Romano G, Candore G, Bonafè M, Cavallone L, Franceschi C, Caruso C (2002) Gender-specific association between -1082 IL-10 promoter polymorphism and longevity. *Genes Immun* 3:30-33

Liu D, Metter EJ, Ferrucci L, Roth SM (2008) TNF promoter polymorphisms associated with muscle phenotypes in humans. *J Appl Physiol* 105:859-867

Luft CD, Sanches SO, Mazo GZ, Andrade A (2007) Brazilian version of the Perceived Stress Scale: translation and validation for the elderly. *Rev Saude Publica* 41:606-615

Lustosa LP, Coelho FM, Silva JP, Pereira DS, Parentoni AN, Dias JM, Dias RC, Pereira LS (2010) The effects of a muscle resistance program on the functional capacity, knee extensor muscle strength and plasma levels of IL-6 and TNF-alpha in pre-frail elderly women: a randomized crossover clinical trial--a study protocol. *Trials* 11:82

Maat MPM, Bladbjerg EM, Hjelmberg JB, Bathum L, Jespersen J, Christensen K (2004) Genetic influence on inflammation variables in the elderly. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 24:2168-2173

Mohamed-Ali V, Goodrick S, Bulmer K, Holly JM, Yudkin JS, Coppack SW (1999) Production of soluble tumor necrosis factor receptors by human subcutaneous adipose tissue in vivo. *Am J Physiol* 277:E971-E975

Nicklas BJ, Hsu FC, Brinkley TJ, Church T, Goodpaster BH, Kritchevsky SB, Pahor M (2008) Exercise training and plasma C-reactive protein and interleukin-6 in elderly people. *J Am Geriatr Soc* 56:2045-2052

Nicklas BJ, Mychaleckyj J, Kritchevsky S, Palla S, Lange LA, Lange EM, Messier SP, Bowden D, Pahor M (2005) Physical function and its response to exercise: associations with cytokine gene variation in older adults with knee osteoarthritis. *Journal Gerontology A Biological Medical Science* 60A:1292-1298

Oberbach A, Lehmann S, Kirsch K, Krist J, Sonnabend M, Linke A, Tonjes A, Stumvoll M, Bluher M, Kovacs P (2008) Long-term exercise training decreases interleukin-6 (IL-6) serum levels in subjects with impaired glucose tolerance: effect of the -174G/C variant in IL-6 gene. *Eur J Endocrinol* 159:129-136

Oliveira DM, Narciso FM, Santos ML, Pereira DS, Coelho FM, Dias JM, Pereira LS (2008) Muscle strength but not functional capacity is associated with plasma interleukin-6 levels of community-dwelling elderly women. *Braz J Med Biol Res* 41:1148-1153

Olivieri F, Bonafè M, Cavallone L, Giovagnetti S, Marchegiani F, Cardelli M, Mugianesi E, Giampieri C, Moresi R, Stecconi R, Lisa R, Franceschi C (2002) The -174C/G locus affects in vitro/in vivo IL-6 production during aging. *Experimental Gerontology* 37:309-314

Pennix BWJH, Kritchevsky SB, Newman Ab, Nicklas BJ, Simonsick EM, Rubin S, Nevitt M, Visser M, Harris T, Pahor M (2004) Inflammatory Markers and Incident Mobility Limitation in the Elderly. *Journal of the American Geriatrics Society* 52:1105-1113

Pereira DS, Garcia DM, Narciso FM, Santos ML, Dias JM, Queiroz BZ, Souza ER, Nobrega OT, Pereira LS (2011) Effects of 174 G/C polymorphism in the promoter region of the interleukin-6 gene on plasma IL-6 levels and muscle strength in elderly women

5. Braz J Med Biol Res 44:123-129

Perry CD, Alekel DL, Ritland LM, Bhupathiraju SN, Stewart JW, Hanson LN, Matvienko OA, Kohut ML, Reddy MB, Van Loan MD, Genschel U (2008) Centrally located body fat is related to inflammatory markers in healthy postmenopausal women. *Menopause* 15:619-627

Petersen AMW, Pedersen BK (2005) The anti-inflammatory effect of exercise. *Journal of Applied Physiology* 98:1154-1162

Phillips MD, Flynn MG, McFarlin BK, Stewart LK, Timmerman KL (2010) Resistance training at eight-repetition maximum reduces the inflammatory milieu in elderly women

12. *Med Sci Sports Exerc* 42:314-325

Podsiadlo D, Richardson S (1991) The Timed Up & Go: a test of basic functional mobility for frail elderly persons. *Journal of the American Geriatrics Society* 39:142-148

Reid MB, Li Y-P (2001) Tumor necrosis factor- α and muscle wasting: a cellular perspective. *Respiratory Research* 2:269-272

Roth SM, Schrage MA, Lee MR, Metter EJ, Hurley BF, Ferrell RE (2003) Interleukin-6 (IL-6) genotype is associated with fat-free mass in men but not women. *Journal Gerontology A Biological Medical Science* 58A:1085-1088

Schaap LA, Pluijm SMF, Deeg DJH, Visser M (2006) Inflammatory Markers and Loss of Muscle Mass (Sarcopenia) and Strength. *The American Journal of Medicine* 119:526e9-526e17

Sjögren E, Leanderson P, Kristenson M, Ernerudh J (2006) Interleukin-6 levels in relation to psychosocial factors: Studies on serum, saliva, and in vitro production by blood mononuclear cells. *Brain, Behavior, and Immunity* 20:270-278

Stephens JW, Hurel SJH, Lowe GDO, Rumley A, Humphries SE (2007) Association between plasma IL-6, the IL-6 -174G>C gene variant and the metabolic syndrome in type 2 diabetes mellitus. *Molecular Genetics and Metabolism* 90:422-428

Tiainen K, Hurme M, Hervonen A, Luukkaala T, Jylha M (2010) Inflammatory markers and physical performance among nonagenarians. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 65:658-663

Turner DM, Williams DM, Sankaran D, Lazarus M, Sinnott PJ, Hutchinson IV (1997) An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *Eur J Immunogenet* 24:1-8

Uyemura K, Castle SC, Makinodan T (2002) The frailty elderly: role of dendritic cells in the susceptibility of infection. *Mechanisms of ageing and development* 123:955-962

VanSwearingen JM, Brach JS (2001) Making geriatric assessment work: selecting useful measures. *Physical Therapy* 81:1233-1252

Visser M, Goodpaster BH, Kritchevsky SB, Newman Ab, Nevitt M, Rubin SM, Simonsick EM, Harris TB (2005) Muscle mass, muscle strength, and muscle fat infiltration as predictors of incident mobility limitations in well-functioning older persons. *Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences* 60A:324-333

Vural P, Degirmencioglu S, Parildar-Karpuzoglu H, Dogru-Abbasoglu S, Hanagasi HA, Karadag B, Gurvit H, Emre M, Uysal M (2009) The combinations of TNFalpha-308 and IL-6

-174 or IL-10 -1082 genes polymorphisms suggest an association with susceptibility to sporadic late-onset Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand* 120:396-401

Webb GR, Westacott CI, Elson CJ (1998) Osteoarthritic synovial fluid and synovium supernatants up-regulate tumor necrosis factor receptors on human articular chondrocytes. *Osteoarthritis Cartilage* 6:167-176

Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, McDevitt HO, Duff GW (1997) Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94:3195-3199

Yesavage JA, Brink TL, Rose TL, Lum O, Huang V, Adey M (1982) Development and validation of a geriatric depression screening scale: a preliminary report. *Journal of Psychiatric Research* 17:37-49

Tabela 1: Características sócio-demográficas e clínicas das idosas de acordo com os grupos de exercício de fortalecimento muscular e aeróbico, antes da intervenção.

Variáveis	GF		GA		Valor de p
	<i>Média</i>	<i>DP</i>	<i>Média</i>	<i>DP</i>	
Idade (anos)	71,03	4,8	70,33	4,5	0,123
Escolaridade (anos)	6,12	4,17	6,71	4,42	0,144
MEEM	26,03	2,97	25,9	2,71	0,436
Nº de comorbidades	2,63	1,57	2,65	1,70	0,775
GDS (escores)	3,76	3,04	3,21	2,71	0,332
EEP (escores)	20,84	9,84	19,05	9,91	0,057
IMC (Kg/m²)	29,12	4,8	28,97	4,79	0,874

GF = Grupo de Fortalecimento Muscular; GA = Grupo de Treinamento Aeróbico; MEEM = Mini-Exame do Estado Mental; GDS = Escala de Depressão Geriátrica; EEP = Escala de Estresse Percebido; IMC = Índice de Massa Corporal.

Teste Mann Whitney, $\alpha = 5\%$.

Tabela 2: Frequência dos genótipos dos polimorfismos -308 A/G TNF- α , -174 G/C IL6 e -1082 A/G IL10 nos grupos de exercício de fortalecimento muscular e treinamento aeróbico

Genótipos	GF	GA	Amostra total	Valor p
TNF-α (-308G/A)				
GG	170 (74.2)	155 (70.5%)	325 (72.4%)	0.795
AA	4 (1.7%)	7 (3.2%)	11 (2.4%)	
AG	55 (24.0%)	58 (26.4%)	113 (25.2%)	
IL6 (-174G/C)				
GG	140 (61.1%)	117 (53.2%)	257 (57.2%)	0.096
CC	12 (5.2%)	14 (6.4%)	26 (5.8%)	
GC	77 (33.6%)	89 (40.5%)	166 (37.0%)	
IL10 (-1082G/C)				
GG	32 (14.0%)	27 (12.3%)	59 (13.1%)	0.413
AA	81 (35.4%)	87 (39.5%)	168 (37.4%)	
AG	116 (50.7%)	186 (48.2%)	222 (49.4%)	

GF = Grupo de Fortalecimento Muscular; GA = Grupo de Treinamento Aeróbico

Teste Mann Whitney, $\alpha = 5\%$.

Tabela 3: Parâmetros inflamatórios e funcionais no baseline e suas mudanças com o exercício de acordo com os genótipos dos polimorfismos dos genes TNF- α , IL6 -174 e IL10 -1082

Variáveis		TNF- α (-308G/A)*		IL6 (-174G/C)*		IL10 (-1082G/C)*	
		GG	AA + AG	GG	CC + CG	GG	AA + AG
sTNFR1	Baseline	1104,17 \pm 485,7	1186,03 \pm 668,6	1114,7 \pm 582,5	1142,8 \pm 486,4	1244,7 \pm 576,0	1108,9 \pm 536,2
	Delta	-42,4 \pm 292,9	-38,8 \pm 439,5	-17,6 \pm 350,7	-73,6 \pm 329,8	-18,8 \pm 327,0	-44,4 \pm 345,2
sTNFR2	Baseline	3362,5 \pm 1403,9	3360,1 \pm 1411,6	3340,1 \pm 1426,5	3390,9 \pm 1377,6	3869,6 \pm 1263,6	3285,0 \pm 1410,2
	Delta	-116,4 \pm 978,7	-19,4 \pm -117,7	-173,2 \pm 1032,8	29,5 \pm 1287,7	-275,5 \pm 1078,0	-61,3 \pm 1159,1
IL-6	Baseline	2,2 \pm 3,5	1,8 \pm 3,1	2,1 \pm 3,5	2,2 \pm 3,3	2,2 \pm 3,5	2,1 \pm 3,4
	Delta	0,13 \pm 2,5	0,09 \pm 1,8	0,2 \pm 2,3	0,03 \pm 2,3	-0,2 \pm 2,4	0,2 \pm 2,3
IL-10	Baseline	7,7 \pm 13,7	6,9 \pm 11,8	7,1 \pm 11,7	8,2 \pm 14,9	6,9 \pm 10,9	7,7 \pm 13,5
	Delta	-1,6 \pm 13,2	-0,1 \pm 5,4	-1,1 \pm 8,9	-1,3 \pm 14,2	-0,8 \pm 6,1	-1,2 \pm 11,9
TUG*	Baseline	10,4 \pm 1,8	10,3 \pm 1,8	10,4 \pm 1,8	10,3 \pm 1,7	10,6 \pm 1,8	10,3 \pm 1,7
	Delta	-1,5 \pm 5,4	-0,93 \pm 1,7	-1,1 \pm 1,9	1,7 \pm 6,8	-2,9 \pm 1,2	-1,1 \pm 1,7
Marcha	Baseline	5,0 \pm 0,95	4,9 \pm 1,1	4,9 10,3 \pm 0,9	5,1 \pm 1,0	5,2 \pm 0,7	5,0 \pm 1,0
	Delta	-0,37 \pm 0,81	-0,29 \pm 0,87	-0,2 \pm 0,8	-0,5 \pm 0,8	-0,36 \pm 0,8	-0,34 \pm 0,83

Dados apresentados como média e DP; ANCOVA, $\alpha = 5\%$. *Interação entre os polimorfismos e o efeito do exercício físico sobre o teste *Timed Up and Go*

Figura 1: Mudança no desempenho do teste TUG (delta) de acordo com os genótipos do polimorfismo do gene TNF- α -308 G/A

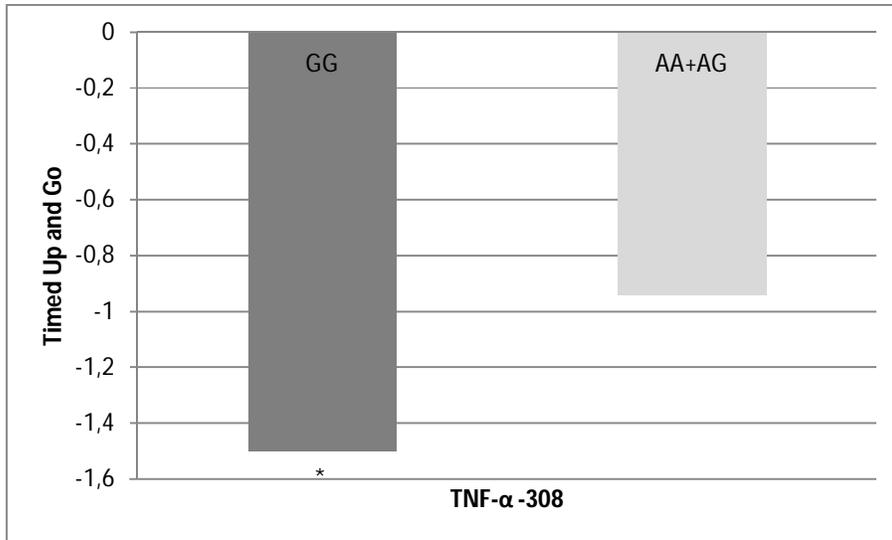
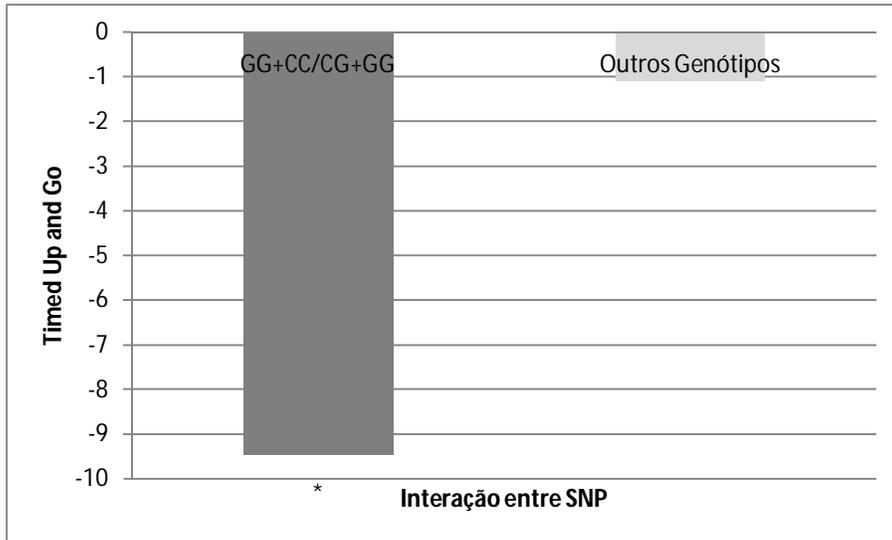


Figura 2: Interação entre os três polimorfismos dos genes TNF- α , IL6 -174 e IL10 -1082 nas mudanças desempenho do teste TUG (delta) decorrentes do exercício físico.



8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O envelhecimento constitui um processo heterogêneo e individual, podendo ser determinado por diversos fatores, desde a predisposição genética, condições de saúde, incluindo também influências ambientais. Nesse contexto, o envelhecimento implica na demanda de uma abordagem ampla, que gera a necessidade de estudos que identifiquem fatores relacionados a esse processo que sejam passíveis de controle e mudança, reduzindo seu impacto na funcionalidade e qualidade de vida da pessoa idosa.

O presente estudo se inseriu na proposta do Programa de Pós-graduação em Ciências da Reabilitação, que tem como fundamentação a estrutura conceitual do modelo biopsicossocial da Classificação Internacional de Funcionalidade, Incapacidade e Saúde (CIF). O estudo envolveu a abordagem tanto de alterações nos níveis de estrutura e função do corpo, decorrentes do envelhecimento, como as suas implicações nas atividades e participação do idoso na sociedade. Incluiu também a atuação do fisioterapeuta nesses domínios, por meio de intervenção terapêutica, e, ainda, as possíveis interações entre os diferentes componentes do modelo de funcionalidade/incapacidade.

Tanto o exercício de fortalecimento quanto o treinamento aeróbico apresentaram efeitos positivos sobre os sintomas depressivos na amostra estudada. Por outro lado apenas o programa de fortalecimento muscular promoveu o aumento dos níveis de BDNF, indicando que o efeito do exercício físico sobre os sintomas depressivos possivelmente não foram relacionados a ação do BDNF. Esses resultados sugerem que um padrão diferenciado de produção e liberação dessa neurotrofina em resposta ao exercício no indivíduo idoso.

Em relação às dosagens de mediadores inflamatórios, foi observado uma redução dos níveis plasmáticos dos receptores solúveis de TNF- α em resposta ao programa de fortalecimento muscular, mas sem alterações significativas para as citocinas IL-6 e IL-10. O treinamento aeróbico não afetou os níveis dos mediadores inflamatórios. Embora tenham ocorrido mudanças na composição corporal e fatores psicossociais, como sintomas depressivos e níveis de estresse percebido, estas variáveis não influenciaram as mudanças observadas nos níveis de sTNFR1, sTNFR2, IL-6 ou IL-10. Os programas de exercício de fortalecimento muscular e aeróbico foram efetivos para a melhora da capacidade funcional, não sendo

identificada influência dos níveis dos mediadores inflamatórios nos ganhos observados na funcionalidade das idosas.

Em conjunto, esses achados sugerem que o exercício de fortalecimento muscular pode ser a modalidade de exercício mais efetiva na abordagem terapêutica do idoso, considerando seus efeitos benéficos sobre os mediadores inflamatórios e níveis de BDNF em mulheres idosas. Entretanto, devemos considerar que em relação ao treinamento aeróbico a duração da intervenção pode não ter sido suficiente para promover mudanças significativas nas concentrações dos mediadores inflamatórios, apesar da melhora significativa da capacidade funcional e fatores psicossociais. Assim, futuros estudos devem ser conduzidos com o objetivo de determinar qual o período mínimo para obtenção de resultados benéficos do exercício físico sobre os mediadores inflamatórios e neurotrofinas na população idosa.

Ainda, é importante considerar que embora incluídas no contexto de um envelhecimento usual, as idosas que participaram do presente estudo eram fisicamente independentes, limitando a generalização dos resultados para idosos fragilizados e/ou com dependência funcional. Idosos funcionalmente dependentes ou fragilizados exibem um perfil inflamatório caracterizado por níveis de citocinas mais elevados e podem responder de forma diferenciada ao exercício físico.

No presente estudo houve uma interação significativa do polimorfismo -308 do gene do TNF- α e o efeito do exercício sobre a mobilidade das idosas, avaliada pelo TUG. Ainda, foi observada interação significativa entre os genótipos dos três polimorfismos e a melhora no desempenho do TUG em resposta ao exercício demonstrando que a combinação dos genótipos GG do TNF- α , CC+CG do IL6 -174 e GG do IL10 -1082 (baixa produção de TNF- α e IL-6 e alta produção de IL-10) influenciou a melhora da mobilidade quando comparado aos outros genótipos. No entanto, os SNPs analisados não influenciaram o efeito do exercício sobre os parâmetros inflamatórios.

A funcionalidade do idoso constitui um processo complexo, decorrente de uma relação dinâmica relacionada a interação entre componentes relacionados a estrutura e função do corpo, atividades e participação social, e também fatores contextuais (fatores ambientais ou pessoais). Os achados desta tese dão suporte à influência interativa de fatores genéticos e ambientais, como a prática de exercício físico, contribuindo para a melhora da capacidade funcional em idosas.

REFERÊNCIAS

1. CARVALHO, J. A. M.; RODRIGUEZ-WONG, L. L. A transição da estrutura etária da população brasileira na primeira metade do século XXI. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 3, p. 597-605, 2008.
2. WONG, L. L. R.; CARVALHO, J. A. O rápido processo de envelhecimento populacional do Brasil: sérios desafios para as políticas públicas. **Revista Brasileira de Estudos de População**, v. 26, n. 1, p. 5-26, 2006.
3. FRANCESCHI, C.; BONAFÈ, M. Centenarians as a model for healthy aging. **Biochemical Society Transactions**, v. 31, p. 457-461, 2003.
4. FRANCESCHI, C. *et al.* Inflamm-aging. **Annals New York Academy of Sciences**, v. 908, p. 244-254, 2000.
5. LIMA, L.; BUENO, C. Envelhecimento e gênero: a vulnerabilidade de idosas no Brasil. **Revista de Saude e Pesquisa**, v. 2, n. 2, p. 273-280, 2009.
6. KRABBE, K. S. *et al.* Inflammatory mediators in the elderly. **Experimental Gerontology**, v. 39, n. 5, p. 687-699, 2004.
7. GRIMBLE, R. F. Inflammatory response in the elderly. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 6, p. 21-29, 2003.
8. MAGGIO, M. *et al.* Interleukin-6 in aging and chronic disease: a magnificent pathway. **Journal of Gerontology Medical Sciences**, v. 61A, n. 6, p. 575-584, 2006.
9. GALLUCCI, M. *et al.* Associations of the plasma interleukin-6 (IL-6) levels with disability and mortality in the elderly in the Treviso Longeva (TRELONG) Study. **Archives of Gerontology and Geriatrics**, Suppl., v. 1, p. 193-198, 2007.
10. CESARI, M. *et al.* Inflammatory markers and physical performance in older persons: the InCHIANTI Study. **Journal of Gerontology Medical Sciences**, v. 59A, n. 3, p. 242-248, 2004.

11. ROUBENOFF, R *et al.* Cytokines, insulin-like growth factor 1, sarcopenia, and mortality in very old community-dwelling men and women: the Framingham Heart Study. **American Journal of Medicine**, v. 115, n. 6, p. 429-435, 2003.
12. WALSTON, J. *et al.* Il-6 gene variation is not associated with increase serum levels of IL-6, muscle, weakness, or frailty in older women. **Experimental Gerontology**, v. 40, p. 344-352, 2005.
13. TIAINEN, K. *et al.* Inflammatory markers and physical performance among nonagenarians. **Journal of Gerontology Medical Sciences**, v. 65, n. 6, p. 658-663, June 2010.
14. DE GONZALO-CALVO, D. *et al.* Interleukin 6, soluble tumor necrosis factor receptor I and red blood cell distribution width as biological markers of functional dependence in an elderly population: A translational approach. **Cytokine**, 4 Feb. 2012.
15. SCHAAP, L. A. *et al.* Inflammatory markers and loss of muscle mass (sarcopenia) and strength. **The American Journal of Medicine**, v. 119, n. 6, p. 526e9-526e17, 2006.
16. BRINKLEY, T. E. *et al.* Chronic inflammation is associated with low physical function in older adults across multiple comorbidities. **Journal of Gerontology Medical Sciences**, v. 64, n. 4, p. 455-461, Apr. 2009.
17. ROUBENOFF, R. Catabolism of aging: is it an inflammatory process? **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 6, n. 3, p. 295-299, 2003.
18. ROUBENOFF, R. Physical activity, inflammation, and muscle loss. **Nutrition reviews**, v. 65, n. 12 Pt 2, p. S208-S212, Dec. 2007.
19. VISSER, M. *et al.* Relationship of Interleukin-6 and tumor necrosis factor- α with muscle mass and muscle strength in elderly men and women: the Health ABC Study. **Journal of Gerontology Medical Sciences**, v. 57A, n. 5, p. M326-M332, 2002.
20. MAKHATADZE, N. J. Tumor necrosis factor locus: genetic organisation and biological implications. **Human immunology**, v. 59, n. 9, p. 571-579, Sept. 1998.

21. ADERKA, D. *et al.* Variation in serum levels of the soluble TNF receptors among healthy individuals. **Lymphokine and cytokine research**, v. 11, n. 3, p. 157-159, June 1992.
22. COELHO, F. M. *et al.* Increased serum levels of inflammatory markers in chronic institutionalized patients with schizophrenia. **Neuroimmunomodulation**, v. 15, n. 2, p. 140-144, 2008.
23. PENNIX, B. W. J. H. *et al.* Inflammatory markers and incident mobility limitation in the elderly. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 52, n. 7, p. 1105-1113, 2004.
24. REID, M. B.; LI, Y.-P. Tumor necrosis factor- α and muscle wasting: a cellular perspective. **Respiratory Research**, v. 2, n. 5, p. 269-272, 2001.
25. ERSHLER, W. B.; KELLER, E. T. Age-associated increased interleukin-6 gene expression, late-life diseases, and frailty. **Annual Review of Medicine**, v. 51, p. 245-270, 2000.
26. FEBBRAIO, M. A.; PEDERSEN, B. K. Muscle-derived interleukin-6: mechanisms for activation and possible biological roles. **FASEB Journal**, v. 16, p. 1335-1347, 2002.
27. MOORE, K. W. *et al.* Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. **Annual Review of Immunology**, v. 19, p. 683-765, 2001.
28. HEMPEL, L. *et al.* Interleukin-10 directly inhibits the interleukin-6 production in T-Cells. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 41, p. 462-466, 1995.
29. BIDWELL, J. *et al.* Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line database. **Genes and Immunity**, v. 1, p. 3-19, 1999.
30. DUMAN, R. S. Neurotrophic factors and regulation of mood: role of exercise, diet and metabolism. **Neurobiology Aging**, v. 26, n. 1, p. 88-93, Dec. 2005.
31. MURER, M. G. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor in the control human brain, and in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. **Progress in neurology and psychiatry**, v. 63, n. 1, p. 71-124, Jan. 2001.

32. HU, Y.; RUSSEK, S. J. BDNF and the diseased nervous system: a delicate balance between adaptive and pathological processes of gene regulation. **Journal of neurochemistry**, v. 105, n. 1, p. 1-17, Apr. 2008.
33. SCALZO, P. *et al.* Serum levels of brain-derived neurotrophic factor correlate with motor impairment in Parkinson's disease. **Journal of neurology**, v. 257, n. 4, p. 540-545, Apr. 2010.
34. DINIZ, B. S.; TEIXEIRA, A. L. Brain-derived neurotrophic factor and Alzheimer's disease: physiopathology and beyond. **Neuromolecular medicine**, v. 13, n. 4, p. 217-222, Dec. 2011.
35. YASUTAKE, C. *et al.* Serum BDNF, TNF- α and IL-1beta levels in dementia patients: comparison between Alzheimer's disease and vascular dementia. **European archives of psychiatry and clinical neuroscience**, v. 256, n. 7, p. 402-406, Oct. 2006.
36. FORLENZA, O. V. *et al.* Diagnosis and biomarkers of predementia in Alzheimer's disease. **BMC Medicine**, v. 8, p. 89, 2010.
37. DINIZ, B. S. *et al.* Serum brain-derived neurotrophic factor level is reduced in antidepressant-free patients with late-life depression. **The world journal of biological psychiatry**, v. 11, n. 3, p. 550-555, Apr. 2010.
38. LASKE, C. *et al.* Exercise-induced normalization of decreased BDNF serum concentration in elderly women with remitted major depression. **The international journal of neuropsychopharmacology**, v. 13, n. 5, p. 595-602, June 2010.
39. ALEXOPOULOS, G. S. Depression in the elderly. **Lancet**, v. 365, n. 9475, p. 1961-1970, 4 June 2005.
40. ALEXOPOULOS, G. S. *et al.* Assessment of late life depression. **Biological psychiatry**, v. 52, n. 3, p. 164-174, 1 Aug. 2002.
41. BUS, B. A. *et al.* Serum brain-derived neurotrophic factor: Determinants and relationship with depressive symptoms in a community population of middle-aged and elderly people. **The world journal of biological psychiatry**, v. 13, n. 1, p. 39-47, Jan. 2012.

42. KOMULAINEN, P. *et al.* BDNF is a novel marker of cognitive function in ageing women: the DR's EXTRA Study. **Neurobiology of learning and memory**, v. 90, n. 4, p. 596-603, Nov. 2008.
43. KRABBE, K. S. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor predicts mortality risk in older women. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 57, n. 8, p. 1447-1452, Aug. 2009.
44. LAMPINEN, P.; HEIKKINEN, E. Reduced mobility and physical activity as predictors of depressive symptoms among community-dwelling older adults: an eight-year follow-up study. **Aging clinical and experimental research**, v. 15, n. 3, p. 205-211, June 2003.
45. KERSE, N. *et al.* Home-based activity program for older people with depressive symptoms: DeLLITE - a randomized controlled trial. **Annals of family medicine**, v. 8, n. 3, p. 214-223, May 2010.
46. COTMAN, C. W.; BERCHTOLD, N. C. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. **Trends in neurosciences**, v. 25, n. 6, p. 295-301, June 2002.
47. LIU-AMBROSE, T.; DONALDSON, M. G. Exercise and cognition in older adults: is there a role for resistance training programmes?. **British journal of sports medicine**, v. 43, n. 1, p. 25-27, Jan. 2009.
48. COELHO, F. M. *et al.* Physical therapy intervention (PTI) increases plasma brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in non-frail and pre-frail elderly women. **Archives of gerontology and geriatrics**, 16 June 2011.
49. ZOLADZ, J. A.; PILC, A. The effect of physical activity on the brain derived neurotrophic factor: from animal to human studies. **Journal of physiology and pharmacology**, v. 61, n. 5, p. 533-541, Oct. 2010.
50. GOEKINT, M. *et al.* Strength training does not influence serum brain-derived neurotrophic factor. **European journal of applied physiology**, v. 110, n. 2, p. 285-293, Sept. 2010.
51. YARROW, J. F. *et al.* Training augments resistance exercise induced elevation of circulating brain derived neurotrophic factor (BDNF). **Neuroscience letters**, v. 479, n. 2, p. 161-165, 26 July 2010.

52. FERRIS, L. T. *et al.* The effect of acute exercise on serum brain-derived neurotrophic factor levels and cognitive function. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 39, n. 4, p. 728-734, Apr. 2007.
53. LEVINGER, I. *et al.* BDNF, metabolic risk factors, and resistance training in middle-aged individuals. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 40, n. 3, p. 535-541, Mar. 2008.
54. MAAT, M. P. M. *et al.* Genetic influence on inflammation variables in the elderly. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 24, p. 2168-2173, 2004.
55. LIO, D. *et al.* Inflammation, genetics, and longevity: further studies on the protective effects in men of IL-10 -1082 promoter SNP and its interaction with TNF- α -308 promoter SNP. **Journal of medical genetics**, v. 40, n. 4, p. 296-299, Apr. 2003.
56. STEPHENS, J. W. *et al.* Association between plasma IL-6, the IL-6 -174G>C gene variant and the metabolic syndrome in type 2 diabetes mellitus. **Molecular Genetics and Metabolism**, v. 90, p. 422-428, 2007.
57. VURAL, P. *et al.* The combinations of TNF α -308 and IL-6 -174 or IL-10 -1082 genes polymorphisms suggest an association with susceptibility to sporadic late-onset Alzheimer's disease. **Acta neurologica Scandinavica**, v. 120, n. 6, p. 396-401, Dec. 2009.
58. KARIMI, M. *et al.* A critical assessment of the factors affecting reporter gene assays for promoter SNP function: a reassessment of -308 TNF polymorphism function using a novel integrated reporter system. **European journal of human genetics**, v. 17, n. 11, p. 1454-1462, Nov. 2009.
59. OLIVIERI, F. *et al.* The -174C/G locus affects in vitro/in vivo IL-6 production during aging. **Experimental Gerontology**, v. 37, p. 309-314, 2002.
60. GIACCONI, R. *et al.* The -174G/C polymorphism of IL-6 is useful to screen old subjects at risk for atherosclerosis or to reach successful ageing. **Experimental Gerontology**, v. 39, p. 621-628, 2004.
61. PEREIRA, D. S. *et al.* Effects of 174 G/C polymorphism in the promoter region of the interleukin-6 gene on plasma IL-6 levels and muscle strength in elderly women. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 44, n. 2, p. 123-129, Feb. 2011.

62. TURNER, D. M. *et al.* An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. **European journal of immunogenetics**, v. 24, n. 1, p. 1-8, Feb. 1997.
63. HUIZINGA, T. W. *et al.* Are differences in interleukin 10 production associated with joint damage? **Rheumatology** (Oxford), v. 39, n. 11, p. 1180-1188, Nov. 2000.
64. FRANCESCHI, C. *et al.* Neuroinflammation and the genetics of Alzheimer's disease: the search for a pro-inflammatory phenotype. **Ageing** (Milano.), v. 13, n. 3, p. 163-170, June 2001.
65. REA, I. M. *et al.* Interleukin-6-gene C/G 174 polymorphism in nonagenarian and octogenarian subjects in the BELFAST study. Reciprocal effects on IL-6, soluble IL-6 receptor and for IL-10 in serum and monocyte supernatants. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 124, p. 555-561, 2003.
66. DI, B. D. *et al.* Effect of interleukin-6 polymorphisms on human longevity: a systematic review and meta-analysis. **Ageing research reviews**, v. 8, n. 1, p. 36-42, Jan. 2009.
67. CEDERHOLM, T. *et al.* Polymorphisms in cytokine genes influence long-term survival differently in elderly male and female patients. **Journal of internal medicine**, v. 262, n. 2, p. 215-223, Aug. 2007.
68. PANTSULAIA, I. *et al.* Genetic and environmental influences on IL-6 and TNF plasma levels in apparently healthy general population. **Cytokine**, v. 19, n. 3, p. 138-146, 2002.
69. HARRIS, T. B. *et al.* Age, gene/environment susceptibility-Reykjavik Study: multidisciplinary applied phenomics. **American Journal of Epidemiology**, v. 165, n. 9, p. 1076-1087, 2007.
70. BOOTH, F. W. *et al.* Exercise and gene expression: physiological regulation of the human genome through physical activity. **Journal of Physiology**, v. 543, n. 2, p. 399-411, 2002.
71. BEAVERS, K. M. *et al.* Effect of exercise training on chronic inflammation. **Clinica chimica acta**, v. 411, n. 11-12, p. 785-793, 3 June 2010.

72. COLBERT, L. H. *et al.* Physical activity, exercise, and inflammatory markers in older adults: findings from the Health, Aging and Body Composition Study. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 52, n. 7, p. 1098-1104, 2004.
73. PEDERSEN, B. K.; BRUUNSGAARD, H. Possible beneficial role of exercise in modulating low-grade inflammation in the elderly. **Scandinavian journal of medicine and science in sports**, v. 13, n. 1, p. 56-62, Feb. 2003.
74. PETERSEN, A. M. W.; PEDERSEN, B. K. The anti-inflammatory effect of exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 98, p. 1154-1162, 2005.
75. KOHUT, M. L. *et al.* Aerobic exercise, but not flexibility/resistance exercise, reduces serum IL-18, CRP, and IL-6 independent of blockers, BMI, and psychosocial factors in older adults. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 20, p. 201-209, 2006.
76. OSTROWSKI, K. *et al.* Physical activity and plasma interleukin-6 in humans-effect of intensity of exercise. **European journal of applied physiology**, v. 83, n. 6, p. 512-515, Dec. 2000.
77. PEDERSEN, B. K. *et al.* Muscle-derived interleukin-6: lipolytic, anti-inflammatory and immune regulatory effects. **Pflügers Archiv**, v. 446, n. 1, p. 9-16, Apr. 2003.
78. PEDERSEN, B. K. *et al.* Muscle-derived interleukin-6: possible biological effects. **Journal of Physiology**, v. 536, n. 2, p. 329-337, 2001.
79. PEDERSEN, B. K.; FEBBRAIO, M. A. Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6. **Physiological reviews**, v. 88, n. 4, p. 1379-1406, Oct. 2008.
80. FEBBRAIO, M. A.; PEDERSEN, B. K. Contraction-induced myokine production and release: is skeletal muscle an endocrine organ? **Exercise and sport sciences reviews**, v. 33, n. 3, p. 114-119, July 2005.
81. GREIWE, J. S. *et al.* Resistance exercise decreases skeletal muscle tumor necrosis factor α in frail elderly humans. **FASEB Journal**, v. 15, p. 475-482, 2001.
82. NICKLAS, B. J. *et al.* Diet-induced weight loss, exercise, and chronic inflammation in older, obese adults: a randomized controlled clinical trial. **The American journal of clinical nutrition**, v. 79, n. 4, p. 544-551, Apr. 2004.

83. NICKLAS, B. J. *et al.* Exercise training and plasma C-reactive protein and interleukin-6 in elderly people. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 56, n. 11, p. 2045-2052, Nov. 2008.
84. PHILLIPS, M. D. *et al.* Resistance training at eight-repetition maximum reduces the inflammatory milieu in elderly women 12. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 42, n. 2, p. 314-325, Feb. 2010.
85. OBERBACH, A. *et al.* Long-term exercise training decreases interleukin-6 (IL-6) serum levels in subjects with impaired glucose tolerance: effect of the -174G/C variant in IL-6 gene. **European journal of endocrinology**, v. 159, n. 2, p. 129-136, Aug. 2008.
86. FERRUCCI, L. *et al.* Change in muscle strength explains accelerated decline of physical function in older women with high interleukin-6 serum Levels. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 50, n. 12, p. 1947-1954, 2002.
87. GU, M. O.; CONN, V. S. Meta-analysis of the effects of exercise interventions on functional status in older adults. **Research in nursing and health**, v. 31, n. 6, p. 594-603, Dec. 2008.
88. LATHAM, N. K. *et al.* Systematic review of progressive resistance strength training in older adults. **Journal of Gerontology Medical Sciences**, v. 59, n. 1, p. 48-61, Jan. 2004.
89. CARMELLI, D. *et al.* The contribution of genetic influences to measures of lower-extremity function in older male twins. **Journal of Gerontology Medical Sciences**, v. 55, p. B49-B53, 2000.
90. LIU, D. *et al.* TNF promoter polymorphisms associated with muscle phenotypes in humans. **Journal of applied physiology**, v. 105, n. 3, p. 859-867, Sept. 2008.
91. NICKLAS, B. J. *et al.* Physical function and its response to exercise: associations with cytokine gene variation in older adults with knee osteoarthritis. **Journal of Gerontology Medical Sciences**, v. 60A, n. 10, p. 1292-1298, 2005.
92. CHODZKO-ZAJKO, W. J. *et al.* American college of sports medicine position stand exercise and physical activity for older adults. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 41, n. 7, p. 1510-1530, July 2009.

93. FOLSTEIN, M. F. *et al.* Minimental state. A practical method for grading the cognitive status of patients for the clinician. **Journal of psychiatric research**, v. 12, p. 189-198, 1975.
94. BERTOLUCCI, P. H. *et al.* O Mini-exame do estado mental em uma população geral: impacto da escolaridade. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 52, n. 1, p. 1-7, 1994.
95. PODSIADLO, D.; RICHARDSON, S. The Timed Up & Go: a test of basic functional mobility for frail elderly persons. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 39, p. 142-148, 1991.
96. VANSWEARINGEN, J. M.; BRACH, J. S. Making geriatric assessment work: selecting useful measures. **Physical Therapy**, v. 81, p. 1233-1252, 2001.
97. WHITNEY, S. L. *et al.* Clinical measurement of sit-to-stand performance in people with balance disorders: validity of data for the Five-Times-Sit-to-Stand test. **Physical Therapy**, v. 85, n. 10, p. 1034-1045, 2005.
98. BOHANNON, R. W. Reference values for the Timed Up and Go Test: A descriptive Meta-Analysis. **Journal of Geriatric Physical Therapy**, v. 29, p. 64-68, 2006.
99. GURALNIK, J. M. *et al.* Lower-extremity function in persons over the age of 70 years as a predictor of subsequent disability. **New England Journal of Medicine**, v. 332, p. 556-561, 1995.
100. MCCARTHY, E. K. *et al.* Repeated chair stands as a measure of lower limb strength in sexagenarian women. **Journal of Gerontology Medical Sciences**, v. 59, n. 11, p. 1207-1212, Nov. 2004.
101. DROUIN, J. M. *et al.* Reliability and validity of the Biodex system 3 pro isokinetic dynamometer velocity, torque and position measurements. **European Journal of Applied Physiology**, v. 91, n. 1, p. 22-29, 2004.
102. PERRIN, D. H. **Isokinetic Exercise and Assessment**. United States of America: Ed. Human kinetics Publishers, 1993. 212 p.

103. SOLWAY, S. *et al.* A qualitative systematic overview of the measurement properties of functional walk tests used in the cardiorespiratory domain. **Chest**, v. 119, n. 1, p. 256-270, Jan. 2001.
104. ENRIGHT, P.L. The six-minute walk test. **Respiratory Care**, v. 48, n. 8, p. 783-785, Aug. 2003.
105. HANS, T. S. *et al.* Waist circumference action levels in the identification of cardiovascular risk factors: prevalence study in a random sample. **British Medical Journal**, v. 311, p. 1401-1405, 1995.
106. GOUIN, J.P. *et al.* Immune dysregulation and chronic stress among older adults: a review. **Neuroimmunomodulation**, v. 15, n. 4-6, p. 251-259, 2008.
107. SJÖGREN, E. *et al.* Interleukin-6 levels in relation to psychosocial factors: studies on serum, saliva, and in vitro production by blood mononuclear cells. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 20, n. 3, p. 270-278, 2006.
108. YESAVAGE, J. A. *et al.* Development and validation of a geriatric depression screening scale: a preliminary report. **Journal of Psychiatric Research**, v. 17, p. 37-49, 1982.
109. ALMEIDA, O. P.; ALMEIDA, S. A. Confiabilidade da versão brasileira da Escala de Depressão em Geriatria (GDS) versão reduzida. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 57, n. 2B, p. 421-426, 1999.
110. LUFT, C.D. *et al.* Brazilian version of the Perceived Stress Scale: translation and validation for the elderly. **Revista de Saude Publica**, v. 41, n. 4, p. 606-615, Aug. 2007.
111. LUSTOSA, L.P. *et al.* The effects of a muscle resistance program on the functional capacity, knee extensor muscle strength and plasma levels of IL-6 and TNF-alpha in pre-frail elderly women: a randomized crossover clinical trial - a study protocol. **Trials**, v. 11, p. 82, 2010.
112. DVIR, Z. **Isocinética: Avaliações Musculares, Interpretações e Aplicações Clínicas**. 1ª ed. São Paulo: Manole, 2002.

113. KEATING, J. L.; MATYAS, T. A. The influence of subject and test design on dynamometric measurements of extremity muscles. **Physical Therapy**, v. 76, n. 8, p. 866-898, 1996.

114. DEAN, J. C. *et al.* Age-related changes in maximal hip strength and movement speed. **Journal of Gerontology Medical Sciences**, v. 59A, n. 3, p. 286-292, 2004.

APÊNDICE A

Avaliação Inicial

Data: ___/___/___; Nome: _____

Endereço: Rua: _____ Nº: _____

Bairro: _____; CEP: _____; Cidade: _____

Telefones p/ contato: _____

Idade: _____ anos; Data de Nascimento: ___/___/___

Qual é o seu estado civil?

- | | |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> 1. Casado/Vive com companheiro | <input type="checkbox"/> 3. Divorciado(a), separado(a) |
| <input type="checkbox"/> 2. Solteiro(a) | <input type="checkbox"/> 4. Viúvo(a) |

Qual a sua cor ou raça?:

- | | |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> 1. Branca | <input type="checkbox"/> 3. Mulata/cabocla/Parda |
| <input type="checkbox"/> 2. Preta/Negra | <input type="checkbox"/> 4. Amarela/Oriental |
| <input type="checkbox"/> 5. Indígena | |

Qual foi sua profissão durante a maior parte da vida adulta? _____

A sra é capaz de ler e escrever um bilhete simples? (se a pessoa responder que aprendeu a ler e escrever, mas esqueceu, ou que só é capaz de assinar o próprio nome, marcar não)

- | | |
|---------------------------------|---------------------------------|
| <input type="checkbox"/> 1. Sim | <input type="checkbox"/> 2. Não |
|---------------------------------|---------------------------------|

Até que ano da escola a sra estudou?

- 1. Nunca foi a escola (nunca chegou a concluir a 1ª série primária ou curso de alfabetização de adultos)
- 2. Curso de alfabetização de adultos
- 3. Primário (atual nível fundamental – 1ª a 4ª série)
- 4. Ginásio (atual nível fundamental – 5ª a 8ª série)
- 5. Científico, clássico, (atuais: curso colegial ou normal, magistério, curso técnico)
- 5. Curso Superior
- 6. Pós-graduação, com obtenção de título de Mestre ou Doutor

Quantos anos de escola? _____

A sra tem filhos?

1. Sim; Quantos? _____ 2. Não

Quem mora com a sra?

1. Sozinho
 2. Com o cônjuge ou companheiro
 3. Com filhos ou enteados
 4. Com netos
 5. Com bisnetos
 6. Com outros parentes
 7. Com amigo(s)
 8. Acompanhantes, cuidadores, empregada doméstica

SAÚDE FÍSICA PERCEBIDA

No último ano, algum médico já disse que a sra tem os seguintes problemas de saúde?

Doença do coração como angina, infarto do miocárdio ou ataque cardíaco?

1. Sim 2. Não

Pressão alta – hipertensão?

1. Sim 2. Não

Derrame / AVC / isquemia?

1. Sim 2. Não

Diabetes Mellitus?

1. Sim 2. Não

Tumor maligno / Câncer?

1. Sim 2. Não

Artrite ou reumatismo?

1. Sim 2. Não

Doença do pulmão (bronquite ou enfisema)?

1. Sim 2. Não

Depressão?

1. Sim 2. Não

Osteoporose?

1. Sim 2. Não

Incontinência Urinária?

1. Sim 2. Não

Doença de Parkinson?

1. Sim 2. Não

Labirintite?

1. Sim

2. Não

USO DE MEDICAMENTOS

Quantos medicamentos a senhora tem usado de forma regular nos últimos 3 meses, receitados pelo médico ou por conta própria? _____

Quais os nomes da(s) medicação(ões) senhora usa? COLOCAR DOSAGENS

A senhora fuma?

1. Nunca fumou

3. Fuma. Há quanto tempo? _____

2. Já fumou e largou

A senhora consome bebidas alcoólicas?

1. Nunca

4. 2 – 3 vezes por semana

2. Uma vez por mês ou menos

4 ou mais vezes por semana

3. 2 – 4 vezes por mês

ATIVIDADE FÍSICA

O(a) Sr(a) realiza alguma atividade física de forma regular?

() sim

1. Hidroginástica 1x () 2x () 3x ()

2. Caminhada 1x () 2x () 3x ()

3. Exercícios clubes/academias/igreja, etc 1x () 2x () 3x ()

4. Outros: _____ 1x () 2x () 3x ()

() não

MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS

Agora faremos algumas medidas:

Peso	
Altura	
Circunferência Cintura	
Circunferência Quadril	

APÊNDICE B

Questionário

Data: ____/____/____; Entrevistador: _____

Nome: _____

Telefones p/ contato: _____

Números de moradores (excluindo empregados domésticos):

- | | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> 1. Um (mora só); | <input type="checkbox"/> 4. Quatro; |
| <input type="checkbox"/> 2. Dois; | <input type="checkbox"/> 5. Cinco; |
| <input type="checkbox"/> 3. Três; | <input type="checkbox"/> 6. Outros: _____ |

Composição familiar:

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> 1. Uma geração; | <input type="checkbox"/> 4. Mora só; |
| <input type="checkbox"/> 2. Duas gerações; | <input type="checkbox"/> 5. Outros: _____ |
| <input type="checkbox"/> 3. Três gerações; | |

Renda familiar:

- | | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> 1. 1 salário mínimo; | <input type="checkbox"/> 4. 4 salários mínimos; |
| <input type="checkbox"/> 2. 2 salários mínimos; | <input type="checkbox"/> 5. 5 ou mais salários |
| <input type="checkbox"/> 3. 3 salários mínimos; | <input type="checkbox"/> 6. Outros: _____ |

Renda própria:

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> 1. Não; | |
| <input type="checkbox"/> 2. Sim | |
| <input type="checkbox"/> 1. Aposentadoria; | <input type="checkbox"/> 3. Aposentadoria e pensão; |
| <input type="checkbox"/> 2. Pensão; | <input type="checkbox"/> 4. |
| | Outros: _____; |

O(a) senhor(a) exerce atividade remunerada atualmente?

- | | |
|----------------------------------|---|
| <input type="checkbox"/> 1. Não; | <input type="checkbox"/> 2. Sim; Qual? _____; |
|----------------------------------|---|

Tem algum plano ou seguro de saúde?

- | | | |
|---------------------------------|---------------------------------|---|
| <input type="checkbox"/> 1. Não | <input type="checkbox"/> 2. Sim | <input type="checkbox"/> 3. Não respondeu |
|---------------------------------|---------------------------------|---|

O senhor(a) já realizou alguma cirurgia?

1. Não; 2. Sim;

Qual o motivo? _____

No último ano, o(a) senhor(a) consultou algum médico?

1. Não
 2. Sim
 1. Clínico 3. Ginecologista
 2. Oftalmologista 4. Outros: _____

O(a) senhor(a) realiza fisioterapia ou outro tipo de atividade de reabilitação (Terapia Ocupacional; Fonoaudiologia)?

1. Não
 2. Sim Quantas sessões por semana? _____

Qual o tipo de tratamento realizado? _____

O(a) senhor(a) já realizou fisioterapia ou algum tratamento para reabilitação?

1. Não; 3. Não se lembra;
 2. Sim; Quando? Motivo? _____

Lazer:

O(a) senhor(a) realiza atividades de lazer?

- 1.() Não;
 2.() Sim. Quais? Qual a freqüência? _____
 3.() Qual o seu lazer predileto? _____

Atividades Religiosas:

O(a) senhor(a) participa de atividades religiosas?

1. Não;
 2. Sim; Qual a freqüência? _____

Bem estar subjetivo:

Como sua saúde é de modo geral:

1. Ruim 2. Mais ou menos 3. Boa

Como é a sua saúde, em comparação com a de outras pessoas da sua idade:

1. Ruim 2. Mais ou menos 3. Boa

Satisfação global com a vida

O(a) senhor(a) está satisfeito(a) com a sua vida hoje?

1. Pouco 2. Mais ou menos 3. Muito

Comparando-se com outras pessoas que tem a sua idade, o(a) senhor(a) diria que está satisfeito(a) com a sua vida?

1. Pouco 2. Mais ou menos 3. Muito

TESTES FUNCIONAIS**TUG:**

1ª medida: _____

Velocidade de caminhada (10 metros):**Velocidade Normal:**

1ª medida: _____

Velocidade Rápida:

1ª medida: _____

Teste de sentar e levantar da cadeira

1ª medida: _____

TESTE DE CAMINHADA DE 6 MINUTOS

PA inicial: _____ FC inicial: _____;

Nº de voltas: _____

FC	1º minuto	2º minuto	3º minuto	4º minuto	5º minuto	6º minuto

PA final: _____ FC final: _____;

Borg:

Falta de ar: _____; Cansaço nas pernas: _____;

Distância percorrida: _____.

ESCALA DE ESTRESSE PERCEBIDO

As questões nesta escala perguntam sobre seus sentimentos e pensamentos durante o **último mês**. Em cada caso, será pedido para você indicar o quão freqüentemente você tem se sentido de uma determinada maneira.

NESSE ÚLTIMO MÊS, COM QUE FREQUÊNCIA.....

		nunca	quase nunca	às vezes	quase sempre	sempre
1	Você tem ficado triste por causa de algo que aconteceu inesperadamente?	0	1	2	3	4
2	Você tem se sentido incapaz de controlar as coisas importantes em sua vida?	0	1	2	3	4
3	Você tem se sentido nervoso e “estressado”?	0	1	2	3	4
4	Você tem tratado com sucesso dos problemas difíceis da vida?	4	3	2	1	0
5	Você tem sentido que está lidando bem as mudanças importantes que estão ocorrendo em sua vida?	4	3	2	1	0
6	Você tem se sentido confiante na sua habilidade de resolver problemas pessoais?	4	3	2	1	0
7	Você tem sentido que as coisas estão acontecendo de acordo com a sua vontade?	4	3	2	1	0
8	Você tem achado que não conseguiria lidar com todas as coisas que você tem que fazer?	0	1	2	3	4
9	Você tem conseguido controlar as irritações em sua vida?	4	3	2	1	0
10	Você tem sentido que as coisas estão sob o seu controle?	4	3	2	1	0
11	Você tem ficado irritado porque as coisas que acontecem estão fora do seu controle?	0	1	2	3	4
12	Você tem se encontrado pensando sobre as coisas que deve fazer?	0	1	2	3	4
13	Você tem conseguido controlar a maneira como gasta seu tempo?	4	3	2	1	0
14	Você tem sentido que as dificuldades se acumulam a ponto de você acreditar que não pode superá-las?	0	1	2	3	4

ESCALA DE DEPRESSÃO GERIÁTRICA

Questões	não	sim
1. Você está basicamente satisfeito com sua vida?	1	0
2. Você deixou muitos de seus interesses e atividades?	0	1
3. Você sente que sua vida está vazia?	0	1
4. Você se aborrece com frequência?	0	1
5. Você se sente de bom humor a maior parte do tempo?	1	0
6. Você tem medo que algum mal vá lhe acontecer?	0	1
7. Você se sente feliz a maior parte do tempo?	1	0
8. Você sente que sua situação não tem saída?	0	1
9. Você prefere ficar em casa a sair e fazer coisas novas?	0	1
10. Você se sente com mais problemas de memória do que a maioria?	0	1
11. Você acha maravilhoso estar vivo?	1	0
12. Você se sente um inútil nas atuais circunstâncias?	0	1
13. Você se sente cheio de energia?	1	0
14. Você acha que sua situação é sem esperanças?	0	1
15. Você sente que a maioria das pessoas está melhor que você?	0	1

APÊNDICE C

Protocolo de extração de DNA (precipitação protéica com fenol-clorofórmio)

1º DIA:

1. Colocar 500 µl de sangue em um tubo de 1,5 ml
2. Adicionar 1000 µl de Tampão de lavagem (10 mM Tris HCl pH 7.6, 5 mM MgCl₂, 10 mM NaCl), homogeneizar manualmente
3. Centrifugar a 13000 rpm por 2 minutos
4. Desprezar o sobrenadante e repetir os passos 2 e 3 até que o precipitado se apresente claro – 2 a 3 vezes
5. Adicionar 500 µl de Tampão de Lavagem e ressuspender o *pellet*
6. Adicionar 25 µl de Sulfato Duodecil de Sódio (SDS) a 10%, e 12,5 µl de proteinase K a 20 mg/ml e homogeneizar
7. Incubar a 37°C por toda a noite

2º DIA

8. Adicionar 500 µl de Fenol-Cloroformio-Álcool isoamílico (na proporção de 25:24:1), homogeneizar por 3 minutos (*inverter lentamente o tubo*)
9. Centrifugar a 13000 rpm por 5 minutos (*formação de fases*)
10. Separar cuidadosamente a fase líquida superior e transferi-la para um tubo 1,5 ml limpo (fase transparente),
11. Repetir os passos 8, 9 e 10 até que não se forme mais a camada protéica (anel intermediário das fases)
 - 8. Adicionar 500 µl de Fenol-Cloroformio-Álcool isoamílico (na proporção de 25:24:1), homogeneizar por 3 minutos (*inverter lentamente o tubo*)
 - 9. Centrifugar a 13000 rpm por 5 minutos (*formação de fases*)
 - 10. Separar cuidadosamente a fase líquida superior e transferi-la para um tubo 1,5 ml limpo (fase transparente)
12. Adicionar 500 µl de solução Clorofórmio - álcool isoamílico (*na proporção 24:1*) e homogeneizar

13. Centrifugar a 13000 rpm por 5 minutos e transferir o sobrenadante para um tubo 1,5 ml limpo
14. Adicionar 800 µl de etanol absoluto (90%) frio e depois 50 µl de Acetato de sódio 3M (pH6)
15. Homogeneizar manualmente (*inverter lentamente*) o tubo até que o DNA precipite e incubar a – 70/80°C por 15 minutos ou por - 20°C por 1 hora ou - 4°C por 2 horas
16. Centrifugar a 13000 rpm por 20 minutos a 4°C e descartar o sobrenadante
17. Adicionar 1000 µl de etanol 70% e agitar cuidadosamente com pipeta
18. Centrifugar a 13000 rpm por 20 minutos e descartar o sobrenadante
19. Repetir os passos 17 e 18
 - 17. Adicionar 1 ml de etanol 70% e agitar com pipeta
 - 18. Centrifugar a 13000 rpm por 20 minutos e descartar o sobrenadante
20. Secar a 37°C (colocar na estufa) ou a temperatura ambiente
21. Ressuspender o DNA em 50 µl ou mais de TE (Tris EDTA) pH 7.2

ANEXO A

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

Parecer nº. ETIC 0038.0.203.000-10

Interessado(a): Profa. Leani Souza Máximo Pereira
Departamento de Fisioterapia
EEFFTO - UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 31 de março de 2010, o projeto de pesquisa intitulado "**Interação entre os polimorfismos dos genes das citocinas TNF- α e interleucina-10 e os efeitos do exercício físico em mulheres idosas**" 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.

Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG

ANEXO B**(Grupo Exercício Fortalecimento Muscular)****Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para Participação no Estudo**

Projeto de Pesquisa: Interação entre os polimorfismos dos genes das citocinas fator de necrose tumoral alfa, interleucina-6 e interleucina-10 e os efeitos do exercício físico em idosas

Pesquisadores: Profa. Leani Souza Máximo Pereira (orientadora)
Daniele Sirineu Pereira

Instituição: Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais

Endereço: Departamento de Fisioterapia - Av. Antônio Carlos, 6627 - EEFETO - 3º andar - Campus Pampulha

Prezado(a) senhor(a):

Desde já, agradecemos sua colaboração. Essa pesquisa trata-se de um estudo para obtenção do título de doutorado do Curso de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação pelo Departamento de Fisioterapia da Escola de Ed. Física Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais.

O objetivo desta pesquisa é verificar como a genética dos mediadores inflamatórios influencia seus índices plasmáticos, e investigar a sua interação com os efeitos de um programa de exercícios

físicos sobre a capacidade funcional e força muscular em mulheres idosas.

Procedimento:

Inicialmente, serão coletadas informações sobre dados pessoais, hábitos de saúde, medicações utilizadas, presença de doenças e problemas associados, auto-percepção da saúde, dentre outras. Em um segundo momento, a senhora irá realizar os seguintes testes: força muscular da mão, avaliação da marcha, mobilidade, equilíbrio, força dos músculos do joelho e um exame de sangue.

EXAME DE SANGUE: Será realizada uma coleta de 5 ml de sangue periférico, que será retirado da veia mediana ulnar do braço direito por um profissional qualificado. Serão observadas todas as normas de proteção e segurança com material pérfuro-cortantes (agulhas e seringas descartáveis, em ambiente estéril). O exame de sangue será analisado para verificar os níveis dos mediadores inflamatórios interleucina-6 (IL-6) e interleucina-10 (IL-10) e fator de necrose tumoral (TNF- α).

FORÇA MUSCULAR DA MÃO: A senhora, na posição assentada, com o cotovelo dobrado (90° de flexão) será solicitado a realizar três manobras de preensão máxima com o membro direito, utilizando o dinamômetro manual de Jamar modelo PC5030JI, sempre com um minuto de descanso entre uma preensão e outra.

VELOCIDADE DE MARCHA: Para avaliar a velocidade de marcha a senhora será solicitada a caminhar por um percurso de 10 metros, inicialmente em sua velocidade habitual de caminhada e em seguida o mais rápido que puder, sem correr.

MOBILIDADE: Para avaliar sua mobilidade será utilizado teste *Timed Up and Go Test*. Nesse teste será solicitado que a senhora levante de uma cadeira com 44 a 47 cm de altura do assento, sem braços, ande três metros, gire, retorne para a cadeira e sente-se novamente.

FORÇA DOS MÚSCULOS DO JOELHO: A força dos músculos do joelho será avaliada por meio de um equipamento de dinamometria isocinética Biodex System 3 Pro, situado no laboratório de Performance Humana, dentro do prédio do Departamento de Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da UFMG. Na posição assentada, a senhora será solicitada a realizar o movimento de esticar e dobrar o joelho várias vezes, em duas velocidades diferentes, com um período de descanso.

PROGRAMA DE EXERCÍCIOS: Depois de realizados os testes você irá participar de um programa de exercícios três vezes por semana, por cerca de 60 minutos, por um período de 10 semanas. Após o término do programa os testes serão realizados novamente. Todos os procedimentos de avaliação deverão demorar cerca de uma hora e meia.

Riscos e Desconfortos:

Na coleta de sangue há o risco de ocorrer hematoma ou um leve dolorimento no local. Será utilizado material descartável para não haver possibilidade de contaminação. O procedimento será realizado por um profissional qualificado e todas as normas de utilização de materiais perfuro-cortantes serão seguidas para o descarte desses materiais.

Apesar dos testes funcionais serem simples e adequados para a avaliação de idosos, existe o risco de ocorrer leve cansaço físico, desequilíbrios e quedas durante o desempenho dos testes. Para minimizar esses riscos os mesmos serão aplicados por fisioterapeutas treinados e com experiência clínica em gerontologia, em local adequado e seguro. Caso ocorra qualquer sinal clínico de sobrecarga, como falta de ar, sudorese, queixa de cansaço ou qualquer outra manifestação contrária a continuação da realização da avaliação, os testes serão interrompidos. Serão realizadas medidas da sua pressão arterial e frequência cardíaca.

Para assegurar seu anonimato, todas as suas respostas e dados serão confidenciais. Para isso, a senhora receberá um número de identificação ao entrar no estudo e o seu nome nunca será revelado em nenhuma situação. Quando os resultados desta pesquisa forem divulgados em qualquer evento ou revista científica, a senhora não será identificado, uma vez que os resultados finais serão divulgados caracterizando o grupo de participantes do estudo.

Benefícios: Os benefícios de participar do estudo incluem o conhecimento da sua capacidade funcional e os resultados da atividade física para melhorar sua condição física e de saúde. Os resultados poderão ajudar profissionais da área de Geriatria e Gerontologia a ampliar seus conhecimentos sobre a relação entre a genética dos mediadores inflamatórios, auxiliar aos profissionais da área a realizar orientação quanto à atividade de reforço muscular específico e do desempenho funcional em idosos, e fornecer informações importantes para futuras pesquisas na área do envelhecimento.

Recusa ou Abandono: A sua participação neste estudo é inteiramente voluntária, e a senhora é livre para recusar participar ou abandonar o estudo a qualquer momento.

A senhora poderá fazer perguntas ou solicitar informações atualizadas sobre o estudo em qualquer momento do mesmo.

Depois de ter lido as informações acima, se for de sua vontade participar deste estudo, por favor, preencha o termo de consentimento.

(Grupo Exercício Aeróbico)**Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para Participação no**

Estudo: “Interação entre os polimorfismos dos genes das citocinas fator de necrose tumoral alfa, interleucina-6 e interleucina-10 e os efeitos do exercício físico em idosas”.

Pesquisadores: Profa. Leani Souza Máximo Pereira (orientadora)
Daniele Sirineu Pereira (doutoranda)

Instituição: Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais

Endereço: Departamento de Fisioterapia - Av. Antônio Carlos, 6627 - EEEFTO - 3º andar - Campus Pampulha

Prezado(a) senhor(a):

Desde já, agradecemos sua colaboração. Essa pesquisa trata-se de um estudo para obtenção do título de doutorado do Curso de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação pelo Departamento de Fisioterapia da Escola de Ed. Física Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade Federal de Minas Gerais.

O objetivo desta pesquisa é estudar como a genética dos mediadores inflamatórios (substâncias do sistema imunológico presentes no sangue) influencia suas concentrações, e investigar a sua interação com os efeitos de um programa de exercícios físicos sobre a capacidade funcional e força muscular em mulheres idosas.

Procedimento:

Inicialmente, serão coletadas informações sobre dados pessoais, hábitos de saúde, medicações utilizadas, presença de doenças e problemas associados, auto-percepção da saúde, dentre outras. Em um segundo momento, a senhora irá realizar os seguintes testes: força muscular da mão, avaliação da marcha, mobilidade, equilíbrio, força dos músculos do joelho e um exame de sangue.

EXAME DE SANGUE: Será realizada uma coleta de 5 ml de sangue periférico, que será retirado da veia mediana ulnar do braço direito por um profissional qualificado. Serão observadas todas as normas de proteção e segurança com material pérfuro-cortantes (agulhas e seringas descartáveis, em ambiente estéril). O exame de sangue será analisado para verificar os níveis dos mediadores inflamatórios interleucina-6 (IL-6) e interleucina-10 (IL-10) e fator de necrose tumoral (TNF- α).

FORÇA MUSCULAR DA MÃO: A senhora, na posição assentada, com o cotovelo dobrado (90° de flexão) será solicitado a realizar três manobras de preensão máxima com o membro direito, utilizando o dinamômetro manual de Jamar modelo PC5030JI, sempre com um minuto de descanso entre uma preensão e outra.

VELOCIDADE DE MARCHA: Para avaliar a velocidade de marcha a senhora será solicitada a caminhar por um percurso de 10 metros, inicialmente em sua velocidade habitual de caminhada e em seguida o mais rápido que puder, sem correr.

MOBILIDADE: Para avaliar sua mobilidade será utilizado teste *Timed Up and Go Test*. Nesse teste será solicitado que a senhora levante de uma cadeira com 44 a 47 cm de altura do assento, sem braços, ande três metros, gire, retorne para a cadeira e sente-se novamente.

CAPACIDADE AERÓBICA: Sua capacidade aeróbica será avaliada por meio de dois testes: Teste de Caminhada de Seis Minutos e o teste de deslocamento bidirecional progressivo (*Shuttle Walk Test*). Para o primeiro teste a senhora será solicitada a percorrer uma distância de 10 metros demarcados no solo com dois cones. A senhora irá dar voltas consecutivas em torno de dois os cones, com velocidades que aumentaram progressivamente. A velocidade de deslocamento é aumentada a cada minuto (0,17 m/s) e controlada por sinais de áudio, gerados por aparelho de som portátil. Para o segundo teste será solicitado que a senhora ande o mais rápido possível, por 6 minutos, em um corredor de 30 metros. Ao início e final de ambos os testes a sua pressão arterial e a frequência cardíaca será medida.

PROGRAMA DE EXERCÍCIOS: Depois de realizados os testes você irá participar de um programa de exercícios aeróbicos três vezes por semana, por cerca de 60 minutos, por um período de 10 semanas. Após o término do programa os testes serão realizados novamente. Todos os procedimentos de avaliação deverão demorar cerca de uma hora e meia.

Riscos e Desconfortos:

Na coleta de sangue há o risco de ocorrer hematoma ou um leve dolorimento no local. Será utilizado material descartável para não haver possibilidade de contaminação. O procedimento será realizado por um

profissional qualificado e todas as normas de utilização de materiais pérfuro-cortantes serão seguidas para o descarte desses materiais.

Apesar dos testes funcionais serem simples e adequados para a avaliação de idosos, existe o risco de ocorrer leve cansaço físico, desequilíbrios e quedas durante o desempenho dos testes. Para minimizar esses riscos os mesmos serão aplicados por fisioterapeutas treinados e com experiência clínica em gerontologia, em local adequado e seguro. Caso ocorra qualquer sinal clínico de sobrecarga, como falta de ar, sudorese, queixa de cansaço ou qualquer outra manifestação contrária a continuação da realização da avaliação, os testes serão interrompidos. Serão realizadas medidas da sua pressão arterial e frequência cardíaca.

Para assegurar seu anonimato, todas as suas respostas e dados serão confidenciais. Para isso, a senhora receberá um número de identificação ao entrar no estudo e o seu nome nunca será revelado em nenhuma situação. Quando os resultados desta pesquisa forem divulgados em qualquer evento ou revista científica, a senhora não será identificada, uma vez que os resultados finais serão divulgados caracterizando o grupo de participantes do estudo.

Benefícios: Os benefícios de participar do estudo incluem o conhecimento da sua capacidade funcional e os resultados da atividade física para melhorar sua condição física e de saúde. Os resultados poderão ajudar profissionais da área de Geriatria e Gerontologia a ampliar seus conhecimentos sobre a relação entre a genética dos mediadores inflamatórios, auxiliar aos profissionais da área a realizar orientação quanto à atividade de reforço muscular específico e do desempenho funcional em idosos, e fornecer informações importantes para futuras pesquisas na área do envelhecimento.

Recusa ou Abandono: A sua participação neste estudo é inteiramente voluntária, e a senhora é livre para recusar participar ou abandonar o estudo a qualquer momento.

A senhora poderá fazer perguntas ou solicitar informações atualizadas sobre o estudo em qualquer momento do mesmo.

Depois de ter lido as informações acima, se for de sua vontade participar deste estudo, por favor, preencha o termo de consentimento.

TERMO DE CONSENTIMENTO

Declaro que li e entendi as informações referentes a minha participação no estudo “Interação entre os polimorfismos dos genes das citocinas fator de necrose tumoral alfa, interleucina-6 e interleucina-10 e os efeitos do exercício físico em idosas”. Todas as minhas dúvidas foram esclarecidas e eu recebi uma cópia deste formulário de consentimento.

Desta forma, eu, _____
concordo em participar deste estudo.

Assinatura do sujeito ou responsável

Assinatura do pesquisador

Data: ____/____/____

Qualquer esclarecimento entrar em contato com:

Daniele Sirineu Pereira – telefone: 31-8484-4952

Prof^a. Leani Souza Máximo Pereira – telefone: 31-9952-2878; 3409-4783

Comissão de Ética em Pesquisa da UFMG - Av. Antônio Carlos, 6627

Unidade Administrativa II, 2º andar, sala 2005, Campus Pampulha.

Telefone: (31) 3409-4592.

MINI CURRÍCULO

DADOS PESSOAIS

Nome Daniele Sirineu Pereira

Endereço eletrônico daniele.sirineu@gmail.com

Currículo Plataforma Lattes <http://lattes.cnpq.br/2171027311100046>

TITULAÇÃO ACADÊMICA

- 2008** Doutorado em Ciências da Reabilitação
Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Belo Horizonte,
Brasil
Título: Interação entre os polimorfismos dos genes das
citocinas TNF- α , IL6, IL10 E BDNF e os efeitos do exercício
físico em idosas
Orientadora: Prof^a. Dra. Leani SM Pereira
Co-Orientador: Prof. Dr. Antonio Lúcio Teixeira
Co-Orientadora: Prof^a. Dra. Danielle A Gomes Pereira
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal
de Nível Superior
- 2007** Mestrado em Ciências da Reabilitação.
Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Belo Horizonte,
Brasil
Título: Efeito do polimorfismo -174 G/C da região promotora do
gene IL-6, índices plasmáticos de IL-6 e força muscular de
mulheres idosas
Orientadora: Prof. Dra. Leani Souza Máximo Pereira
Co-Orientador: Prof. Dr. Otávio de Toledo Nóbrega
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal
de Nível Superior

- 2005** Especialização em Fisioterapia em Geriatria e Gerontologia
Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Belo Horizonte,
Brasil
- 2004** Graduação em Fisioterapia.
Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Belo Horizonte,
Brasil
Título: Fatores relacionados a não protetização de idosos
amputados de membro inferior
-

Artigos completos publicados em periódicos:

SANTOS, M.L.A.S., PEREIRA, Leani Souza Máximo, PEREIRA, Daniele Sirineu, Gomes,W.F. Desempenho muscular,dor, rigidez e funcionalidade de idosas com osteoartrite de joelhos. **Acta Ortopédica Brasileira** (Impresso), v.19, p.203 - 207, 2011.

LUSTOSA, L.P.; SILVA, J.P; PEREIRA, D.S; PARENTONI, A. N, COELHO, F.M, PEREIRA, L.S.M. Efeito de um programa de resistência muscular na capacidade funcional e na força muscular dos extensores do joelho em idosas pré-frágeis da comunidade: ensaio clínico aleatorizado do tipo cross over. **Revista Brasileira de Fisioterapia** (Impresso), v.15, p.318 - 324, 2011.

PEREIRA, D.S., GARCIA, D.M., NARCISO, F.M.S., SANTOS, M.L.A.S., DIAS, J.M.D. QUEIROZ, B.Z., SOUZA, E.R., NÓBREGA, O.T., PEREIRA, L.S.M. Effects of 174 G/C polymorphism in the promoter region of the interleukin-6 gene on plasma IL-6 levels and muscle strength in elderly women. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research.** , v.44, p.123 - 129, 2011.

SILVA, J.P, PEREIRA, D.S, COELHO, F.M., LUSTOSA, L.P, DIAS, J.M.D., PEREIRA, L.S.M.. Fatores clinicos, funcionais e inflamatórios associados a fadiga muscular e a fadiga autopercebida em idosas da comunidade. **Revista Brasileira de Fisioterapia** (Impresso). , v.15, p.241 - 248, 2011.

MARRA, T.A., PEREIRA, D.S., FARIA, C.D.C.M., TIRADO, M.G.A., PEREIRA, L.S.M. Influence of socio-demographic, clinical and functional factors on the severity of dementia. **Archives of Gerontology and Geriatrics**. , v.53, p.210 - 215, 2011.

ROSA, N.M.B., DE QUEIROZ, B.Z, PEREIRA, D.S, SANTOS, M.L.A.S, OLIVEIRA, D.M.G., NARCISO, F.M.S., PEREIRA, L.S.M. Interleukin-6 plasma levels and socioeconomic status in Brazilian elderly community-dwelling women. **Archives of Gerontology and Geriatrics**. , v.53, p.196 - 199, 2011.

SANTOS, M.L.A.S., GOMES, W.F., PEREIRA, D.S., OLIVEIRA, D.M.G., DIAS, J.M.D., FERRIOLI, E., PEREIRA, L.S.M. Muscle strength, muscle balance, physical function and plasma interleukin-6 (IL-6) levels in elderly women with knee osteoarthritis (OA). **Archives of Gerontology and Geriatrics**. , v.52, p.322 - 326, 2011.

LUSTOSA, L. P, PEREIRA, D.S., DIAS, R.C, PARENTONI, A.N, BRITTO, R. R., PEREIRA, L.S.M. Tradução e adaptação transcultural do Minnesota Leisure Time Activities Questionnaire em idosos. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia** (UnATI. Impresso). , v.5, p.57 - 65, 2011.

COELHO, F.M., NARCISO, F.M.S., OLIVEIRA, D.M.G., PEREIRA, D.S., TEIXEIRA, A.L., TEIXEIRA, M. M., SOUZA, D. G., PEREIRA, L.S.M. sTNFR-1 is an early inflammatory marker in community versus institutionalized elderly women. **Inflammation Research** (Printed ed.), v.59, p.129 - 134, 2010.

LUSTOSA, L.P, COELHO, F.M., SILVA, J.P, PEREIRA, D.S, PARENTONI, A.N, DIAS, J.M.D., DIAS, R.C, PEREIRA, L.S.M. The effects of a muscle resistance program on the functional capacity, knee extensor muscle strength and plasma levels of IL-6 and TNF-alpha in pre-frail elderly women: a randomized crossover clinical trial - a study protocol. **Trials** (London) v.11, p.82 - , 2010.

OLIVEIRA, D.M.G., NARCISO, F.M.S., SANTOS, M.L.A.S., PEREIRA, D.S., COELHO, F.M., DIAS, J.M.D., PEREIRA, L.S.M. Muscle strength but not functional capacity is associated with plasma interleukin-6 levels of community-dwelling elderly

women. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research.** , v.41, p.1148 - 1153, 2008.

Produção Parcial do Doutorado:

Artigo submetido:

PEREIRA, D.S; QUEIROZ, B.Z.; MATEO, E.C.C.; ASSUMPÇÃO, A.M.; FELÍCIO, D.C.; MIRANDA, A.S.; ANJOS, D.M.C., JESUS-MORALEIDA, F.; DIAS, R.C.; PEREIRA, D.A.G.; TEIXEIRA, A.L.; PEREIRA, L.S.M. Interaction between cytokines and BDNF gene polymorphisms and the effect of physical exercise on clinical and inflammatory parameters in the elderly women. **Trials.**

Trabalhos apresentados e/ou publicados em anais:

PEREIRA, D.S; MIRANDA, A.S.; ROCHA, N.P.; QUEIROZ, B.Z. *et al.* Índices de BDNF e presença de depressão em idosas da comunidade. V Simpósio de Neurociências da UFMG: Interfaces com a Engenharia Biomédica. 2011, Belo Horizonte – MG.

PEREIRA, D.S; FELÍCIO, D.C.; QUEIROZ, B.Z. *et al.* Força muscular de membros inferiores e quedas em idosas da comunidade. Congresso Mineiro 2011

QUEIROZ, B.Z.; PEREIRA, D.S; NARCISO, F.M.; *et al.* Relação entre fatores sócio-demográficos, clínicos e citocinas inflamatórias com a força de preensão manual de mulheres idosas. Congresso Mineiro 2011

FELÍCIO, D.C.; PEREIRA, D.S; QUEIROZ, B.Z. *et al.* Análise comparativa do desempenho muscular isocinético entre mulheres idosas e jovens. Congresso Mineiro 2011

ASSUMPÇÃO, A.M.; PEREIRA, D.S; QUEIROZ, B.Z. *et al.* Fatores motivadores para participação de idosas em programas de atividades físicas. Congresso Mineiro 2011.

QUEIROZ, B.Z.; PEREIRA, D.S; NARCISO, F.M.; *et al.* Polimorfismo -174g/c do gene da IL-6 e diabetes mellitus. In: XVII Congresso Brasileiro de Geriatria e Gerontologia, 2010, Belo Horizonte. Envelhecimento Funcionalidade Participação e Sustentabilidade, 2010.

FELÍCIO, D.C.; PEREIRA, D.S; QUEIROZ, B.Z. *et al.* Análise descritiva do desempenho de idosas da comunidade na dinamometria isocinetica. In: XIX Congresso Brasileiro de Fisioterapia, 2011, Florianópolis. XIX Congresso Brasileiro de Fisioterapia, 2011.

FELÍCIO, D.C.; PEREIRA, D.S; QUEIROZ, B.Z. *et al.* Comparação da fadiga muscular isocinética de extensores e flexores de joelho em idosas. In: XIX Congresso Brasileiro de Fisioterapia, 2011, Florianópolis. XIX Congresso Brasileiro de Fisioterapia. Florianópolis, 2011.

PEREIRA, DS; OLIVEIRA, DMG; NARCISO, FMS; *et al.* Polimorfismos da região promotora -174 G/C do gene da IL-6 e -308 G/A do gene TNF-A e força muscular de mulheres idosas. In: XVII Congresso Brasileiro de Geriatria e Gerontologia, 2010, Belo Horizonte. Envelhecimento, Funcionalidade, Participação, Sustentabilidade, 2010.

Faria, A.E.S.; Pereira, D.S.; Senna, T.C.R.; Mendes, G.D. *et al.*; Estresse percebido e síndrome da fragilidade em idosas da comunidade. In: XVII Congresso Brasileiro de Geriatria e Gerontologia, 2010, Belo Horizonte. Envelhecimento, Funcionalidade, Participação, Sustentabilidade, 2010.

MARTINS, M.G.; PEREIRA, D.S.; COELHO, F.M.; *et al.* Correlação entre alterações do sono e índices plasmáticos de IL-6. In: XVII Congresso Brasileiro de Geriatria e Gerontologia, 2010, Belo Horizonte. Envelhecimento, Funcionalidade, Participação, Sustentabilidade, 2010.

ASSUMPÇÃO AM ; FONSECA, CE ; DIAS, ROSÂNGELA CORREA; PEREIRA, D.S. *et al.* Auto-avaliação da saúde em idosas da comunidade com síndrome da

fragilidade. In: XVII Congresso Brasileiro de Geriatria e Gerontologia, 2010, Belo Horizonte. Envelhecimento Funcionalidade Participação e Sustentabilidade, 2010.

Pereira, D.S.; Garcia, D.M.; Santos, M.L.A.S.; *et al.* Força muscular de mulheres idosas e polimorfismo -308 g/a da região promotora do gene TNF- α . VI Congresso de Geriatria e Gerontologia de Minas Gerais 2009, Ouro Preto, MG.

Pereira, D.S.; Garcia, D.M.; Narciso, F.M. *et al.* Efeito do polimorfismo -308 G/A da região promotora do gene TNF- α sobre os índices plasmáticos de STNFR1 em mulheres idosas. Congresso de Geriatria e Gerontologia de Minas Gerais 2009, Ouro Preto, MG.

PEREIRA, F.; PEREIRA, D.S.; SILVA, JP; LUSTOSA, LP; COELHO, FM; QUEIROZ, B.Z.; ROSA, N.M.B.; PEREIRA, L.S.M. Força de preensão manual e nível de atividade física em idosas. Congresso de Geriatria e Gerontologia de Minas Gerais 2009, Ouro Preto, MG.

PEREIRA, D.S.; GARCIA, D.M.; NARCISO, F.M. *et al.* Efeito do polimorfismo -174 G/C da região promotora do gene IL-6 sobre os índices plasmáticos de IL-6 e força muscular de idosas. 6º Congresso Paulista de Geriatria e Gerontologia. 2009, São Paulo – SP.

PEREIRA, D.S ; GARCIA, D. M. ; SILVA, F. M. P. E. *et al.* The -174G/C promoter polymorphism of interleukin 6 gene plasmatic levels of IL-6 and muscular strength in older women. In: XIXth World Congress Of Gerontology and Geriatrics, 2009, Paris. **The Journal of Nutrition Health & Aging**, 2009. v. 13. p. 256-256.

COELHO, F.M. ; NARCISO, F.M.; OLIVEIRA, D.M.G.; PEREIRA, D.S. *et al.* sTNFR-1 ia an early inflammation marker in community versus institutionalized elderly women. In: XIXth Congress of Gerontology and Geriatrics, 2009, Paris. **The Journal of Nutrition,Health & Aging**, 2009. v. 13. p. 216-216.

Lustosa, L. P. ; PEREIRA, L. S. M. ; COELHO, F.M. *et al.* . Frailty syndrome and inflammatory markers: TNF-alfa and sTNFR1 analyses in frail women from

community. In: XIXth Congress of Gerontology and Geriatrics, 2009, Paris. **The Journal of Nutrition, Health & Aging**. Heidelberg : Springer, 2009. v. 13. p. 214-214.

PEREIRA, L. S. M. ; OLIVEIRA, D.M.G ; NARCISO, F.M.S. *et al.* Muscle strenght but not functional capacity is associated with plasma IL-6 levels of community dwelling elderly women. In: XIXth World Congress of Gerontology and Geriatrics, 2009, Paris. **The Journal of Nutrition, Health & Aging**. Heidelberg : SPRINGER, 2009. v. 13. p. 218-218.