

Universidade Federal de Ouro Preto

Escola de Nutrição

Programa de Pós-Graduação em Saúde e Nutrição
PPGSN

Dissertação

**A INFLUÊNCIA DA MASSA
MUSCULAR NA RESPOSTA
IMUNE APÓS CORRIDA EM
ESTEIRA**

Lázaro Fernandes Lobo

Ouro Preto
2022



UFOP

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO – UFOP
ESCOLA DE NUTRIÇÃO – ENUT
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E NUTRIÇÃO (PPGSN)
LINHA DE PESQUISA: BASES EXPERIMENTAIS EM SAÚDE, ALIMENTOS
E NUTRIÇÃO:

A INFLUÊNCIA DA MASSA MUSCULAR NA RESPOSTA IMUNE
APÓS CORRIDA EM ESTEIRA

Lázaro Fernandes Lobo

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Nutrição (PPGSN), como requisito parcial para obtenção de título de Mestre em Saúde e Nutrição.

Orientador: Prof. Dr. Albená Nunes da Silva.

Coorientador: Prof. Dr. Samuel Penna Wanner.

OURO PRETO

2022

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

L799a Lobo, Lázaro Fernandes.
A influência da massa muscular na resposta imune após corrida em esteira. [manuscrito] / Lázaro Fernandes Lobo. - 2022.
49 f.

Orientador: Prof. Dr. Albená Nunes Silva.
Coorientador: Prof. Dr. Samuel Penna Wanner.
Dissertação (Mestrado Acadêmico). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Nutrição. Programa de Pós-Graduação em Saúde e Nutrição.

Área de Concentração: Saúde e Nutrição.

1. Músculo esquelético. 2. Exercício físico. 3. Inflamação. 4. Corrida. 5. Sistema imunológico. I. Silva, Albená Nunes. II. Wanner, Samuel Penna. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU 612:796

Bibliotecário(a) Responsável: Sônia Marcelino - CRB6/2247



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
REITORIA
ESCOLA DE NUTRICAÇÃO
COORDENAÇÃO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM SAÚDE E NUTRICAÇÃO



FOLHA DE APROVAÇÃO

Lázaro Fernandes Lobo

A influência da massa muscular na resposta imune após corrida em esteira

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 07 de abril de 2021.

Membros da banca

Dr. Albená Nunes da Silva - Orientador (Universidade Federal de Ouro Preto)
Dr. Samuel Penna Wanner - Coorientador (Universidade Federal de Minas Gerais)
Dr. Marcelo Henrique Salviano de Faria (Centro Universitário de Belo Horizonte)
Dra. Lenice Kappes Becker Oliveira (Universidade Federal de Ouro Preto)

Albená Nunes da Silva, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito no Repositório Institucional da UFOP em 03 de outubro de 2022.



Documento assinado eletronicamente por **Albená Nunes da Silva, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 03/10/2022, às 16:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0406941** e o código CRC **9CE0EEFE**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que de maneira direta ou indireta puderam fazer esse trabalho acontecer. Agradeço a minha família, amigos e a Luísa por me fornecerem suporte mental, risadas e sorrisos quando precisei. Ao Dr. Albená Nunes da Silva e Dr. Samuel Penna Wanner por me orientarem, os laboratórios parceiros LAFISE (UFMG), LAPAC-(UFOP) e LIIM-(UFMG) e suas respectivas coordenadoras e coordenadores, técnicas e técnicos, colaboradoras e colaboradores, Aos integrantes do LABIEX, em especial ao Chico, Rex e Mari ao ensino público gratuito de qualidade, aos servidores públicos e terceirizados da UFOP e UFMG. Aos responsáveis pelo fomento fornecido pela UFOP. Todos que fazem parte de um ou mais desses grupos têm participação importante no resultado desse trabalho, obrigado.

RESUMO

Tradicionalmente, o tecido muscular esquelético, que compões cerca de 40% da massa corporal total, é reconhecido por gerar movimento, produzir calor e proteger os órgãos vitais. Entretanto, recentemente, inúmeros trabalhos conseguiram comprovar que além destas funções, o tecido muscular também é um órgão endócrino, uma vez que produz e libera importantes mediadores biológicos, chamados de citocinas. Estas moléculas ganham a corrente sanguínea e são capazes de interagir agudamente e cronicamente com inúmeros órgãos e sistemas, tais como o sistema nervoso, sistema cardiovascular e também o sistema imune. Este estudo teve como objetivo investigar as possíveis associações entre a massa muscular, a contagem de leucócitos na corrente sanguínea e algumas citocinas liberadas na corrente sanguínea em resposta ao exercício físico. Investigamos o efeito de um protocolo de corrida na esteira até a fadiga e marcadores imunológicos em quinze voluntários saudáveis. Os participantes eram indivíduos bem treinados do sexo masculino com idade média de $30,5 \pm 4,2$ anos e massa total de $71,6 \pm 6,9$ kg. O exame de imagem de dupla absorção de raios-X (DEXA) foi utilizado para determinar a composição corporal dos indivíduos. Amostras de sangue foram coletadas antes, imediatamente e 1 hora após o protocolo da corrida para análise de marcadores de intensidade, dano tecidual, hemograma e miocinas. Os resultados foram correlacionados com a massa muscular do corpo inteiro e com a massa muscular dos membros inferiores. Os participantes alcançaram a fadiga voluntária após correrem por $52,3 \pm 14,8$ min. Como esperado, imediatamente após o exercício houve aumento nas concentrações plasmáticas de lactato, de creatina quinase (CK). A contagem de leucócitos totais aumentou de pré exercício para imediatamente após e se manteve alta após uma hora. Os valores de linfócitos aumentaram da situação pré exercício para a situação imediatamente após a fadiga e diminuíram uma hora após. Os valores de neutrófilos aumentaram de pré exercício uma hora após o término no protocolo. Além disso a interleucina 6 (IL-6) aumentou e se manteve alta após uma hora, enquanto a interleucina 10 (IL-10) aumentou e após uma hora os valores aumentaram ainda mais. Apesar das correlações positivas entre o tempo até a fadiga (TF) x IL-6, distância percorrida (Dst) x IL-6, TF x IL-10 e Dst x IL-10, não houve correlações entre a massa muscular total e de membros inferiores com as concentrações de IL-6 ou IL-10. Como conclusão, o protocolo de exercício físico até a fadiga, foi capaz de elevar o número de leucócitos totais, neutrófilos e linfócitos, além disto, elevou também os níveis plasmáticos de IL-6 e IL-10, porém estas alterações não se correlacionaram com a massa muscular.

Palavras-chave: Músculo esquelético, exercício, miocinas, inflamação, corrida, sistema imunológico.

ABSTRACT

Traditionally, skeletal muscle tissue, which makes up about 40% of total body mass, is recognized for generating movement, producing heat, and protecting vital organs. However, recently, numerous studies have been able to prove that in addition to these functions, muscle tissue is also an endocrine organ, since it produces and releases important biological mediators, called cytokines. These molecules enter the bloodstream and can interact acutely and chronically with numerous organs and systems, such as the nervous system, cardiovascular system, and also immune system. This study aimed to investigate the possible associations between muscle mass, leukocyte count in the bloodstream, and some cytokines released into the bloodstream in response to physical exercise. We investigated the effect of a treadmill running protocol until fatigue and immunological markers in fifteen healthy volunteers. Participants were well-trained male subjects with a mean age of 30.5 ± 4.2 years and a total mass of 71.6 ± 6.9 kg. Dual X-ray absorption imaging (DEXA) was used to determine the subjects' body composition. Blood samples were collected before, immediately, and 1 hour after the race protocol for analysis of markers of intensity, tissue damage, blood count, and myokines. The results were correlated with the muscle mass of the whole body and with the muscle mass of the lower limbs. Participants achieved voluntary fatigue after running for 52.3 ± 14.8 min. As expected, immediately after exercise there was an increase in plasma concentrations of lactate and creatine kinase (CK). The total leukocyte count increased from pre-exercise to immediately after and remained high after one hour. Lymphocyte values increased from the pre-exercise situation to the situation immediately after fatigue and decreased one hour later. Neutrophil values increased from pre-exercise one hour after the end of the protocol. In addition, interleukin 6 (IL-6) increased and remained high after one hour, while interleukin 10 (IL-10) increased, and after one hour the values increased even more. Despite the positive correlations between time to fatigue (TF) x IL-6, distance covered (Dst) x IL-6, TF x IL-10, and Dst x IL-10, there were no correlations between total muscle mass and muscle mass. lower limbs with IL-6 or IL-10 concentrations. In conclusion, the exercise protocol until fatigue was able to increase the number of total leukocytes, neutrophils, and lymphocytes, in addition, it also increased the

plasma levels of IL-6 and IL-10, but these changes were not correlated with the muscle mass.

Keywords: Skeletal muscle, Exercise, Myokines, Inflammation, Running, Immune system.

Sumário

Resumo	4
Abstract	5
1. Introdução	7
2. Revisão de literatura	9
3. Justificativa	11
4. Objetivos	11
4.1. Objetivo Geral	11
4.2. Objetivos Específicos	11
5. Métodos	12
5.1. Aspectos Éticos	12
5.2. Amostra	12
5.3. Desenho experimental	13
5.4. Testes de velocidade crítica	15
5.5. Protocolo de corrida	15
5.6. Frequencia cardíaca e percepção subjetiva de esforço	16
5.7. Lactato	17
5.8. Hemograma	17
5.9. Creatina quinase (CK)	17
5.10. Análise de citocinas	17
5.11. Recordatório alimentar de 24h	18
5.12. Absorciometria de Raios-X de Dupla Energia (DXA)	18
5.13. Análises Estatísticas	19
6. Resultados	21
6.1. Absorciometria de Raios-X de Dupla Energia (DXA)	21
6.2. Protocolo de exercício	21
6.3. Hemograma	23
6.4. Relações entre alterações de leucócitos e os parâmetros de carga associados à corrida em esteira	24
6.5. Citocinas	25
6.6. Relações entre citocinas e parâmetros de carga da corrida até fadiga	27
7. Discussão	30
8. Conclusão	33
Referências	35
Apêndice A	41
Anexo A	44
Anexo B	45

1. INTRODUÇÃO

O tecido muscular esquelético é um dos tecidos mais dinâmicos e plásticos do corpo humano (FRONTERA; OCHALA, 2014; SCHNYDER; HANDSCHIN, 2015; PICCIRILLO, 2019). Em geral, a massa muscular esquelética depende do equilíbrio entre a síntese e degradação de proteínas, e ambos os processos são sensíveis ao estado nutricional, equilíbrio hormonal, atividade física, lesões, doenças, entre outros fatores (FRONTERA; OCHALA, 2014). É sabido que os músculos esqueléticos são unidos por tecido conjuntivo e presos aos ossos por tendões, ao se contraírem, produzem os movimentos e se anatomicamente, são tecidos inervados e vascularizados,. Além disso de suas funções clássicas descritas na literatura, como gerar movimento e calor, e proteger órgãos vitais, recentemente, a musculatura esquelética passou a ser descrita como um importante órgão endócrino, pois, durante a contração, ela produz, expressa e libera peptídeos que exercem efeitos parácrinos, autócrinos e endócrinos; esses peptídeos, denominados de miocinas, agem em vários tecidos promovendo alterações fisiológicas, estruturais e imunológicas (PEDERSEN; HOFFMAN-GOETZ, 2000; GLEESON *et al.*, 2011; BENATTI; PEDERSEN, 2015; FEBBRAIO, 2017). Nesse sentido, muitos estudos demonstraram aumento da expressão muscular e das concentrações plasmáticas de miocinas, tais como a interleucina-6 (IL-6), interleucina-10 (IL-10), fator de necrose tumoral (TNF α) e irisina, após uma sessão de exercício intenso (PEAKE *et al.*, 2015; BLIZZARD LEBLANC *et al.*, 2017).

Como mencionado, achados experimentais em humanos e animais evidenciam uma produção e secreção de várias citocinas induzidas por exercício, incluindo IL-6, IL-8, IL-10, IL-15, ligante CC-quimiocina (CCL) 2, antagonista do receptor IL-1ra, calprotectina S100A9 e fator de crescimento endotelial vascular (VEGF)(HOFFMANN; WEIGERT, 2017). Essas maiores concentrações plasmáticas e teciduais de interleucinas induzidas por uma sessão aguda de exercício, podem estar associadas ao aumento das concentrações no fluido intersticial muscular após o exercício ou à liberação de líquidos pela musculatura (HOFFMANN; WEIGERT, 2017). Essas respostas citadas foram observadas em diferentes tipos de exercícios, tais como exercício de força (FORTUNATO *et al.*, 2018) e exercícios de resistência aeróbica, seja no ciclismo (GLEESON, 2007; ZHAO *et al.*, 2012) ou na corrida (ZAKOVSKA *et al.*, 2017) Em geral, as respostas sistêmicas de citocinas são mais

pronunciadas após exercícios que induzem maior dano muscular, como corrida em declive, exercícios excêntricos e treinamento de resistência (PAULSEN *et al.*, 2012).

Levando em consideração que variáveis fisiológicas responsivas ao exercício físico, como frequência cardíaca (BURESH *et al.*, 2005) VO_2 de pico (SUGIE *et al.*, 2017) e lactato sanguíneo (BURESH *et al.*, 2004) podem estar relacionadas a quantidade de massa muscular do praticante, hipotetizamos que a produção e liberação de miocinas, citocinas produzidas pelo tecido muscular, poderiam estar positivamente correlacionadas à essas mesmas variáveis e à massa muscular total e de membros inferiores.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Diversos estudos demonstram que o exercício físico é capaz de modular agudamente variáveis internas inflamatórias, imunológicas e hormonais que são dependentes de aspectos como o tipo de exercício, intensidade, volume, pausa ou descanso, experiência prévia do praticante, nível de condicionamento físico e balanço nutricional (PEDERSEN; HOFFMAN-GOETZ, 2000; GLEESON *et al.*, 2011; BENATTI; PEDERSEN, 2015; FEBBRAIO, 2017; KRAEMER *et al.*, 2017). Auxiliando na compreensão da interação entre variáveis do sistema imune e tecido muscular, estudos demonstram mudanças na contagem de leucócitos e concentrações de mediadores inflamatórios no plasma após a realização de um sessão de exercício físico (PEDERSEN; HOFFMAN-GOETZ, 2000; GLEESON *et al.*, 2011; BENATTI; PEDERSEN, 2015; FEBBRAIO, 2017). Dados produzidos no nosso laboratório e também por outros pesquisadores demonstram que o exercício físico intenso é capaz de modular o sistema imune, modificando agudamente contagem total de leucócitos, e suas subpopulações neutrófilos, linfócitos, e também os níveis plasmáticos de citocinas pró e anti inflamatórias, tais como a interleucina 6 (IL-6) e a interleucina 10 (IL-10) (NUNES-SILVA *et al.*, 2014)

Citocinas pró inflamatórias como a IL-2 e IL-4 são importantes para a resposta imune porque resultam na reparação de danos musculares provocados por exercício (ROSA NETO *et al.*, 2011). Alguns estudos encontraram redução, e outros não encontraram mudança, mas a maioria encontrou aumentos, especialmente nos níveis plasmáticos concentrações de IL-2 (ROSA NETO *et al.*, 2011).

Concentrações fisiológicas normais de IL-6 no soro humano são relativamente baixas (1-5 pg/ml), mas são rapidamente elevadas em situações de doença e em circunstâncias extremas (HUNTER; JONES, 2015). Em resposta ao exercício, os níveis circulantes de IL-6 podem aumentar em até 100 vezes, dependendo da duração do exercício realizado (OSTROWSKI *et al.*, 2000), podendo auxiliar na captação de glicose e oxidação de ácidos graxos pelos músculos (SCHNYDER; HANDSCHIN, 2015; KNUDSEN *et al.*, 2017).

Citocinas com efeitos antiinflamatórios como a IL-4 e a IL-10 podem auxiliar na miogênese (JUNG *et al.*, 2015) e são responsivas ao exercício agudo (JUNG *et al.*, 2015;

LEAL *et al.*, 2018; MARCUCCI-BARBOSA; MARTINS-JUNIOR; LOBO; MORAIS; *et al.*, 2019). A IL-10 desempenha um papel importante no nivelamento da reação inflamatória envolvendo ativação de macrófagos/monócitos (PETERSEN; PEDERSEN, 2005). O aumento dos níveis de IL-10 levam a efeitos inibitórios na produção de da IL-10 ligados a inibição de a produção de IL-1 α , IL-1 β e TNF- α , bem como a produção de quimiocinas, incluindo IL-8 e proteínas inflamatórias de macrófagos de monócitos (PETERSEN; PEDERSEN, 2005).

Sessões agudas de exercício extenuante como maratonas são capazes de aumentar concentrações séricas de citocinas pró-inflamatórias TNF (PEDERSEN; HOFFMAN-GOETZ, 2000). Porém, em contra partida outros estudos falharam em detectar mudanças nos níveis dessa citocina (PEDERSEN; HOFFMAN-GOETZ, 2000; MARCUCCI-BARBOSA; MARTINS-JUNIOR; LOBO; DE MORAIS; *et al.*, 2019).

Estas citocinas (miocinas) liberadas em decorrência de uma sessão de exercícios físicos intensos ou duradouros podem atuar positivamente em vários tecidos para prevenir ou tratar patologias metabólicas (KIRWAN *et al.*, 2017), neurológicas (MCGURRAN *et al.*, 2019), cardiovasculares e renais (FU; LEVINE, 2013). Na literatura atual, não há consenso sobre a quantidade de miocinas secretadas durante um exercício, talvez devido à diferença entre as características do exercício físico utilizado, a hora ou local da coleta de amostra biológica e possivelmente da técnica utilizada para analisar a quantidade de moléculas (SON *et al.*, 2018).

3. JUSTIFICATIVA

Diante desta capacidade do exercício físico de modular o sistema imune, sendo parte desta modulação oriunda de uma produção direta de miocinas pelo tecido muscular, faz-se necessário, melhor compreender se esta modulação está diretamente correlacionada à quantidade de massa muscular. Sendo assim, ocorre a necessidade de elucidação de possíveis comprometimentos ao treinamento esportivo dessa população e baixo referencial teórico sobre o tema, o presente estudo investigou a associação entre a massa muscular (ou seja, massa muscular total e dos membros inferiores) e a modulação das células do sistema imunológico e mediadores inflamatórios após uma esteira até a fadiga.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GERAL

Analisar o efeito de uma corrida na esteira até a fadiga em respostas imunológicas, fisiológicas e bioquímicas e estabelecer possíveis correlações destas alterações com os níveis de massa muscular total e dos membros inferiores em praticantes amadores de corrida de rua.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar os efeitos do protocolo de corrida em esteira até a fadiga na frequência cardíaca e pressão arterial de corredores bem treinados.
- Analisar os efeitos do protocolo de corrida em esteira até a fadiga na concentração de lactato de corredores bem treinados.
- Analisar os efeitos do protocolo de corrida em esteira até a fadiga sobre percepções de esforço em corredores bem treinados.
- Analisar os efeitos do protocolo de corrida em esteira até a fadiga sobre a contagem global de leucócitos, neutrófilos, linfócitos e monócitos de corredores bem treinados.

- Analisar os efeitos do protocolo de corrida em esteira até a fadiga sobre as concentrações plasmáticas de creatina quinase em corredores bem treinados.
- Analisar os efeitos do protocolo de corrida em esteira até a fadiga sobre as concentrações plasmáticas de IL(interleucina)-2, IL-4, IL-6 IL-10, fator de necrose tumoral (TNF), interferon gama (INF- γ) de corredores bem treinados.
- Mensurar variáveis de composição corporal de massa total, percentual de gordura, massa magra total, massa magra periférica de corredores bem treinados
- Realizar análises de correlação com os valores de delta (1h após a fadiga voluntária menos o valor em repouso) citocinas IL-6 e IL-10 com os valores de massa muscular total e periférica dos membros inferiores.

5. MÉTODOS

5.1. ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP) (CAAE: 60064216.5.0000.5150). Os voluntários assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) no qual ficaram cientes de que a qualquer momento poderão deixar de participar da pesquisa. Todos os procedimentos adotados neste estudo estão de acordo com as “Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas Envolvendo Seres Humanos” do Conselho Nacional de Saúde (Res. 466/12) envolvendo pesquisas com seres humanos.

5.2. AMOSTRA

Participaram deste estudo quinze corredores do sexo masculinos saudáveis, não fumantes, com média de idade de 31 ± 4 anos, que atendiam aos seguintes critérios: 1) ter conseguido correr 10 km em menos de 45 minutos nos 6 meses prévios à coleta de dados, 2) ausência de lesões musculoesqueléticas em membros inferiores e pelve nos 6 meses anteriores aos experimentos; 3) não ingerir bebidas alcoólicas e / ou realizar exercícios extenuantes nos três dias anteriores à coleta de dados; 4) não fazer uso de medicamentos anti-inflamatórios e/ou analgésicos ; 5) ser do sexo masculino; 6) não

fazerem uso de anabolizantes, suplementos nutricionais ou esteróides androgênicos 7) não apresentar algum tipo de doença e/ou patologia que comprometa a coleta de dados. Os critérios de exclusão foram os seguintes: 1) Caso o voluntário assim desejasse; 2) apresentar qualquer resposta positiva no questionário Par-Q 3) não comparecer ao laboratório nos dias e horários programados; 4) não conseguir realizar o teste de velocidade crítica a uma velocidade superior a 17,3km/h.

5.3. DESENHO EXPERIMENTAL

Cada voluntário visitou o laboratório em 4 dias não consecutivos (figura 1). A primeira visita consistiu em uma anamnese; além disso, foram explicados os objetivos e o desenho da pesquisa. Os voluntários poderiam solicitar esclarecimentos sobre a pesquisa antes de assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e responder ao Questionário de Prontidão para Atividade Física (PAR-Q)(THOMAS *et al.*, 1992). Na segunda visita, os voluntários foram submetidos a um teste de velocidade crítica (3MIN) de 3 minutos adaptado em esteira, necessário para a prescrição da intensidade do exercício até a fadiga voluntária. Durante a terceira visita foram realizadas as coletas de sangue antes, imediatamente após a fadiga e 1 hora após a fadiga voluntária dos participantes submetidos ao protocolo de exercício com intensidade dependente do segundo dia na mesma esteira utilizada no segundo dia de coleta de dados. Finalmente, na quarta e última visita, os voluntários foram submetidos a uma avaliação física para determinar sua composição corporal (ou seja, gordura corporal, massa corporal, altura e densidade mineral óssea por meio de imagem de absorptometria de raios-X de dupla energia (DXA) (Tabela 1). Durante a avaliação física, os voluntários realizaram medidas antropométricas e clínicas

incluindo idade, peso, altura, índice de massa corporal (IMC), gordura corporal (%G) e frequência cardíaca em repouso (Tabela 2).

Figura 1: Delineamento do estudo

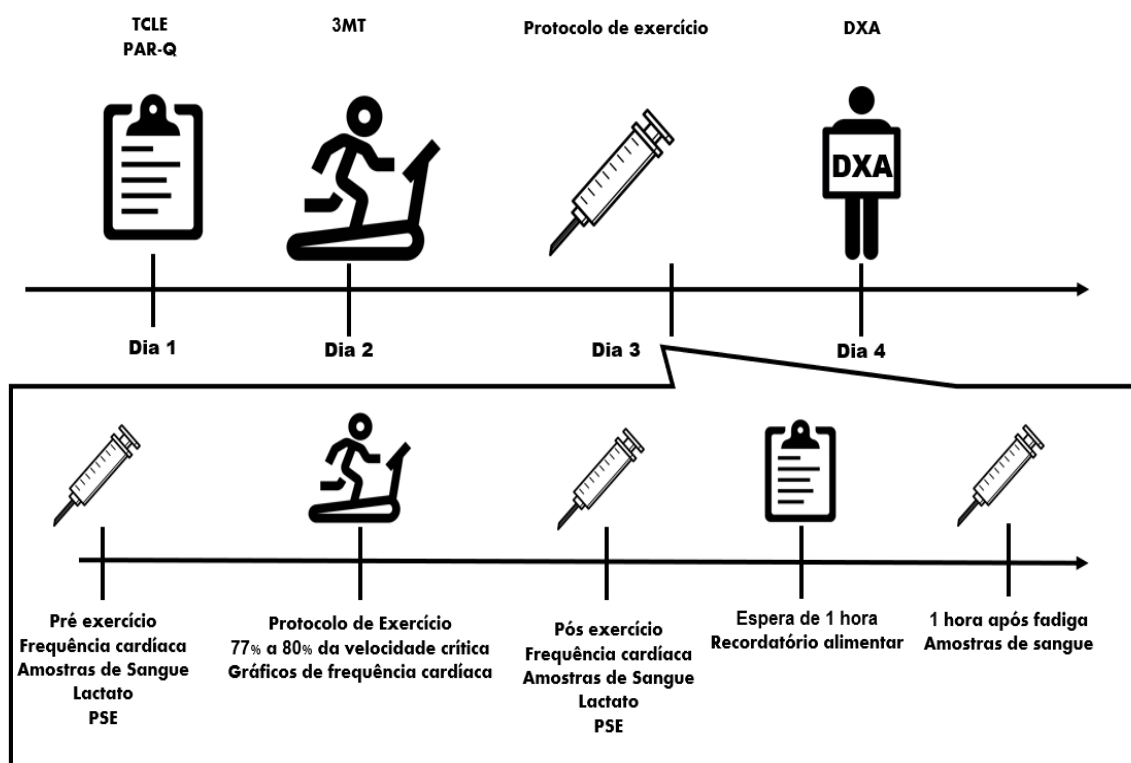


Figura 1: Resumo do desenho experimental.

5.4. TESTES DE VELOCIDADE CRÍTICA

No segundo dia de coleta de dados, os voluntários foram submetidos ao teste de velocidade crítica de 3 minutos (3MIN) (PETTITT, 2016) para quantificação do esforço e prescrição da velocidade de corrida realizada na terceira visita. Durante o teste, os voluntários foram incentivados a não pouparem energias para que os resultados não fossem subestimados, além de como critério de inclusão, os voluntários deveriam ter velocidade crítica mínima de $17,3 \pm 0$ km/h.

5.5. PROTOCOLO DE CORRIDA

No terceiro dia de coleta, os voluntários tomaram seu respectivo café da manhã padrão. Os experimentos realizados foram explicados para o voluntário e os equipamentos para a medição de frequência cardíaca foram equipados no voluntário. Após esse processo, os voluntários realizaram repouso durante um tempo mínimo de 5 minutos sentados, durante o tempo de repouso não houve interações sociais com o mesmo, os voluntários foram incentivados a ficarem na mesma posição, após esse período a frequência cardíaca de repouso foi mensurada.

Após o período de repouso houve a mensuração de pressão arterial por um médico que todo processo de coleta de dados durante o dia para a segurança dos voluntários. Coletas de sangue foram realizadas para análise de variáveis imunológicas, bioquímicas e inflamatórias. O voluntário foi encaminhado para a esteira, onde houve um aquecimento de 5 minutos a uma velocidade inferior a 5 km/h, eles realizaram uma corrida com intensidade constante correspondente a 77% - 80% da velocidade crítica avaliada no segundo dia de coleta de dados. Ao longo do protocolo de corrida, os voluntários não tiveram acesso a informações como velocidade, tempo de corrida e frequência cardíaca para que fatores psicológicos tivessem menor impacto no rendimento dos voluntários.

Para a mensuração da aptidão cardiorrespiratória dos voluntários, os dados de distância percorrida e tempo até a fadiga foram utilizados na formula proposta por

MARGARIA *et al.* (1975). Posteriormente o dado obtido foi classificado de acordo com AMERICAN COLLEGE OF SPORTS *et al.* (2018).

A coleta de dados foi acompanhada por um médico responsável que poderia interromper os testes na presença de algum dos sintomas mencionados abaixo, seguindo as orientações do *American College of Sports Medicine* (American College of Sports, Riebe *et al.* 2018) início de angina ou sintomas semelhantes aos da angina; sensação de dor no peito; incapacidade da frequência cardíaca de aumentar com o exercício; manifestações físicas ou verbais de fadiga extrema; perda da qualidade do movimento; solicitação para interromper o exercício e falha do equipamento de teste. Digno de nota, nenhum voluntário apresentou sintomas semelhantes aos de angina, dor no peito e respostas inadequadas da frequência cardíaca nos presentes experimentos.

5.6. FREQUENCIA CARDIACA E PERCEPÇÃO SUBJETIVA DE ESFORÇO

A frequência cardíaca foi monitorada durante todo o protocolo de exercícios por meio de monitor cardíaco (Polar V800). O software 3.0 do FlowSync da Polar®, permitindo exportar dados contendo variáveis como frequência cardíaca mínima, média e máxima de todos os voluntários. Os valores de frequência cardíaca em porcentagem foram derivados da equação proposta por TANAKA *et al.* (2001) para o cálculo da frequência cardíaca máxima [$208 - (0,7 \times \text{idade})$].

As avaliações da percepção de esforço (PSE) foram obtidas, imediatamente após o protocolo de exercícios, em uma Escala de Borg de 10 (BORG, 1990), visto que após 1 hora de descanso os voluntários não estariam realizando qualquer atividade que demandasse intensidade relativa assim como antes do início do exercício à coleta da PSE somente foi obtida imediatamente após a fadiga voluntária dos corredores imediatamente antes e após o protocolo de exercícios. Esta escala mede o esforço percebido relacionado ao exercício; assim, quanto maior o grau de esforço físico devido ao aumento da intensidade ou do tempo de esforço, maior será a pontuação a que o indivíduo responderá.

Portanto, PSE tem sido amplamente utilizado como um marcador de intensidade (BORG, 1990).

5.7. LACTATO

Amostras de sangue capilar da ponta do dedo foram coletadas usando uma lanceta para furar o dedo para determinar as concentrações de lactato antes e imediatamente após o exercício, a concentração de lactato no sangue por fotometria de refletância usando tiras de teste de reagente inseridas em um lactômetro *Accutrend Plus system* (Roche®, Switzerland) portátil, esta medição foi feita no máximo 1 min após a punção de sangue capilar.

5.8. HEMOGRAMA

Antes do exercício, e imediatamente e 1 hora após a fadiga voluntária, 3 tubos de 15 mL do sangue venoso periférico dos atletas foram coletados por punção em tubos vacutainer® contendo EDTA como anticoagulante. Um dos tubos foi utilizado para análise de leucócitos e suas subpopulações, os demais tubos foram centrifugados e armazenados para posterior análise de creatina quinase (CK) e citocinas. O hemograma foi realizado no mesmo dia do protocolo de exercícios por laboratório comercial contratado para realização do exame.

5.9. CREATINA QUINASE (CK)

A análise da creatina quinase foi realizada no Laboratório Piloto de Análises Clínicas (LAPAC) da Escola de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP). Essa análise foi conduzida usando um reagente líquido CK em um analisador químico automatizado COBAS Integra 400-plus de alto rendimento (Roche Diagnostics, EUA).

5.10. ANALISE DE CITOCINAS

As dosagens de IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF-alfa e IFN-gama foram realizados usando um kit BD™ *Cytometric Bead Array* (CBA, BD Biosciences, San Diego, EUA). As amostras foram diluídas na proporção de 1: 5 no diluente de teste. Paralelamente, foi realizada uma série de nove diluições no padrão fornecido para obter a curva padrão. Grãos misturados das capturas de citocinas foram adicionadas e as amostras foram incubadas a 25°C em um ambiente escuro por 90 min. As amostras foram lavadas com tampão de

lavagem e centrifugadas por 7 min a 600g a 18 °C. O sobrenadante foi descartado e os grânulos foram incubados com 8 anticorpos anti-citocina conjugados com Ficoeritrina a 25°C por mais 90 min no escuro. As contas foram ressuspensas em tampão de lavagem e imediatamente analisadas usando um citômetro de fluxo FACScan™. Essas medidas foram realizadas na Faculdade de Medicina da Universidade de Minas Gerais no Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas.

5.11. RECORDATÓRIO ALIMENTAR DE 24H

Para que tivessem desempenho máximo no protocolo de exercícios, os voluntários foram estimulados a realizar seus cafés da manhã habituais. Para a quantificação e avaliação da ingestão de nutrientes, foi solicitado aos voluntários a responder um formulário de recordatório alimentar de 24 horas no intervalo entre as coletas de sangue feitas imediatamente e 1 hora após o exercício. (FISBERG *et al.*, 2009). Os dados provenientes do registro alimentar foram analisados por um nutricionista capacitado, O método foi selecionado por ser amplamente utilizado por sua rápida aplicação e acessibilidade, a ficha de recordatório alimentar pode ser respondida por qualquer faixa etária desde que o sujeito seja alfabetizado, mas com a limitação de depender da memória do entrevistado (FISBERG *et al.*, 2009).

5.12. ABSORCIOMETRIA DE RAIOS-X DE DUPLA ENERGIA (DXA)

A avaliação da composição corporal por meio do exame de imagem por Absorciometria de Raios-X de Dupla Energia (DXA) está se tornando comum na comunidade científica. Este método permite medidas precisas de massa magra e percentual de gordura total e regional, bem como o índice de massa magra relativa (MITCHELL *et al.*, 2020), com alta correlação com tomografia computadorizada e ressonância de imagem (KULLBERG *et al.*, 2009) e menor emissão de radiação em comparação com a tomografia computadorizada (WELLS; FEWTRELL, 2006). Em nosso estudo, o exame foi realizado por um profissional qualificado e experiente que trabalhava em um hospital privado na cidade de Belo Horizonte (Minas Gerais, Brasil) em um

densitômetro GE / *Healthcare Model* iDXA (número de série ME + 210584) para medir a composição corporal (densidade mineral óssea, massa muscular e gordura corporal).

5.13. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para a correção do volume plasmático de variáveis hematócitos e hemoglobina resultantes do hemograma foram utilizadas nas as formulas de DILL e COSTILL (1974). Sendo assim, variáveis resultantes do plasma como CK e citocinas tiveram seus valores corrigidos após o protocolo e uma hora após.

A estatística descritiva foi realizada por meio de medidas de tendência central, média \pm Desvio Padrão (DP). Para verificar a normalidade das variáveis, foi utilizado o teste de *Shapiro Wilk*, devido ao tamanho da amostra. Os dados de todas as variáveis analisadas foram homogêneos e com distribuição normal. Para avaliar o lactato e a PSE, foi utilizado o teste T de Student pareado. At ANOVA (One Way) foi realizado para avaliar as diferenças entre os tempos de coleta, com Post hoc de Bonferroni. O tratamento estatístico foi realizado por meio do pacote informatizado Statistical Package for the Social Science (SPSS), versão 22.0.

O nível de significância adotado foi $p < 0,05$. Para verificar o tamanho do efeito, (Eta parcial ao quadrado: η^2p), adotando valores de efeito pequeno ($\leq 0,05$), efeito médio (0,05 a 0,25), efeito grande (0,25 a 0,50) e efeito muito grande ($> 0,50$) para ANOVA (COHEN, 1988; COHEN, 1992). Para o teste t, um tamanho de efeito foi classificado da seguinte forma: adotando valores de efeito baixo ($\leq 0,20$), efeito médio (0,20 a 0,80), efeito alto (0,80 a 1,20) e efeito muito alto ($> 1,20$) (SELYA *et al.*, 2012; LAKENS, 2013; 2017).

Como os dados analisados apresentaram distribuição normal, o método de correlação de Pearson foi aplicado para medir o grau de correlação entre as variáveis (ALTMAN, 2006; MUKAKA, 2012) dos parâmetros do exercício.

Para análise de relações entre variáveis foi utilizado o valor de delta do ponto de maior concentração sérica da variável analisada imediatamente após o exercício menos o valor de repouso da mesma variável. O coeficiente de correlação significativo (r) foi classificado da seguinte forma: correlação muito alta como valor de r entre 0,9 a 1 (-0,9 a -1 para correlação negativa), correlação alta como valor de r entre 0,7 a 0,9 (-0,7 a -0,9 para correlação negativa) , correlação moderada como valor de r entre 0,5 a 0,7 (-0,5 a -0,7 para

correlação negativa), correlação baixa como valor de r entre 0,3 a 0,5 (-0,3 a -0,5 para correlação negativa) e valor de r entre -0,3 a 0,3 é correlação insignificante.

6. RESULTADOS

6.1. ABSORCIOMETRIA DE RAIOS-X DE DUPLA ENERGIA (DXA)

Todos os voluntários foram submetidos a exames de DXA para avaliação da composição corporal (Tabela 1).

	Mínimo	Media	Máximo	D.P.
Massa corporal (kg)	61.30	77.88	82.5	± 6.77
Massa muscular (kg)	49.27	55.61	63.92	± 4.16
Massa muscular relativa (%)	68.05	77.86	86.13	± 5.02
Massa muscular de membros inferiores (kg)	17.21	19.43	22.89	± 1.87
Índice de massa muscular relativa (kg/m ²)	7.39	8.48	9.69	± 0.77
Estatura (cm)	167.0	175.0	181.0	± 0.04
Idade (anos)	23.0	30.5	39.0	± 4.3
Percentual de gordura (%)	9.40	18.10	25.30	± 4.50
Frequência cardíaca de repouso (bpm)	41	53	61	± 5

Tabela 1. Caracterização da amostra. Os dados são expressos em mínimo, média, máximo e desvio padrão.

6.2. PROTOCOLO DE EXERCICIO

Os voluntários correram a uma velocidade média de $14,2 \pm 1,0$ km / h durante o teste e atingiram a fadiga voluntária em $52,3 \pm 15,0$ min de exercício. Portanto, eles correram uma distância média de $12,7 \pm 4,0$ km. Com os dados de distância e tempo até a fadiga foi possível o cálculo de uma predição Vo₂ dos voluntários utilizando as formulas de MARGARIA *et al.* (1975). Os participantes tiveram valores de $54,29 \pm 5,53$ ml/kg.min de Vo₂, sendo considerados como excelente condicionamento cardiorrespiratório para a idade média dos voluntários (AMERICAN COLLEGE OF SPORTS *et al.*, 2018), garantindo assim a homogeneidade da amostra quanto ao condicionamento físico.

Como esperado, marcadores de intensidade do exercício, como PSE (Fig. 2A) e lactato sanguíneo (Fig. 2B) aumentaram de antes do protocolo para imediatamente após o

exercício, a PSE atingiu valores próximos ao máximo, de 0 ± 0 a $8,9 \pm 1,8$ ($p < 0,0001$, $d = 3,26$, efeito muito grande) e o nível de lactato aumentou de $2,7 \pm 0,8$ mmol / L para $7,2 \pm 2,9$ mmol / L ($p = 0,0007$, $d = 1,97$, efeito muito grande).

A frequência cardíaca, outro importante marcador da intensidade do exercício, foi medida em repouso e durante o exercício (fig. 2C), durante o exercício a frequência cardíaca máxima (FC máxima) atingiu valores de 184 ± 8 bpm ou em uma porcentagem relativa $98 \pm 0,5\%$ da capacidade máxima, os valores da frequência cardíaca média durante o exercício (FC média) foram 165 ± 11 bpm os valores de repouso foram 53 ± 5 bpm. Portanto então os valores de FC máxima foram maiores que os valores de FC média ($p = 0,0185$), que por sua vez foram maiores que os valores de repouso ($p = 0,0185$) Para essa análise da frequência cardíaca ao longo do tempo o tamanho do efeito foi $\eta^2p = 0,993$. Um efeito muito grande. CK, um marcador de dano tecidual, aumentou do pré para imediatamente após o exercício de $106,2 \pm 60,6$ para $165,1 \pm 78,3$ IU / L ($p = 0,0002$) e então diminuiu para valores de repouso 1 hora após a corrida em esteira, de $165,1 \pm 78,3$ para $130,4 \pm 67,1$ IU / L, ($\eta^2p = 0,084$, efeito médio, Fig 2D).

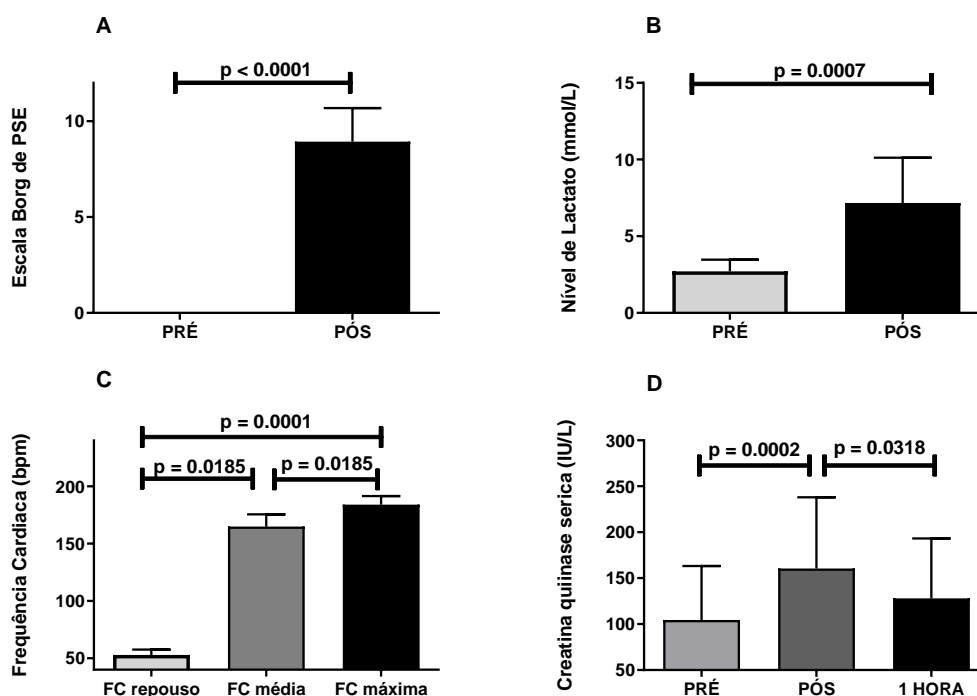


Figura 2 - Parâmetros bioquímicos, fisiológicos e comportamentais: Imediatamente após o exercício houve aumentos nos níveis de Escala de borg (FIG. 2A), nível de lactato (FIG. 2B), frequência cardíaca (FIG. 2C), e creatina quinase (FIG. 2D), após uma hora do exercício os níveis de creatina quinase (FIG. 2D) voltaram aos seus valores basais. os

dados são apresentados como média \pm desvio padrão. o nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

6.3. HEMOGRAMA

O protocolo de corrida causou alterações significativas na contagem de leucócitos, mas também no tipo de células leucocitárias. Aumento do número de leucócitos de $6245,0 \pm 1454,5 \text{ } 10^6 / \mu\text{l}$ para $8050,5 \pm 2170 \text{ } 10^6 / \mu\text{l}$ ($p = 0,0030$) e linfócitos de $2192,0 \pm 717 \text{ } 10^6 / \mu\text{l}$ para $3213,0 \pm 1153,0 \text{ } 10^6 / \mu\text{l}$ ($p = 0,0009$) foram observados no sangue periférico imediatamente após a corrida na esteira em comparação ao pré-exercício (fig. 2A e B). O número de leucócitos continuou elevado de forma que o número foi maior 1 hora após a fadiga voluntária em comparação com os valores pré-exercício de $6245,0 \pm 1454,5 \text{ } 10^6 / \mu\text{l}$ a $8.191,1 \pm 3106,0 \text{ } 10^6 / \mu\text{l}$ ($p = 0,0004$). Após uma hora de fadiga voluntária, houve um aumento no número de neutrófilos circulantes $3335,0 \pm 1245,4 \text{ } 10^6 / \mu\text{l}$ para $5914,4 \pm 2906,3 \text{ } 10^6 / \mu\text{l}$ ($p < 0,0001$). Em contraste, o número de linfócitos após uma hora diminuiu ($1579,4 \pm 496,6 \text{ } 10^6 / \mu\text{l}$) com um valor de $p = 0,0003$ para comparação antes e uma hora depois e de $p = 0,0002$ para imediatamente após e uma hora depois. Da mesma forma, nos linfócitos, o número de eosinófilos diminuiu após 1 hora em comparação aos valores pré-exercício ($p = 0,0011$) de $189,7 \pm 113,2 \text{ } 10^6 / \mu\text{l}$ para $107,1 \pm 93,6 \text{ } 10^6 / \mu\text{l}$. Por último, o número de monócitos e basófilos não mudou em nenhum dos momentos. O tamanho do efeito em leucócitos ($\eta^2p = 0,428$, efeito grande), linfócitos ($\eta^2p = 0,651$, efeito muito grande), neutrófilos ($\eta^2p = 0,616$, efeito muito grande), eosinófilos ($\eta^2p = 0,498$, efeito grande), Monócitos ($\eta^2p = 0,116$, efeito médio) e Basófilos ($\eta^2p = 0,119$, efeito médio).

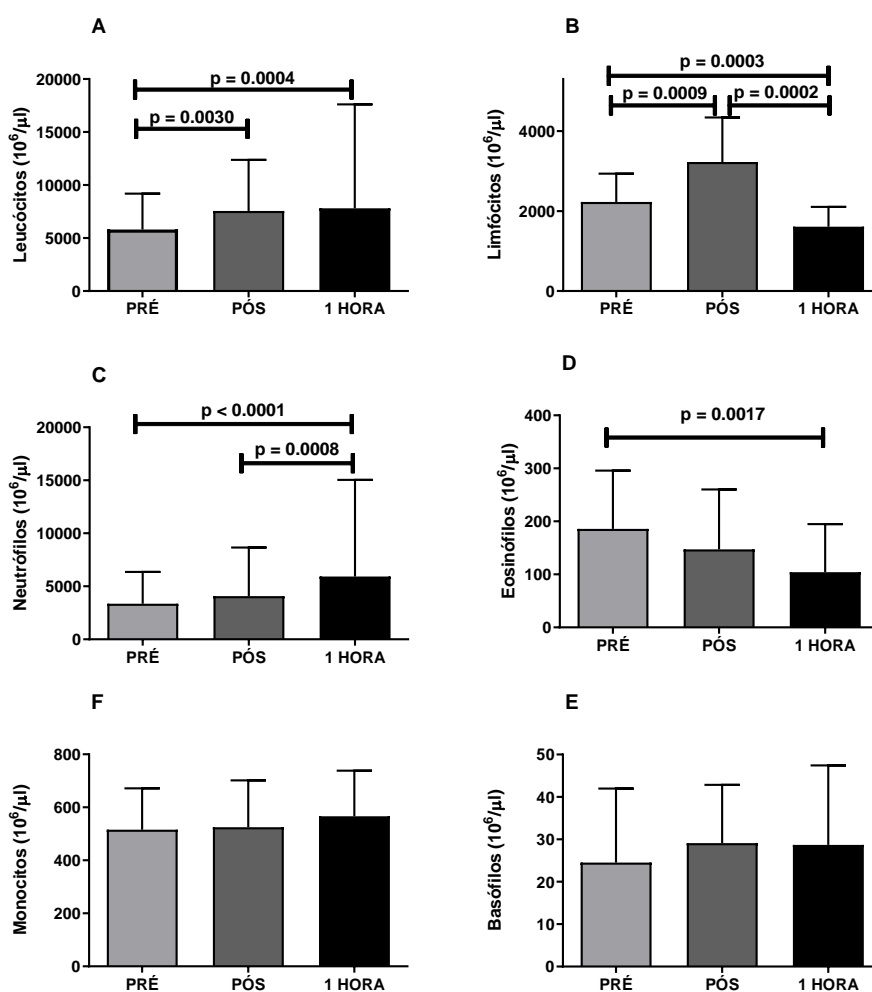


Figura 3 - Contagem de leucócitos. A corrida em esteira até a fadiga alterou os marcadores imunológicos, como evidenciado pelas mudanças no número de leucócitos e no tipo de célula dos linfócitos. Houve diferenças significativas observadas em diferentes momentos nos leucócitos totais (Fig. 3A), linfócitos (Fig. 3B), neutrófilos (Fig. 3C) e eosinófilos (Fig. 3D). A contagem de monócitos (Fig. 3E) e basófilos (Fig. 3F) não foi alterada pelo exercício físico. Os dados são apresentados como média \pm desvio padrão. O nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

6.4. RELAÇÕES ENTRE ALTERAÇÕES DE LEUCÓCITOS E OS PARÂMETROS DE CARGA ASSOCIADOS À CORRIDA EM ESTEIRA

Na figura 4, as correlações entre as concentrações de leucócitos e lactato foram apresentadas com valores de contraste entre os momentos após a fadiga voluntária menos os valores das concentrações em repouso. A resposta proliferativa do sistema imunológico às contrações musculares induzidas pelo exercício foi correlacionada com a duração e intensidade da corrida em esteira. Altas correlações positivas foram observadas entre o

número de leucócitos e a distância percorrida ($r = 0,82$, Fig. 4A) ou tempo até a fadiga ($r = 0,78$, Fig. 4B). Em contraste, as baixas correlações foram encontradas entre o número de leucócitos e o lactato sanguíneo ($r = -0,35$, Fig. 4C) ou frequência cardíaca média ($r = 0,48$, Fig. 4D), o valor de r para a correlação de CK e leucócitos era desprezível ($r = 0,23$).

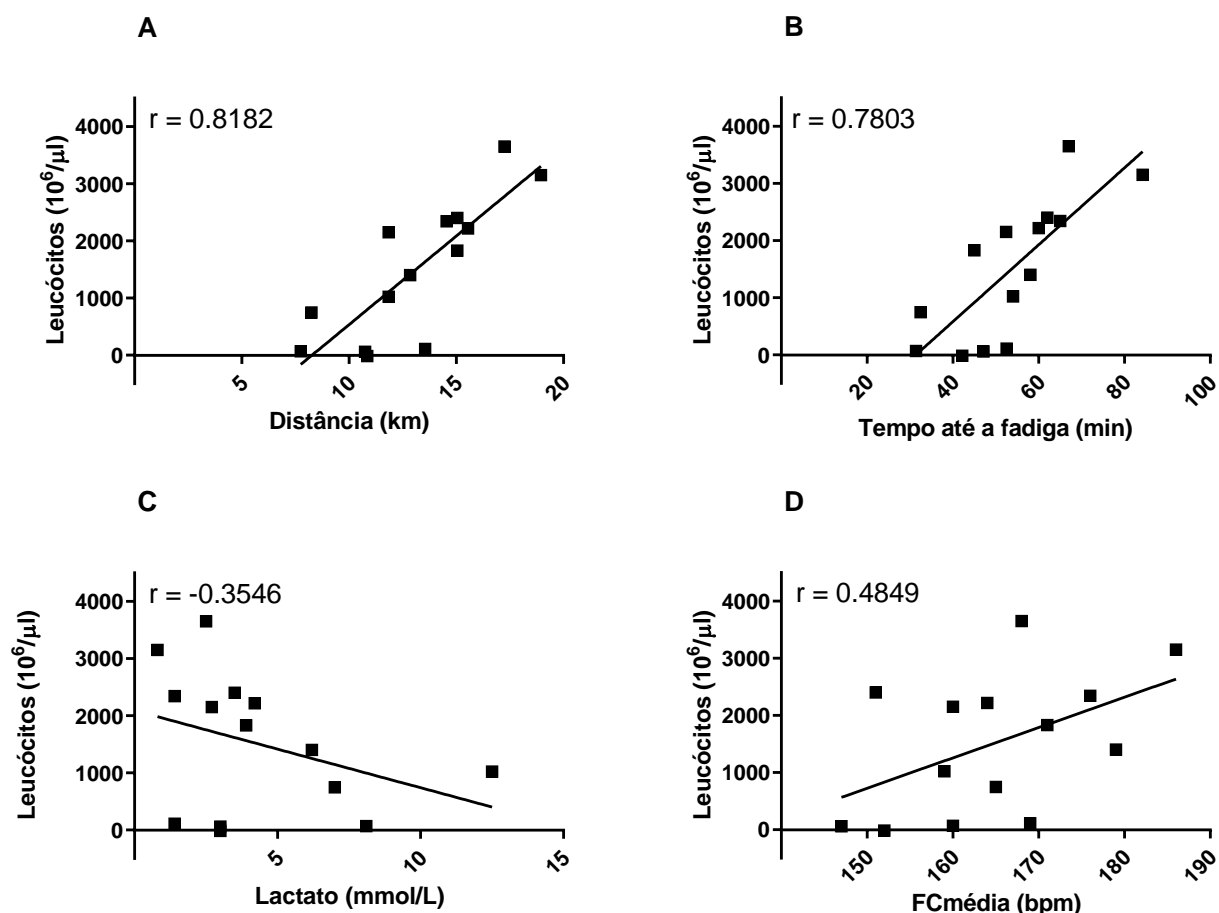


Figura 4 - Correlações entre os glóbulos brancos e os parâmetros de carga e externos (distância percorrida e tempo até a fadiga) e internos como lactato e frequência cardíaca média (FCmédia) associados à fadiga em corrida em esteira. Correlações significativas foram encontradas entre leucócitos e distância percorrida ($r = 0,82$, painel A) ou tempo até a fadiga ($r = 0,78$, painel B), mas não entre leucócitos e lactato ($r = -0,35$, painel C) e média frequência cardíaca ($r = 0,48$, painel D).

6.5. CITOCINAS

A corrida em esteira até a fadiga modulou as respostas imunológicas, conforme evidenciado pelas alterações em algumas das citocinas que foram analisadas. As

concentrações de IL-6 (de $1,77 \pm 0,66$ pg/ml para $5,78 \pm 5,98$ pg / ml, $p = 0,0002$, Fig. 5.C) e IL-10 aumentaram imediatamente após o exercício em comparação aos valores pré-exercício (de $1,55 \pm 0,70$ pg/ml para $3,34 \pm 2,58$ pg/ml $p = 0,0185$, Fig 5.D) aumentaram imediatamente após o exercício em comparação aos valores pré-exercício. Essas concentrações permaneceram elevadas 1 hora após a fadiga voluntária em relação aos valores de repouso ($p = 0,0057$ para IL-6 e $p = 0,0004$ para IL-10). É importante ressaltar que não foram observadas diferenças em IL-6 ou IL-10 entre os dois momentos pós-exercício avaliados. Além disso, não houve alterações induzidas pelo exercício nas concentrações de IFN- γ , TNF α , IL-2 e IL-4 (Fig. 5A, B, E e F).

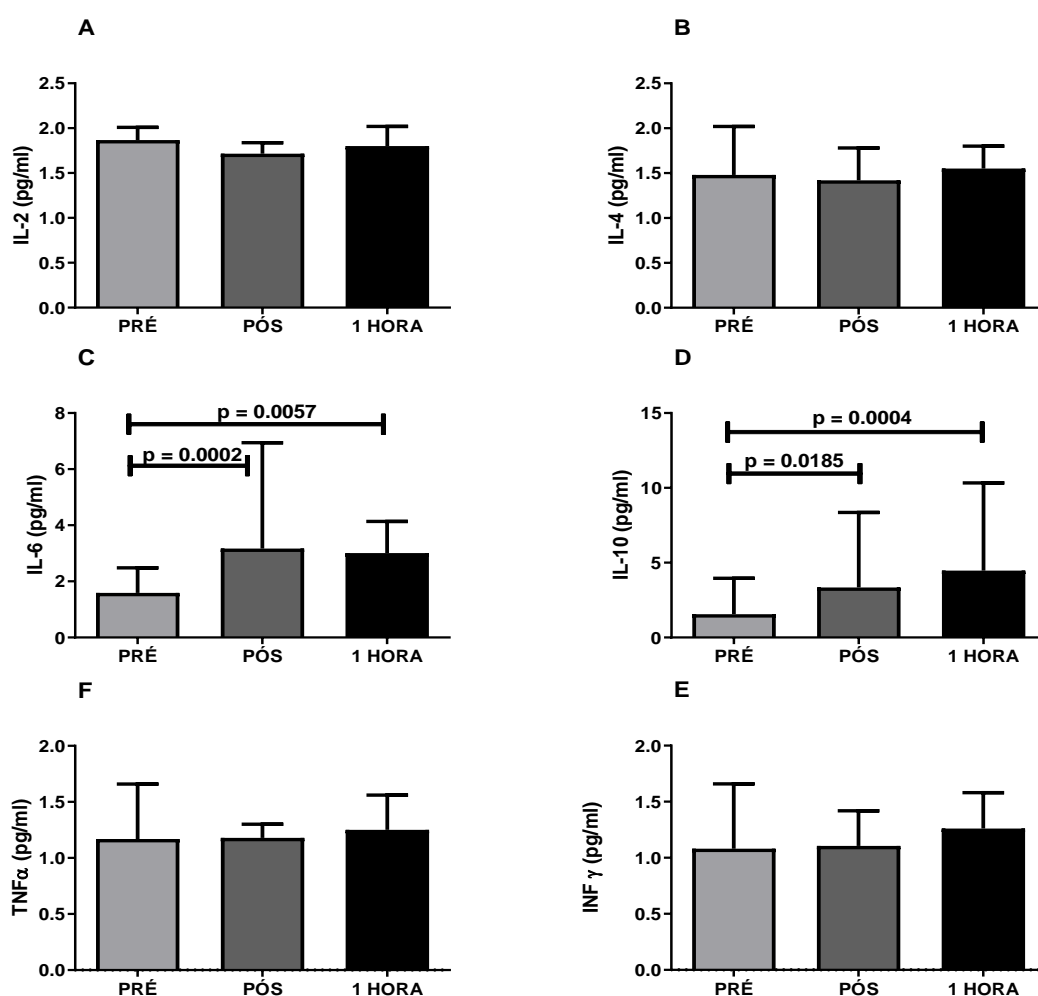


Figura 5 - Concentrações de citocinas séricas. Houve aumento das concentrações de IL-6 (Fig. 5C) e IL-10 (Fig. 5D) imediatamente após o exercício em relação aos valores pré-exercício. Essas concentrações permaneceram elevadas 1 hora após a fadiga voluntária. Não houve mudanças significativas nas concentrações de IL-2 (Fig. 2A), IL-4 (Fig. 2B),

TNF α (Fig. 2C) e INF γ (Fig. 2D) no período pós-exercício. Os dados são apresentados como média \pm desvio padrão. O nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

6.6. RELAÇÕES ENTRE CITOCINAS E PARAMETROS DE CARGA DA CORRIDA ATÉ FADIGA

Foi encontrada uma alta correlação imediatamente após o exercício entre IL-6 e IL-10 circulante no plasma ($P=0.0023$, $r = 0,74$) e uma moderada correlação entre IL-6 e leucócito ($P= 0.042$, $r = 0,52$). Todas as correlações das concentrações de citocinas (IL-6 e IL-10) e lactato apresentadas na figura 6, foram realizadas com os valores da diferença entre os momentos após a fadiga voluntária menos os valores das respectivas concentrações em repouso. Conforme mostrado na figura 6, altas correlações positivas foram encontradas entre as concentrações plasmáticas de IL-6 e a distância percorrida (Fig 6.A) ou tempo até a fadiga (Fig 6.B). Da mesma forma, correlações positivas moderadas foram encontradas entre as concentrações plasmáticas de IL-10 e a distância percorrida (Fig 6.D) ou o tempo até a fadiga (Fig 6.E). Em contraste, baixas correlações negativas foram encontradas entre lactato e IL-6 (Fig.6 C) e uma correlação desprezível entre IL-10 e lactato (Fig.6 F). Outras correlações não mostradas em formato de gráfico foram realizadas, como HRavg x IL-6 ($r = 0,48$), HRavg x IL-10 ($r = 0,34$), mas as correlações mostraram-se baixas ou desprezíveis, como CK x IL-6 ($r = 0,25$) e CK x IL-10 ($r = - 0,004$).

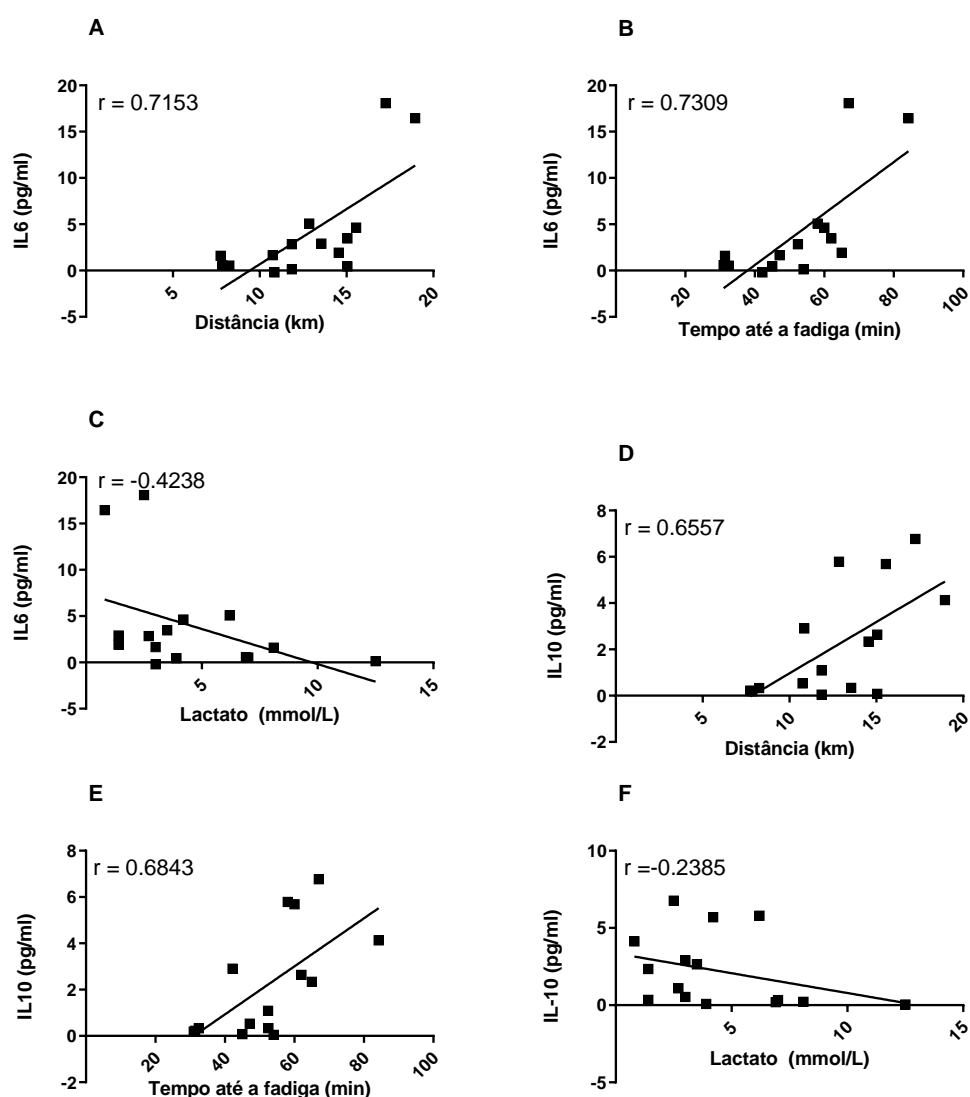


Figura 6 - Correlações entre citocinas e parâmetros de carga externa (distância percorrida e tempo até a fadiga) e interna (concentração de lactato) associados à fadiga na corrida em esteira. Altas correlações positivas foram encontradas entre IL-6 e distância percorrida ($P=0.0003$, $r=0,7153$, painel A); IL-6 e tempo até a fadiga ($P=0.001$, $r=0,7309$, painel B); correlação positiva moderada encontrada entre IL-10 e distância percorrida ($P=0.0115$, $r=0,6557$, painel D) e IL-10 e tempo até a fadiga ($P=0.0091$, $r=0,6843$, painel E); Não foi encontrada correlação significativa entre as concentrações de IL-6 e lactato (Fig. 6 C) e uma correlação desprezível entre IL-10 e lactato (Fig.6 F). Os dados são apresentados como média \pm desvio padrão. O nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

As correlações das concentrações de citocinas (IL-6 e IL-10) apresentadas na figura 7 foram realizadas com a diferença dos valores entre os momentos após a fadiga voluntária menos os valores das respectivas concentrações em repouso. Não foram

observadas baixas correlações significativas nas análises envolvendo a massa muscular de membros inferiores ou total com as duas citocinas (IL-10 e IL-6).

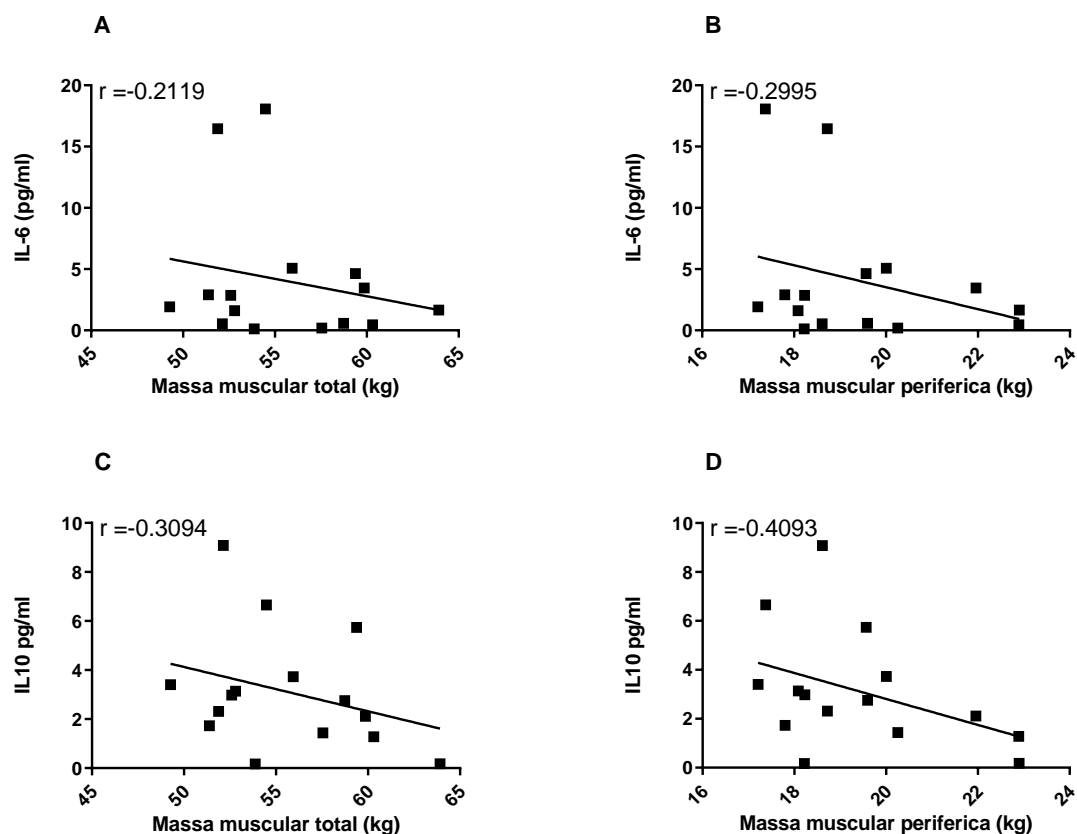


Figura 7 - Correlações entre a massa muscular esquelética de corpo inteiro ou membros inferiores e citocinas. Não houve correlações significativas entre a massa muscular total e IL6 (FIG. 7A), com massa muscular dos membros inferiores e IL-6 (FIG. 7B), massa muscular total e IL-10 (FIG. 7C), com massa muscular dos membros inferiores e IL-10 (FIG. 7D). Os dados são apresentados como média \pm desvio padrão. O nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

7. DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo com humanos fornecem evidências adicionais de que uma sessão de exercícios modula a resposta imunológica. Nossos resultados podem ser resumidos da seguinte forma: (I) uma sessão submáxima de corrida até que a fadiga modula as respostas fisiológicas, bioquímicas e imunológicas; (II) a magnitude da mudança na resposta imune (isto é, leucócitos, IL-6 e IL-10) está correlacionada com a distância percorrida e o tempo até a fadiga em exercícios aeróbicos; (III) há correlação entre o nível de leucócitos e a IL-6 circulante imediatamente após uma sessão aguda de exercício intenso e volumoso; (IV) não há correlação entre a massa muscular esquelética (total ou periférica) e as citocinas circulantes após uma sessão submáxima de corrida até a fadiga voluntária. (V) não há correlação entre a massa muscular esquelética e os leucócitos circulantes após uma sessão submáxima de corrida até a fadiga voluntária.

Conforme esperado, a média e a frequência cardíaca máxima atingidas durante a corrida na esteira foram superiores aos valores de repouso. Além disso, o exercício também aumentou a percepção de esforço percebido e as concentrações de lactato e CK, indicando que a intensidade e a duração da corrida foram suficientemente estressantes para perturbar a homeostase de todos os indivíduos. Os voluntários atingiram valores de 98% na frequência cardíaca máxima, as concentrações de lactato superaram as concentrações previstas para o início do acúmulo de lactato sanguíneo (OBLA), e quanto à percepção de esforço dos voluntários, os níveis de PSE atingiram valores praticamente máximos. Além disso, as concentrações plasmáticas de CK sugerem que houve dano tecidual. Os aumentos da FC e da PSE já eram esperados devido às características do exercício e à demanda por maior fluxo sanguíneo nos músculos em contração.

A concentração sanguínea de CK é um importante marcador de dano tecidual. Uma vez que existe dano tecidual ocorre aumento de CK sérica e espera-se o desencadeamento de uma resposta inflamatória, como a observada neste estudo. O aumento da CK ocorre concomitantemente ao aumento dos leucócitos no sangue. A mudança aguda no número de leucócitos plasmáticos após uma sessão de exercícios é amplamente relatada (NEVES *et al.*, 2015; LUK *et al.*, 2016; TOSSIGE-GOMES *et al.*, 2016; FORTUNATO *et al.*, 2018; MARCUCCI-BARBOSA; MARTINS-JUNIOR; LOBO; DE MORAIS; *et al.*, 2019).

O aumento do número de leucócitos já foi relatado após exercícios que dependem predominantemente do metabolismo glicolítico, como uma sessão de treinamento de força (NATALE *et al.*, 2003; FORTUNATO *et al.*, 2018; MARCUCCI-BARBOSA; MARTINS-JUNIOR; LOBO; DE MORAIS; *et al.*, 2019) ou dependem predominantemente do metabolismo aeróbico, como ciclismo (LUK *et al.*, 2016), esteira (NEVES *et al.*, 2015) e corrida de rua (SILVA, 2018), ultramaratonas (ZAKOVSKA *et al.*, 2017), e cicloergometria máxima e de longa duração (NATALE *et al.*, 2003). Nossos dados de correlação sugerem que a magnitude das mudanças é proporcional à distância percorrida e ao tempo até a fadiga, que refletem a intensidade e duração do exercício e corroboram com estudos anteriores (NEVES *et al.*, 2015; MARCUCCI-BARBOSA; MARTINS-JUNIOR; LOBO; MORAIS; *et al.*, 2019).

Existem algumas possíveis explicações para o aumento dos leucócitos. Alguns autores sugerem que o aumento resulta do dano tecidual, conforme indicado pelo aumento da CK, simultaneamente a um aumento da resposta inflamatória (SMITH *et al.*, 2004; NEVES *et al.*, 2015). Outra possibilidade é o aumento dos hormônios de estresse no plasma, que são responsivos ao exercício. O deslocamento de leucócitos provindos de ossos estreitos para a corrente sanguínea pode ocorrer sob estimulação do sistema simpático-adrenal durante o exercício, como evidenciado por maiores concentrações de epinefrina e norepinefrina em resposta à homeostase interrompida (NIELSEN *et al.*, 2004; KAKANIS *et al.*, 2010). Outra hipótese é o deslocamento desses leucócitos dos vasos sanguíneos contraídos ou órgãos linfóides para a corrente sanguínea, resultante da resposta vasodilatadora do exercício (ALACK *et al.*, 2019). O presente estudo corrobora com outros estudos que correlacionaram a magnitude de o aumento da leucócitos totais com a intensidade e duração do exercício (SMITH *et al.*, 2004; NEVES *et al.*, 2015).

Apesar dos aumentos de CK e leucócitos totais, nem todas as citocinas medidas não foram responsivas. Existem muitos estudos mostrando que o estresse gerado por uma sessão aguda de exercício pode modular a concentração plasmática de citocinas (PEAKE *et al.*, 2005; GLEESON *et al.*, 2011; SANTOS *et al.*, 2016). Notavelmente, o sistema imunológico reage de forma diferente de acordo com diferentes variáveis do exercício físico, como duração e intensidade (PEAKE *et al.*, 2005; ZHAO *et al.*, 2012).

Aparentemente, falta um consenso sobre a produção de IL-2 e IL-4 após uma sessão aguda de exercício, essas citocinas estão envolvidas na resposta inflamatória atuando no reparo tecidual dos músculos esqueléticos recrutados durante o exercício

(ROSA NETO *et al.*, 2011). Em relação à IL-2, alguns estudos relataram um aumento na concentração plasmática (DE LA FUENTE *et al.*, 2005; ROSA NETO *et al.*, 2011; TOSSIGE-GOMES *et al.*, 2016), embora no presente estudo não tenhamos encontrado diferença significativa, corroboramos com pesquisas anteriores (SILVA, 2018; MARCUCCI-BARBOSA; MARTINS-JUNIOR; LOBO; DE MORAIS; *et al.*, 2019). Da mesma forma que outras pesquisas (TOSSIGE-GOMES *et al.*, 2016; SILVA, 2018; MARCUCCI-BARBOSA; MARTINS-JUNIOR; LOBO; DE MORAIS; *et al.*, 2019), este estudo não encontrou diferença significativa nos valores plasmáticos de IL-4 em nenhum dos períodos pós-exercício pontos de tempo analisados; no entanto, alguns estudos relataram diferenças significativas na IL-4 após uma sessão aguda de exercício físico (ROSA NETO *et al.*, 2011). Nesse contexto, mais estudos devem avaliar as respostas de IL-2 e IL-4 ao esforço físico e tentar identificar características do exercício que possam simular a secreção dessas citocinas.

No presente estudo a citocina IL-6 teve aumento imediatamente após a sessão de corrida, essa citocina exerce ações metabólicas em diferentes tecidos. A IL-6 estimula a secreção de glicose no fígado e a liberação de ácidos graxos nos tecidos adiposos, enquanto auxilia na captação de glicose e oxidação de ácidos graxos pelos músculos (SCHNYDER; HANDSCHIN, 2015; KNUDSEN *et al.*, 2017). A IL-6 é talvez a citocina mais versátil de todo o sistema imunológico, as características dessa citocina (propriedades anti/pró-inflamatórias ou hormonais) são dependentes do meio em que está atuando e do contexto que a modulou (HUNTER; JONES, 2015).

A concentração plasmática de IL-6 aumentou após o exercício, assim como em vários outros estudos (ULVEN *et al.*, 2015; FORTUNATO *et al.*, 2018; SANTOS *et al.*, 2019) Esse aumento pode estar relacionado à alta demanda metabólica e energética do protocolo de corrida (KNUDSEN *et al.*, 2017; SILVA, 2018). Nossos dados sugerem a existência de correlações entre a duração e a intensidade do exercício e a liberação de leucócitos na corrente sanguínea. O presente estudo também sugere que maiores números de leucócitos plasmáticos após o exercício são observados concomitantemente com maior IL-6 plasmático. Em geral, pesquisas anteriores mostraram que concentrações mais altas de IL-6 plasmática após o exercício estão correlacionadas com a capacidade aeróbica do indivíduo, recrutamento muscular, intensidade e duração do exercício (STEENBERG *et al.*, 2000; HELGE *et al.*, 2003; CHEN *et al.*, 2009).

Observamos correlações positivas entre IL-6 e IL-10 plasmáticas. O aumento da IL-10 pode ser explicado pela ação antiinflamatória ou regulatória da IL-6. Embora seja

considerada pelos seus efeitos inflamatórios, também atua de forma antiinflamatória ou regulatória nos músculos contraídos durante exercício. Para ilustrar isso, simultaneamente ao pico de IL-6 na concentração sanguínea, ocorre um aumento nas citocinas pró e anti-inflamatórias, como IL-1 e IL-10 (SCHNYDER; HANDSCHIN, 2015). Embora não tenha havido diferença no IFN- γ e no TNF α , a IL-10 circulante aumentou após a sessão aguda de exercícios, conforme relatado em estudos anteriores (Ulven, Foss et al. 2015, Santos, Sierra et al. 2016).

Por aumentar concomitantemente com o aumento da IL-6 produzida durante o exercício, alguns autores também descrevem a IL-10 como uma miocina (JUNG *et al.*, 2015; LEAL *et al.*, 2018; SANTOS *et al.*, 2020) que exerce efeitos antiinflamatórios. Assim, o aumento na IL-10 pode indicar uma contra-regulação da inflamação induzida pelo exercício por citocinas anti-inflamatórias que também são secretadas pelo exercício (ULVEN *et al.*, 2015; SANTOS *et al.*, 2016).

Embora os resultados deste estudo mostrem claramente que o exercício aeróbio submáximo até a fadiga modificou as respostas fisiológicas e imunológicas, como o aumento no número de leucócitos e nas concentrações plasmáticas de citocinas, essas respostas não se correlacionaram com a massa muscular do ou periférica dos membros inferiores. Embora a literatura mostre que os músculos exercitados produzem e liberam citocinas na corrente sanguínea, nossa hipótese de que essa produção / liberação esteja associada à quantidade de tecido muscular não foi confirmada.

8. CONCLUSÃO

O protocolo de corrida além de alterar parâmetros de carga interna associada ao exercício também foi capaz de modificar as variáveis imunológicas e inflamatórias, como contagem de leucócitos e citocinas.

Apesar da IL-6 e a IL-10 estarem associadas ao exercício, essas citocinas não demonstram se correlacionar com os níveis de massa muscular total, e de membros inferiores. Porém nossos dados sugerem que o nível da resposta imunológica é proporcional a variáveis do exercício, como o tempo até a fadiga e distância percorrida.

Lembramos que em nossa coleta de sangue, realizamos uma punção na veia cubital em um dos membros superiores e, como a IL-6, possui ações nos músculos estimulados pela contração, talvez sua concentração nos membros inferiores possa ter sido diferente no momento da coleta. Sugerimos que estudos sobre citocinas liberadas em decorrência do exercício sejam coletados por meio de biópsia muscular e sérica a fim de entender as diferenças nas concentrações das citocinas em diferentes tecidos.

REFERÊNCIAS

ALACK, K.; PILAT, C.; KRÜGER, K. J. D. Z. F. S. Current knowledge and new challenges in exercise immunology. *70*, p. 250-260, 2019.

ALTMAN, D. G. **Practical Statistics for Medical Research**. Chapman & Hall/CRC, 2006. 1584880392.

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS, M.; RIEBE, D.; EHRMAN, J. K.; LIGUORI, G. *et al.* **ACSM's guidelines for exercise testing and prescription**. 2018. 9781496339065 1496339061 149633907X 9781496339072.

BENATTI, F. B.; PEDERSEN, B. K. Exercise as an anti-inflammatory therapy for rheumatic diseases-myokine regulation. **Nat Rev Rheumatol**, 11, n. 2, p. 86-97, Feb 2015.

BLIZZARD LEBLANC, D. R.; RIOUX, B. V.; PELECH, C.; MOFFATT, T. L. *et al.* Exercise-induced irisin release as a determinant of the metabolic response to exercise training in obese youth: the EXIT trial. **Physiol Rep**, 5, n. 23, Dec 2017.

BORG, G. Psychophysical scaling with applications in physical work and the perception of exertion. **Scand J Work Environ Health**, 16 Suppl 1, p. 55-58, 1990.

BURESH, R.; BERG, K.; NOBLE, J. Heat production and storage are positively correlated with measures of body size/composition and heart rate drift during vigorous running. **Res Q Exerc Sport**, 76, n. 3, p. 267-274, Sep 2005.

BURESH, R. J.; BERG, K. E.; NOBLE, J. M. Relationship between measures of body size and composition and velocity of lactate threshold. **J Strength Cond Res**, 18, n. 3, p. 504-507, Aug 2004.

CHEN, Y. J.; WONG, S. H.; CHAN, C. O.; WONG, C. K. *et al.* Effects of glycemic index meal and CHO-electrolyte drink on cytokine response and run performance in endurance athletes. **J Sci Med Sport**, 12, n. 6, p. 697-703, Nov 2009.

COHEN, J. **Statistical power analysis for the behavioral sciences**. Hillsdale, N.J.: L. Erlbaum Associates, 1988. 9780805802832 0805802835.

COHEN, J. A power primer. **Psychol Bull**, 112, n. 1, p. 155-159, Jul 1992.

DE LA FUENTE, M.; HERNANZ, A.; VALLEJO, M. C. The immune system in the oxidative stress conditions of aging and hypertension: favorable effects of antioxidants and physical exercise. **Antioxid Redox Signal**, 7, n. 9-10, p. 1356-1366, Sep-Oct 2005.

DILL, D. B.; COSTILL, D. L. Calculation of percentage changes in volumes of blood, plasma, and red cells in dehydration. **J Appl Physiol**, 37, n. 2, p. 247-248, Aug 1974.

FEBBRAIO, M. A. Exercise metabolism in 2016: Health benefits of exercise - more than meets the eye! **Nat Rev Endocrinol**, 13, n. 2, p. 72-74, Feb 2017.

FISBERG, R. M.; MARCHIONI, D. M. L.; COLUCCI, A. C. A. Avaliação do consumo alimentar e da ingestão de nutrientes na prática clínica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, 53, p. 617-624, 2009.

FORTUNATO, A.; PONTES, W.; SOUZA, D.; PRAZERES, J. *et al.* Strength Training Session Induces Important Changes on Physiological, Immunological, and Inflammatory Biomarkers. **Journal of Immunology Research**, 2018, p. 1-12, 06/26 2018.

FRONTERA, W. R.; OCHALA, J. Skeletal Muscle: A Brief Review of Structure and Function. **Calcified Tissue International**, 96, n. 3, p. 183-195, 2015/03/01 2014.

FU, Q.; LEVINE, B. D. Exercise and the autonomic nervous system. **Handb Clin Neurol**, 117, p. 147-160, 2013.

GLEESON, M.; BISHOP, N. C.; STENSEL, D. J.; LINDLEY, M. R. *et al.* The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. **Nat Rev Immunol**, 11, n. 9, p. 607-615, Aug 5 2011.

GLEESON, M. J. J. o. a. p. Immune function in sport and exercise. 103, n. 2, p. 693-699, 2007.

HELGE, J. W.; STALLKNECHT, B.; PEDERSEN, B. K.; GALBO, H. *et al.* The effect of graded exercise on IL-6 release and glucose uptake in human skeletal muscle. **J Physiol**, 546, n. Pt 1, p. 299-305, Jan 1 2003.

HOFFMANN, C.; WEIGERT, C. Skeletal Muscle as an Endocrine Organ: The Role of Myokines in Exercise Adaptations. **Cold Spring Harb Perspect Med**, 7, n. 11, Nov 1 2017.

HUNTER, C. A.; JONES, S. A. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. **Nat Immunol**, 16, n. 5, p. 448-457, May 2015.

JUNG, S.; AHN, N.; KIM, S.; BYUN, J. *et al.* The effect of ladder-climbing exercise on atrophy/hypertrophy-related myokine expression in middle-aged male Wistar rats. **The Journal of Physiological Sciences**, 65, n. 6, p. 515-521, 2015/11/01 2015.

KAKANIS, M.; PEAKE, J.; BRENU, E.; SIMMONDS, M. *et al.* The open window of susceptibility to infection after acute exercise in healthy young male elite athletes. **Exercise immunology review**, 16, p. 119-137, 12/01 2010.

KIRWAN, J. P.; SACKS, J.; NIEUWOUDT, S. The essential role of exercise in the management of type 2 diabetes. **Cleve Clin J Med**, 84, n. 7 Suppl 1, p. S15-s21, Jul 2017.

KNUDSEN, J. G.; GUDIENSEN, A.; BERTHOLDT, L.; OVERBY, P. *et al.* Skeletal muscle IL-6 regulates muscle substrate utilization and adipose tissue metabolism during recovery from an acute bout of exercise. **PLoS One**, 12, n. 12, p. e0189301, 2017.

KRAEMER, W. J.; RATAMESS, N. A.; NINDL, B. C. Recovery responses of testosterone, growth hormone, and IGF-1 after resistance exercise. **J Appl Physiol (1985)**, 122, n. 3, p. 549-558, Mar 1 2017.

KULLBERG, J.; BRANDBERG, J.; ANGELHED, J. E.; FRIMMEL, H. *et al.* Whole-body adipose tissue analysis: comparison of MRI, CT and dual energy X-ray absorptiometry. **Br J Radiol**, 82, n. 974, p. 123-130, Feb 2009.

LAKENS, D. Calculating and reporting effect sizes to facilitate cumulative science: a practical primer for t-tests and ANOVAs. **Front Psychol**, 4, p. 863, Nov 26 2013.

LAKENS, D. Equivalence Tests: A Practical Primer for t Tests, Correlations, and Meta-Analyses. **Soc Psychol Personal Sci**, 8, n. 4, p. 355-362, May 2017.

LEAL, L. G.; LOPES, M. A.; BATISTA, M. L., Jr. Physical Exercise-Induced Myokines and Muscle-Adipose Tissue Crosstalk: A Review of Current Knowledge and the Implications for Health and Metabolic Diseases. **Front Physiol**, 9, p. 1307, 2018.

LUK, H.-Y.; MCKENZIE, A.; DUPLANTY, A.; BUDNAR, R. *et al.* Leukocyte Subset Changes in Response to a 164-km Road Cycle Ride in a Hot Environment. **International Journal of Exercise Science**, 9, p. 34-46, 01/15 2016.

MARCUCCI-BARBOSA, L. S.; MARTINS-JUNIOR, F.; LOBO, L. F.; MORAIS, M. G. *et al.* 10 km running race induces an elevation in the plasma myokine level of nonprofessional runners. **Sport Sciences for Health**, 2019.

MARCUCCI-BARBOSA, L. S.; MARTINS-JUNIOR, F. d. A. D.; LOBO, L. F.; DE MORAIS, M. G. *et al.* The effects of strength training session with different types of muscle action on

white blood cells counting and Th1/Th2 response. **Sport Sciences for Health**, 2019/11/22 2019.

MARGARIA, R.; AGHEMO, P.; PIÑERA LIMAS, F. A simple relation between performance in running and maximal aerobic power. **J Appl Physiol**, 38, n. 2, p. 351-352, Feb 1975.

MCGURRAN, H.; GLENN, J. M.; MADERO, E. N.; BOTT, N. T. Prevention and Treatment of Alzheimer's Disease: Biological Mechanisms of Exercise. **J Alzheimers Dis**, 69, n. 2, p. 311-338, 2019.

MITCHELL, U. H.; BAILEY, B.; OWEN, P. J. Examining Bone, Muscle and Fat in Middle-Aged Long-Term Endurance Runners: A Cross-Sectional Study. **J Clin Med**, 9, n. 2, Feb 14 2020.

MUKAKA, M. M. Statistics corner: A guide to appropriate use of correlation coefficient in medical research. **Malawi Med J**, 24, n. 3, p. 69-71, Sep 2012.

NATALE, V. M.; BRENNER, I. K.; MOLDOVEANU, A. I.; VASILIOU, P. *et al.* Effects of three different types of exercise on blood leukocyte count during and following exercise **Sao Paulo Medical Journal**, 121, p. 09-14, 2003.

NEVES, P.; TENORIO, T.; LINS, T. A.; MUNIZ, M. T. C. *et al.* Acute effects of high- and low-intensity exercise bouts on leukocyte counts. **J Exerc Sci Fit**, 13, n. 1, p. 24-28, Jun 2015.

NIELSEN, H.; HAGBERG, I.; LYBERG, T. Marathon Running Leads to Partial Exhaustion of ROS-Generating Capacity in Leukocytes. **Medicine and science in sports and exercise**, 36, p. 68-73, 02/01 2004.

NUNES-SILVA, A.; BERNARDES, P. T.; REZENDE, B. M.; LOPES, F. *et al.* Treadmill exercise induces neutrophil recruitment into muscle tissue in a reactive oxygen species-dependent manner. An intravital microscopy study. **PLoS One**, 9, n. 5, 2014.

OSTROWSKI, K.; SCHJERLING, P.; PEDERSEN, B. K. Physical activity and plasma interleukin-6 in humans--effect of intensity of exercise. **Eur J Appl Physiol**, 83, n. 6, p. 512-515, Dec 2000.

PAULSEN, G.; MIKKELSEN, U. R.; RAASTAD, T.; PEAKE, J. M. Leucocytes, cytokines and satellite cells: what role do they play in muscle damage and regeneration following eccentric exercise? **Exerc Immunol Rev**, 18, p. 42-97, 2012.

PEAKE, J.; NOSAKA, K. K.; SUZUKI, K. Characterization of inflammatory responses to eccentric exercise in humans. 2005.

PEAKE, J. M.; DELLA GATTA, P.; SUZUKI, K.; NIEMAN, D. C. Cytokine expression and secretion by skeletal muscle cells: regulatory mechanisms and exercise effects. **Exerc Immunol Rev**, 21, p. 8-25, 2015.

PEDERSEN, B. K.; HOFFMAN-GOETZ, L. Exercise and the immune system: regulation, integration, and adaptation. **Physiological reviews**, 80, n. 3, p. 1055-1081, 2000.

PETERSEN, A. M.; PEDERSEN, B. K. The anti-inflammatory effect of exercise. **J Appl Physiol** (1985), 98, n. 4, p. 1154-1162, Apr 2005.

PETTITT, R. W. Applying the Critical Speed Concept to Racing Strategy and Interval Training Prescription. **Int J Sports Physiol Perform**, 11, n. 7, p. 842-847, Oct 2016.

PICCIRILLO, R. Exercise-Induced Myokines With Therapeutic Potential for Muscle Wasting. **Front Physiol**, 10, p. 287, 2019.

ROSA NETO, J. C.; LIRA, F. S.; ZANCHI, N. E.; OYAMA, L. M. *et al.* Acute exhaustive exercise regulates IL-2, IL-4 and MyoD in skeletal muscle but not adipose tissue in rats. **Lipids Health Dis**, 10, p. 97, Jun 13 2011.

SANTOS, J.; BACHI, A. L. L.; LUNA JUNIOR, L. A.; FOSTER, R. *et al.* The Relationship of IL-8 and IL-10 Myokines and Performance in Male Marathon Runners Presenting Exercise-Induced Bronchoconstriction. **Int J Environ Res Public Health**, 17, n. 8, Apr 11 2020.

SANTOS, S. A.; LIRA, F. S.; SILVA, E. T.; CARIS, A. V. *et al.* Effect of moderate exercise under hypoxia on Th1/Th2 cytokine balance. **Clin Respir J**, 13, n. 9, p. 583-589, Sep 2019.

SANTOS, V. C.; SIERRA, A. P.; OLIVEIRA, R.; CACULA, K. G. *et al.* Marathon Race Affects Neutrophil Surface Molecules: Role of Inflammatory Mediators. **PLoS One**, 11, n. 12, p. e0166687, 2016.

SCHNYDER, S.; HANDSCHIN, C. Skeletal muscle as an endocrine organ: PGC-1 α , myokines and exercise. **Bone**, 80, p. 115-125, Nov 2015.

SELYA, A. S.; ROSE, J. S.; DIERKER, L. C.; HEDEKER, D. *et al.* A Practical Guide to Calculating Cohen's $f(2)$, a Measure of Local Effect Size, from PROC MIXED. **Front Psychol**, 3, p. 111, 2012.

SILVA, A. Intense aerobic exercise modifies leucocytes number, lymphocyte subpopulation and cytokine levels in peripheral blood. **Gazzetta medica italiana**, 177, 03/01 2018.

SMITH, J.; GARBUTT, G.; LOPES, P.; PEDOE, D. Effects of prolonged strenuous exercise (marathon running) on biochemical and haematological markers used in the investigation of patients in the emergency department. **British journal of sports medicine**, 38, p. 292-294, 07/01 2004.

SON, J. S.; CHAE, S. A.; TESTROET, E. D.; DU, M. *et al.* Exercise-induced myokines: a brief review of controversial issues of this decade. **Expert Rev Endocrinol Metab**, 13, n. 1, p. 51-58, Jan 2018.

STEENSBERG, A.; VAN HALL, G.; OSADA, T.; SACCHETTI, M. *et al.* Production of interleukin-6 in contracting human skeletal muscles can account for the exercise-induced increase in plasma interleukin-6. **J Physiol**, 529 Pt 1, n. Pt 1, p. 237-242, Nov 15 2000.

SUGIE, M.; HARADA, K.; TAKAHASHI, T.; NARA, M. *et al.* Relationship between skeletal muscle mass and cardiac function during exercise in community-dwelling older adults. **ESC Heart Fail**, 4, n. 4, p. 409-416, Nov 2017.

TANAKA, H.; MONAHAN, K. D.; SEALS, D. R. Age-predicted maximal heart rate revisited. **Journal of the American College of Cardiology**, 37, n. 1, p. 153-156, 2001.

THOMAS, S.; READING, J.; SHEPHARD, R. J. Revision of the Physical Activity Readiness Questionnaire (PAR-Q). **Can J Sport Sci**, 17, n. 4, p. 338-345, Dec 1992.

TOSSIGE-GOMES, R.; COSTA, K. B.; OTTONE VDE, O.; MAGALHAES FDE, C. *et al.* Lymphocyte Redox Imbalance and Reduced Proliferation after a Single Session of High Intensity Interval Exercise. **PLoS One**, 11, n. 4, p. e0153647, 2016.

ULVEN, S. M.; FOSS, S. S.; SKJOLSVIK, A. M.; STADHEIM, H. K. *et al.* An acute bout of exercise modulate the inflammatory response in peripheral blood mononuclear cells in healthy young men. **Arch Physiol Biochem**, 121, n. 2, p. 41-49, May 2015.

WELLS, J. C.; FEWTRELL, M. S. Measuring body composition. **Arch Dis Child**, 91, n. 7, p. 612-617, Jul 2006.

ZAKOVSKA, A.; KNECHTLE, B.; CHLIBKOVA, D.; MILICKOVA, M. *et al.* The Effect of a 100-km Ultra-Marathon under Freezing Conditions on Selected Immunological and Hematological Parameters. **Front Physiol**, 8, p. 638, 2017.

ZHAO, G.; ZHOU, S.; DAVIE, A.; SU, Q. Effects of moderate and high intensity exercise on T1/T2 balance. **Exercise immunology review**, 18, 2012.

APÊNDICE A

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Convidamos o senhor para participar da pesquisa referente ao projeto intitulado “EFEITO DO EXERCÍCIO FÍSICO AGUDO CONTINUO SUBMAXIMO EM BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO, INFLAMATÓRIOS E DO SISTEMA IMUNE EM ATLETAS DE CORRIDA DE RUA”, realizado pelo discente Lázaro F. Lobo, sob a orientação do Prof. Dr. Albená Nunes Silva. Esta pesquisa irá contribuir para a produção de conhecimento com o potencial de auxiliar o profissional de Educação Física e pesquisadores da área científica, a esclarecer melhor as lacunas sobre a resposta do sistema imunológico após o exercício físico submáximo, melhorando assim a qualidade da prescrição de exercícios.

Sua participação é voluntária, o que significa que você poderá desistir a qualquer momento, retirando seu assentimento pelo responsável, sem que isso lhe traga nenhum prejuízo ou penalidade. Caso decida aceitar o convite, participará dos seguintes procedimentos descritos a seguir.

A pesquisa será realizada nas dependências da Escola de Educação Física da UFMG (EEFFTO) e no endereço Av. Pres. Antônio Carlos, 6627 Campus – Pampulha e na faculdade de medicina da UFMG no endereço Av. Prof. Alfredo Balena, 190 - Santa Efigênia, sempre acompanhado pelos responsáveis da pesquisa e profissionais de saúde para as avaliações de velocidade crítica, antropometria, DEXA/densitometria e um exercício físico submáximo em esteira.

O estudo não apresenta indicativo de risco à saúde, mas poderão estar sujeitas a pequenas escoriações e/ou entorses decorrentes comuns da prática esportiva de corrida. Os participantes estarão livres para se recusarem

a participar ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado. O objetivo do estudo é investigar a resposta imune, inflamatória e de biomarcadores de estresse oxidativo em atletas corredores de rua após uma sessão de exercício físico contínuo submáximo em esteira até a fadiga.

O discente conta com um grupo de colaboradores do Laboratório de Inflamação e Imunologia do Exercício (LABIEX), do Laboratório de Fisiologia do Exercício da UFMG (LAFISE) instruídos para a aplicação dos testes que auxiliarão este estudo.

Reafirmamos que, se depois de consentir a participação do aluno, o (a) Sr(a) desistir de continuar, tem o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, seja antes ou depois da coleta dos dados, independente do motivo e sem nenhum prejuízo a sua pessoa.

Todas as informações desta pesquisa serão armazenadas em sigilo no banco de dados do Laboratório de Inflamação e Imunologia do Exercício (LABIEX), sob a guarda do professor orientador do estudo, Prof. Dr. Albená Nunes Silva e serão manipuladas pelos integrantes do mesmo. Os resultados da pesquisa serão analisados e publicados por meio de artigo em revistas científicas.

Para qualquer outra informação, poderá entrar em contato com o pesquisador pelo telefone (31) 994274535; com o orientador da pesquisa no endereço Centro Desportivo da Universidade Federal de Ouro Preto, Rua Dois, 110, Campus Universitário - Ginásio de Esportes, sala 20, Ouro Preto-MG ou pelo email albenanunes@hotmail.com; ou, para esclarecimentos éticos, poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Ouro Preto: (31) 3559-1368.

CONSENTIMENTO:

Eu _____, li e entendi as informações precedentes e aceito participar da pesquisa intitulada: “EFEITO DO EXERCÍCIO FÍSICO AGUDO CONTINUO SUBMAXIMO EM BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO, INFLAMATÓRIOS E DO SISTEMA IMUNE EM ATLETAS DE CORRIDA DE RUA” realizada por pesquisadores e da Universidade Federal de Ouro Preto e da Universidade Federal de Minas Gerais.

Portanto, concordo com o que foi acima citado e livremente dou o meu consentimento.

Assinatura do participante

Belo Horizonte, Data ____/____/____

ANEXO A

Questionário de Prontidão para Atividade Física (PAR-Q)

Este questionário tem o objetivo de identificar a necessidade de avaliação por um médico antes do início da atividade física. Caso você responda "SIM" a uma ou mais perguntas, converse com seu médico ANTES de aumentar seu nível atual de atividade física. Mencione este questionário e as perguntas às quais você respondeu "SIM".

Por favor, assinale "SIM" ou "NÃO" às seguintes perguntas:

1. Algum médico já disse que você possui algum problema de coração e que só deveria realizar atividade física supervisionado por profissionais de saúde?
 Sim Não
2. Você sente dores no peito quando pratica atividade física?
 Sim Não
3. No último mês, você sentiu dores no peito quando praticou atividade física?
 Sim Não
4. Você apresenta desequilíbrio devido à tontura e/ ou perda de consciência?
 Sim Não
5. Você possui algum problema ósseo ou articular que poderia ser piorado pela atividade física?
 Sim Não
6. Você toma atualmente algum medicamento para pressão arterial e/ou problema de coração?
 Sim Não
7. Sabe de alguma outra razão pela qual você não deve praticar atividade física?
 Sim Não

Nome completo _____ Idade: _____

Data _____ Assinatura: _____

Se você respondeu "SIM" a uma ou mais perguntas, leia e assine o "Termo de Responsabilidade para Prática de Atividade Física"

Termo de Responsabilidade para Prática de Atividade Física

Estou ciente de que é recomendável conversar com um médico antes de aumentar meu nível atual de atividade física, por ter respondido "SIM" a uma ou mais perguntas do "Questionário de Prontidão para Atividade Física" (PAR-Q). Assumo plena responsabilidade por qualquer atividade física praticada sem o atendimento a essa recomendação.

Nome completo _____

Data _____ Assinatura: _____

ANEXO B

ESCALA DE BORG ADAPTADA PERCEPÇÃO DE ESFORÇO		
0	REPOUSO	
1	DEMASIADO LEVE	
2	MUITO LEVE	
3	MUITO LEVE-LEVE	
4	LEVE	
5	LEVE-MODERADO	
6	MODERADO	
7	MODERADO-INTENSO	
8	INTENSO	
9	MUITO INTENSO	
10	EXAUSTIVO	

