



FERNANDA CRISTINA PEDRO

**EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBIO E RESISTIDO
SOBRE A RESPOSTA IMUNOLÓGICA EM CAMUNDONGOS
C57BL6/J**

**LAVRAS - MG
2019**

FERNANDA CRISTINA PEDRO

**EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBIO E RESISTIDO SOBRE A RESPOSTA
IMUNOLÓGICA EM CAMUNDONGOS C57BL6/J**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Saúde, na área de concentração em Alterações Metabólicas, para a obtenção do título de Mestre.

Prof^a. Dr^a. Elaine Maria Seles Dorneles
Orientadora

Prof. Dr. Luciano José Pereira
Coorientador

**LAVRAS - MG
2019**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Pedro, Fernanda Cristina.

Efeitos do Exercício Físico Aeróbio e Resistido Sobre a Resposta Imunológica em Camundongos C57BL/6/J / Fernanda Cristina Pedro. - 2019.

37 p.

Orientador(a): Elaine Seles Dorneles.

Coorientador (a): Luciano José Pereira.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2019.

Bibliografia.

1. Linfócitos T e B. 2. Exercício Físico. 3. Resposta Imunológica. I. Dorneles, Elaine Seles. II. Pereira, Luciano José. III. Título.

FERNANDA CRISTINA PEDRO

**EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBIO E RESISTIDO SOBRE A
RESPOSTA IMUNOLÓGICA EM CAMUNDONGOS C57BL6/J**

**EFFECTS OF AEROBIC AND RESISTANCE PHYSICAL EXERCISE ON
IMMUNOLOGICAL RESPONSE IN MICE C57BL6/J**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Saúde, área de concentração em Alterações Metabólicas, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 16 de dezembro de 2019.

Dr ^a Elaine Maria Seles Dorneles	UFLA
Dr ^a : Camila de Souza Oliveira Guimarães	UFLA
Dr ^a : Grazielle Caroline da Silva	UNILAVRAS

Prof^a. Dr^a. Elaine Maria Seles Dorneles
Orientadora

Prof. Dr. Luciano José Pereira
Coorientador

**LAVRAS - MG
2019**

RESUMO

Os exercícios físicos executados com intensidade moderada podem trazer inúmeros benefícios ao organismo, entre os quais a melhora da resposta do sistema imunitário. Os benefícios envolvem o aumento de células como monócitos, macrófagos, neutrófilos e linfócitos T CD4⁺, T CD8⁺ e linfócitos B, representando uma importante linha de defesa contra infecções por micro-organismos. Já exercícios intensos e agudos, geralmente provocam depressão de vários aspectos da função imunológica adquirida. Desta forma, o objetivo deste estudo foi caracterizar e comparar os efeitos de oito semanas de treinamento resistido (escada) e aeróbio (esteira) sobre a proliferação *in vitro* de linfócitos T e B isolados a partir de esplenócitos de camundongos. Para tal, foram utilizados 18 camundongos C57BL/6/J subdivididos em três grupos: controle sedentário (n = 6), exercício resistido (escada) (n = 6) e exercício aeróbio (esteira) (n= 6). Os animais sedentários permaneceram sem qualquer tipo de estímulo físico, enquanto os camundongos do grupo exercício resistido foram submetidos a sessões de escalada e o grupo exercício aeróbio foi submetido a treinamento em esteira movida a motor. A velocidade da esteira, as cargas utilizadas na escalada e o tempo/séries em atividade para o treinamento foram ajustados no início e após quatro semanas de acordo com desempenho dos animais em testes com cargas crescentes (incremental) e teste com carga/velocidade constante (80% da máxima no teste incremental). O período experimental foi de 8 semanas de treinamento, sendo o treinamento resistido executado três vezes por semana e o aeróbio cinco vezes por semana. Ao final do experimento, os baços dos camundongos foram coletados para obtenção dos esplenócitos e avaliação da resposta celular. Os esplenócitos foram marcados com CFSE [5(6)-Carboxyfluorescein diacetate N-succinimidyl ester] e cultivados por 3 dias com e sem estimulação com PHA (*Phytohemagglutinin*) (mitógeno não específico) para avaliação da proliferação *in vitro* dos linfócitos T (CD4⁺ e CD8⁺) e B (CD21/CD35⁺) por meio de citometria de fluxo. Após estimulação *in vitro* com PHA, as células totais, os linfócitos T CD8⁺ e os linfócitos B exibiram proliferação significativamente ($P < 0,05$; Kruskal-Wallis e Dunn) superior no grupo submetido ao exercício resistido (escada) em comparação ao grupo sedentário ($p < 0,05$), permanecendo o grupo aeróbio com valores intermediários. Não houve diferença significativa em nenhum parâmetro imunológico entre o grupo esteira e o sedentário ($p > 0,05$). A análise de proliferação dos linfócitos CD4⁺ também mostrou uma tendência de maior resposta nos animais submetidos ao exercício resistido comparado ao grupo sedentário ($P = 0.07$). O trabalho (J) realizado em cada teste de fadiga ao longo do treinamento foi superior no grupo aeróbio em comparação ao grupo resistido e sedentário, demonstrando que o grupo aeróbio foi submetido a treinamento mais intenso. Concluiu-se que o exercício resistido foi capaz de promover benefícios imunológicos superiores ao exercício aeróbio em camundongos submetidos a oito semanas de treinamento físico.

Palavras-chave: Linfócitos T e B. Exercício físico. Resposta imunológica.

ABSTRACT

Exercise performed at moderate intensity can bring numerous benefits to the body, including improvements in the immune system response. The benefits involved or increased cells like monocytes, macrophages, neutrophils and CD4 + T lymphocytes, CD8 + T and B lymphocytes, represent an important line of defense against microorganism infections. Already exercising intense and acute, usually causes depression of various aspects of acquired immune function. Thus, the aim of this study was to characterize and compare the effects of eight weeks of resistance (ladder) and aerobic (treadmill) training on the in vitro proliferation of T and B lymphocytes initiated from mouse splenocytes. Eighteen C57BL6 / J mice were divided into three groups: sedentary control (n = 6), resistance exercise (ladder) (n = 6) and aerobic exercise (n = 6). Sedentary animals remain without any physical stimulation, while mice from the resistance exercise group underwent climbing sessions and the aerobic exercise group underwent motor training. Tread speed, such as climbing loads and time / sets in training activities were applied at baseline and after four weeks according to animal performance in increasing load (incremental) testing and load / speed testing. constant (80% of the maximum in the incremental test). The experimental period was 8 weeks of training, with resistance training performed three times a week and aerobic training five times a week. At the end of the experiment, mouse spleens were collected for splenocyte analysis and cell response evaluation. Splenocytes were labeled with CFSE [5 (6) -carboxyfluorescein diacetate ester N-succinimidyl] and cultured for 3 days without stimulation with PHA (phytohemagglutinin) (non-specific mitogen) for evaluation of in vitro T lymphocyte proliferation (CD4 + and CD8 +) and B (CD21 / CD35 +) by flow cytometry. After in vitro stimulation with PHA as total cells, CD8 + T lymphocytes and B lymphocytes exhibited superior multiple proliferation ($P < 0.05$; Kruskal-Wallis and Dunn) in the resistance exercise group (ladder) compared to the group sedentary ($p < 0.05$), with the aerobic group remaining at intermediate values. There was no significant difference in any immune parameter between the treadmill and the sedentary group ($p > 0.05$). Analysis of CD4 + lymphocyte proliferation also showed a tendency for greater response in animals using exercises that were resistant to sedentary exercise ($P = 0.07$). The work (J) performed in each fatigue test during training was superior in the aerobic group compared to the resistance and sedentary group, demonstrating that the aerobic group underwent more intense training. It was concluded that resistance exercise was able to promote immunological benefits superior to aerobic exercise in mice using two weeks of physical training.

Keywords: T and B cell. Physical exercise. Immune response.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estratégias de análise usadas para as diferentes subpopulações de leucócitos.....	25
Figura 2 - Testes de fadiga foram realizados no início do experimento, após aclimatação e também após 4 e 8 semanas de treinamento.	27
Figura 3 - Análise da proliferação celular pelo CFSE total.	28

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1	Exercícios físicos e saúde	12
2.2	Resposta imunológica.....	13
2.3	Efeitos da prática de exercícios físicos sobre o sistema imunológico.....	15
2.3.1	Exercício Físico com Intensidade Moderada	17
2.3.2	Exercício Físico com Alta Intensidade.....	18
3	OBJETIVOS	20
3.1	Objetivo geral	20
3.2	Objetivos específicos.....	20
4	MATERIAL E MÉTODOS	21
4.1	Animais experimentais.....	21
4.2	Protocolo de treinamento.....	21
4.2.1	Treinamento aeróbio (TA).....	22
4.2.2	Treinamento Resistido (TR).....	22
4.3	Cultura de esplenócitos	23
4.4	Ensaio de proliferação celular	24
4.5	Análise de citometria.....	24
4.6	Análises estatísticas	25
5	RESULTADOS	26
5.1	Treinamento.....	26
5.2	Proliferação celular	27
6	DISCUSSÃO	29
7	CONCLUSÃO	31
	REFERÊNCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

A prática de exercícios físicos sempre esteve ligada à imagem corporal, entretanto, atualmente, além da questão estética, a atividade física tem sido também associada a saúde física, mental e social, entre os quais destaca-se o seu efeito sobre o sistema imunológico (STOLARCZYK, 2017).

De fato, considerando-se que no Brasil o sedentarismo é um problema visível e de grande importância, afetando aproximadamente 70% da população e que este estilo de vida é responsável por 54% das mortes por infarto, sendo uma das maiores causas de morte no país (COREPAL et al., 2019), é incontestável a importância da prática de atividade física para saúde pública. Os benefícios do exercício físico, adquiridos a partir das adaptações que promovem um melhor funcionamento do organismo, se manifestam sob vários aspectos, pois ocorre diminuição da gordura corporal e visceral, melhora do tônus muscular, aumento da flexibilidade, fortalecimento de ossos e articulações, redução da pressão arterial em repouso, melhora da sensibilidade a insulina, entre outros (SOUZA et al., 2018).

Exercício físico e atividade física, apesar de serem utilizados frequentemente como sinônimos apresentam distinção, na qual atividade física remete a qualquer movimento produzido pela musculatura esquelética com gasto energético acima dos níveis de repouso; e exercício físico designa toda atividade sistematizada de forma ordenada com certa regularidade para obtenção de resultados físicos pré-estabelecidos, existem vários métodos de prescrição de exercício físico, dentre eles estão o aeróbico e o resistido (AHTIAINEN et al., 2018).

Tanto o treinamento aeróbico como o de resistência têm mostrado serem ferramentas essenciais no aumento de força, melhor funcionamento fisiológico do organismo e aumento no pico de VO_2 Máximo (consumo máximo de oxigênio), levando a um melhor condicionamento físico e maior gasto energético (GOMES-NETO et al., 2019). Especialmente exercícios de resistência apresentam benefícios na otimização da massa muscular esquelética, pois aceleram a síntese proteica induzindo a hipertrofia muscular e aumentando a força (GOMES-NETO et al., 2019).

Dependendo da intensidade do exercício (estresse em que o corpo é submetido) podem ocorrer resultados positivos e negativos sobre o sistema imunológico (TURNER; BRUM, 2017). Por exemplo, quando o exercício físico é executado com intensidade moderada ocorre uma descarga de catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) que influencia os processos fisiológicos e modula a imunidade, levando a um aumento das concentrações de linfócitos T no compartimento vascular (KAN et al., 2018). A classificação do nível de esforço pode ser

estabelecida por meio de parâmetros fisiológicos e metabólicos como por exemplo: frequência cardíaca máxima (FCM), índice de percepção de esforço (IPE) e consumo máximo de oxigênio. Esses parâmetros servem de base para que profissionais da área de treinamento físico e afins se assegurem dos objetivos a serem alcançados (AHTIAINEM et al., 2018).

Os linfócitos T podem ser subdivididos em duas grandes subpopulações de acordo com moléculas co-receptoras que expressam em sua superfície: células T auxiliares ($CD4^+$) e células T citotóxicas ($CD8^+$) (MESQUITA JR. et al., 2010). De maneira geral, as células T auxiliares ($CD4^+$) são responsáveis por exercer o papel central no controle e desenvolvimento da resposta imune, além de interferir na estimulação, proliferação e maturação dos linfócitos B; enquanto os linfócito T citotóxicos ($CD8^+$) agem no controle e combate a infecções intracelulares, reconhecendo e destruindo células infectadas (ABBASI et al., 2014). Já os linfócitos B possuem um importante papel na imunidade humoral sendo um essencial componente do sistema imune adaptativo, cuja principal função é a produção de anticorpos (MESQUITA JR. et al., 2010).

Segundo Campbell e Turner (2018) o exercício físico, dependendo de sua intensidade, pode alterar os níveis tanto das células T $CD4^+$, $CD8^+$, quanto das células B em seres humanos. Essa alteração de células está associada à prática regular de exercício físico podendo promover um aumento de linfócitos T e B e das células denominadas “*natural killers*” que é um linfócito atuante no sistema inato, que tem como função destruir células tumorais ou infectadas por vírus (CAMPBELL; TURNER, 2018). O tipo e intensidade do exercício físico e a sua influência na melhora do desempenho do sistema imunológico é um tema muito importante, especialmente considerando a emergência crescente de epidemias de doenças causadas por vírus e bactérias cada vez mais agressivos e frequentes (NIEMAN; WENTZ, 2019). Além disso, é imprescindível o conhecimento mais detalhado do perfil de resposta imune induzido pela prática de exercícios físicos de diferentes modalidades, caracterizando qual o melhor protocolo de acordo com a individualidade de cada praticante, procurando sempre desenvolver e conhecer os melhores caminhos para promoção de saúde, melhor qualidade de vida e aumentar o entendimento sobre os mecanismos e benefícios que o exercício físico pode promover para o fortalecimento do sistema imunológico proporcionando respostas mais eficientes e eficaz contra quadros de infecção.

Está claro na literatura que a prática regular de exercício físico traz uma série de benefícios ao indivíduo, sendo recomendado por muitos profissionais de saúde, principalmente àqueles que se encontram em estado sedentário. Nos aspectos da Imunologia, isso não é diferente, pois o treinamento físico moderado melhora os sistemas de defesa do organismo, principalmente por estabelecer uma comunicação entre os sistemas nervoso, endócrino e,

principalmente, o imunológico, de modo a modular a resposta imune e tornar o indivíduo mais resistente à problemas infecciosos. Contudo, há de se ressaltar que a suposta teoria precisa ainda de mais investigações experimentais, avaliando exercícios a longo prazo em diferentes modalidades e intensidades.

O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do treinamento físico aeróbio e resistido sobre a resposta imunológica em camundongos C57BL6/J.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Exercícios físicos e saúde

Segundo Walsh et al. (2011) exercício físico é toda atividade física estruturada, planejada e com uma sequência bem definida, que tem por objetivo a melhoria e a manutenção de um ou mais componentes da aptidão física. A prática regular de exercícios físicos reduz significativamente riscos de excesso de peso, e conseqüentemente, auxilia na prevenção de morbidades relacionadas a obesidade como hipertensão arterial (HA), diabetes mellitus (DIA), osteoporose, doenças coronarianas, entre outras. Além de promover o bem-estar físico, mental e social, reduzindo também os níveis de estresse, depressão e ansiedade.

O sedentarismo é considerado um dos maiores problemas de saúde pública atualmente, estando associado a obesidade desde a infância até a vida adulta, sendo um grande fator de risco para o desenvolvimento de inúmeras doenças. Indivíduos sedentários comumente apresentam um gasto energético inferior ao consumido, levando ao aumento do tecido adiposo visceral. Esse comportamento traz efeitos prejudiciais à saúde, aumentando riscos de mortalidade por várias causas (PERVAIZ; HUFFMAN, 2012).

Existe uma grande relação entre o sistema imune e o exercício físico, na qual o sistema imunológico pode ser modulado com a prática regular de atividade física, acompanhado por fatores hormonais que se desencadeiam de vários níveis de substratos metabólicos, que oscilam de acordo com sua duração e intensidade (COSTA; VAISBERG, 2002). Os exercícios físicos praticados de forma correta e individualizados podem ser fatores de proteção à saúde, prevenindo doenças infecciosas e melhorando a resposta imunológica. A prescrição do treinamento é um fator muito importante, sendo necessário a determinação precisa de sua intensidade, para que se obtenha uma adaptação fisiológica em seu desenvolvimento. Para indivíduos sem fins competitivos, geralmente, o objetivo do treinamento físico é proporcionar o mínimo de riscos possíveis, como desgaste articular e ligamentos, além de melhorar o preparo físico, entre outros (GOBATO et al., 2009). Já para atletas de alto nível, o principal objetivo dos treinamentos físicos é desenvolver a máxima performance, priorizando sempre as adaptações musculares, fisiológicas e neurológicas, respeitando os limites, o equilíbrio e a recuperação do atleta (BIDDLE; BATTERHAM., 2015).

Quando um programa de treinamento não é previamente planejado, pode ocorrer sobrecarga de exercícios, resultando em fadigas central e/ou periférica, podendo sua recuperação durar até meses (BIDDLE; BATTERHAM., 2015). Adicionalmente, isso pode

acarretar uma performance diminuída com alterações físicas, neurais e bioquímicas. O exercício físico intenso é desencadeador do estresse oxidativo, sendo considerado uma atividade com intensidade acima dos 70% do VO₂ máximo (consumo máximo de oxigênio), podendo durar de alguns segundos a vários minutos (BIDDLE; BATTERHAM., 2015).

Entre vários métodos de prescrição de exercício físico, destaca-se dois tipos: Exercício Aeróbico e Resistido. Exercício aeróbico é um exercício com longa duração, contínuo e pode ser executado com baixa, moderada e alta intensidade. Estimula funções cardíacas e pulmonares que a partir do consumo de oxigênio supre o músculo de energia. Este tipo de atividade aumenta o consumo de oxigênio e também aumenta o número de mitocôndrias onde ocorre o processo de queima de gordura. Quando executado de forma correta promove vários benefícios ao organismo como: maior eficiência cardíaca, diminui a gordura corporal, melhora a saúde mental, fortalece o sistema imunológico, entre outros (SILVA et al., 2019). Já o exercício resistido é um exercício que pode ser definido como contrações musculares realizadas contra resistência graduáveis e progressivas, são geralmente realizados com o uso de pesos, promovendo desenvolvimento da potência, aumento de força, aumento da massa muscular e também promove maior resistência do sistema imunológico. Existem vários fatores que podem influenciar no treinamento resistido, como: Tipo de exercício, volume, intensidade, tempo de descanso e frequência, sendo estas ferramentas importantes na prescrição de treinamentos (VOIGHT, T.B. 2019)

Segundo o Colégio Americano de Medicina Esportiva (ACSM) é considerado exercício de baixa intensidade aquele que é executado com um VO₂ máximo de 20-40 mL/(kg.min) e uma frequência cardíaca (FC) de 35-55%. Exercícios moderados possuem VO₂ máximo de 40-60 e FC de 55 a 70%, enquanto os exercícios de alta intensidade são executados com um VO₂ máximo de 60-85 com FC acima de 90%. Há recomendação de um conhecimento prévio de todas essas variáveis para uma prescrição adequada, inclusive sobre o sistema imunológico, que pode ser influenciado por vários fatores como: princípio da sobrecarga, continuidade, adaptação, individualidade biológica, volume e intensidade (AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE - ACSM, 2015).

2.2 Resposta imunológica

Ao longo do processo evolutivo, o sistema imunológico adquiriu características para produzir uma variedade de tipos celulares e moleculares (RANG et al., 2016), de modo que suas células sejam capazes de reconhecer microrganismos invasores e consequentemente

eliminá-los (AROSA; CARDOSO; PACHECO, 2007). Esse processo de reconhecimento é conhecido como resposta imune, que se diferencia principalmente em resposta imune celular e humoral, sendo que em ambos os tipos, todas as células e moléculas envolvidas operam de modo integrado (RANG et al., 2016). O sistema imune dos mamíferos é composto por uma variedade de tipos celulares e a resposta imune compreende um processo que pode ser classificado de maneira geral em duas etapas: a fase inata e a fase adaptativa ou adquirida (MORO et al., 2014). A primeira fase refere-se aos processos físicos, químicos e biológicos, com o envolvimento de alguns tipos específicos de células de defesa, como os macrófagos e neutrófilos, sendo uma linha de defesa contra agentes infecciosos e participantes ativos na reparação e remodelação nos danos teciduais. Já a fase adaptativa ocorre com a presença de linfócitos T e B, com seus respectivos produtos: citocinas e anticorpos. Na atuação predominante dos anticorpos a resposta imune é dita como humoral e na atuação prioritariamente das células T e macrófagos dá-se o nome de resposta celular (WISNIEWSKI; VILCEK, 2004).

A resposta celular é intermediada por linfócitos do tipo T que são produzidos pela medula óssea e circulam na corrente sanguínea até chegar ao timo, onde passam por maturação (MESQUITA JR. et al., 2010). A principal função dos linfócitos T é a regulação da resposta imune, no entanto também ajudam na eliminação de invasores intracelulares. O processo de mediação da resposta imunológica é desempenhado pelos linfócitos T que possuem o co-receptor $CD4^+$, também chamados de linfócitos auxiliares ou helper-Th0, os quais podem se diferenciar em células: Th1, Th2 ou Th17 (ROMAGNANI, 1991). A citocina IL-12 induz as células Th0 a se diferenciarem em Th1, enquanto IL-4 induz a diferenciação em Th2, já a diferenciação em Th17 ocorre com a apresentação de antígenos proteicos oriundos de bactérias extracelulares ou fungos, produzindo citocinas que recrutam os neutrófilos, sendo sua citocina padrão a IL-17 (TERRA et al., 2013).

Segundo Wisniewski e Vilcek (2004), as citocinas são consideradas glicoproteínas e apresentam papel fundamental no processo de resposta imunológica, sendo produzidas para mediar e controlar respostas imunitárias e inflamatória. Estas apresentam curto tempo de atuação e estimulam células com receptores específicos. A ação das citocinas baseia-se na passagem de mensagens entre as células do sistema imune, como o sistema hematopoiético e neuroendócrino (WISNIEWSKI; VILCEK, 2004). Em geral, estas glicoproteínas podem ser classificadas como anti ou pró- inflamatórias, sendo as anti-inflamatórias principalmente IL-10 e TGF-beta e as pró-inflamatórias IL-1, IL-2, IL-12, IL-17, IL-18, IFN- γ e TNF- α .

Os linfócitos Th1 são responsáveis pela produção da citocina IL-2, pelo aumento da resposta dos linfócitos T CD8⁺ e também por sua difusão na corrente sanguínea. (TERRA et al., 2012). No entanto, além da IL-2, este linfócito também sintetiza o IFN- γ , importante citocina no processo de ativação de macrófagos infectados. As células Th1 desempenham um papel importante na defesa contra agentes patogênicos intracelulares (PARKIN; COHEN, 2001). Por outro lado, os linfócitos Th2 produzem as citocinas IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10, e estão ligados as respostas humorais, que tem relação principalmente com doenças alérgicas, resposta a patógenos extracelulares e com a infestação por helmintos (PARKIN; COHEN, 2001). As células Th2 são consideradas “protetoras” mediante as doenças infecciosas, e estão envolvidas na defesa contra parasitas extracelulares estimulando a resposta imune (WALSH et al., 2011). De modo semelhante, as células Th17 são consideradas uma subpopulação de linfócitos T que atuam principalmente no combate a infecção por agentes extracelulares, produzindo as citocinas pró-inflamatórias IL-22, IL-26 e IL-17, responsáveis por intensa inflamação (BRADLEY, 2003).

Diante das diferentes possibilidades de estimulação do sistema imunológico, é muito importante caracterizar qual o tipo de resposta imunológica está sendo desencadeada, Th1, Th2 ou Th17, diante de diferentes intensidades e modalidades de exercícios físicos, para estabelecer claramente quais possíveis problemas estão se manifestando e maximizar os benefícios do treinamento físico (MESQUITA JR et al., 2010).

2.3 Efeitos da prática de exercícios físicos sobre o sistema imunológico

A prática regular de exercícios físicos influencia muitos mecanismos do sistema imune, dependendo da intensidade, duração e do tipo do exercício, alterando capacidades funcionais e a produção de algumas citocinas e metabólitos como: IL-2, IL-4 e CRP (proteína C-Reativa), encontradas no sangue em resposta a inflamação. Uma resposta aguda ao exercício, após o dano tecidual, envolve geralmente a liberação de TNF- α , IL-1 β e IL-6, a partir do fígado pelos hepatócitos, sendo estas as causadoras dos movimentos de linfócitos, neutrófilos e monócitos para o local onde ocorreu o dano tecidual (MORO et al., 2014).

Pelo contrário, a falta de exercício físico está associada ao aumento da produção de adipocinas, produzidas pelo tecido adiposo (COREPAL et al., 2019). Já o exercício quando executado de forma regular pode aumentar a produção de inúmeras citocinas e mioquinas produzidas pelo músculo esquelético, agindo no fortalecimento do sistema imunológico, na estimulação do aumento das mitocôndrias (oxidando o tecido adiposo) e na melhora do

funcionamento do metabolismo da gordura marrom para que ocorra a hipertrofia muscular (LEE et al., 2015).

A obesidade é uma síndrome metabólica responsável em parte por inflamação, estresse oxidativo e disfunção imunológica, ela está associada à disfunção do sistema imunológico, aumentando a contagem de leucócitos e inflamação sistêmica de baixo grau induzida (GOH et al., 2018). Estudos recentes mostraram que com a prática de exercício físico e baixa ingestão calórica ocorre perda de peso e conseqüentemente traz benefícios à saúde de indivíduos com sobrepeso, trazendo efeitos positivos nas vias moleculares relacionadas à função imune. Porém alguns estudos sugerem que o treinamento físico rigoroso e prolongado, combinado com a disponibilidade de baixa energia (desnutrição) em indivíduos com peso considerado normal, pode suprimir a função do sistema imunológico (SARIN,2019).

O excesso de tecido adiposo e níveis elevados de citocinas pró-inflamatória indicam que o sistema imunológico pode estar debilitado, aumentando a susceptibilidade a doenças infecciosas (SOUZA et al., 2018). A prática de exercício físico com intensidade moderada apresenta efeitos positivos sobre o perfil inflamatório e sobre o sistema imunológico de maneira geral em indivíduos sedentários e obesos (SOUZA et al., 2018). Estimula muitas alterações celulares e moleculares nos tecidos do corpo que promovem efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes aumentando a imunovigilância. Por exemplo, IL-1 β é uma citocina pró-inflamatória que está envolvido na patogênese da doença, e durante o exercício ocorre a liberação de IL-6 do músculo que induz altos níveis de IL-1ra plasmática durante a recuperação que inibe competitivamente a sinalização de IL-1 β (NIEMAN; WENTZ, 2018).

A prática de exercício físico traz efeitos imunomoduladores que podem alterar a conversa cruzada entre o sistema imunológico e tumorigênese, podendo aumentar a infiltração de células T citotóxicas intra-tumorais e reduzir a infiltração de células T reguladoras (Treg), melhorando a recirculação e a função das células NK específicas de tumores, e conseqüentemente diminuindo influências inflamatórias que apoiam o crescimento de células cancerígenas (EL-KADER; AL-SHREEF, 2018).

Segundo Lee et al. (2015) o exercício físico aumenta a produção de catelicidina e defensina por células imunes, sendo a catelicidina um grupo de peptídeos antimicrobianos, que possuem atividades não apenas antibacteriana, antifúngica e antiviral, mas também apresentam ação imunoestimulatória e imunomoduladora. Com esse aumento das defesas do organismo, no caso de uma infecção, claramente reduziria a proliferação de microrganismos patogênicos (LEE et al., 2015).

O sistema imunológico responde bem ao exercício físico, com a extensão e a duração refletindo o grau de estresse fisiológico imposto pela carga de trabalho (NIEMAN; WENTZ, 2018).

2.3.1 Exercício Físico com Intensidade Moderada

Exercícios com intensidade moderada podem ser muito benéficos à saúde, melhorando a resposta imunológica, associada ao aumento dos linfócitos T e B e das células NK (“*Natural Killer*”), além de levar a uma diminuição do estresse, fator de grande importância na proteção do organismo. (ROMINGER et al., 2019). De fato, como o corpo funciona de maneira integrada (sistemas nervoso, endócrino e imunológico) a redução no estresse fortalece o organismo tornando-o menos propício a doenças. Quanto à melhor forma de atividade para fortalecer o sistema imunológico, segundo a literatura prevalece o conceito de que exercício moderado é o mais adequado, enquanto os exercícios de alta intensidade podem ser prejudiciais, aumentando a susceptibilidade do indivíduo a infecções (FORTUNATO et al., 2018).

Intensidades moderadas de exercício diminuem a incidência de doenças crônicas, desempenhando um papel protetor, melhorando vários aspectos como cicatrização, polarização macrofágica e funcional, além disso, o exercício é capaz de reduzir os riscos associados ao câncer atrasando a progressão do tumor e os riscos associados a idade (EL-KADER et al., 2018).

Os exercícios moderados podem provocar ainda a secreção de grandes concentrações de peptídeos antimicrobianos trazendo efeitos positivos para a resposta imune, devido a um aumento das células NK, linfócitos B e linfócitos T CD8⁺ e CD4⁺ (KIWATA et al., 2014). O fortalecimento do sistema imunológico proporciona respostas rápidas e eficazes contra quadros de infecções, sendo a prática regular de exercícios físicos com intensidades moderadas a modalidade mais adequada para este propósito. O mecanismo principal envolvido na defesa do hospedeiro está no efeito dessa prática sobre o aumento dos linfócitos, especialmente as células NK, as quais atuam principalmente no sistema imune inato destruindo células infectadas por vírus e células tumorais (FREIDENREICH; VOLEK, 2012). O exercício físico age também diminuindo o estresse, melhorando as respostas no sistema nervoso central e periférico, fortalecendo o organismo, tornando-o menos exposto a doenças, proporcionando benefícios no sistema cardiovascular, do tônus muscular, do sistema neuroendócrino e psicológico, além de promover um melhor funcionamento metabólico, aumentando a massa muscular corpórea que resulta em um melhor desempenho no cotidiano (AHTIAINEN et al., 2018).

2.3.2 Exercício Físico com Alta Intensidade

Contrariamente ao observado para os exercícios de intensidade moderada, quando praticado em alta intensidade o exercício pode aumentar a susceptibilidade do indivíduo a ansiedade, estresse, alterações psicológicas, endócrinas e cardiovasculares, contribuindo com o desenvolvimento de doenças infecciosas (JAMES et al., 2017). Para Souza et al., 2018 o ideal seria acumular aproximadamente 150 minutos de atividade física moderada semanal, no entanto como as pessoas estão cada vez mais sem tempo para essa prática, os exercícios intervalados de alta intensidade tem sido a principal alternativa em termos de economia de tempo.

No entanto, para Wisloff et al. (2009) o exercício com intensidade alta reduz riscos cardiovasculares, inclusive para homens de meia idade, havendo evidências de que este tipo de exercícios induz respostas hipertróficas do miocárdio reduzindo mortalidade por doenças do coração. Da mesma forma, Batacan, et al. (2017) afirmam que exercícios como o HIIT (treinamento intervalado com alta intensidade) melhoram o controle de glicose, sensibilidade a insulina, diminuem a gordura corporal e visceral, aumentam os níveis de lipoproteína de alta densidade (HDL) e também os níveis de colesterol total, tendo em vista que estes exercícios são de alta intensidade porém de curto prazo e intervalados.

Todavia, a longo prazo, essa prática leva a um aumento na produção de citocinas pró-inflamatória, tornando o indivíduo mais propenso a adquirir infecções por bactérias e vírus (HEIKKI et al., 2019). Este processo ocorre mais frequentemente em atletas praticantes de exercícios de alta intensidade, sendo esta intensidade um fator determinante do perfil de citocinas produzidas (GILLUM et al., 2011). Assim, quando praticado com alta intensidade o exercício físico parece deprimir o sistema imune, durante e após sua execução.

A imunodepressão pode ser considerada como multifatorial, no entanto, sugere-se que treinamentos intensos e por períodos longos podem alterar a capacidade imunológica, uma vez que pode ser considerado como um fator estressante, comparado a traumas, queimaduras, que induzem respostas fisiológicas semelhantes (GILLUM et al., 2011).

O exercício é considerado de alta intensidade quando ultrapassa os 70% do VO_2 máximo, quando isso ocorre há um aumento nos níveis de $TNF-\alpha$ (citocina que podem induzir a apoptose) no plasma e nos linfócitos, podendo ocorrer também o aumento de outras citocinas pró-inflamatórias como $IL-1\beta$ e $IL-6$ (PERVAIZ; HUFFMAN, 2012). Exercícios exaustivos e prolongados podem causar reações adversas ao sistema imune, a qual é refletida por imunossupressão transitória e inflamações, promovendo degranulação de neutrófilos aumentando a concentração de enzimas como a mieloperoxidase (MPO), que funciona como

marcador de migração de neutrófilos para o músculo (ABBASI et al., 2014). As chamadas janelas de oportunidades ficam abertas deixando o indivíduo mais susceptível a infecções virais e bacterianas, afetando os parâmetros imunes compreendendo mudanças no número de células periféricas, diminuindo a atividade e a eficiência do sistema imunológico.

Considerando a prática de treinamentos de alta intensidade pode ocorrer também, acidose láctica, isquemia tecidual, citocinemia e inflamação por trauma do musculo esquelético (ARAÚJO et al., 2019). Se o indivíduo estiver destreinado ou se for sedentário pode ocorrer até mesmo um colapso muscular esquelético, ocorrendo uma rabdomiólise (síndrome decorrente da lesão muscular, resultando a morte de fibras musculares) (GOH et al., 2018).

Segundo Teixeira et al. (2018) atletas que participam de esportes de resistência com alta intensidade tem maior risco de possuir alergias, pois este tipo de treinamento requer alta taxa de ventilação ficando muito expostos a fatores ambientais como alérgenos e poluição, além disso, estes atletas sofrem mais consequências no sistema imunológico, levando a alterações na contagem de linfócitos no sangue, as quais ocorrem pelo estresse crônico causado pelo exercício de alta intensidade, levando a um desequilíbrio das células Th1 e Th2.

Adicionalmente, exercícios de alta intensidade podem também promover uma fragmentação do DNA, levando a leucocitose seguida por linfocitopenia, causada por um desequilíbrio entre fatores endógenos e antioxidantes, exigindo um maior consumo de oxigênio formando radicais livres (ROS), que podem danificar células sadias do corpo levando a um enfraquecimento do sistema imunológico e envelhecimento (PERVAIZ; HUFFMAN, 2012).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

i– Avaliar os efeitos do treinamento físico aeróbio e resistido sobre a resposta imunológica em camundongos C57BL6/J.

3.2 Objetivos específicos

i – Caracterizar e comparar a proliferação de linfócitos T CD4⁺, CD8⁺ e B (CD21/CD35⁺) à partir de esplenócitos de camundongos C57BL6/J, sedentários e submetidos a treinamento físico aeróbio e resistido.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais experimentais

O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais de Laboratório (CEUA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), sob protocolo 292/18. Um total de 18 camundongos machos C57BL6/J de quatro semanas de idade pesando aproximadamente 15 g no início do protocolo foi utilizado. Todos os animais foram mantidos de acordo com as normas éticas para experimentos com animais (CONCEA). Ao longo do período experimental, os roedores permaneceram sob temperatura ($22 \pm 2^\circ \text{C}$), umidade ($45 \pm 15\%$) e iluminação (ciclo claro/escuro de 12/12 horas) ideais para a espécie. Alimentação comercial e água foram fornecidas *ad libitum* durante todo o experimento.

Os animais foram divididos em três grupos de seis animais cada, de acordo com o peso e desempenho no primeiro teste incremental (descrito a seguir): (1) grupo sedentário, (2) grupo treinamento aeróbio em esteira e (3) grupo treinamento resistido em escada. O peso dos camundongos foi registrado semanalmente durante todo o experimento.

4.2 Protocolo de treinamento

O protocolo de treinamento foi planejado para 8 semanas de acordo com o desempenho dos animais nos testes de fadiga e com a porcentagem de esforço descritos na Tabela 1. Os testes de fadiga foram realizados de acordo com o descrito a seguir no início do experimento, após aclimação e também após 4 e 8 semanas de treinamento para os animais submetidos ao treinamento aeróbio ou resistido.

Tabela 1 - Protocolo de treinamento aeróbio em esteira e resistido em escada de camundongos C57BL/6J durante 8 semanas de acordo com desempenho alcançado em teste incremental e de carga constante (80% da máxima)

SEMANA	% $VEL_{MAX} / CARGA_{MAX}^a$	% TRABALHO
1 e 5	60	60
2 e 6	70	70
3 e 7	70	80
4 e 8	80	90

^a Velocidade máxima / carga máxima
Fonte: Do autor (2019).

4.2.1 Treinamento aeróbio (TA)

Para condução do treinamento aeróbio, foi utilizado um protocolo de esteira movida a motor com a presença de resistência elétrica (choque elétrico) ao final da raia. Inicialmente, os camundongos passaram por um período de aclimatação com a esteira (inclinação de 5°) por 5 dias consecutivos (5 minutos na esteira desligada e 5 minutos a 10 m.min⁻¹). Posteriormente, os animais foram submetidos a dois testes de fadiga para o planejamento do treinamento: a) teste incremental de velocidade; e b) teste com velocidade submáxima constante.

a) Teste incremental de velocidade: este teste foi realizado após 48 horas de descanso. Os animais foram colocados na esteira a uma velocidade inicial de 6 m.min⁻¹ e a cada 3 minutos a velocidade foi incrementada 3 m.min⁻¹ de forma sucessiva até o camundongo não ser capaz de manter a ritmo, permanecendo na resistência elétrica ao final da esteira por 10 segundos. Nesse momento o animal era retirado da esteira e retornado à caixa. A velocidade máxima atingida foi registrada para cada animal.

b) Teste com velocidade submáxima constante. Quarenta e oito horas após a última sessão de treinamento, os animais foram colocados na esteira e a velocidade foi gradualmente aumentada até 80% da velocidade máxima atingida no teste incremental. Os animais permaneceram correndo até não serem capazes de manter o ritmo, mantendo-se na resistência elétrica ao final da esteira por 10 segundos. Nesse momento o animal foi retirado da esteira e retornado à caixa. O tempo máximo de permanência foi registrado para cada animal.

Após a condução deste teste, o trabalho (J) realizado foi calculado de acordo com a seguinte fórmula:

Trabalho (J) = Massa corporal (kg) x Gravidade (m.s⁻²) x Velocidade (m.min⁻¹) x Seno da inclinação da esteira (5°) x Tempo de corrida (minutos)

Posteriormente, o protocolo de treinamento foi planejado de acordo com a Tabela 1.

4.2.2 Treinamento Resistido (TR)

Para o treinamento resistido, os animais foram submetidos a sessões de escalada, em uma escada com as seguintes dimensões: 90 × 14 cm (grade entre degraus de 1 cm), angulação de 80°, com uma área de repouso na parte superior adaptada de Hornberger e Farrar (2004). Inicialmente, os testes de fadiga também foram realizados adaptando os mesmos modelos da esteira de forma a determinar a aptidão física de cada animal e posterior planejamento do protocolo de treinamento.

a) Teste incremental de carga: antes de iniciar a escada, bolsas de tecido (TNT) contendo parafusos/pregos de aço foram presas à cauda, com peso inicial total de 5 g. A cada escalada sucessiva, a carga era incrementada em 1 g, até a falha concêntrica (ou seja, quando o animal não conseguia mais escalar). A carga anterior até este ponto foi considerada máxima.

b) Teste com carga submáxima constante: os animais iniciaram o teste com 80% da carga máxima obtida no teste anterior. Os camundongos foram estimulados a realizarem o máximo de escaladas possível até a falha concêntrica. O número máximo de escaladas completas foi utilizado para cálculo do trabalho realizado de acordo com a fórmula descrita abaixo:

Trabalho (J) = [Massa corporal + Carga (kg)] x Gravidade ($m.s^{-2}$) x Comprimento da escada (0,9 m) x Inclinação da escada (seno de 80°) x Número de subidas (n)

Posteriormente, o protocolo de treinamento foi planejado de acordo com a Tabela 1. Os protocolos de treinamento baseado em desempenho nos testes de fadiga foram adaptados de Nunes-Silva et al. (2014).

4.3 Cultura de esplenócitos

Os baços dos camundongos de todos os grupos experimentais foram coletados após as oito semanas de treinamento para obtenção dos esplenócitos e avaliação da resposta celular. Os esplenócitos foram obtidos de acordo com Pereira, Lorena e Galvão (2004). Após a eutanásia de cada animal, o baço foi removido assepticamente e colocado em um tubo de polipropileno de 50 mL fundo cônico contendo RPMI 1640 (Sigma Aldrich, EUA) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) (Sigma-Aldrich, EUA). Em capela de fluxo laminar, cada baço foi transferido para uma placa de Petri estéril, onde foi macerado em filtro de $70\ \mu\text{m}$ (Cellstrainers – Falcon) para obtenção de uma suspensão de células que foram transferidas para tubos cônicos de 50 mL contendo aproximadamente 10 mL de RPMI 1640 por baço.

Os tubos foram centrifugados a $200 \times g$ por 10 min a $4\ ^\circ\text{C}$. Depois de descartar o sobrenadante, água destilada foi adicionada ao sedimento para promover a lise das hemácias. O sobrenadante, sem restos celulares, foi centrifugado a $200 \times g$ por 5 minutos $4\ ^\circ\text{C}$ e o sedimento (contendo células) foi ressuspenso em RPMI 1640 + 10% de SFB. Uma alíquota de cada suspensão celular foi separada e diluída em azul de tripan para avaliação de viabilidade celular e quantificação em câmara de Neubauer.

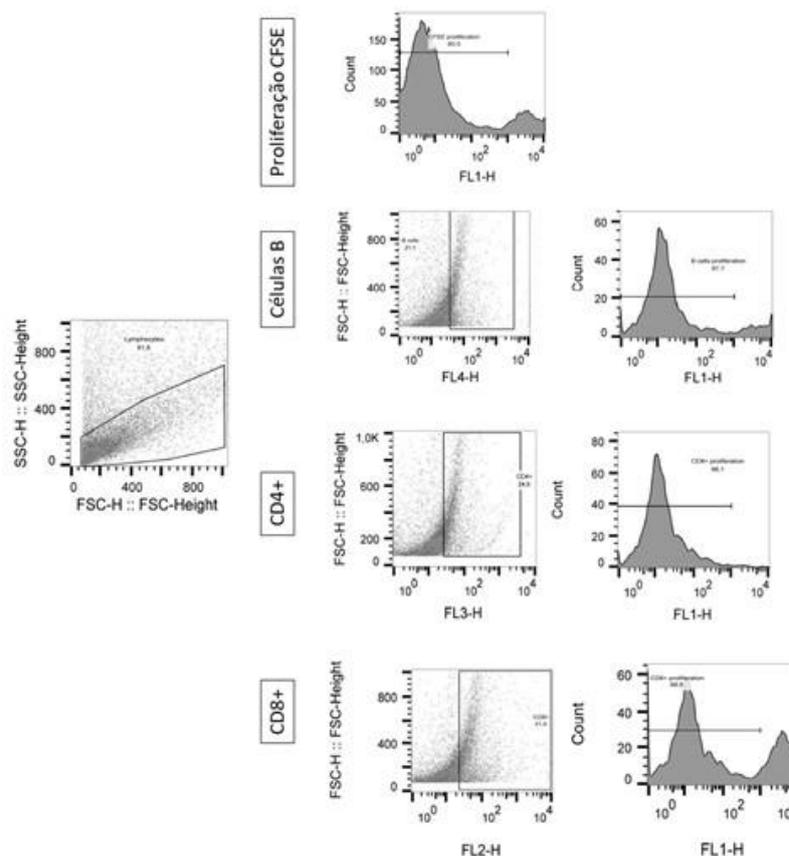
4.4 Ensaio de proliferação celular

Os esplenócitos foram corados com Carboxifluoresceína Diacetate Succinimidyl Ester (CFSE) (Life Technologies, EUA) para avaliação da proliferação celular, de acordo com as instruções do fabricante. As células foram cultivadas em placas de cultivo celular de 48 poços durante 3 dias (72 horas) (1×10^6 células/poço) a 37 °C e 5% de CO₂. A viabilidade celular foi monitorada por coloração com azul de tripan usando microscopia óptica. As culturas foram estimuladas com PHA-L (5 µg/mL) (controle positivo) ou com RPMI 1640 (controle negativo). Após a incubação, as células foram marcadas com anticorpos monoclonais (mAbs) anti-CD4 (clone RM4-5), anti-CD8 (clone 53-6.7) e anti-CD21/CD35 (clone 7G6), conjugados com PerCP (*peridinin chlorophyll protein complex*), PE (*phycoerythrin*) e APC (*allophycocyanin*), respectivamente. Um mínimo de 30.000 células por amostra foi analisado no citometro de fluxo FacsCalibur (Becton Dicknson, EUA).

4.5 Análise de citometria

O programa FlowJo 7.6.1 (Tree Star, EUA) foi usado em todas as análises de dados de citometria de fluxo. As estratégias de análise usadas para as diferentes subpopulações de linfócitos estão mostradas na Figura 1.

Figura 1 - Estratégias de análise usadas para as diferentes subpopulações de leucócitos.



Legenda: Os linfócitos foram identificados como linfócitos, com base em suas características citométricas de tamanho e granulosidade. Para o ensaio de proliferação, a análise fenotípica foi realizada para determinar a porcentagem de células divididas usando gráficos de pontos de marcador de superfície CFSE / (anti-CD4 ou anti-CD8).

Fonte: Do autor (2019).

4.6 Análises estatísticas

Os dados foram primeiramente testados quanto à normalidade e variância dos conjuntos de dados pelo teste Shapiro-Wilk. A análise realizada foi Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn's, considerando a natureza não paramétrica dos dados de citometria de fluxo.

Para os grupos experimentais de treinamento físico foram realizadas o teste de Two-way ANOVA seguido pelo teste de Bonferroni para a análise do Trabalho (J) realizado nos testes com carga constante e One-way ANOVA seguido pelo teste de Tukey para análise da carga máxima e velocidade máxima.

Todas as análises foram realizadas utilizando o programa Graphpad Prism 8.0.1 (GraphPad Software, EUA). A significância foi definida em todos os casos em $P < 0,05$.

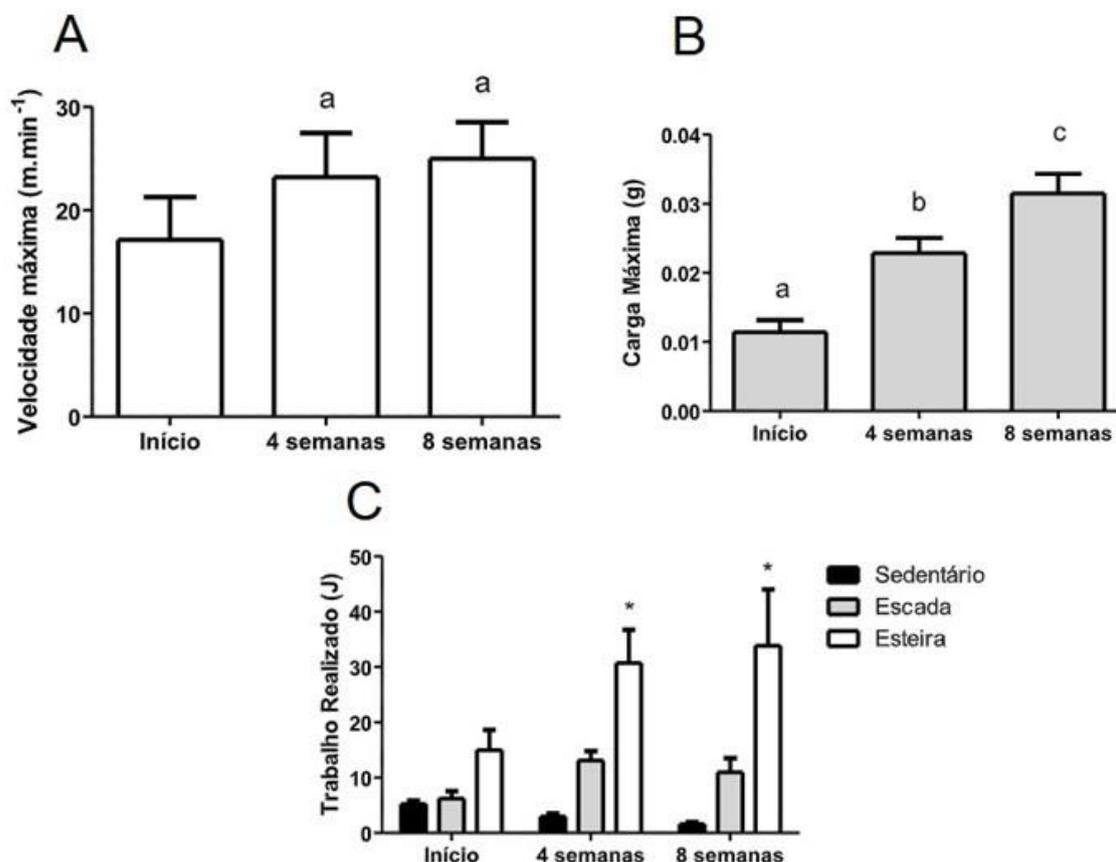
5 RESULTADOS

5.1 Treinamento

Após o treinamento realizado por oito semanas, os animais apresentaram melhora do desempenho físico. Os animais submetidos a treinamento aeróbio (esteira) apresentaram desempenho significativamente superior no teste incremental de velocidade máxima após quatro e oito semanas de treinamento em relação ao teste inicial, porém, não houve diferença significativa na comparação entre quatro e oito semanas após o início do treinamento (FIGURA 2-A). De modo semelhante, os animais do grupo submetido a treinamento resistido (escada) também obtiveram melhora do desempenho, suportando uma maior carga máxima após quatro e oito semanas de treinamento, com diferença significativa entre todos os tempos avaliados e a condição inicial (FIGURA 2-B).

Na análise do trabalho realizado no teste constante com 80% da carga/velocidade máxima, comparando os três grupos, foi observado que o grupo submetido ao treinamento aeróbio (esteira) realizou trabalho (J) significativamente superior aos demais grupos após 4 e 8 semanas de treinamento (FIGURA 2-C).

Figura 2 - Testes de fadiga foram realizados no início do experimento, após aclimatação e também após 4 e 8 semanas de treinamento.



Legenda: (A) Velocidade máxima (m.min) atingida pelos animais do grupo treinamento aeróbio (esteira). (B) Carga Máxima atingida pelos animais do grupo treinamento resistido (escada). (C) Trabalho Realizado (J) atingido pelos animais dos grupos: sedentário, treinamento resistido (escada) e treinamento aeróbio (esteira). Os resultados foram expressos como média de intervalo de confiança de 95% e diferenças significativas ($P < 0,05$) pelo teste Two-way ANOVA seguido pelo teste de Bonferroni para a análise do trabalho realizado e One-way ANOVA seguido pelo teste de Tukey para análise da carga máxima e velocidade máxima. Letras diferentes indicam diferença estatística entre os grupos, letras iguais não apresentam diferenças e asteriscos indicam diferença significativa em relação a condição inicial.

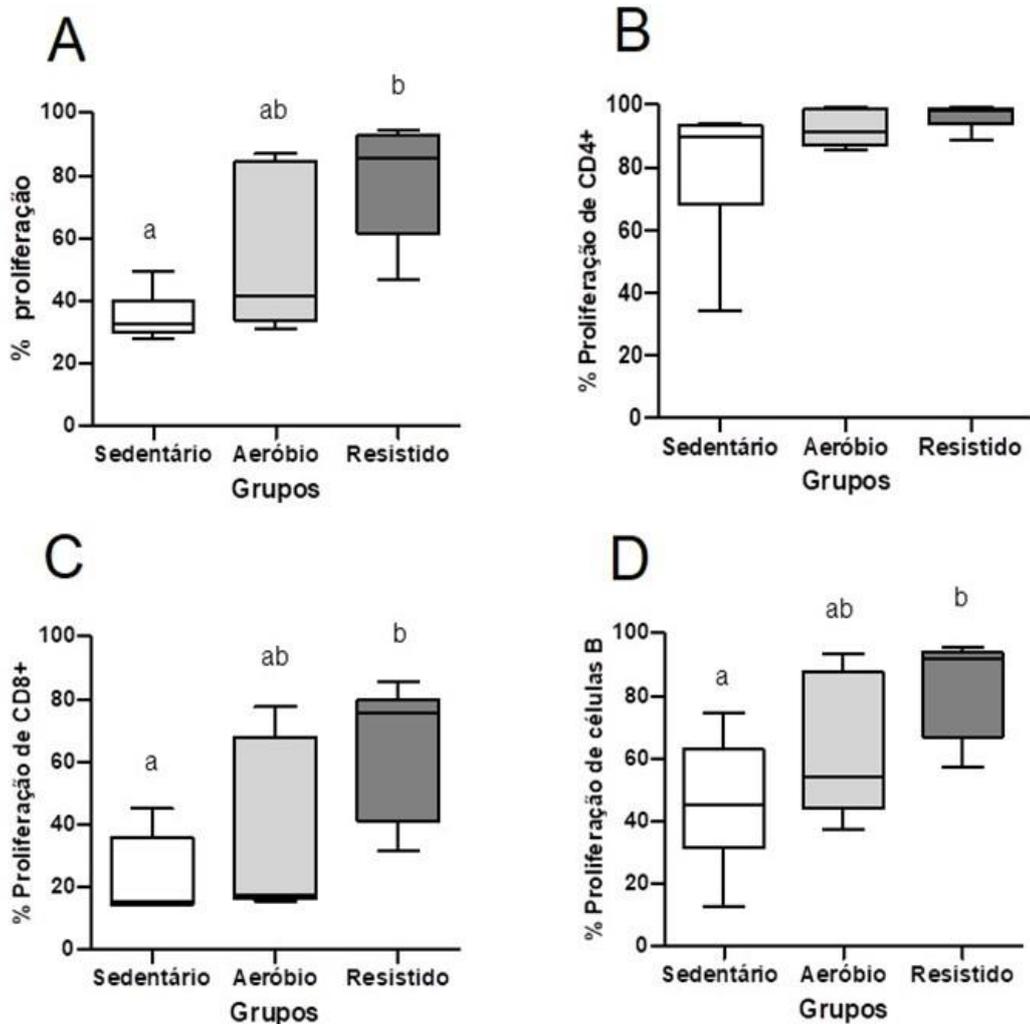
Fonte: Do autor (2019).

5.2 Proliferação celular

Após estimulação *in vitro* com PHA-L, as células totais, os linfócitos T CD8⁺ e os linfócitos B exibiram proliferação significativamente maior no grupo dos animais submetido ao exercício resistido (escada) em comparação com os grupos submetido ao exercício aeróbio (esteira) e grupo sedentário (FIGURA 3). Similarmente, apesar da ausência de diferença estatística, a análise de proliferação dos linfócitos CD4⁺ mostrou uma tendência de maior

resposta nos animais submetidos ao exercício resistido em comparação ao grupo sedentário ($P = 0.07$) (FIGURA 3-B). Não houve diferença significativa em nenhum parâmetro imunológico avaliado na comparação entre o grupo esteira e o sedentário, bem como nas comparações entre o grupo submetido ao exercício resistido (escada) e aeróbio (esteira) (FIGURA 3).

Figura 3 - Análise da proliferação celular pelo CFSE total.



Legenda:(A) e das subpopulações de células T CD4⁺ (B), CD8⁺ (C) e células B (D) em esplenócitos murinos de animais não submetidos a exercício físico (Sed), submetidos a treinamento aeróbio em esteira (Est) e submetidos a treinamento resistido em escada (Esc). Os resultados são expressos em box plots (mediana, primeiro e terceiro quartil). Diferenças significativas ($P < 0,05$) foram determinadas pelo teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste Dunn. Letras diferentes indicam diferença estatística entre os grupos.

Fonte: Do autor (2019).

6 DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo desenvolvido em camundongos mostram que houve benefícios significativos para o sistema imunológico apenas dos animais submetidos ao treinamento resistido (FIGURA 3A-D). De acordo com a quantidade de Trabalho (J) realizado pelos grupos esteira e escada, pode-se inferir que os mesmos foram intenso e moderado, respectivamente, (FIGURA 2-C). Os animais submetidos ao exercício físico aeróbio obtiveram uma melhora na performance física apenas entre a primeira e a quarta semana de treinamento, o que não se repetiu na comparação entre a quarta e a oitava semana, evidenciando que estes animais chegaram ao limite de desenvolvimento que o treinamento poderia produzir, não conseguindo mais melhorar seu desempenho. Em contraste, os animais do grupo treinamento resistido (escada) obtiveram melhor desempenho em todas as semanas avaliadas, tendo um incremento progressivo, aumentando cada vez mais a sua capacidade de treinamento e aptidão física. A análise conjunta desses achados mostra que o protocolo de treinamento aeróbio empregado pode ser considerado exercício de alta intensidade, enquanto o treinamento resistido pode ser considerado de intensidade moderada. É importante ressaltar que o grupo sedentário foi submetido aos mesmos testes de fadiga, realizados antes, quatro e oito semana após o início dos treinos. Não obstante, é provável que o exercício aeróbio tenha sido considerado de alta intensidade, devido ao fato dos camundongos correrem até o limite sem interrupção (e terem um trabalho realizado significativamente maior em comparação aos outros grupos), enquanto o grupo resistido, pôde ter momentos de descanso entre as escaladas, uma vez que há uma área de repouso na parte superior da escada.

A melhora do desempenho imunológico após a prática de exercício de intensidade moderada em camundongos avaliada considerando apenas alguns componentes celulares do sistema imune, evidenciaram um incremento significativo na capacidade blastogênica dos linfócitos totais, T CD8⁺ (citotóxicos) e B. Uma vez que essas células são importantes na defesa do organismo contra patógenos intra e extracelulares, bem como na resposta contra o dano, os resultados do presente estudo sugerem que indivíduos submetidos a atividade física moderada estariam mais aptos a responder a infecções ou desafios ambientais do que indivíduos que realizam práticas esportivas classificadas como de alta intensidade (JIN et al., 2015). Essas alterações na capacidade proliferativa dos linfócitos após o exercício em diferentes intensidades podem estar associadas a alterações nos níveis circulantes de hormônios do estresse, incluindo epinefrina, noradrenalina e cortisol, visto que foi anteriormente demonstrado que catecolaminas podem induzir o aumento do número de linfócitos, enquanto o cortisol induz linfopenia após

exercício (SOUZA et al 2018). Adicionalmente, Pedersen e Hoffman-Goetz (2000) discutem que exercícios de intensidade moderada melhoram a resposta imunológica por meio do aumento dos linfócitos T e B e das células NK (“*Natural Killer*”), e que outro fator de grande importância na proteção do organismo reside na diminuição do estresse. Ainda, segundo James et al. (2017), o contrário ocorre quando o exercício é praticado com alta intensidade podendo aumentar a susceptibilidade do indivíduo a ansiedade, estresse, alterações psicológicas, endócrinas e cardiovasculares, contribuindo com o desenvolvimento de doenças infecciosas.

Em especial, a relação entre a prática de atividade física e o sistema imunológico foi alvo de investigação pelo presente estudo, uma vez que o exercício físico promove alterações transitórias no sistema imunológico, as quais são dependentes da intensidade, tempo e duração do exercício (SANCHES et al., 2018). Exercícios exaustivos parecem deprimir o sistema imunológico, enquanto aqueles executados com intensidade moderada melhoram os mecanismos de defesa do organismo (ARAUJO et al., 2019).

Os resultados observados no presente trabalho apesar de não poderem ser extrapolados para a população humana, sugerem uma direção para novos estudos que objetivem entender o comportamento do sistema imune em decorrência da prática de atividade física em diferentes intensidades, uma vez que mostram o papel adjuvante do exercício moderado sobre a resposta imunológica em camundongos.

7 CONCLUSÃO

Em conclusão, os resultados do presente estudo mostraram que o exercício físico resistido (moderado) promoveu em camundongos C57BL6/J uma melhora significativa resposta do sistema imunológico, principalmente associada aos linfócitos CD8⁺ e B, enquanto a resposta dos animais submetidos ao exercício aeróbio (intenso) não foi diferente do grupo sedentário.

REFERÊNCIAS

ABBASI, A. et al. Exhaustive exercise modifies different gene expression profiles and pathways in LPS-stimulated and un-stimulated whole blood cultures. **Brain, Behavior, and Immunity**. v. 39, p. 130-141, 2014.

AGRAWAL, M.; KEM, P.A.; NIKOLAJCZYK, B.S. The Immune System in Obesity: Developing Paradigms Amidst Inconvenient Truths. **Current Diabetes Report**. v. 17, n. 10, p. 87, 2017.

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE - ACSM. A quantidade e o tipo recomendados de exercícios para o desenvolvimento e a manutenção da aptidão cardiorrespiratória e muscular em adultos saudáveis. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 4, n. 3, 2015.

ANDRADE, E. et al. Exercise attenuates alveolar bone loss and anxiety-like behavior in rats with periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**. v. 44, n. 11, p. 1153-1163, 2017.

_____. Adaptation to physical training in rats orally supplemented with glycerol. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**. v. 93, n.1, p. 63-69, 2015.

AHTIAINEN, J.P. et al. Physiological adaptations to resistance training in rats selectively bred for low and high response to aerobic exercise training. **Biology of Physical Activity**. 2018.

_____. Metabolic effects of glycerol supplementation and aerobic physical training on Wistar rats. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**. v. 92, n. 9, p. 744-751, 2014.

_____. Exercise and Beta-Glucan Consumption (*Saccharomyces cerevisiae*) Improve the Metabolic Profile and Reduce the Atherogenic Index in Type 2 Diabetic Rats (HFD/STZ). **Nutrients**. v.8, n 12, p. 11, article 792, 2016.

ARAÚJO, N.C. et al. Immune and Hormonal Response to High-intensity Exercise During Orienteering. **Physiology e Biochemistry**, 2019.

AROSA, F.; CARDOSO, E.; PACHECO, F. **Fundamentos de imunologia**. Lidel, Lisboa, 2007.

BARROS, E. et al. Acute and Chronic Effects of Endurance Running on Inflammatory Markers: A Systematic Review. **Frontiers in Physiology**. v. 8, p. 25, article 779, 2017.

BATACAN, R. et al. Effect of different intensities of physical activity on cardiometabolic markers and vascular and cardiac function in adult rats fed with a high-fat high-carbohydrate diet. **Journal of Sport and Health Science**. v. 7, p. 109-119, 2016.

BIDDLE, S.; BATTERHAM, A. High-intensity interval exercise training for public health: a big HIT or shall we HIT it on the head? **International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity**. n. 12, v. 1, article 95, 18, 2015.

BRADLEY, L.M. Migration and T-lymphocyte effector function. **Current Opinion in Immunology**. v. 15, n. 3, p. 343-348, 2003.

BRITO, A. et al. Intensity of swimming exercise influences tracheal reactivity in rats. **Journal of Smooth Muscle Research**, v. 51, p.70-81, 2015.

_____. Intensity of swimming exercise influences aortic reactivity in rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v. 48, n. 11, p. 996-1003, 2015.

COSTA, R.; L; VAISBERG, M. Influências do exercício na resposta imune. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**. v. 8, n. 4, p. 167-172, 2002.

CAMPBELL, J.P.; TURNER, J.E. Debunking the Myth of exercise-induced immune Suppression: Redefining the impact of exercise on immunological Health Across the Lifespan. **Frontiers in Immunology**. 2018.

COREPAL, R. et al. A protocol for a systematic review of process evaluations of interventions investigating sedentary behaviour in adults. **BMJ journals**. 2019.

DEL, P. G. The complexity of the CD4 T-cell responses: old and new T-cell subsets. **Parasitologia**. v. 50, n. 1-2, p. 9-16, 2008.

DUZOVA, H. et al. Effects of acute moderate and strenuous exercise bouts on IL-17 production and inflammatory response in trained rats. **Journal of Sports Science and Medicine**. v. 8, p. 219-224, 2008.

EDWARDS, K. et al. Acute exercise enhancement of pneumococcal vaccination response: A randomized controlled trial of weaker and stronger immune response. **Vaccine**. v.30, n. 45, p. 6389-6395, 2012.

EL-KADER, S.M.A; AL-SHREEF, F.M. Inflammatory cytokines and immune system modulation by aerobic versus resisted exercise training for elderly. **African Health Sciences**. v. 18, 2018

FORTUNATO, A.K. et al. Strength Training Session Induces Important Changes on Physiological, Immunological, and Inflammatory Biomarkers. **Journal of Immunology Research**. V.2018. Article, 9675216, p.12, 2018.

FREIDENREICH, D. J.; VOLEK, J. S. Immune responses to resistance exercise. **Exercise Immunology Review**. v. 18, p. 8-41, 2012.

GILLUM, T. L. et al. A review of sex differences in immune function after aerobic exercise. **Exercise Immunology Review**. v. 17, p. 104-21, 2011.

GOBATTO, C. et al. Maximal lactate steady state for aerobic evaluation of swimming mice. **Comparative Exercise Physiology**. v. 6, n. 3, p. 99-103, 2009.

GOH, J.; BEHRINGER, M. Exercise alarms the immune system: A HMGB1 perspective. **Cytokine**, p.222-225, 2018.

GOMES-NETO, M. et al. Effect of combined aerobic and resistance training on peak oxygen consumption, muscle strength and health-related quality of life in patients with heart failure with reduced left ventricular ejection fraction: a systematic review and meta-analysis.

International Journal of Cardiology. 2019.

GREEN, S.J. et al. A simple, rapid method for determining nitrates and nitrites in biological fluids. **Clinical Chemistry.** v. 38, n. 10, p. 2152, 1992.

HEIKKI, V. S. et al. Molecular Pathways Mediating Immunosuppression in Response to Prolonged Intensive Physical Training, Low-Energy Availability, and Intensive Weight Loss. **Frontiers in immunology.** 2019.

HORNBERGER, T.A Jr, FARRAR, R.P. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. **Can J Appl Physiol.** 2004.

KAN, N.W. et al. The Synergistic Effects of Resveratrol combined with Resistant Training on Exercise Performance and Physiological Adaptation. **Nutrients.** 2018.

_____. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comparative Biochemistry and Physiology. Part A: Molecular & Integrative Physiology.** v.130, n. 1, p. 21-27, 2001.

KIWATA, J. et al. Effects of Aerobic Exercise on Lipid-Effector Molecules of the Innate Immune Response. **Medicine & Science in Sports & Exercise.** v. 46, n.3, p. 506-512, 2014.

JAMES, B. et al. Obesity and metabolic syndrome in COPD: is exercise the answer? **Chronic Respiratory Disease.** v. 0, n. 0, 2017.

JIN, C. et al. Exhaustive submaximal endurance and resistance exercises induce temporary immunosuppression via physical and oxidative stress. **Journal of Exercise Rehabilitation.** v. 11, n. 4, p. 198-203, 2015.

KUMARAGURU, U. et al. Resistance training and aerobic exercise alters immune function. **The journal of immunology,** 2010.

LEE, J. K. et al. Effect of Regular Exercise on Staphylococcus aureus-3089 Drug-Induced Inflammation in Mice with ICR. **Scientific Reports,** 2015.

MESQUITA JUNIOR., D. et al. Autoimmune diseases in the TH17 era. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research.** v. 42, n. 6, p. 476-486, 2010

MOREIRA, J. et al. High- versus moderate-intensity aerobic exercise training effects on skeletal muscle of infarcted rats. **Journal of Applied Physiology.** v. 114, n. 8, p.1029-1041, 2013.

MORO, G.M. et al. Frequent participation in high volume exercise throughout life is associated with a more differentiated adaptive immune response. **Brain, Behavior, and Immunity.** v. 39, p. 61-74, 2014.

MORGADO, J. et al. Immune cell changes in response to a swimming training session during a 24-h recovery period. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**. v. 41, n. 5, p. 476-483, 2016.

NEELY, J.G. et al. Practical guides to understanding sample size and minimal clinically important difference (MCID). **Otolaryngology-Head and Neck Surgery**. v. 136, p. 14-18, 2007.

NIEMAN, D. C.; WENTZ, L.M. The compelling link between physical activity and the body's defense system. **Journal of Sport and Health Science**. 2018.

NUNES, S. et al. Treadmill exercise induces neutrophil recruitment into muscle tissue in a reactive oxygen species-dependent manner. An intravital microscopy study. **PLoS One**. 2014.

PARKIN, J.; COHEN, B. An overview of the immune system. **The Lancet**. v. 357, p. 1777-1789, 2001.

PEDERSEN B. K.; HOFFMAN-GOETZ, L. Exercise and the immune system: regulation, integration, and adaptation. **Physiological reviews**. v. 80, n. 3, p. 1055-81, 2000.

PEREIRA, V.R.A.; LORENA V.M.B.; GALVÃO, S.A.P. Immunization with cytoplasmic repetitive antigen and flagellar repetitive antigen of Trypanosomacruzi stimulates a cellular immune response in mice. **Parasitology**. v. 129, p. 563-570, 2004.

PERVAIZ, N; HOFFMAN, G.L. Immune Cell Inflammatory Cytokine Responses Differ Between Central and Systemic Compartments in Response to Acute Exercise in Mice. **Health Sciences, University of Waterloo, Ontario, Canada**, 2012.

PASCOE, A.; FIATARONE, S.M.; EDWARDS, K. The effects of exercise on vaccination responses: A review of chronic and acute exercise interventions in humans. **Brain, Behavior, and Immunity**. v. 39, p. 33-41, 2014.

RANG, H.; RITTER, J. M.; FLOWER, R, J.; HENDERSON, G. **Rang and Dale's pharmacology**. London: Churchill Livingstone. 776p. 2016.

ROMAGNANI, S. Type 1 T helper and type 2 T helper cells: functions, regulation and role in protection and disease. **International Journal of Clinical & Laboratory Research**. v. 21, n. 2, p. 152-158, 1991.

ROMINGER, C. et al. Creative challenge: Regular exercising moderates the association between task-related heart rate variability changes and individual differences in originality. **Plos One**. 2019.

SAMPAIO, I. B. M. et al. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 2. ed. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia. 265 p., 2002.

SANCHES, I. C. et al. Combined aerobic and resistance exercise training attenuates cardiac dysfunctions in a model of diabetes and menopause. **Plos One**. 2018.

SARIN, H.V. et al. Molecular Pathways mediating immunosuppression in response to prolonged intensive physical training, low-energy availability, and intensive weight loss. **Frontiers in immunology**, v.10, 2019.

SHIMOJO, G. L. et al. Combined Aerobic and Resistance Exercise Training Improve Hypertension Associated With Menopause. **Frontiers in Physiology**. 2018.

SILVA. A. N. et al. Treadmill Exercise Induces Neutrophil Recruitment into Muscle Tissue in a Reactive Oxygen Species-Dependent Manner. An Intravital Microscopy Study. **Plos One**. V. 9, 2014

SILVA, J.C.G. et al. Aerobic exercise with restricted blood flow affects mood state similar to high intensity interval exercise **Physiol Behav**. 2019.

SOUZA, D. C. et al. Effects of High-Intensity Interval and Moderate-Intensity Continuous Exercise on Inflammatory, Leptin, IgA, and Lipid Peroxidation Responses in Obese Males. **Frontiers in Physiology**. v. 9, Article 567, 2018.

STAFEEV, I.S.; VOROTKNOV, A.V.; RATNER, E.I.; MENSHIKOV, M.Y.; PARFYONOVA, Y.V. Latent Inflammation and Insulin Resistance in Adipose Tissue. **International Journal of Endocrinology**. v. 2017; article 5076732, 12 p., 2017.

STOLARCZYK, E. Adipose tissue inflammation in obesity: a metabolic or immune response? **Current Opinion in Pharmacology**. V. 37, p. 35-40, 2017.

SUN, B. et al. Proteomic adaptation to chronic high intensity swimming training in the rat heart. **Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics**. v. 3, n. 1, p.108-117, 2008.

TEIXEIRA, R. N. et al. Immune and Inflammatory Response in Atopic Elite Endurance Athletes. **Journal Sports Medicine**, 2018.

TERRA, R. et al. Exercise Improves the Th1 Response by Modulating Cytokine and NO Production in BALB/c Mice. **International Journal of Sports Medicine**. v.34, n. 07, p. 661-666, 2013.

TURNER, J.E.; BRUM, P. C. Does Regular Exercise Counter T Cell Immunosenescence Reducing the Risk of Developing Cancer and Promoting Successful Treatment of Malignancies? **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. 2017.

VOIGHT, T.B. et al. Resistance training-induced gains in knee extensor strength are related to increased neural cell adhesion molecule expression in older adults with knee osteoarthritis. **BMC Research Notes**. 2019.

WALSH, N.P. et al. Position statement part one: immune function and exercise. **Exercise Immunology Review**. v. 17 p. 6-63, 2011.

WISLOFF, U.; ELLINGSEN, O.; KEMI, O. High-Intensity Interval Training to Maximize Cardiac Benefits of Exercise Training? **Exercise and Sport Sciences Reviews**. v.37, n.3, p. 139-146, 2009.

WISNIEWSKI, H.; VILCEK, J. Cytokine-induced gene expression at the crossroads of innate immunity, inflammation and fertility: TSG-6 and PTX3/TSG-14. **Cytokine & Growth Factor Reviews**. v. 15, n. 2-3, p. 129-146, 2004.

ZHAO, G. et al. Effects of moderate and high intensity exercise on T1/T2 balance. **School of Health and Human Sciences, Southern Cross University**. p. 99-114, 2012.