



**Universidade Federal de Ouro Preto
Centro Desportivo
Bacharelado em Educação Física**



Monografia

Perfil da IL-6 plasmática, após um exercício de força, realizado por indivíduos jovens treinados e não treinados

Vitória Louise Teixeira e Silva

OURO PRETO

2018

Vitória Louise Teixeira e Silva

Perfil da IL-6 plasmática, após um exercício de força, realizado por indivíduos jovens treinados e não treinados

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Bacharelado em Educação Física da Universidade Federal de Ouro Preto, como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Educação Física.

Orientador: Prof. Dr. Kelerson Mauro de Castro Pinto

Co-orientadores: Ana de Paula Menezes e Albená Nunes da Silva

OURO PRETO

2018

612.7

Silva, Vitória Louise Teixeira e.

Perfil da IL6 plasmática, após um exercício de força, realizado por indivíduos jovens treinados e não treinados [manuscrito] / Vitória Louise Teixeira e Silva. - 2018.

39f.: il.: grafs; tabs.

Orientador: Prof. Dr. Kelson Mauro de Castro Pinto.

Monografia (Graduação). Universidade Federal de Ouro Preto. Centro Desportivo da UFOP. Departamento de Educação Física.

1. Citocinas. 2. Exercício de força. 3. Inflamação. I. Pinto, Kelson Mauro de Castro. II. Universidade Federal de Ouro Preto. III. Título.

CDU: S586p

Catálogo: ficha.sisbin@ufop.edu.br



Universidade Federal de Ouro Preto
Centro Desportivo
Bacharelado em Educação Física



**"PERFIL DA IL-6 PLASMÁTICA, APÓS UM EXERCÍCIO DE FORÇA, REALIZADO
POR INDIVÍDUOS JOVENS TREINADOS E NÃO TREINADOS"**

Autora: Vitória Louise Teixeira e Silva

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado na disciplina EFD381- Seminário de Trabalho de Conclusão de Curso para obtenção do grau de Bacharela em Educação Física pela Universidade Federal de Ouro Preto, defendido pelo autor e aprovado em 28 de 11 de 2018, pela banca examinadora composta pelos professores:

Prof. Dr.: Kelerson Mauro de Castro Pinto
CEDUFOP

Prof. Dr.: Guilherme de Paula Costa
Membro da banca

Prof. Dr^a: Luiza Oliveira Perucci
Membro da banca

AGRADECIMENTOS

“Lay your weary head to rest, don't you cry no more”. Chego então à conclusão de mais uma etapa. É com muita satisfação que venho aqui agradecer às pessoas que ao meu lado estiveram, mesmo que distantes. Foi uma caminhada de farto aprendizado, momentos únicos e muitas conquistas. Agradeço aos meus amigos de Nova Lima, que sempre fizeram questão da minha presença nas ocasiões importantes. Aos “Netinhos da Vó” por me acolherem com tanto carinho, especialmente Gleidson e Sabrina: vocês são essenciais para mim. Aos amigos da EFI e ao 14.1, em especial Kethlen e Amanda, obrigada pelo companheirismo e amizade. À minha REPÚBLICA LISBELLA e a todas as Bellas que comigo estiveram durante estes anos, minha segunda família! Às ex-alunas, Milede e Marcelle, vocês me ensinaram muito. À Alba e Ana Lívia, sem palavras para descrever a minha gratidão em tê-las ao meu lado. Vocês foram minha base. A todos os meus professores da UFOP, especialmente o Prof. Dr. Kelerson Mauro, que foi uma grande referência profissional durante minha graduação. Por último, mas não menos importante, agradeço ao meu irmão, Luís Felipe, e aos meus pais, Luís e Aparecida, que me apoiaram desde o início. Se estou onde estou hoje, é graças a vocês. Dedico-lhes esta vitória. Amo vocês!

RESUMO

Este estudo teve por objetivo analisar o perfil da citocina IL-6 plasmática, após um exercício de força, realizado por indivíduos jovens treinados e não treinados. Foram estudados 18 voluntários divididos em dois grupos: grupo treinado (n=9) e grupo não treinado (n=9), que realizaram uma sessão de treinamento de força no *leg press*, extensor de joelhos sentado e flexor de joelhos, nesta ordem. As normativas de carga utilizadas foram baseadas no teste de 1RM (Repetição Máxima) e consistiram em 4 séries de 8-10 repetições a 65% de 1RM, com uma pausa de 90s entre as séries e duração da repetição de 5 segundos, sendo 2 segundos para a ação concêntrica e 3 segundos para a ação excêntrica, além disso também foi realizada uma avaliação física inicial para caracterização da amostra (massa corporal, estatura e gordura corporal). Foram realizadas coletas de sangue venoso antes e duas horas após o exercício para análise da concentração plasmática, via ELISA, e da expressão gênica de IL-6 em PBMC por meio da técnica de RT-qPCR. Foi realizado teste de t Student para comparação das características da amostra e teste não paramétrico Kruskal Wallis para os demais parâmetros ($p \leq 0,05$). Observou-se diferença estatística significativa somente para a gordura corporal, sendo menor no grupo treinado. Conclui-se que o treinamento proposto e os diferentes níveis de aptidão física, não influenciaram no perfil plasmático e na expressão gênica da citocina IL-6.

Palavras-chave: IL-6, inflamação, citocina, resposta inflamatória, exercício de força.

ABSTRACT

This study aimed to analyze the plasma IL-6 cytokine profile after a strength exercise performed by trained and untrained young individuals. We studied 18 volunteers divided into two groups: a trained group (n = 9) and an untrained group (n = 9), who underwent a leg press, knee extensor sitting and knee flexor training session, in that order. The loading regulations used were based on the 1RM (Maximum Repetition) test and consisted of 4 sets of 8-10 repetitions at 65% of 1RM, with a pause of 90s between sets and repetition duration of 5 seconds, being 2 seconds for concentric action and 3 seconds for eccentric action. In addition, an initial physical evaluation was also performed to characterize the sample (body mass, height and body fat). Venous blood samples were collected before and two hours after exercise for analysis of plasma concentration, via ELISA, and IL-6 gene expression in PBMC using the RT-qPCR technique. Student t test was performed to compare the characteristics of the sample and nonparametric Kruskal Wallis test for the other parameters ($p \leq 0.05$). A significant statistical difference was observed only for body fat, being lower in the trained group. It was concluded that the proposed training and the different levels of physical fitness did not influence the plasma profile and the gene expression of IL-6 cytokine.

Key-words: IL-6, inflammation, cytokine, inflammatory response, strength exercise.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1: Concentração de IL-6 no plasma para os dois grupos (treinado e não treinado), medidas antes (pré) e 2 horas após o exercício (pós).27
- Figura 2: Expressão Gênica de IL6 em PBMCs. As medidas para IL6 nos dois grupos (treinado e não treinado), antes (pré) e 2 horas após o exercício (pós).....28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Dados gerais de caracterização da amostra	26
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

1RM – Uma repetição máxima

ACSM – *American College of Sports Medicine* (Colégio Americano de Medicina Esportiva)

cDNA – DNA complementar

CEDUFOP – Centro Desportivo da UFOP

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

DEPC – Dietil Pirocarbonato

IFN-g – Interferon-gama

IL – Interleucina

LABIIN – Laboratório de Imunobiologia da Inflamação

LIF – *Leukemia inhibitory factor* (fator inibitório da leucemia)

PBMC – *Peripheral blood mononuclear cells* (Células mononucleares do sangue periférico)

PBS – *Phosphate buffered saline*

PE – ficoeritrina

qPCR – Reação da cadeia em polimerase quantitativa ou em tempo real

RNA - Ácido ribonucleico

RPM – Rotações por minuto

STAT3 – *Signal transducer and activator of transcription* (Transdutor de sinal e ativador de transcrição)

TGFb – *Transforming growth factor beta* (Fator de crescimento transformador beta)

TNF – *Tumor necrosis factor* (Fator de necrose tumoral)

UFOP – Universidade Federal de Ouro Preto

SUMÁRIO

1. Introdução.....	10
1.1 Exercício físico	10
1.2 Exercício de força.....	11
1.3 Exercício e inflamação	12
1.4 Interleucina 6 (IL-6)	13
2. Objetivo	16
2.1 Objetivos Específicos	16
3. Materiais e métodos	17
3.1 Voluntários	17
3.2 Orientações aos voluntários	18
3.3. Cuidados éticos.....	18
3.4. Delineamento do estudo.....	19
3.5 Avaliação física (anamnese e antropometria)	20
3.6 Teste de repetição máxima	20
3.7 Procedimentos prévios ao exercício.....	21
3.8 Coleta da amostra sanguínea	21
3.9 Expressão gênica	22
3.9.1 Separação celular	22
3.9.2 Extração do RNA.....	22
3.10 Análise de IL-6	24
3.11 Análise estatística	24
4. Resultados	26
5. Discussão.....	29
6. Conclusão	31
Referências	32
Apêndice A.....	36
Apêndice B.....	38

1 Introdução

1.1 Exercício físico

Sabe-se que o exercício físico representa um desafio à homeostase corporal, o qual influencia diretamente nos diversos mecanismos que colaboram com a manutenção da condição estável e adequada para o seu funcionamento. Dentre estes mecanismos se destaca o sistema imunológico, que além de ser responsável por eliminar substâncias estranhas do corpo, infecciosas ou não, também participa do controle da homeostase desde os processos embriogênicos (ABBAS, LICHTMAN e POBER, 2003; HEADLAND e NORLING, 2015).

A importância da prática regular e sistematizada do exercício físico já se encontra estabelecida de forma objetiva na literatura, principalmente a sua relação com a manutenção e recuperação da saúde (WERNBOM *et al.*, 2007; MARTIN *et al.*, 2008). Já existem evidências epidemiológicas de que o exercício físico regular aumentaria a resistência às infecções, sendo assim, pode-se argumentar que o estilo de vida fisicamente ativo atuaria como um protetor contra enfermidades (PEDERSEN e FEBBRAIO, 2012). Entretanto, os resultados da sua prática regular e suas consequências para a saúde estão diretamente associados ao objetivo principal do treinamento e conseqüentemente ao tipo de exercício realizado, seja o exercício de equilíbrio, coordenação motora, exercício de força e resistência (SCHOENFELD *et al.*, 2017). Ressalta-se que, além do tipo de exercício, as normativas de carga de treinamento, tais como volume, a intensidade, a frequência, a duração do exercício e a densidade são variáveis que proporcionarão as adaptações biológicas que determinarão quaisquer benefícios (WERNBOM *et al.*, 2007; MARTIN *et al.*, 2008).

1.2 Exercício de força

Segundo Bloomer *et al.* (2006) e Cardoso *et al.* (2012) os exercícios de força são fundamentais para qualquer tipo de treinamento físico, sendo eles voltados para a saúde, estética ou aprimoramento do desempenho esportivo.

A capacidade motora força se manifesta no ser humano basicamente de duas formas, sendo elas, a força rápida e a resistência de força (CHAGAS e LIMA, 2011). Estes autores ainda colocam que a força rápida é caracterizada pela capacidade de produzir o maior impulso possível no tempo disponível, a partir do sistema neuromuscular, sendo composta pelas componentes de força máxima e força explosiva. Já a resistência de força, é denominada como a capacidade de produzir o maior somatório de impulsos possíveis, através do sistema neuromuscular.

Estudos indicam que o treinamento de força é eficaz no desenvolvimento de algumas capacidades funcionais (ACSM, 2000), produz adaptações neurais (ENOKA, 1997; MAIOR e ALVES, 2003), além da hipertrofia muscular esquelética, uma das adaptações mais desejadas com este tipo de treinamento (ACSM, 2000; POLLOCK *et al.*, 2000; FLETCHER *et al.*, 2001). Schuenke *et al.* (2012) pontuam que a capacidade motora força se apresenta como o melhor meio de impulsionar a hipertrofia muscular esquelética. Tais adaptações dependerão da combinação adequada das cargas de treinamento (WERNBOM, AUGUSTSSON e THOMEÉ, 2007; MARTIN, CARL e LEHNERTZ, 2008; SCHOENFELD, OGBORN e KRIEGER, 2015), como o peso a ser utilizado, o número de séries e repetições, a organização dos tipos de exercícios definidos, a pausa e a frequência do treinamento (KRAEMER; RATAMESS, 2004).

Sabe-se que o exercício de força proporciona estímulos para que a hipertrofia muscular esquelética ocorra, porém, ainda não se sabe ao certo seu mecanismo e quais os fatores responsáveis pela modulação destes mecanismos. Estudos já indicam que a resposta inflamatória influencia na hipertrofia muscular (SCHUENKE *et al.*, 2012; WAKAHARA *et al.*, 2012; SCHOENFELD, 2013; OZAKI *et al.*, 2015), mas pouco se sabe sobre os biomarcadores inflamatórios que são liberados nessas condições. Além disso, sabe-se que o nível de aptidão física, devido às adaptações provocadas pelo treinamento, influencia em alguns comportamentos e respostas

durante o exercício, como por exemplo, em respostas termorregulatórias, metabólicas e inflamatória (KYCHOWSKA, 2018). Ao se estudar as repostas inflamatórias ao exercício de força, pouco se sabe sobre o seu perfil, devido a variedade de protocolos existentes para a realização dos exercícios (IZQUIERDO, 2009; FEBRAIO *et al.*, 2012 e DEYHLE *et al.*, 2016) e menos ainda se o nível de aptidão influenciará neste perfil.

1.3 Inflamação e exercício de força

A aplicação de sobrecargas necessárias para gerar adaptações esperadas ao treinamento pode levar ao desenvolvimento de microtraumas de graus variados no sistema esquelético, tecido conectivo e articulações (CORMIE *et al.*, 2011; CONCEIÇÃO *et al.*, 2012, CHAZAUD, 2015). Esses microtraumas são considerados como danos temporários e reparáveis, porque resultam em uma resposta inflamatória aguda orquestrada, dentre outras células, por neutrófilos e macrófagos (NUNES-SILVA *et al.*, 2014). Ou seja, os microtraumas desencadeiam uma resposta inflamatória que exerce a função de limpeza, reparo e desenvolvimento dos tecidos danificados (SMITH, 2000; ZHANG *et al.*, 2013; NUNES-SILVA *et al.*, 2014).

Chazaud (2015) afirma que a inflamação decorrente do exercício físico não deve ser considerada como um processo nocivo e sim como um processo dinâmico de etapas sequenciais a fim de serem totalmente eficazes na recuperação do tecido muscular danificado. Desse modo, em se tratando do treinamento físico regular e sistematizado, a inflamação deve ser considerado um processo necessário e benéfico que em conjunto com outros mecanismos, seria responsável pela regeneração e reparo das estruturas modificadas (SILVA e MACEDO, 2011, CHAZAUD, 2015).

Todo esse processo inflamatório propicia a liberação de citocinas, que são moléculas protéicas responsáveis por enviar sinais estimulatórios, modulatórios ou inibitórios para as diferentes células do sistema imunológico (VARELLA e FORTE, 2001). Estas por sua vez, podem ser sintetizadas e liberadas pelas células do sistema imune, células endoteliais e uma variedade de células residentes teciduais

(ABBAS, LICHTMAN e POBER, 2003). Recentemente, as citocinas, além do controle das respostas inflamatórias, também tiveram suas ações associadas aos mecanismos de hipertrofia muscular (HAMON *et al.*, 2010; JAJTNER *et al.*, 2014).

Peake *et al.* (2005) afirmam que o perfil responsivo das citocinas quando relacionado ao exercício de força está associado à duração, intensidade e outros fatores fisiológicos, relacionados ao estresse, como a resposta endócrina, acidose metabólica, estresse oxidativo, além da lesão muscular provocada pelo treinamento (YARROW *et al.*, 2007; IZQUIERDO, 2009).

As citocinas podem ter atividade pró-inflamatória (IL-1, TNF, IFN-g e IL-6) e regulatória (IL-6, IL-10 e IL-1ra) modulando, além da inflamação, a ativação de vias energéticas (PETERSEN e PEDERSEN, 2005; KRAEMER *et al.*, 2014). As células inflamatórias que proporciona o reparo/cura da lesão induzida no tecido muscular em decorrência do exercício físico são ativadas por meio da ação das citocinas (SMITH, 2000; SILVA e MACEDO, 2011).

1.4 Interleucina 6 (IL-6)

Segundo os achados de Penkowa *et al.* (2003); Hiscock *et al.* (2004); Pedersen e Febraio, (2012), a IL-6 foi a primeira citocina identificada como sendo produzida, também, pelo tecido muscular, em resposta à contração do músculo esquelético. Foi observado que quanto maior a massa muscular envolvida e à duração do exercício, proporcional será a concentração plasmática dessa citocina, chegando a até 100 vezes mais, em comparação aos níveis de repouso (WELC e CLANTON, 2013). Pedersen e Fischer (2007) afirmam que a carga de trabalho, assim como a contração do músculo esquelético durante o esforço físico são parâmetros que induzem a expressão da IL-6, porém sua associação com a hipertrofia era desconhecida.

A IL-6 medeia alguns dos efeitos regulatórios da inflamação provocadas pelo exercício, pois inibe a produção de TNF e, estimula a liberação de outras citocinas regulatórias, como IL-1ra e IL-10, além de participar no processo de hipertrofia muscular esquelética (SERRANO *et al.*, 2008; PEDERSEN e FEBBRAIO, 2012;

ZHANG *et al.*, 2013). Um estudo de Serrano *et al.* (2008) mostrou que a IL-6 é uma citocina reguladora essencial para a hipertrofia muscular esquelética, mediada por células satélites. Os resultados do estudo demonstraram que a expressão desta citocina induz o crescimento de miofibrilas, controlando também a proliferação e migração das células satélites.

As células satélites são pequenas células mononucleares que estão envolvidas na regeneração e reparo do dano local nas fibras musculares. Elas se localizam de maneira estratégica entre a lâmina basal e o sarcolema da fibra, mantendo-se mitoticamente quiescente. Porém, se acionadas, são capazes de se proliferarem ou ativar processos miogênicos para hipertrofia e hiperplasia de miofibrilas (FERNANDES *et al.*, 2008).

Toth *et al.* (2011) obtiveram resultados significativos, mostrando que a IL-6 seria uma importante citocina reguladora para a proliferação de células satélites após um dano muscular, por meio da regulação positiva da via de sinalização STAT3, sendo esta observada em sua grande maioria em células satélites e em grande concentração pelo menos 1 hora após o dano muscular.

Em um estudo com mulheres idosas com treinamento de força em baixa intensidade, Ogawa *et al.* (2010) não encontraram diferenças significativas nos níveis plasmáticos da IL-6, como adaptação ao treinamento. Já Kraemer *et al.* (2014) obtiveram dados consideráveis com o treinamento de força em homens saudáveis, que apontam o aumento dos níveis de IL-6 no plasma.

Gao *et al.* (2017) citam que em condições fisiológicas, algumas citocinas incluindo a IL-6 e a LIF (fator inibitório da leucemia), são importantes reguladoras da hipertrofia no músculo esquelético, entretanto, a regulação desta síntese proteica deve ser investigada com maiores propriedades. Em achados recentes, os autores relataram que as citocinas citadas acima são capazes de induzir a síntese proteica em miotubos diferenciados.

O exercício físico pode ocasionar alterações no perfil das citocinas na corrente sanguínea, que seria influenciado pelos seus diferentes locais de produção. Sendo assim, é importante classificar o papel sistêmico das células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) em resposta ao exercício de força (GJEVESTAD, 2015).

Gjevestad *et al.* (2017) constataram o aumento nos níveis plasmáticos da IL-6 no sangue após um protocolo de exercício de força aplicado em um estudo com adultos treinados e idosos fisicamente ativos. Os resultados apresentaram um aumento na expressão desta citocina no músculo, porém, nenhuma diferença significativa foi relatada na expressão em PBMCs, o que possivelmente afirma que este aumento no plasma é proveniente do tecido muscular esquelético.

2 Objetivo

Analisar o perfil sistêmico da citocina IL-6 no plasma e nas células mononucleares do sangue periférico, após um exercício de força, realizado por indivíduos jovens treinados e não treinados.

2.1 Objetivos específicos

Dosar a concentração plasmática da interleucina 6 (IL-6) após um exercício de força e comparar este comportamento em indivíduos jovens treinados e não treinados.

Analisar a expressão gênica nas células mononucleares do sangue periférico (PMBCs) para IL-6 após um exercício de força, e comparar este parâmetro em indivíduos jovens treinados e não treinados.

3 Materiais e métodos

3.1 Voluntários

Foram estudados 18 voluntários (divididos em dois grupos: um grupo treinado com 9 indivíduos e um grupo não treinado também com 9 indivíduos) que tomaram conhecimento do projeto a partir de contatos pessoais e avisos fixados nos principais pontos da Universidade Federal de Ouro Preto. Os seguintes critérios para a seleção de voluntários foram considerados: 1) serem do sexo masculino entre 18 e 30 anos de idade, 2) ausência de lesões músculo-esqueléticas nos últimos seis meses nos membros inferiores, coluna e pelve, 3) não fazer uso de cigarros; 4) não fazer uso de bebidas alcoólicas por pelo menos 3 dias anteriores à realização do estudo e 5) para o grupo treinado, estar praticando musculação há pelo menos 6 meses de forma contínua.

Os critérios para exclusão do estudo foram: 1) manifestar interesse em se ausentar do estudo por sua livre e espontânea vontade; 2) não comparecer aos locais de coleta no dia e hora programados; 3) apresentar algum tipo de enfermidade e/ou patologia que comprometesse a coleta dos dados; 4) fazer uso de medicamentos, suplementos ou esteroides anabólicos androgênicos.

Adotou-se como critérios para a suspensão da coleta de dados a presença de qualquer um dos sinais/sintomas mencionados abaixo: Início de angina ou sintomas semelhantes a angina; qualquer dor torácica que esteja aumentando; incapacidade da frequência cardíaca de aumentar com o exercício; manifestações físicas ou verbais de fadiga grave; perda da qualidade do movimento; solicitação para parar o exercício e falha do equipamento de teste (ACSM, 2009).

3.2 Orientações aos voluntários

Antes da realização da sessão de musculação, os voluntários foram orientados a seguir as recomendações listadas a seguir com o objetivo de não comprometer os resultados do estudo (ACSM, 2000):

- Não realizar atividades físicas no dia anterior à sessão de treino na musculação.
- Não fumar e nem ingerir bebidas alcoólicas;
- Não consumir cafeína;
- Evitar a administração de medicamentos;
- Dormir pelo menos 8 horas na noite anterior ao dia da coleta (sessão de treino);
- Alimentar-se antes da realização do exercício e ingerir os mesmos alimentos, inclusive as mesmas quantidades.
- Ingerir 500 ml de água, 2 horas antes do exercício, para garantir o estado de hidratação antes do experimento (ACSM, 2009).

3.3 Cuidados éticos

Todos os participantes do estudo foram informados quanto aos objetivos, ao processo metodológico, bem como os possíveis riscos e benefícios de sua participação antes de iniciarem qualquer atividade neste projeto. Foi assinado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) no qual tomaram ciência de que a qualquer momento poderiam deixar de participar da pesquisa. Foram tomadas precauções no intuito de preservar a privacidade dos voluntários, sendo que a sua saúde e o seu bem-estar estiveram sempre acima de qualquer outro interesse. Todos os procedimentos adotados neste estudo estavam de acordo com as “Diretrizes e Normas Regulamentadoras das Pesquisas Envolvendo Seres Humanos” do Conselho Nacional da Saúde (Res. 466/2012) envolvendo pesquisas com seres humanos. Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade Federal de Ouro Preto, CAAE 56307716.2.0000.5150.

3.4 Delineamento do estudo

Os voluntários selecionados foram submetidos a uma sessão de treinamento de força elaborado de acordo com as normativas de carga para hipertrofia muscular esquelética, de acordo com os testes de repetição máxima (1RM).

Os exercícios *leg press*, extensor de joelhos sentado e flexor de joelhos sentado foram utilizados, nesta ordem, para desenvolver o estudo. A princípio foi efetuada uma avaliação física a fim de determinar a composição corporal (gordura corporal), massa corporal e estatura dos voluntários. Posteriormente, foram realizados os testes de uma repetição máxima (1RM). Após respeitar um intervalo mínimo de uma semana (7 dias), iniciou-se a aplicação do protocolo de treinamento, respeitando a mesma ordem da execução do teste de 1 RM. Os protocolos foram constituídos de 3 exercícios, com 4 séries de 8-10 repetições a 65% de 1RM, com uma pausa de 90s entre as séries e duração da repetição de 5 segundos, sendo 2 segundos para a ação muscular concêntrica e 3 segundos para a ação muscular excêntrica.

Como critério para interrupção do exercício, além dos citados anteriormente, também se considerou o voluntário não ser capaz de manter a duração das ações musculares pré-estabelecidas ou realizar uma amplitude incompleta de movimento durante duas repetições seguidas. Para ajudar os voluntários a manterem as durações das ações musculares durante o treinamento utilizou-se um metrônomo digital *Joe Average* instalado em um aparelho celular.

Durante o tempo de espera até a última coleta de sangue, 2 horas após os exercícios, o voluntário permaneceu no laboratório onde foi servido uma refeição pós treino padrão, preparada por uma nutricionista do grupo de pesquisa e equilibrada para a sua massa corporal. Todos foram orientados a manterem a mesma rotina para o café da manhã e todas as coletas foram realizadas no mesmo horário do dia, pela manhã entre 8:00 e 10:00 horas.

A coleta foi realizada no Laboratório de biomecânica e a sessão de treinamento aconteceu no laboratório de musculação, ambos localizados no Centro Desportivo da UFOP (CEDUFOP). Além disso, parte das amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Imunobiologia da Inflamação (LABIIN), onde

foram realizadas parte das análises de separação celular que posteriormente foram encaminhadas para o Laboratório de Hipertensão ICB/UFMG onde foi realizada o RT-qPCR utilizando a química *SYBR GREEN*.

3.5 Avaliação física (anamnese e antropometria)

A caracterização da amostra foi feita a partir de uma avaliação física, na qual foram realizadas as medidas de massa corporal, estatura e o percentual de gordura. A massa corporal foi obtida por meio de uma balança antropométrica (FILIZOLA, Brasil) com precisão de 0,1 kg, enquanto a estatura foi registrada através de estadiômetro fixado na parede, com precisão de 0,5cm (FILIZOLA, Brasil). O percentual de gordura foi avaliado através da técnica de dobras cutâneas e o seu cálculo realizado de acordo com o protocolo utilizado por Jackson e Pollock (1978).

3.6 Teste de repetição máxima

Após efetuar a avaliação física nos participantes, foi realizado o teste de 1 RM para os três aparelhos de musculação (*leg press*, banco extensor de joelhos e banco flexor de joelhos), sendo que entre cada teste foi respeitado um intervalo de no mínimo 10 minutos. Antes da aplicação do teste de 1RM, os voluntários foram orientados a se posicionarem da forma mais confortável possível nos aparelhos para que fossem registrados todos os ajustes necessários para a execução do exercício, Tais ajustes dos equipamentos foram replicados na sessão de coleta posterior. Logo em seguida demos início ao teste de 1RM, segundo Diniz *et al.* (2014): número máximo de seis tentativas; pausa de cinco minutos; progressão gradual do peso mediante percepção dos voluntários e dos avaliadores.

3.7 Procedimentos prévios ao exercício físico

Com o propósito de impedir uma possível interferência nos resultados, todas as instruções prestadas aos participantes durante os procedimentos foram padronizadas. A coleta e análise dos dados seguiram as seguintes condições:

No laboratório, os participantes foram questionados se os procedimentos pré-experimento foram seguidos. Caso as recomendações não tivessem sido respeitadas, a coleta de dados não seria realizada. Após a confirmação destas informações, foi então explicado verbalmente como a coleta de sangue ocorreria. Logo após a coleta de sangue, o voluntário era encaminhado até a bicicleta, onde realizou uma atividade preparatória com duração de 5 minutos pedalando em intensidade baixa. Após o exercício realizado na bicicleta, o voluntário foi posicionado no aparelho para dar início à sessão de treino seguindo a ordem: *leg press*, extensor de joelhos sentado e flexor de joelhos.

3.8 Coleta da amostra sanguínea

As amostras de sangue foram coletadas antes e duas horas após a sessão de exercícios, sendo uma amostra de 4 mL de sangue venoso para análise da expressão gênica em PBMC e 6 mL de sangue venoso para análise plasmática de IL-6 e outros parâmetros inflamatórios que fazem parte de outros estudos.

A punção venosa foi realizada em um ambiente preparado no Laboratório de Biomecânica, por um profissional qualificado com experiência e materiais apropriados. Todos os procedimentos de punção venosa respeitaram os padrões de biossegurança adotados por laboratórios de análise clínica. Todos os materiais utilizados na coleta foram descartáveis, obedecendo às normas de descarte para materiais contaminados.

Para obtenção do plasma, as alíquotas de 4ml de sangue venoso foram centrifugadas a 3.000 rpm por 10 minutos. Posteriormente o plasma foi recolhido e em seguida foram procedidos as etapas de separação celular.

3.9 Expressão gênica

3.9.1 Separação celular

Foram coletadas amostras de sangue periférico em tubos com heparina e diluído numa proporção 1:1 em meio de PBS. O sangue diluído foi cuidadosamente depositado sobre um gradiente de Histopaque 1077 (*Sigma-Aldrich, EUA*) na proporção 1 (histopaque) : 2 (sangue diluído) e centrifugado a 2900 rotações por minuto (RPM) por 10 minutos, à temperatura ambiente. Ao final da centrifugação, o anel contendo PBMC, que se encontra na interface Histopaque/plasma foi coletado. As células obtidas foram lavadas em 10 ml de PBS e centrifugadas a 1600 RPM por 10 minutos. Logo após descartou-se o sobrenadante e ressuspendeu o pellet em 1 ml de PBS, adicionou-se 10 ml de PBS centrifugando em 1600 RPM por mais 10 minutos. Descartou-se o sobrenadante e ressuspendemos o pellet em 500 µl de água DEPC. A quantificação de células viáveis foi realizada através do método de exclusão, por meio de coloração pelo Turk, em câmara de Neubauer. Foi adicionado 750 microlitros de Trizol e armazenado em freezer – 80°C para futuras análises.

3.9.2 Extração de RNA

As células tiveram seu RNA extraído pelo método descrito pelo fabricante do reagente Trizol (*Life Technologies*). Adicionou-se 150 µl de clorofórmio em cada tubo seguido de homogeneização por 15 segundos e encubados à temperatura ambiente por 3 minutos. As amostras foram centrifugadas a 12.000 x g por 15 minutos a 4° C. A fase aquosa superior contendo o RNA foi transferida para novos tubos *ependorf* de 1,5 mL, foi adicionado 375 µl de isopropanol a 100%, incubados por 10 minutos em temperatura ambiente e centrifugados a 12.000 x g por 15 minutos a 4° C. O sobrenadante foi descartado, o pellet lavado com 750 µl de etanol a 75% homogeneizado e centrifugado a 7500 x g por 5 minutos a 4° C. O sobrenadante foi

aspirado e os pellets foram ressuspensos em 40 µl de água DEPC. Posteriormente, foi realizada uma quantificação do RNA através da leitura em espectrofotômetro NanoDrop, onde 1 µl da amostra foi lido contra um “branco” contendo água DEPC. Para avaliar a pureza das amostras, utilizou-se a razão da absorbância em dois comprimentos de onda, onde a razão A260/280 indica o grau de contaminação por proteínas e a razão A260/230 indica a contaminação por compostos orgânicos.

As amostras de RNA foram submetidas à transcrição reversa para a obtenção de cDNA utilizando-se o kit High-Capacity cDNA Reverse Transcription (*Applied Biosystems, Foster City, Califórnia, EUA*). Resumidamente, 200 ng de RNA de cada amostra, diluídos em água livre de nucleases, foram incubados em solução contendo a enzima transcriptase reversa, oligonucleotídeo iniciador do tipo oligo (dT) e inibidor de RNase, em um termomixer, obedecendo os seguintes ciclos: 25°C por 10 minutos, 37°C por 120 minutos, 85°C por 5 minutos e, ao final, alcançando 4°. O cDNA foi mantido em freezer -20°C para posterior quantificação genica.

A análise da expressão gênica (PCR quantitativo) das citocinas IL-6 foi realizada por meio RT-qPCR pelo sistema SYBR GREEN (*Invitrogen, Carlsbad, Califórnia, EUA*). Este processo foi realizado no Laboratório de Hipertensão – ICB/UFMG, sob a supervisão da Prof^a. Daisy Motta Santos.

O ensaio de RT-qPCR foi realizado no aparelho ViiA7 (*Applied Biosystems, Foster City, Califórnia, EUA*). nas seguintes condições: desnaturação inicial a 95° por 10 minutos, desnaturação inicial a 95° por 10 segundos, anelamento dos primers e extensão a 60° por um minuto, em 30 ciclos. Cada amostra foi feita em triplicata. Como controle negativo para a reação de RT-qPCR foram utilizados poços que continham o mix de reação mais os primers na ausência de cDNA. A análise das curvas de melting e de dissociação foi feita ao final de cada corrida como controle da qualidade da amplificação gênica. O limiar do ciclo de cada corrida foi padronizado como 0,1, ponto no qual a amplificação observada estava na fase logarítmica. Como controle endógeno da reação foi utilizado GAPDH e a expressão gênica mensurada por meio de ΔCt .

3.10 Análise do IL-6

Para a análise de IL-6 foi utilizado o kit HMYOMAG-56K MILLIPLEX® MAP Human Myokine Magnetic Bead Panel and Luminex® seguindo os protocolos do fabricante. Esta técnica permite avaliar vários biomarcadores simultaneamente, sendo que para este estudo será discutido somente a IL-6. Antes do ensaio, as amostras foram diluídas com 60 ml de tampão fornecido no kit Millipore, vortexadas por 30 minutos, e centrifugadas por 10 min. a 10.000 rpm. Os kits utilizam proporções precisas de dois fluoróforos, criando 100 conjuntos diferentes de microesferas – cada uma delas com “código de cores” distintos e que podem ser identificadas pelo instrumento Luminex. Anticorpos de captura específicos para cada proteína foram immobilizados às microesferas através de ligações covalentes não reversíveis. A proteína, presente no plasma, se liga aos anticorpos de captura localizados na superfície das microesferas e a detecção final é feita por meio de um terceiro marcador fluorescente, ficoeritrina (PE) ligada ao anticorpo de detecção. As microesferas se movimentam em fila única através de feixes de dois lasers diferentes em um citômetro de fluxo (Luminex 200). O primeiro feixe de laser detecta (classifica) a microesfera (o código de cor para o ensaio) e o segundo laser quantifica o sinal de reporter em cada microesfera. Cada microesfera é identificada e o sinal dado pela SA-PE (estreptavidina conjugada com PE) é quantificado. A partir de uma curva padrão, os valores das amostras são quantificados.

3.11 Análise estatística

Inicialmente realizou-se o teste de normalidade dos resíduos proposto por Shapiro-Wilk. Os dados de caracterização da amostra (massa corporal, estatura, porcentagem de gordura corporal e idade) de ambos os grupos (treinados e não treinados) foram apresentados sobre a forma de média e desvio padrão, utilizando o teste t de *student* para a comparação entre os dois grupos.

Par a comparação entre os dados da concentração plasmática de IL-6 e da expressão gênica em PBMC desta mesma citocina foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal Wallis. Adotou-se o nível de significância estatística de $p \leq 0,05$.

4 Resultados

Na tabela 1 têm-se os dados dos voluntários (n=18), apresentados em média e desvio padrão da idade, parâmetros antropométricos e percentual de gordura. Eles foram divididos em dois grupos de acordo com suas classificações previamente citadas (treinado e não treinado) Apenas a variável percentual de gordura apresentou diferença entre os grupos ($p=0,044$).

Tabela 1: Dados gerais de caracterização da amostra

Voluntários	Idade	Massa Corporal	Estatura	Percentual de gordura
N=18	(anos)	(Kg)	(cm)	(%)
Não treinado (n = 9)	24,8±2,9	76,9±15	175,9±8,5	*16,1±8,4
Treinado (n = 9)	26,6±1,3	72,2±4,0	173,0±8,0	9,3±2,6

N = número de voluntários; Kg = quilogramas; cm = centímetros e % percentual.*
 $p=0,044$ em relação ao outro grupo.

Na figura 1 têm-se os dados referentes à concentração plasmática da citocina IL-6. Não foram observadas diferenças estatísticas entre o grupo treinado e não treinado, assim como não encontramos diferença nos valores pré e pós exercício.

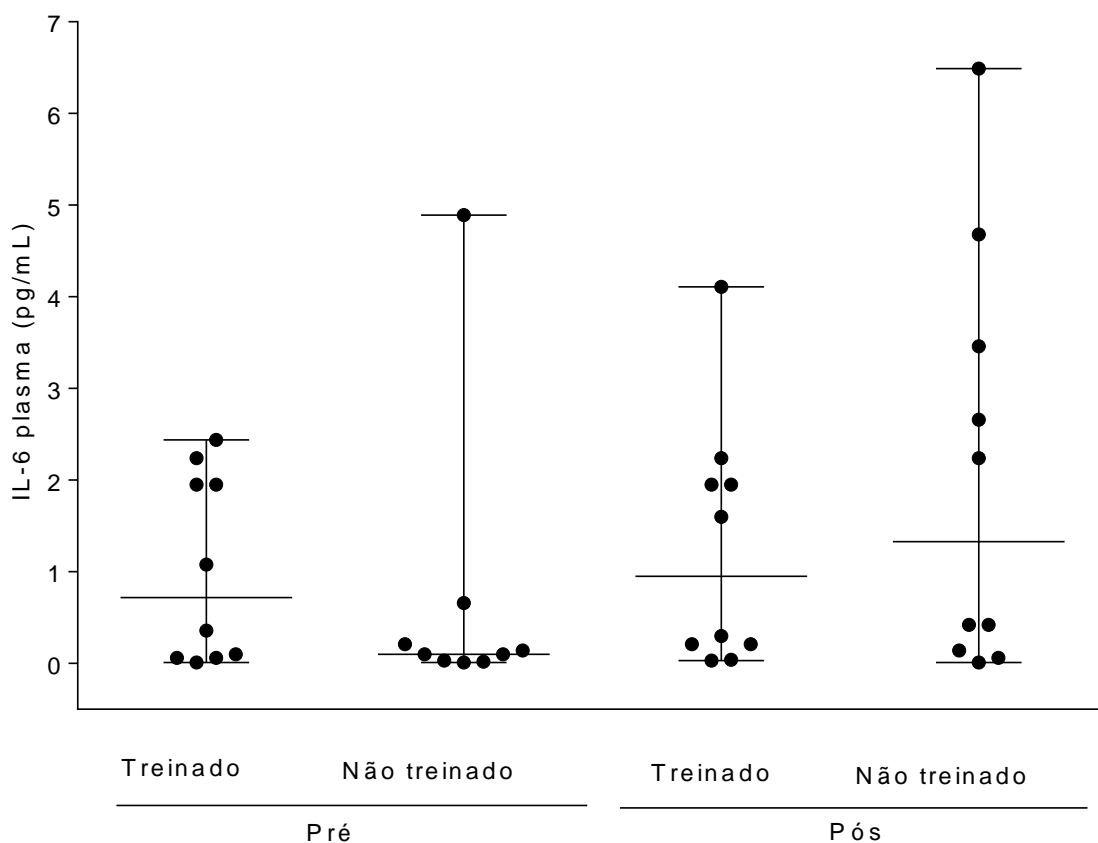


Figura 1: Concentração de IL-6 no plasma para os dois grupos (treinado e não treinado), medidas antes (pré) e 2 horas após o exercício (pós). Não foi observada diferença estatística significativa ($p > 0,05$).

Na figura 2 têm-se os dados referentes à expressão gênica da citocina IL-6 em PBMC. Não foram observadas diferenças estatísticas entre o grupo treinado e não treinado, assim como não encontramos diferença nos valores pré e pós exercício.

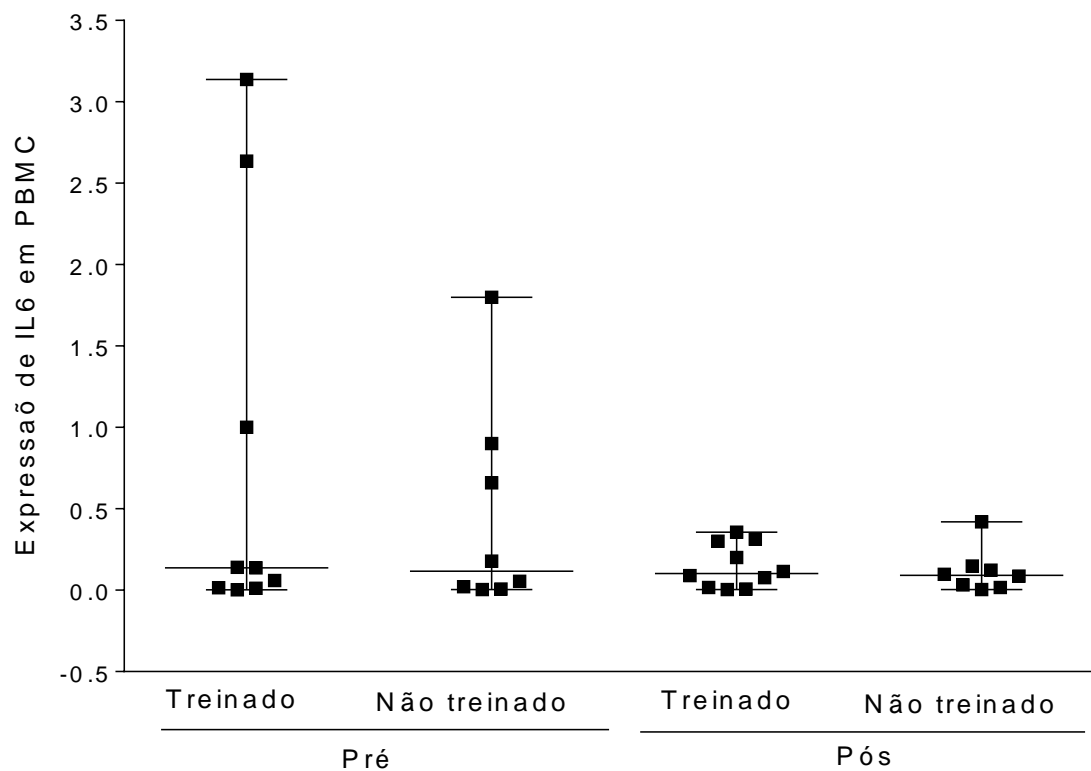


Figura 2: Expressão Gênica de IL6 em PBMCs. Medidas para IL6 nos dois grupos (treinado e não treinado), antes (Pré) e 2 horas após o exercício (Pós). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$).

5 Discussão

Este estudo teve como objetivo analisar o perfil da citocina IL-6, após um exercício de força, realizado por indivíduos jovens treinados e não treinados, por meio das suas concentrações plasmáticas e da expressão gênica desta citocina em PBMCs.

Ao analisarmos as características antropométricas dos grupos estudados, constatou-se que o grupo treinado apresentou menor média de percentual de gordura corporal do que o grupo não treinado, o que corresponde ao esperado para este grupo. Ao se submeter a uma prática de exercício físico regular este está mais propenso a evitar balanço calórico positivo e assim evitar maiores acúmulos de gordura corporal, característica típica de atletas e praticantes de exercício físico regular (McARDLE *et al.*, 2011)

A concentração de IL-6 no plasma pode aumentar após a prática de exercício físico (STEENBERG *et al.*, 2003) sendo que seu comportamento sofre influência do tipo de exercício realizado, assim como das normativas de carga (intensidade, frequência e etc) (PEAKE *et al.*, 2005; MINETTO *et al.*, 2006; CAMPI-AZEVEDO *et al.*, 2011). Estudos em exercícios de força apresentam respostas controversas no perfil plasmático de IL-6, provavelmente devido aos diferentes protocolos de treinamento, entre outras variáveis (CREWETHER *et al.*, 2006; IZQUIERDO *et al.*, 2009). Além disso, os valores da concentração plasmática observados são menores do que nos exercícios de resistência, principalmente devido ao maior estresse fisiológico provocado por estes tipos de exercícios como aumento da temperatura corporal, maior acidez metabólica e maior utilização das reservas de carboidrato (PETERSEN *et al.*, 2001). Nossos resultados, não mostraram alterações na concentração de IL-6 plasmática após o exercício. Esse comportamento pode ser explicado pelo tipo de exercício proposto, treinamento de força, que produz menores alterações sistêmicas quando comparado aos exercícios de resistências, pois seus efeitos são mais teciduais. Além disso, outros fatores como alterações nas reservas energéticas, estimulações neurais e menor estresse cardiovascular, poderiam contribuir para o resultado observado (TOFT *et al.*, 2002; CAMPI-AZEVEDO *et al.*, 2011).

Destaca-se também que mesmo se tratando de dois grupos com nível de aptidão física diferenciado, o estresse produzido pelo treinamento proposto não impactou de forma diferente na concentração plasmática da IL-6. Por se tratar de um grupo não treinado, hipotetizou-se que o treinamento produziria uma maior resposta desta citocina, devido a maior estresse para este grupo, o que não foi observado no presente estudo.

A citocina IL-6 pode ser produzida por diferentes células ou tecidos, como o tecido muscular, células do sistema imune (PBMC), tecido adiposo, dentre outros (MINETTO *et al.*, 2006; PEDERSEN E FEBBRAIO, 2008; HAMON *et al.*, 2010). Ao analisarmos as concentrações plasmáticas desta citocina, não se pode afirmar ao certo a contribuição de cada célula ou tecido nas prováveis alterações plasmáticas dessa citocina, pois seus valores representariam o resultado entre a sua produção e remoção, independente do seu local de produção (GJEVESTAD *et al.*, 2017). Com isso decidiu-se avaliar a expressão gênica em PBMC para verificar a contribuição destas células em resposta ao protocolo de exercício proposto e ao nível de treinamento dos voluntários. No presente estudo não se observou alteração na expressão gênica de PBMC para IL-6. Como não se observou diferença no perfil plasmático da IL-6 após o exercício, não se esperava também alterações na expressão gênica de PBMC.

Apesar de não termos observado alterações plasmáticas desta citocina, não se deve afirmar que ela não possui um papel importante nas adaptações ao exercício de força. Estudos como Pedersen e Febbraio (2012) e Zhang *et al.* (2013) já demonstraram a importância desta citocina para a hipertrofia muscular esquelética, principal adaptação a este tipo de treinamento. Além disso, deve-se destacar que existem estudos que se preocuparam em avaliar a importância das respostas inflamatórias durante os exercícios de força comparando as respostas sistêmicas com as respostas teciduais (músculo esquelético), observando comportamento diferenciado, ou seja, aumento na concentração e ativação de citocinas nos tecidos, o mesmo não ocorrendo no plasma (IZQUIERDO *et al.*, 2009; PATTERSON *et al.*, 2013; DEYHLE *et al.*, 2016).

6 Conclusão

Conclui-se que o treinamento proposto e os diferentes níveis de aptidão física, não influenciaram no perfil da citocina IL-6 no plasma e em PBMCs.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H. e POBER, J.S. **Imunologia Celulare Molecular**. Editora Revinter, Qyarta Ed., 2003.
- AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE (ACSM) **Progression models in resistance training for healthy adults**. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, v. 41, p.687-708, 2009.
- BLOOMER, R.J.; SCHILLING, B.K.; KARLAGE, R.E.; EDOUX, M.S.; PFEIFFER, R.F. e CALLEGARI, J. **Effect of Resistance Training on Blood Oxidative Stress in Parkinson Disease**. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, v. 40, No. 8, pp. 1385–1389, 2008.
- CAMPI, A.A.C.; CLETO, L.S.; SILVA, R.S.; FRANCO, J.S.; MAGALHÃES, J.C.; PENAFORTE, C.L.; PINTO, K.M.C; VIEIRA, E.R.; **Divergent cytokine response following maximum progressive swimming in hot water**. *Cell Biochemistry and Function*, 29: 610–616, 2011.
- CARDOSO, A.M.; BAGATINI, M.D.; ROTH, M.A.; MARTINS, C.C.; REZER, J.F.P.; MELLO, F.F.; LOPES, F.L.D.; MORSCH, V.M. e SCHETINGER, M.R.C. **Acute effects of resistance exercise and intermittent intense aerobic exercise on blood cell count and oxidative stress in trained middle-aged women**. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 45: 1172-1182, 2012.
- CHAGAS, M.H. e LIMA, F.V. **Musculação: variáveis estruturais / programas de treinamento**. Segunda edição, Casa da Educação Física, 2011.
- CHAZAUD, B. **Inflammation during skeletal muscle regeneration and tissue remodeling: application to exercise-induced muscle damage management**. *Immunology and Cell Biology*, 1–6, 2015.
- CONCEIÇÃO, M.S.; LIBARDI, C.A.; NOGUEIRA, F.R.D.; BONGANHA, V.; GÁSPARI, A.F.; CHACONMIKAHIL, M.P.T.; CAVAGLIERI, C.R. e MADRUGA, V.A. **Effects of eccentric exercise on systemic concentrations of pro- and anti-inflammatory cytokines and prostaglandin (E2): comparison between young and postmenopausal women**. *European Journal of Applied Physiology*, 112:3205–3213, 2012.
- CORMIE, P.; McGUIGAN, M.R. e NEWTON, R.U. **Developing Maximal and Neuromuscular Power: Part1 – Biological Basis of Maximal Power Production**. *Sports Medicine*, 41(1): 17-38, 2011.
- CREWETHER, B.T.; CRONIN, J. e KEOGH, J. **Possible stimuli for strength and power adaptation: Acute metabolic adaptations**. *Sports Medicine*. v. 36, (1): 65-78, 2006.
- DEYHLE, M.R.; GIER, A.M.; EVANS, K.C.; EGGETT, D.L.; NELSON, W.B.; PARCELL, A.C. e HYLDAHL, R.D. **Skeletal muscle inflammation following repeated bouts of lengthening contractions in humans**. *Frontiers in Physiology*, v. 6, 2016.
- DINIZ, R.C.R.; MARTINS-COSTA, H.C.; MACHADO, S.C.; LIMA, F.V. e CHAGAS, M.H. **Repetition duration influences ratings of perceived exertion**. *Perceptual and Motor Skills*. v. 118, n.1, p.261 - 273, 2014.
- ENOKA, R.M.; **Neural adaptations with chronic physical activity**. *Journal of Biomechanics*, v. 30, nº 5, PP. 447-455, Department of Kinesiology, Colorado, 1997.
- FERNANDES, T.; SOCI, U.P.R.; ALVES, C.R.; CARMO, E.C.; BARROS, J.G.; OLIVEIRA, E.M. **Determinantes moleculares da hipertrofia do músculo esquelético mediados pelo treinamento físico: estudo de vias de sinalização**. *Revista Mackenzie de Educação Física e Esporte*, v. 7, nº 1: 169-188, 2008.

GAO, S.; DURSTINE, L.; KOH, H.J.; CARVER, W.E.; FRIZZELL, N.; CARSON, J.A. **Acute myotube protein synthesis regulation by IL-6-related cytokines.** American Journal of Physiology, 313, C487–C500, 2017.

GJEVESTAD, G. O.; HAMARSLAND, H.; RAASTAD, T.; OTTESTAD, I.; CHRISTENSEN, J. J.; ECKARDT, K.; DREVON, C. A.; BIONG, A. S.; STINE M. ULVEN, S.M.; B. HOLVEN, K.B. **Gene expression is differentially regulated in skeletal muscle and circulating immune cells in response to an acute bout of highload strength exercise.** Genes & Nutrition. 12:8, 2017.

GJEVESTAD, G. O.; HOLVEN, K. B.; STINE M. ULVEN, S. M. **Effects of Exercise on Gene Expression of Inflammatory Markers in Human Peripheral Blood Cells: A Systematic Review.** Current Cardiovascular Risk Reports, 9: 34, 2015.

HARMON, B.T.; ORKUNOGLU-SUER, E.F.; ADHAM, K.; LARKIN, J.S.; GORDISH-DRESSMAN, H.; CLARKSON, P.M.; THOMPSON, P.D.; ANGELOPOULOS, T.J.; GORDON, P.M.; MOYNA, N.M.; PESCATELLO, L.S.; VISICH, O.S.; ZOELLER, R.F.; HUBAL, M.J.; TOSI, L.L.; HOFFMAN, E.P. e DEVANEY, J.M. **CCL2 and CCR2 variants are associated with skeletal muscle strength and change in strength with resistance training.** Journal of Applied Physiology 109: 1779–1785, 2010.

HEADLAND, S.E. e NORLING, L.V. **The resolution of inflammation: Principles and Challenges.** Seminars in Immunology. 2015.

HISCOCK, N.; CHAN, M.H.; BISUCCI, T.; DARBY, I.A. e FEBBRAIO, M.A. **Skeletal myocytes are a source of interleukin-6 mRNA expression and protein release during contraction: evidence of fiber type specificity.** FASEB J. 18, 992–994, 2004.

IZQUIERDO, M.; IBANEZ, J.; CALBET, J.A. L.; NAVARRO-AMEZQUETA, I.; GONZALEZ-IZAL, M.; IDOATE, F.; HAKKINEN, K.; KRAEMER, W.J.; PALACIOS-SARRASQUETA, M.; ALMAR, M. e GOROSTIAGA, E.M. **Cytokine and hormone responses to resistance training.** European Journal of Applied Physiology. 107:397–409, 2009.

JAJTNER, A.R.; FRAGALA, M.S.; TOWNSEND, J.R.; GONZALEZ, A.M.; WELLS, A.J.; FUKUDA, D.H.; STOUT, J.R. e HOFFMAN, J.R. **Mediators of monocyte migration in response to recovery modalities following resistance exercise.** Mediators of Inflammation. v. 2014; p. 1-9, 2014.

KRAEMER, W.J. e RATAMESS, N.A. **Hormonal Responses and Adaptations to Resistance Exercise and Training.** Sports Med, 35 (4): 339-361, 2005.

KRAEMER, W.J.; HATFIELD, D.L.; COMSTOCK, B.A.; FRAGALA, M.S.; DAVITT, P.M.; CORTIS, C.; WILSON, J.M.; LEE, E.C.; NEWTON, R.U.; DUNN-LEWIS, C.; HAKKINEN, K.; SZIVAK, T.K.; HOOPER, D.R.; FLANAGAN, S.D.; LOONEY, D.P.; WHITE, M.T.; VOLEK, J.S. e MARESH, C.M. **Influence of HMB Supplementation and Resistance Training on Cytokine Responses to Resistance Exercise.** Journal of the American College of Nutrition, 33:4, 247-255, 2014.

MCARDLE, WILLIAM D; KATCH, FRANK I; KATCH, VICTOR L. **Fisiologia do exercício: nutrição, energia e desempenho humano.** 7. ed. -. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

MAIOR, A.S.; ALVES, A.; **A contribuição dos fatores neurais em fases iniciais do treinamento de força muscular: uma revisão bibliográfica.** Motriz, Rio Claro, v. 9, n.3, p.161-168, set./dez., 2003.

MARTIN, D.; CARL, K. e LEHNERTZ, K. **Manual de Teoria do Treinamento Esportivo,** Editora Phorte, 2008.

MINETTO, M.A.; RAINOLDI, A.; GAZZONI, M.; GANZIT, G.P.; SABA, L.; PACCOTTI, P.; **Interleukin-6 response to isokinetic exercise in elite athletes: relationships to adrenocortical function and to mechanical and myoelectric fatigue.** European Journal of Applied Physiology, 98:373–382, 2006.

NUNES-SILVA, A.; BERNARDES, P.T.T.; REZENDE, B.M.; LOPES, F.; GOMES, E.C.; MARQUES, P.E.; LIMA, P.M.; COIMBRA, C.C.; MENEZES, G.B.; TEIXEIRA, M.M. e PINHO, V.V. **Treadmill**

exercise induces neutrophil recruitment into muscle tissue in a reactive oxygen species-dependent manner. An intravital microscopy study. Plos One. v. 9, Issue, 5, e 96464, 2014.

OGAWA, K.; SANADA, K.; MACHIDA, S.; OKUTSU, M. e SUZUKI, K. **Resistance Exercise Training-Induced Muscle Hypertrophy Was Associated with Reduction of Inflammatory Markers in Elderly Women.** Mediators of Inflammation. v. 2010:171023, 2010.

OZAKI, H.; LOENNEKE, J.P.; THIEBAUD, R.S. e ABE, T. **Cycle training induces muscle hypertrophy and strength gain: strategies and mechanisms.** Acta Physiologica Hungarica. 102:1-22, 2015.

PATTERSON, S.D.; NIMMO, M.L.M.A. e FERGUSON, R.A. **Circulating hormone and cytokine response to low-load resistance training with blood flow restriction in older men.** European Journal of Applied Physiology. 113(3):713-9, 2013.

PEAKE, J.M.; NOSAKA, K. e SUZUKI, K. **Characterization of inflammatory responses to eccentric exercise in humans.** Exercise Immunology Review, n.11, p. 64-85, 2005.

PEDERSEN, B.K. e FEBBRAIO, M.A. **Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ.** Nature Reviews Endocrinology, Apr 3;8(8):457-65, 2012.

PEDERSEN, B.K. e FEBBRAIO, M.A. **Muscle as an Endocrine Organ: Focus on Muscle-Derived Interleukin-6.** Physiological Reviews, 88: 1379–1406, 2008.

PEDERSEN, B.K. e FISCHER, C.P.; **Beneficial health effects of exercise – the role of IL-6 as a myokine.** Science Direct; TRENDS in Pharmacological Sciences, v. 28, No.4; 2007

PENKOWA, M.; KELLER, C.P.; JAUFFRED, S. e PEDERSEN, B.K. **Immunohistochemical detection of interleukin-6 in human skeletal muscle fibers following exercise.** FASEB J. 17, 2166–2168, 2003.

PETERSEN, E.W.; OSTROWSKI, K.; IBFELT, T.; RICHELLE, M.; OFFORD, E.; HALKJAER-KRISTENSEN, J. e PEDERSEN, B.K. **Effect of vitamin supplementation on cytokine response and on muscle damage after strenuous exercise.** American Journal of Physiology, 280: C1570-C1575, 2001.

PETERSEN, A.M.W. e PEDERSEN, B.K. **The anti-inflammatory effect of exercise.** Journal of Applied Physiology - American Journal of Physiology; 98:1154-1162, 2005.

SERRANO, A.L.; BAEZA-RAJA, B.; PERDIGUERO, E.; JARDI, M. e MUNOZ-CANOVES, P. **Interleukin-6 Is an Essential Regulator of Satellite Cell-Mediated Skeletal Muscle Hypertrophy.** Cell Metabolism 7, 33–44, January, 2008

SCHOENFELD, B.J. **Is there a minimum intensity threshold for resistance training-induced hypertrophic adaptations?** Sports Med. 43:1279-88, 2013.

SCHOENFELD, B.J.; OGBORN, D.I. e KRIEGER, J.W. **Effect of Repetition Duration During Resistance Training on Muscle Hypertrophy: A Systematic Review and Meta-Analysis.** Sports Med, Apr;45(4):577-85, 2015.

SCHUENKE, M.D.; HERMAN, J.R.; GLIDERS, R.M.; HARGERMA, F.C.; HIKIDA, R.S.; RANA, S.R.; RAGG, K.E. e STARON, R.S.. **Early-phase muscular adaptations in response to slow-speed versus traditional resistance-training regimens.** European Journal of Applied Physiology, v. 112, p.3585-3595, 2012.

SILVIA, F.O.C. e MACEDO, D.V. **Exercício físico, processo inflamatório e adaptação: uma visão geral.** Brasileira de Cineantropom. Desempenho Humano. 13(4): 320-328, 2011.

SMITH, L.L. **Cytokine hypothesis of overtraining: a physiological adaptation to excessive stress?** *Medicine & Science in Sports & Exercise*;32:317-331, 2000.

STEENBERG, A.; FISCHER, C.P.; KELLER, C.; MØLLER, K. e PEDERSEN, B.K. **IL-6 enhances plasma IL-1ra, IL-10, and cortisol in humans.** *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 285: E433–E437, 2003.

TOFT, A.D.; JENSEN, L.B.; BRUUNSGAARD, H.; IBFELT, T.; HALKJAER-KRISTENSEN, J.; FEBBRAIO, M. e PEDERSEN, B.K. **Cytokine response to eccentric exercise in young and elderly humans.** *American Journal of Physiology*, 283: C289-C295, 2002.

TOTH, K.G.; MCKAY, B.R.; LISIO, M.; LITTLE, J.P.; TARNOPOLSKY, M.A.; GIANNI, P. **IL-6 Induced STAT3 Signalling Is Associated with the Proliferation of Human Muscle Satellite Cells Following Acute Muscle Damage.** *Plos One*, v. 6, Issue 3, e17392, 2011.

VARELLA, P.P.V.; FORTE, W.C.N.; **Citokines: a review.** *Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia*; 24(4):146-154; 2001.

ZHANG, C.; LI, Y.; WU, Y.; WANG, X. e DU, J. **Interleukin-6/signal transducer and activator of transcription(STAT3) pathway is essential for macrophage infiltration and myoblast proliferation during muscle regeneration.** *The Journal of Biological Chemistry*. Jan 18; 288(3):1489-99, 2013.

ZYCHOWSKA, M.; ZALESKA, A.N.; CHRUSCINSKI, R.Z.; MIESZKOWSKI, J.; NIESPODZINSKI, B.; TYMANSKI, R.; KOCHANOWICZ, A. **Association of High Cardiovascular Fitness and the Rate of Adaptation to Heat Stress.** *BioMed Research International*, Article ID 1685368, 6 pages, 2018.

YARROW, J.F.; BORSA, P.A.; BORST, S.E.; SITREN, H.S.; STEVENS, B.R. e WHITE, L.J. **Neuroendocrine Responses to an Acute Bout of Eccentric-Enhanced Resistance Exercise.** *Medicine & Science in Sports & Exercise.*, v. 39, No. 6, pp. 941–947, 2007.

WAKAHARA, T.; MIYAMOTO, N.; SUGISAKI, N.; MURATA, K.; KANEHISA, H.; KAWAKAMI, Y.; FUKUNAGA, T. e YANAI, T. **Association between regional differences in muscle activation in one session of resistance exercise and in muscle hypertrophy after resistance training.** *European Journal of Applied Physiology*, v. 112, n.4, p.1569-1576, 2012.

WELC, S.S. e CLANTON, T.L. **The regulation of IL-6 implicates skeletal muscle as an integrative stress sensor and endocrine organ.** *Experimental Physiology*. Feb;98(2):359-71, 2013.

WERNBOM, M.; AUGUSTSSON, J. e THOMEÉ, H. **The influence of frequency, intensity, volume and mode of strength training on whole muscle cross-sectional area in humans.** *Sports Medicine*, v. 37, n.3, p.225-264, 2007.

APÊNDICE A

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE):

“Efeito de uma sessão de treino de força na musculação sobre marcadores imunofisiológicos, inflamatórios e de estresse oxidativo em adultos jovens.”

Venho por meio deste, convidá-lo à participar do projeto de pesquisa cujo título está supracitado, que tem como objetivo avaliar o efeito de uma sessão de treino de força na musculação em biomarcadores sanguíneos de inflamação e de estresse oxidativo em adultos jovens praticantes regulares de atividade física. Será realizada uma sessão de treino de musculação para membros inferiores e o sangue será coletado antes, imediatamente após e 2 horas após o final da sessão de treino.

Riscos e Benefícios esperados

A realização deste estudo envolve os riscos gerais relacionados à prática de exercícios físicos, como lesões musculoesqueléticas, e à coleta de sangue periférico. Porém, a frequência com que esses eventos ocorrem em condições laboratoriais é mínima e, tanto a sessão de treino quanto a coleta de sangue, serão realizadas por profissionais treinados sob condições de segurança. Não haverá benefício direto ao voluntário, entretanto, esta pesquisa ajudará na compreensão de mecanismos importantes associados aos benefícios do exercício físico para a população.

Questionamentos

Em caso de quaisquer dúvidas, você poderá perguntar e esclarecer seus questionamentos com os pesquisadores a qualquer momento da pesquisa.

Suspensão da pesquisa

Você tem a liberdade de não participar ou de desistir a qualquer momento, sem qualquer penalidade ou qualquer outro transtorno para você.

Eventuais Danos materiais e morais

Todas as despesas especificamente relacionadas com o estudo são de responsabilidade dos pesquisadores deste estudo. Se durante ou após o estudo, você tenha outras dúvidas ou entenda que apresentou qualquer consequência negativa, por favor, entre em contato com o pesquisador responsável pelo estudo: Professor Dr. Albená Nunes da Silva, telefone (031): 99992-3426. Você poderá recusar-se a participar deste estudo e/ou abandoná-lo a qualquer momento, sem precisar se justificar. Você também deve compreender que os pesquisadores podem decidir sobre a sua exclusão do estudo por razões científicas, sobre as quais você será devidamente informado.

Uso das informações obtidas

As informações obtidas durante o teste serão tratadas de forma restrita e confidencial. Os dados da pesquisa serão armazenados pelo coordenador da pesquisa (Professor Dr. Albená Nunes da Silva) em sua sala (Sala 20 A) do Centro Desportivo da Universidade Federal de Ouro Preto (CEDUFOP) por um período de 5 anos. Os dados não serão liberados ou revelados para mais nenhuma pessoa a não ser os responsáveis pela análise e escrita dos resultados. As informações obtidas serão usadas por uma análise estatística com objetivos científicos. Pode estar certo que sua privacidade e anonimato serão garantidos.

Contato com o pesquisador e como o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Ouro Preto

Qualquer esclarecimento entre em contato com o pesquisador do presente projeto pelo e-mail: albenanunes@hotmail.com , ou pelo telefone: 99992-3426.

Segue também o contato do comitê de ética em pesquisa da Universidade Federal de Ouro Preto: Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Ouro Preto, Campus Universitário – Morro do Cruzeiro, na Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, ICEB - Ouro Preto (MG), ou pelo telefone (31) 3559-1368, sempre que desejar sanar dúvidas éticas. Uma cópia desse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ficará com você.

Livre Consentimento:

Concordo participar voluntariamente do presente projeto. Eu entendo que eu estou livre para desistir da participação a qualquer momento. Eu dou meu consentimento para participar deste estudo.

Data Assinatura do Voluntário

Data Assinatura do Responsável

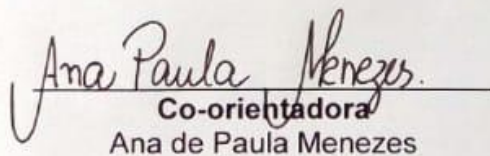
Telefones para contato: 31 98897-1039 (Washington) 31 99164-9497(Ayla) 31 99992-3426 (Albená)



ANEXO

Certifico que a aluna **Vitória Louise Teixeira e Silva**, autora do trabalho de conclusão de curso intitulado "**Perfil da IL-6 plasmática, após um exercício de força, realizado por indivíduos jovens treinados e não treinados**" efetuou as correções sugeridas pela banca examinadora e que estou de acordo com a versão final do trabalho.

Ouro Preto, 5 de dezembro de 2018


Co-orientadora
Ana de Paula Menezes