

Universidade Federal de Ouro Preto

Escola de Nutrição

Programa de Pós-Graduação em Saúde e Nutrição
PPGSN

Dissertação

**Elevação do padrão
inflamatório sistêmico após
sessão de treino de força em
jovens treinados e não
treinados**

Ayla Karine Fortunato

Ouro Preto
2019



UFOP

Ayla Karine Fortunato

Elevação do padrão inflamatório sistêmico após sessão de treino de força em
jovens treinados e não treinados

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Nutrição, da Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto, como parte integrante dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Saúde e Nutrição.

Orientador: Prof. Dr André Talvani
Co-orientadores: Prof. Dr. Albená Nunes da Silva e Prof. Dr Kelerson Mauro de Castro Pinto

Ouro Preto, MG

2019

F745e Fortunato, Ayla Karine.

Elevação do padrão inflamatório sistêmico após sessão de treino de força em jovens treinados e não treinados [manuscrito] / Ayla Karine Fortunato. - 2019.

73f.; il.: color; grafs.; tabs..

Orientador: Prof. Dr. André Talvani Pedrosa da Silva.

Coorientador: Prof. Dr. Kelerson Mauro de Castro Pinto

Coorientador: Prof. Dr. Albená Nunes da Silva

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Nutrição. Programa de Pós-Graduação em Saúde e Nutrição.

1. Hipertrofia. 2. Inflamação. 3. Citocinas. I. Silva, André Talvani Pedrosa da. II. Pinto, Kelerson Mauro de Castro. III. Silva, Albená Nunes da. IV. Universidade Federal de Ouro Preto. V. Título.

CDU: 612.766.1

Catálogo: sisbin@sisbin.ufop.br



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP
Escola de Nutrição – ENUT
Programa de Pós-Graduação em Saúde e Nutrição

ATA DE DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aos vinte e seis dias do mês de fevereiro de dois mil e dezenove, às dezesseis horas, na sala 202, lado B do CEAD da Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto, realizou-se a Defesa da Dissertação de Mestrado da aluna **Ayla Karine Fortunato**. A Banca Examinadora, definida anteriormente, foi composta pelos professores Lenice Kappes Becker Oliveira (UFOP), Daisy Motta Santos (UFMG), Albená Nunes da Silva (UFOP), Kelerson Mauro de Castro Pinto (UFOP) e André Talvani Pedrosa da Silva (UFOP). Dando início ao exame, a aluna apresentou sua Dissertação de Mestrado intitulada: **“Elevação do padrão inflamatório sistêmico após sessão de treino de força em jovens treinados e não treinados”**. Após a apresentação, a candidata foi arguida pela Banca que avaliou o domínio do conteúdo metodológico e teórico relacionado à dissertação. A concessão do título está condicionada ao cumprimento das demais exigências previstas no Regimento do Programa. Após julgamento, os membros da Banca decidiram por:

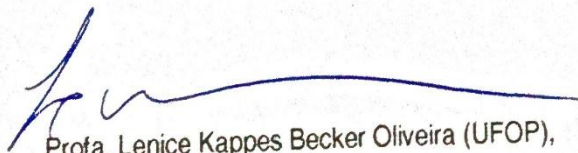


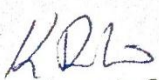
APROVAR

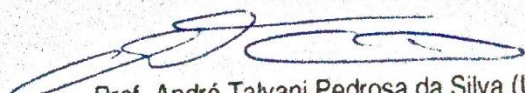


REPROVAR

Certificamos que a defesa realizou-se com a participação à distância da Daisy Motta Santos (UFMG) – Examinadora Externa e do professor Albená Nunes da Silva - Coorientador, depois das arguições e deliberações realizadas, os participantes à distância estão de acordo com as recomendações da banca examinadora.


Prof. Lenice Kappes Becker Oliveira (UFOP),
Examinadora Interna.


Prof. Kelerson Mauro de Castro Pinto (UFOP),
Coorientador.


Prof. André Talvani Pedrosa da Silva (UFOP),
Orientador.

"Aos cinquenta anos me refugiarei no ócio, aos sessenta estarei livre de meus encargos." Quão tarde começa a viver, quando já é hora de deixar de fazê-lo. Que negligência tão louca a dos mortais, de adiar para o quinquagésimo ou sexagésimo ano os prudentes juízos, e a partir deste ponto, ao qual poucos chegaram, querer começar a viver!

(Sêneca- Sobre a brevidade da vida)

AGRADECIMENTOS

Aos meu pais, por todo amor, dedicação, compreensão e por sempre me darem força para seguir em frente. Mais que exemplos, vocês são a minha vida!

Aos meus orientadores André, Kelerson e Albená, obrigada por não desistirem de mim e nem me deixar desistir. Carrego-os como exemplo de profissionais e pessoas. É um privilégio aprender com vocês!

Aos amigos do LABIIN pela convivência, paciência e ensinamentos. Tudo ficou mais fácil só pelo fato de ter vocês por perto. Aos amigos que fiz na UFOP em especial Silvia, Júlia, Débora e Alice, Dani, Washington, Guilherme e Ana vocês foram essenciais nesse processo.

Aos professores que tive ao longo desses anos que me inspiraram e que me ensinaram a antes de mais nada, gostar de aprender!

Eu sou porque nós somos. Muito obrigada!

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES)- Código de Financiamento 001”

RESUMO

Os exercícios de força são considerados parte fundamental do treinamento físico, sendo a hipertrofia muscular esquelética uma das principais adaptações a este tipo de treinamento. A resposta inflamatória é um processo essencial para o remodelamento do tecido muscular estriado esquelético sendo, ao lado dos diferentes parâmetros de treinamento, fatores definidores da hipertrofia do tecido muscular. O objetivo do estudo foi quantificar as respostas bioquímicas e imunológicas após uma sessão de treinamento para hipertrofia muscular esquelética em indivíduos treinados e não treinados em exercício de força. Vinte voluntários, realizaram 4 séries de 8 a 10 repetições em 3 exercícios de musculação (*leg press*, cadeira extensora e cadeira flexora), a 65% de 1 repetição máxima com intervalo de 90 segundos, sendo a duração da execução de cada repetição de 5 segundos (2 segundos para a ação muscular concêntrica por 3 segundos para a ação muscular excêntrica). As amostras sanguíneas foram coletadas imediatamente antes, após, 2 e 24 horas após o final da sessão de treino. Os resultados mostraram que a concentração de lactato aumentou imediatamente após a sessão e retornou aos valores iniciais 2 horas após o treino. Em relação à creatina quinase houve um aumento em 2 e 24 horas após a sessão, em comparação com o pré treino para o grupo não treinado, e no grupo treinado sua concentração elevou-se apenas 24 horas após a sessão. Quanto ao leucograma, houve um aumento na população de linfócitos e monócitos após a sessão de treino e elevação dos neutrófilos após 2 horas. Ao término de 24 horas da sessão, todas as células retornaram ao seu nível de normalidade. A sessão de treinamento de força elevou os níveis plasmáticos de Apelina e da FABP3 em ambos os grupos, sendo observado aumento do BDNF apenas nos indivíduos treinados. Como conclusão, sugere-se que o treinamento de força, segundo os parâmetros deste protocolo, eleva o perfil inflamatório sistêmico após o treinamento de força objetivando hipertrofia.

Palavras-chave: Treinamento de força, hipertrofia, inflamação, citocinas.

ABSTRACT

Resistance exercises are a fundamental part of physical training, with skeletal muscle hypertrophy being one of the main adaptations of this type of training. The inflammatory response is an essential process for the remodeling of skeletal muscle tissue, being, along with the different training parameters, factors that define muscle tissue hypertrophy. The aim of the study was to quantify the biochemical and immunological responses after a training session aiming skeletal muscle hypertrophy in trained and untrained subjects. Twenty volunteers performed 4 sets of 8 to 10 repetitions in 3 exercises (leg press, knee extensor chair and knee flexor chair), 65% of 1 repetition maximum with interval of 90 seconds, with the duration of each repetition of 5 seconds (2 seconds for concentric muscle action for 3 seconds for eccentric muscle action). Blood samples were collected immediately before, after, 2 and 24 hours after the end of the training session. The lactate concentration increased immediately after the session and returned to the initial values 2 hours after the training. Creatine kinase values, increased 2 and 24 hours after the session, compared to the pre-training for the untrained group, whereas for the trained group this increase occurred only 24 hours after the session. For the leukogram, there was an increase in the lymphocyte and monocyte population after the training session and neutrophil elevation after 2 hours. 24 hours after the session, all the cells returned to their normal levels. The strength training session elevated the plasma levels of Apelin and FABP3 in both groups, with an increase in BDNF only in trained subjects. As conclusion, it is suggested that strength training, following the parameters reported in this protocol, elevate the systemic inflammatory profile after a strength training.

Keywords: Resistance training, hypertrophy, inflammation, cytokines.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Aparelhos: A. Leg press, B. cadeira extensora de joelhos e C. cadeira flexora de joelhos.	23
Figura 2. Desenho experimental do estudo.....	25
Figura 3. Frequência cardíaca dos voluntários treinados e não treinados	31
Figura 4. Valores da percepção subjetiva de esforço	31
Figura 5. Valores da percepção de dor	32
Figura 6. Concentração de lactato em mmol/dl.....	33
Figura 7. Valores de creatina quinase em U/L.....	34
Figura 8. Leucócitos totais em $10^3/\mu\text{l}$	35
Figura 9. Linfócitos em $10^3/\mu\text{l}$	36
Figura 10. Monócitos em $10^3/\mu\text{l}$	36
Figura 11. Neutrófilos em $10^3/\mu\text{l}$	37
Figura 12. Valores de Apelina em pg/ml..	38
Figura 13. Valores de BDNF em pg/ml μl	38
Figura 14. Valores de FABP3 em pg/ml	39
Figura 15. Valores de FSTL-1 em pg/ml..	39
Figura 16. Valores de IL-15 em pg/ml.	40
Figura 17. Valores de Osteonectina em ng/ml.	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Moléculas: principais funções e respostas ao exercício.....	18
Table 2. Dados gerais de caracterização da amostra	30

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS e SÍMBOLOS

1RM – Uma repetição máxima

ACSM – *American College of Sports Medicine*

ADP – Adenosina difosfato

AST – Área de secção transversa

ATP – Adenosina trifosfato

BDNF – Fator neurotrófico derivado de cérebro

CCL2- Proteína quimiotática de monócitos

CEDUFOP – Centro Desportivo da Universidade Federal de Ouro Preto

Cm – Centímetro

CK – Creatina quinase

EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético

EVA- Escala visual analógica

FABP3- Proteína de ligação de ácidos graxos 3

FTSL1- Folistatina tipo 1

h - horas

IFN γ – Interferon-gama

IGF-I – Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1

IL – Interleucina

ICB – Instituto de Ciências Biológicas

Kg - quilograma

LIF- Fator inibidor de leucemia

LIIM- Laboratório Interdisciplinar de Investigação Médica

mL – Mililitros

mmol - Milimol

nm- Nanômetro

PARq - *Physical Activity Readiness Questionnaire*

PSE- Percepção subjetiva de esforço

rpm – Rotação por minuto

TCLE- Termo de consentimento livre e esclarecido

TGF β - Fator de crescimento transformante

TNF- Fator de necrose tumoral

μ l- microlitros

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 Exercício físico	12
1.2 Exercício de força	13
1.3 Inflamação e exercício de força	15
2 OBJETIVOS.....	20
2.1 Objetivo Geral.....	20
2.2 Objetivos Específicos	20
3 MATERIAIS E MÉTODOS	21
3.1 Amostra	21
3.2 Delineamento do estudo	22
3.3 Avaliação física (anamnese e antropometria)	25
3.4 Teste de 1 repetição máxima e predição de (1RM)	26
3.5 Análise do lactato sanguíneo.....	26
3.6 Hemograma completo	27
3.7 Análise da creatina quinase (CK)	27
3.8 Análise de citocinas.....	27
3.9 Avaliação da percepção subjetiva de esforço	28
3.10 Avaliação da escala visual de dor	28
3.11 Análise estatística.....	29
6 DISCUSSÃO	41
5 CONCLUSÃO	47
6 REFERÊNCIAS.....	48
7 ANEXOS	59
ANEXO I	59
ANEXO II	60
ANEXO III	61
ANEXO IV.....	62

1 INTRODUÇÃO

1.1 Exercício físico

Segundo o Colégio Americano de Medicina do Esporte- ACSM (2017), a atividade física pode ser caracterizada pela execução de movimentos corporais em que se faz necessário um gasto energético, sendo a sua prática frequentemente associada à melhoria da qualidade de vida. Parece existir uma relação dose-resposta entre o nível de aptidão física e seu efeito protetor. Benefícios para a saúde já podem ser observados com atividades de intensidade relativamente baixa e comuns ao cotidiano, como andar, subir escadas, pedalar e dançar (PEDERSEN e SALTIN, 2015).

Quando a atividade física é praticada de forma planejada, regular e sistematizada, visando um objetivo específico, passa a ser considerada exercício físico. Um programa regular de exercícios físicos deve possuir, pelo menos, três componentes: aeróbio, treinamento da força muscular e flexibilidade, variando a ênfase em cada um de acordo com a condição clínica e os objetivos de cada indivíduo. Para que a prescrição do exercício físico seja realizada de maneira adequada, é necessário estruturar os componentes da carga de treinamento, para que os objetivos almejados sejam alcançados (PEDERSEN e SALTIN, 2015).

Segundo Zakharov (1992) a carga de treinamento é um estímulo capaz de provocar adaptações ao organismo, sendo tradicionalmente dimensionada através dos componentes volume, intensidade, frequência, densidade e duração, podendo diferenciar-se entre carga externa e interna. A carga externa é a tarefa a ser cumprida e está associada ao volume e intensidade, enquanto a carga interna é o conjunto de reações biológicas dos sistemas orgânicos que pode ser refletida mediante parâmetros fisiológicos ou bioquímicos.

A organização dos componentes da carga de treinamento determina tanto a via energética predominante quanto o tipo de ação muscular realizada. Além disso, diferentes cargas de treinamento desencadeiam adaptações específicas (NOBREGA, 2005) que podem ser caracterizadas como adaptações agudas, aquelas que acontecem durante o exercício e algum período de tempo após uma

sessão de treino e adaptações crônicas, aquelas que ocorrem em decorrência de um acúmulo de adaptações agudas (adaptação ao treinamento). Estas ocorrem a partir de um determinado número de sessões de treinamento, resultando em adaptações metabólicas, fisiológicas e morfológicas (FRANCHI *et al.*, 2018).

As respostas promovidas pelo exercício, tanto agudamente quanto cronicamente, afetam muitos componentes do sistema imunológico. Isso ocorre em função dos exercícios físicos serem impulsionadores da resposta inflamatória para promoção de reparo e remodelamento após microtraumas musculares. Além disso, sabe-se que exercícios de intensidade moderada podem estimular parâmetros relacionados à imunidade celular e, conseqüentemente, diminuir o risco de infecções (TOFT *et al.*, 2002), podendo também inibir a produção de citocinas pró-inflamatórias associadas ao desenvolvimento de estados patológicos, como a diabetes tipo 2, doenças cardiovasculares e síndrome metabólica (PETERSEN e PEDERSEN, 2005). Por outro lado, exercícios de alta intensidade podem promover uma diminuição da imunidade celular, aumentando o risco de traumas na musculatura esquelética e de doenças infecciosas respiratórias e/ou sistêmicas (ROSA e VAISBERG, 2002; LEANDRO *et al.*, 2007).

1.2 Exercício de força

O treinamento de força, também conhecido como treinamento resistido ou com pesos, é um termo utilizado para descrever um tipo de exercício que exige que a musculatura corporal se movimente (ou tente se movimentar) contra uma força oposta, geralmente exercida por algum tipo de equipamento. Os termos treinamento resistido e treinamento de força abrangem uma ampla gama de modalidades de treinamento, incluindo exercícios corporais com pesos, uso de tiras elásticas, pliometria e corrida em ladeiras. O termo treinamento com pesos costuma se referir apenas ao treinamento resistido com pesos livres ou algum tipo de equipamento de treinamento com pesos (FLECK e KRAEMER, 1999).

Uma das formas mais utilizadas para a realização do exercício de força é a musculação. De acordo com Chagas e Lima (2008) entende-se por musculação um “meio de treinamento caracterizado pela utilização de pesos e máquinas desenvolvidas para oferecer alguma carga mecânica em oposição ao movimento

dos seguimentos corporais”. Este meio de treinamento é considerado eficiente no incremento da força (força rápida e resistência de força), podendo levar a hipertrofia muscular, sendo assim, recomendado e utilizado na manutenção da saúde, da aptidão física, estética e para o treinamento esportivo (KRAEMER, *et al.*, 2002).

Todo programa de treinamento visa provocar estímulos que desencadeiem adaptações específicas, sendo que as adaptações mais esperadas com o treinamento de força são o aumento da força muscular e o desenvolvimento da hipertrofia muscular esquelética (CARDOSO *et al.*, 2012). Para que essas adaptações sejam alcançadas é necessária uma organização adequada dos componentes da carga de treinamento (SCHOENFELD, OGBORN e KRIEGER, 2015).

Além dos componentes de carga de treinamento citados acima, Chagas e Lima (2008), destacam outros parâmetros que também influenciariam na elaboração e análise de um programa de treinamento na musculação, denominados por eles de “variáveis estruturais do treinamento”, a saber: peso, ação muscular, posição dos seguimentos corporais, duração da repetição, amplitude de movimento, trajetória, movimentos acessórios, regulagem do equipamento, auxílio externo ao executante, pausa, número de sessões, número de exercícios, número de series e número de repetições. Estas variáveis estruturais estão diretamente relacionadas aos componentes da carga de treinamento e também podem ser manipuladas e/ou combinadas para gerar modificações nos estímulos e desenvolver adaptações, sendo que a manipulação de somente uma variável pode interferir em todos os outros componentes (CHAGAS e LIMA, 2008).

O desenvolvimento da força parece estar relacionado, principalmente, a mecanismos de adaptações neurais e morfológicas (hipertrofia muscular esquelética) (JENKINS *et al.*, 2017). Moritani e de Vries (1979) analisaram como esses dois mecanismos interagem no decorrer de um período de treinamento de força. Eles demonstraram que nas etapas iniciais do treinamento (4-6 semanas), os ganhos de força são obtidos, preferencialmente, por meio de adaptações neurais. Após esse período inicial, a contribuição das adaptações morfológicas

(hipertrofia muscular esquelética) aumenta, enquanto das adaptações neurais tende a diminuir. O ganho de força depende, então, da otimização dessas adaptações durante o treinamento. A literatura apresenta valores de referência para o desenvolvimento da hipertrofia muscular esquelética em um treinamento de força, que variam entre 60-85% de 1RM, 3 a 6 séries 8-12 repetições com intervalo de 1 a 3 minutos entre as séries e entre os exercícios (WERNBOM *et al.*, 2007).

Os mecanismos responsáveis pelo desenvolvimento da hipertrofia muscular esquelética envolvem múltiplos fatores, tais como, estímulo mecânico, metabólicos, endócrinos e fatores neurais (PEAK, NEUBAUER e OSAKA, 2016). Sabe-se que o exercício físico é um fator desencadeador de estímulos para que ocorra a hipertrofia muscular, porém pouco se conhece sobre as respostas agudas e crônicas do treinamento de força, comparando indivíduos treinados e não treinados, seguindo diferentes normativas de carga para a hipertrofia, principalmente as respostas inflamatórias (SCHOENFELD, 2013 e OZAKI *et al.*, 2015).

1.3 Inflamação e exercício de força

A prática de exercícios de força pode levar à desestruturação morfológica da fibra muscular esquelética, denominado microtrauma muscular (LAZARIN *et al.*, 2009; CONCEIÇÃO *et al.*, 2012). Os microtraumas musculares, são oriundos do estresse mecânico e/ou do estresse metabólico ao qual a fibra muscular é submetida durante o exercício. Ou seja, as tensões geradas no sarcômero repercutem no sarcolema, podendo gerar a ruptura deste último, induzindo uma resposta inflamatória (PAULSEN *et al.*, 2010).

O mecanismo de reparo ao dano muscular é altamente sincronizado, e pode ser dividido em três fases: uma fase degenerativa, seguida de uma fase regenerativa e uma terceira fase de remodelamento do tecido danificado (SMITH *et al.*, 2008, ZHANG *et al.*, 2013). Trata-se de um quadro complexo no qual as células inflamatórias promovem tanto o dano quanto a regeneração. Estas fases

ocorrem por meio da ação combinada de mediadores inflamatórios e regulatórios que mantêm um equilíbrio entre atividades inflamatórias e regulatórias. A inflamação parece ser, portanto, um processo chave subjacente à reparação muscular (TIDBALL *et al.*, 2014; CHAZAUD *et al.*, 2016).

Neste sentido, uma única sessão de exercício é capaz de causar mudanças no número e na composição dos leucócitos sanguíneos que podem persistir mesmo após a finalização do exercício físico (PAULSEN *et al.*, 2010). As subpopulações de leucócitos tendem a aumentar em número durante o exercício físico como resultado do estresse de cisalhamento hemodinâmico e/ou das catecolaminas que atuam sobre os receptores adrenérgicos β_2 de leucócitos (WALSH *et al.*, 2011).

O período de recuperação pós-exercício é marcado por alterações distintas no número de neutrófilos e linfócitos no sangue. O número de neutrófilos e, conseqüentemente, a contagem total de leucócitos continua a aumentar durante o período de recuperação (até 6h após o término do exercício, particularmente se o exercício for prolongado (> 2 horas) (PEAK *et al.*, 2002). Essa neutrofilia sustentada é caracterizada por uma presença aumentada de neutrófilos precursores imaturos, menos diferenciados, no sangue, muito provavelmente em resposta ao aumento dos níveis plasmáticos de agentes solúveis, incluindo glicocorticóides, hormônio do crescimento e citocinas, como a IL-6 e fator estimulante de colônias de granulócitos que mobilizam células mielóides da medula óssea (SUZUKI *et al.*, 2003).

Embora esta neutrofilia, após o exercício prolongado, seja semelhante àquela observada durante uma infecção bacteriana ($> 7.0 \times 10^6 / \text{ml}$), 24 horas de recuperação geralmente é tempo suficiente para que o número de neutrófilos retorne ao normal. Uma monocitose tardia, às vezes, é observada dentro de 1-2 horas após o exercício muito prolongado, mas o número de monócitos geralmente retorna ao nível de repouso dentro de 6 horas após a realização do exercício. Em contraste, o número de linfócitos diminui rapidamente, imediatamente após o exercício. Após o exercício aeróbio prolongado e/ou de alta intensidade em particular, o número de linfócitos geralmente diminui abaixo dos valores pré exercício dentro de apenas 30 minutos (WALSH *et al.*, 2011).

Além do recrutamento celular no processo de dano muscular, outros estudos apontam também mudanças nas concentrações de citocinas circulantes após o exercício. As respostas de citocinas, assim como a de leucócitos, são dependentes do tipo de exercício, da intensidade e de sua duração (DEYHLE *et al.*, 2016). Parece existir uma variabilidade individual na magnitude das mudanças no padrão destas citocinas no plasma após o exercício (NIEMAN *et al.*, 2014; VAN DE VYVER *et al.*, 2014). No caso da IL-6, a corrida prolongada produz o maior aumento em sua concentração plasmática (PEDERSEN, 2008; REIHMANE, 2013). Em contraste, as concentrações plasmáticas/séricas de TNF, fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), IL-1 β , IL-12p40, IL-15 aumentam em menor extensão, enquanto que o fator inibidor da leucemia (LIF) e o fator de crescimento transformante (TGF)- β permanecem inalterados após o exercício de força (PEAK *et al.*, 2015).

Em relação aos exercícios de força, detectou-se aumento na contagem leucocitária em homens treinados, com experiência mínima de 12 meses em treinamento de força, após sessão de treinamento com múltiplas séries “*bi-set*” (3 séries atingindo o maior número possível de repetições a 70% 1RM em 3 exercícios (FOSCHINI *et al.*, 2007). No estudo de Ramel *et al.*, (2003) em homens treinados e não treinados, que realizaram 3 sessões semanais de múltiplas séries em circuito (duas passagens com maior número possível de repetições a 75% 1RM em 10 exercícios), também se observou o mesmo comportamento dos leucócitos. Apesar dos exercícios aeróbios e de força poderem resultar em dano muscular, o recrutamento dos leucócitos para o tecido danificado, é proporcional ao grau de dano mecânico ao mesmo. Assim, os exercícios aeróbios poderia estar mais associado com uma resposta imune sistêmica e os de força com uma resposta local (KIM e LEE, 2017).

Além das moléculas tradicionalmente relacionadas ao exercício físico, outras moléculas já descritas possuem ação nos processos inflamatórios desencadeados pelo exercício físico, dentre elas a apelina, FSTL1, FABP3, Osteonectina, BDNF e IL-15. Entretanto, o papel dessas moléculas e sua atuação vinculada a diferentes tipos de exercício ainda não está claro (tabela 1).

Tabela 1. Moléculas relacionadas a adaptação ao exercício

Molécula	Função	Resposta ao exercício	Referência
Apelina	Relacionada a regulação da homeostase cardiovascular e está associada ao metabolismo da insulina.	↑ ↑ ↔	Izadi <i>et al.</i> , (2017) Fugi <i>et al.</i> , (2014) Kolahdouzi <i>et al.</i> ,(2018) *
BDNF	Regulação da sobrevivência neuronal e facilita a plasticidade sináptica, a neurogênese e o processo de memória	↑ ↑ ↑	Gimiat <i>et al.</i> , (2018) Hsuen <i>et al.</i> , (2018) Ji-Hyeon <i>et al.</i> , (2018)
FABP3	Facilita o transporte de ácidos graxos para a β -oxidação mitocondrial no músculo	↑ ↑ ↑	Delacour <i>et al.</i> , (2007) * Lippi <i>et al.</i> , (2014) Ishizawa <i>et al.</i> , (2015)
FSTL-1	Se liga ao TGF-b e inibe suas funções. Previne lesões do miocárdio e respostas inflamatórias através da modulação de AMPK-	↑ ↑ ↑	Yue Xi <i>et al.</i> , (2016) Gorgens <i>et al.</i> , (2013) Norhein <i>et al.</i> (2011)*
IL-15	Diminui a degradação proteica, diferenciação de mioblastos no tecido muscular esquelético, participa na hipertrofia, aumento da absorção de glicose e da oxidação lipídica.	↑ ↑ ↑↓	Molanouri <i>et al.</i> , (2016) Wang <i>et al.</i> , (2015) Bazgir <i>et al.</i> , (2015)*
Osteonectina	Regula as interações célula-matriz, adesão celular, diferenciação celular, angiogênese e interações com fatores de crescimento.	↑ ↑ ↔	Aoi <i>et al.</i> , (2013) Matsuo <i>et al.</i> , (2017) Sondson <i>et al.</i> , (2017)

(↓) redução; (↑) aumento; (↔) sem alteração e (*)Exercício de força.

Levando em consideração as inúmeras possibilidades de alteração nos componentes da carga de treinamento no exercício de força e o papel pouco conhecido das citocinas em resposta aos estímulos de diferentes tipos de exercícios, se torna importante o estudo de protocolos de treinamento para ajudar na compreensão das consequências da prescrição de exercício, refletindo na melhora do desempenho em diferentes níveis.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar as respostas bioquímicas e imunológicas após uma sessão de treinamento objetivando a hipertrofia muscular esquelética em indivíduos treinados e não treinados em exercício de força

2.2 Objetivos Específicos

Após uma única sessão de treinamento de força objetivando a hipertrofia em indivíduos treinados e não treinados avaliamos:

- I-** A resposta do lactato, a percepção subjetiva de esforço e a escala visual de dor.
- II-** O efeito do protocolo de treinamento de força sobre o marcador de lesão muscular circulantes CK (creatina quinase).
- III-** Os níveis de leucócitos circulantes (neutrófilos, linfócitos e monócitos).
- IV-** Quantificação da concentração plasmática de citocinas (apalina, IL-15, osteonectina, FABP3, FSTL1, BDNF).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Amostra

Participaram deste estudo 20 voluntários recrutados a partir de avisos fixados nos murais da Universidade Federal de Ouro Preto e por meio de contatos pessoais. Foram adotados os seguintes critérios de inclusão: 1) Ser do sexo masculino entre 18 e 30 anos de idade, 2) ausência de lesões musculoesqueléticas 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; 5) para o grupo treinado, estar praticando musculação há pelo menos 6 meses de forma contínua e 6) para o grupo não treinado não estar praticando musculação ou qualquer outro tipo de treinamento de força nos últimos 6 meses.

Os critérios de exclusão dos voluntários 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 os seguintes critérios para interrupção da coleta de dados, seguindo a orientação do Colégio Americano de Medicina do Esporte – ACSM (2017): 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.

Antes de iniciar quaisquer atividades neste projeto, os voluntários receberam todas as informações quanto aos objetivos, ao processo metodológico, bem como os possíveis riscos e benefícios da participação no estudo. Logo após, os voluntários assinaram 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 saúde e o bem-estar dos voluntários 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 de Saúde (Res. 466 /2012) envolvendo pesquisas com seres humanos. Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa com seres humanos da Universidade Federal de Ouro Preto sob o número de protocolo (CAAE 56307716.2.0000.5150)

3.2. Delineamento do estudo

Inicialmente, foi realizada uma anamnese, que consistia de uma entrevista sobre os dados pessoais, histórico de doenças, cirurgia e lesões, medicamentos em uso e aplicação do questionário de prontidão para a prática de atividade física - PARq (Anexo I). Os voluntários selecionados foram submetidos a uma avaliação física a fim de determinar a composição corporal (percentual de gordura), massa corporal e estatura. Logo após foram realizados os testes de força para determinar a carga de treinamento, sendo para o *leg press* realizado o teste de uma repetição máxima (1RM) (DINIZ *et al.*, 2014) e para os demais exercícios, cadeira flexora de joelhos e cadeira extensora de joelhos, o teste de predição de 1 RM (BRZYCKI, 1993). Optou-se por realizar o teste de predição uma vez que a carga disponível no equipamento era insuficiente para se realizar o teste de 1RM. Os testes foram realizados em equipamentos da marca *Righetto*[®] (Figura 1) respeitando a ordem citada acima. Uma vez que no protocolo de treinamento a duração da ação muscular era de 2:3 (dois segundos de ação muscular concêntrica por três segundos de ação muscular excêntrica), e sabe-se que a duração da ação muscular pode influenciar no desempenho, os testes foram realizados mantendo o controle do ritmo de execução.



Figura 1. Aparelhos: A. Leg press, B. cadeira extensora de joelhos e C. cadeira flexora de joelhos.

Após um intervalo mínimo de uma semana, deu-se início ao experimento propriamente dito respeitando a mesma sequência, adotada nos testes de força máxima ou predição de 1RM, para a realização dos exercícios. Com o propósito de impedir uma possível interferência nos resultados, todas as instruções prestadas aos participantes durante os procedimentos foram padronizadas. Todos foram orientados a manter a mesma rotina habitual 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.

Ao chegar ao laboratório os participantes eram questionados se os procedimentos pré-experimento (alimentação habitual, não consumiram bebidas alcoólicas ou cigarro, não realizaram exercícios físicos, dentre outros) foram seguidos. Caso as recomendações não tivessem sido respeitadas, a coleta de dados não era realizada. Após a confirmação destas informações, foi então explicado verbalmente como a coleta de sangue ocorreria para, em seguida, realizá-la. Logo após a coleta de sangue, o voluntário era encaminhado até uma bicicleta de frenagem elétrica, marca *Movement*[®], onde realizou uma atividade preparatória com duração de 5 minutos, pedalando em intensidade considerada

baixa de acordo com a sua percepção subjetiva de esforço, a qual não poderia ter um valor superior a 2 de acordo com a escala Borg (BORG, 2000) (Anexo II). Após o exercício realizado na bicicleta era iniciada à sessão de treino seguindo a seguinte ordem: *leg press*, extensor de joelhos sentado e flexor de joelhos.

O protocolo de treinamento seguiu as normativas de carga citadas por Bompa (2012), com o objetivo de desenvolver adaptações musculares morfológicas (hipertrofia muscular), sendo realizadas 4 séries, de 8-10 repetições, a 65% de 1RM e pausa de 90s entre as séries e entre os exercícios. A duração da repetição foi de 5 segundos, sendo 2 segundos para a ação muscular concêntrica por 3 segundos para a ação muscular excêntrica. As amostras de sangue para análise do hemograma, creatina quinase (CK) e de citocinas foram coletadas antes (pré-exercício), imediatamente após (pós-exercício), duas horas e vinte e quatro horas após a sessão de exercícios, sendo o volume de amostra coletado de 4 mL de sangue venoso para o hemograma e 6 mL para a análise de citocinas e CK. Para análise do lactato foram realizadas coletas de uma gota de sangue capilarizado na ponta do dedo indicador antes do exercício, imediatamente após o seu término e 2 horas após a sessão de exercício. No início e ao término do protocolo foi avaliada a percepção subjetiva de esforço dos voluntários (PSE) (BORG, 2000) e escala visual de dor (VAS) (WONG *et al.*, 2001) (ANEXO III).

Se o voluntário não fosse capaz de manter a duração das ações musculares pré-estabelecidas e/ou realizasse uma amplitude incompleta de movimento durante duas repetições seguidas, o exercício era interrompido. 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.

A coleta de sangue foi realizada no Laboratório de Biomecânica e a sessão de treinamento aconteceu no Laboratório de Exercício Resistido, ambos localizados no Centro Desportivo da UFOP (CEDUFOP). Em seguida as amostras foram conduzidas para o Laboratório Piloto de Análises Clínicas da Escola de Farmácia (LAPAC), local de análises da fenotipagem leucocitária e a atividade da enzima CK. Além disso, parte das amostras foi encaminhada para o Laboratório de

Imunobiologia da Inflamação (LABIIN), onde o sangue foi centrifugado (1500 rpm a 4°C) e o plasma foi armazenado a -80°C para posterior análise dos biomarcadores inflamatórios. Em seguida essas amostras foram encaminhadas para o Laboratório Interdisciplinar de Investigação Médica (LIIM) ICB/UFMG, onde os níveis de citocinas foram determinados utilizando um kit de alta sensibilidade denominado Millipore 7-plex (Millipore Corporation, Billerica, MA, EUA). O desenho experimental pode ser visualizado na figura 2

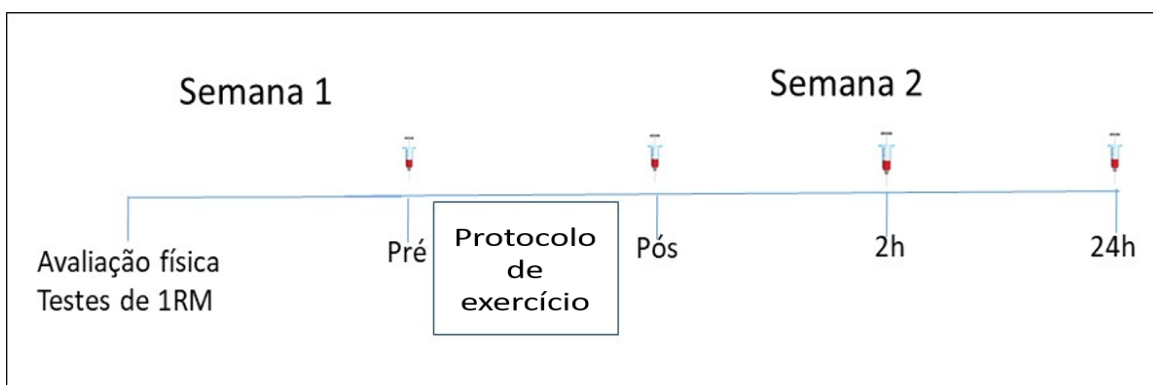


Figura 2. Desenho experimental do estudo. Esquema representativo da coleta de dados. A coleta foi composta por 20 voluntários ($n= 10$ treinados e $n= 10$ não treinados), submetidos na primeira semana a avaliação física e teste de 1RM, e na segunda semana o protocolo de treinamento. As coletas de dados foram realizadas nos momentos pré, logo após, 2 horas e 24 horas após o protocolo de treinamento.

3.3. Avaliação física (anamnese e antropometria)

Em um primeiro momento, foi realizada uma anamnese que consistia de uma entrevista sobre os dados pessoais, histórico de doenças e de treinamento, cirurgia, lesões, e medicamentos em uso, além da aplicação do questionário de prontidão para a prática de atividade física - PARq.

A seguir foi realizada uma avaliação física, a qual foi composta por 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 por meio de estadiômetro acoplado a balança antropométrica, com precisão de 0,5cm (FILIZOLA, Brasil). A densidade corporal foi estimada por meio da técnica de 7 dobras cutâneas (peitoral, tricipital,

subescapular, axilar média, supra ilíaca, abdominal e coxa) de acordo com o protocolo proposto por Jackson e Pollock (1978) utilizando um plicômetro da marca Cescorf® e o cálculo do percentual de gordura realizado por meio da equação proposta por Siri (1961).

3.4 Teste de 1 repetição máxima e predição de (1RM)

No segundo momento foi realizado o teste de 1 RM para o *leg press* e o teste de predição de 1RM para o banco extensor e banco flexor, sendo que entre cada teste foi respeitado um intervalo de no mínimo 10 minutos. Durante a realização dos testes foi solicitado que o voluntário se posicionasse de forma mais confortável possível nos aparelhos para que fossem registrados todos os ajustes necessários para a execução do exercício, permitindo assim que este posicionamento fosse replicado em todos os procedimentos e sessões de coleta posteriores.

Após o posicionamento realizou-se o teste de 1RM segundo Diniz *et al.* (2014): número máximo de seis tentativas, com pausa de cinco minutos entre cada tentativa e progressão gradual do peso mediante percepção dos voluntários e dos avaliadores para o exercício *leg press*. Para os outros exercícios foi realizado o teste de predição de 1RM: uma carga de aproximadamente 80 a 100% da carga máxima percebida era selecionada. Foi solicitado que os voluntários realizassem o maior número de repetições e em seguida, baseado no número de repetições e carga utilizada, a estimativa de 1RM foi feita através da equação proposta por Brzycki (1993).

3.5 Análise do lactato sanguíneo

O sangue para análise de lactato foi coletado em situação de repouso, logo após a realização da sessão de musculação e duas horas após o final da sessão. A coleta de sangue foi realizada a partir da ponta do dedo indicador. Para esta dosagem do lactato utilizou-se um lactímetro *Accustrend*® com fitas regentes Roche®.

3.6 Hemograma completo

O hemograma foi realizado por meio do analisador hematológico automatizado *Cell Dyn Ruby Abbott*[®] que emprega a metodologia MAPSS (Separação de Dispersão Polarizada de Ângulo Múltiplo) e citometria de fluxo a laser. Para a contagem diferencial dos leucócitos são analisados tamanho, complexidade, lobularidade e granulosidade em ângulos que variam entre 0 a 90 graus. Esta tecnologia fornece leituras ópticas precisas por dispersão da luz polarizada em diferentes ângulos para a diferenciação dos leucócitos. Além disso, sua identificação acurada com o uso de 4 ângulos de dispersão de laser, facilita uma análise de dispersões múltiplas do laser para identificar células anormais e substâncias interferentes.

3.7 Análise da creatina quinase (CK)

Para a avaliação da creatina quinase foi utilizado o kit COBAS INTEGRA (Cobas C Systems[®]), mensurados por método enzimático no equipamento automatizado Cobas Mira Plus[®], da Roche[®]. O princípio da reação consiste na transformação da creatina fosfato em creatina, para a produção de ATP pela CK, que é acoplada ao sistema hexoquinase/glicose-6-fosfato desidrogenase/NADH. A adição de N-acetilcisteína evita a oxidação dos grupos sulfidríla da CK. O EDTA é incluído no reagente para ligar o cálcio e aumenta a estabilidade da reação. A diadenosina penta-fosfato e o AMP são adicionados para inibir a adenilato quinase. A diferença de absorbância em 340 nm é proporcional à atividade da CK.

3.8 Análise de citocinas

Para a análise das citocinas (apalina, BDNF, FABP3, FSTL-1, IL-15 e osteonectina) foi utilizado o kit HMYOMAG-56K MILLIPLEX[®] MAP *Human Myokine Magnetic Bead Panel and Luminex*[®] seguindo os protocolos do fabricante. Antes do ensaio, as amostras foram diluídas com 60 µl de tampão fornecido no *kit Millipore*, homogeneizadas 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 uma assinatura baseada em “código de cores” e que podem ser identificadas pelo instrumento Luminex. Os kits foram desenvolvidos com estas microesferas e se baseiam no imunoensaio. Anticorpos de captura específicos para cada proteína foram imobilizados às microesferas através de ligações covalentes não reversíveis. A proteína, presente no soro, se liga aos anticorpos de captura localizados na superfície das microesferas e a detecção final é feita através de um terceiro marcador fluorescente, ficoeritrina (PE) ligada ao anticorpo de detecção. O resultado final é um ensaio “sanduíche” realizado através de microesferas. O equipamento Luminex 200 movimenta estas esferas em fila única através de feixes de dois lasers diferentes em um citômetro de fluxo. O primeiro feixe de laser detecta (classifica) a microesfera (o código de cor para o ensaio) e o segundo laser quantifica o sinal de reporte 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.

3.9 Avaliação da percepção subjetiva de esforço

A percepção subjetiva de esforço foi obtida mediante a utilização da escala de PSE (BORG, 2000). Após a familiarização com a escala, os participantes foram instruídos a mencionar qualquer número a partir desta escala, desde que o número de fato correspondesse a seu esforço percebido após a realização do exercício. Imediatamente após a sessão de exercício era pedido aos voluntários que mencionassem o esforço percebido classificando-o, sendo registrado para posterior análise.

3.10 Avaliação da escala visual de dor

Para mensuração da intensidade da dor nos membros inferiores foi utilizada a escala visual de dor (WONG *et al.*, 2003). A escala consiste em números que vão de 0 a 10 sendo que zero representa ausência de dor e 10, dor insuportável. Os participantes foram instruídos a mencionar o número que melhor representasse

a dor nos membros inferiores naquele momento. O valor informado foi registrado para posterior análise.

3.11 Análise estatística

Inicialmente, para a comparação da caracterização da amostra (massa corporal, estatura, porcentagem de gordura corporal e idade) de ambos os grupos (treinados e não treinados) foi utilizado o teste t, sendo os dados expressos em média e desvio padrão. Para a comparação dos demais parâmetros, os modelos estatísticos foram então ajustados, contendo o grupo de fatores, o tempo e sua interação, usando o "*Proc Mixed*" do software SAS (LITTEL *et al.*, 1996). Em primeiro lugar, considerou-se o modelo de um projeto de trama dividida no modelo de tempo. No entanto, uma vez que o tempo não pode ser aleatorizado, pode haver uma estrutura de covariância para as observações diferentes da induzida normalmente pelo procedimento de randomização (HINKELMANN e KEMPTHORNE, 2008). Portanto, um modelo alternativo e mais geral também foi considerado, com uma estrutura de covariância residual não estruturada, usando a opção `type = un` na declaração repetida (LITTEL *et al.*, 1996). Esses modelos foram comparados de acordo com o critério de Akaike e, em todos os casos, o modelo de trama dividida proporcionou melhor ajuste. O grupo de fatores, o tempo e sua interação foram testados usando testes de F de tipo 3, com um nível de significância de 0,05. Os dados são apresentados em média de mínimos quadrados, que são mais adequados para dados não balanceados, como no presente estudo, onde o número final de amostras foi diferente em cada grupo. Quando a hipótese nula fosse rejeitada, os dados eram comparados usando o ajuste post-hoc de Tukey. A existência de distribuição normal dos resíduos foi verificada com o teste de Shapiro-Wilk. Se essa suposição não fosse confirmada, as combinações de níveis de grupos e tempos foram comparadas com o teste não paramétrico de Kruskal Wallis (IL15). Em caso de diferenças significativas, o teste de comparação múltipla de Dunn foi usado para identificar onde essas diferenças residiam. As análises não paramétricas foram realizadas utilizando o software Prisma 6.0.

4 RESULTADOS

Os voluntários foram divididos em dois grupos de acordo com o nível de treinamento relatado anteriormente em questionário aplicado durante a avaliação física (n=10 em cada grupo) e a média e desvio padrão da idade e dos parâmetros antropométricos estão representados na tabela 2. Apenas a variável percentual de gordura apresentou diferença entre os grupos ($p < 0,05$).

Tabela 1. Dados gerais de caracterização da amostra

Voluntários	Idade (anos)	Massa corporal (Kg)	Estatura (cm)	Percentual de gordura(%)
Não Treinados (N=10)				
Média	24,5	74,8	175,1	15,0*
Desvio Padrão	±2,8	±14,2	±8,4	±8,7
Treinados (N=10)				
Média	26,6	72,2	173,5	9,8
Desvio Padrão	±1,3	±3,8	±7,7	±2,9

N = número de voluntários; Kg = quilogramas; cm = centímetros e % percentual *= diferença em relação ao grupo treinado

Com o objetivo de verificar se o protocolo de treinamento foi capaz de alterar parâmetros fisiológicos relacionados à intensidade do exercício, mensurou-se a frequência cardíaca, a percepção subjetiva de esforço e a escala visual de dor. A frequência cardíaca apresentada na Figura 3 apresentou o mesmo comportamento nos dois grupos, aumentando imediatamente após a sessão de treino. Este mesmo perfil foi observado para a percepção subjetiva de esforço (Figura 4) e para a escala visual de dor (Figura 5).

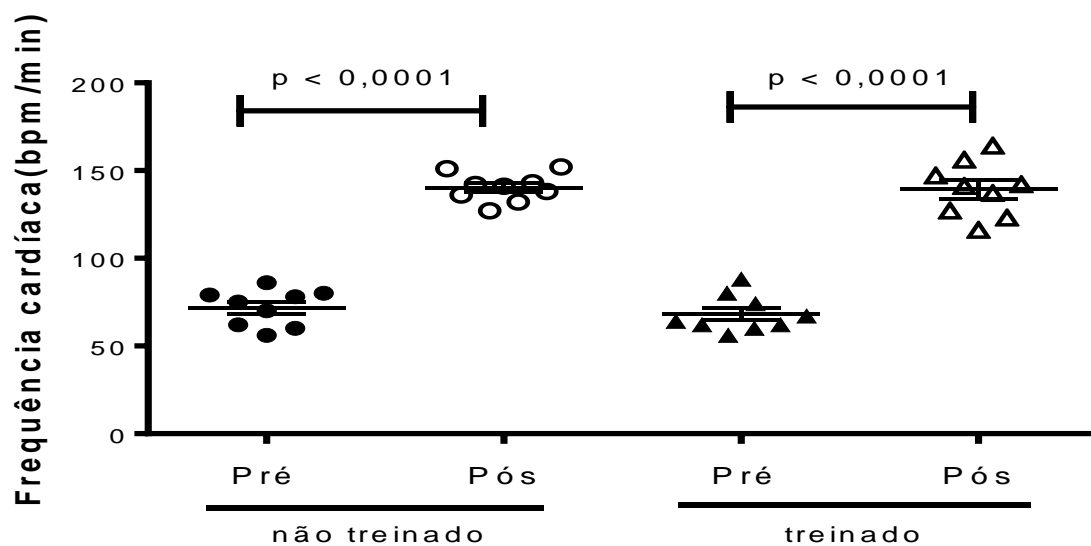


Figura 3. Frequência cardíaca dos voluntários treinados e não treinados avaliada antes (Pré) e imediatamente após a sessão de exercício (Pós).

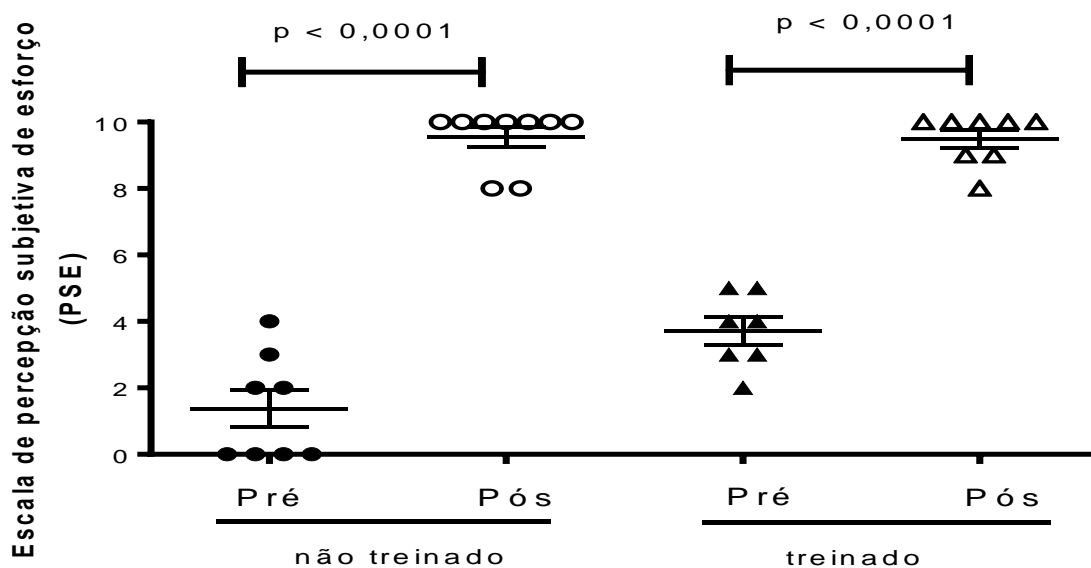


Figura 4. Valores da percepção subjetiva de esforço antes (Pré) e imediatamente após a sessão de exercício (Pós), em voluntários treinados e não treinados.

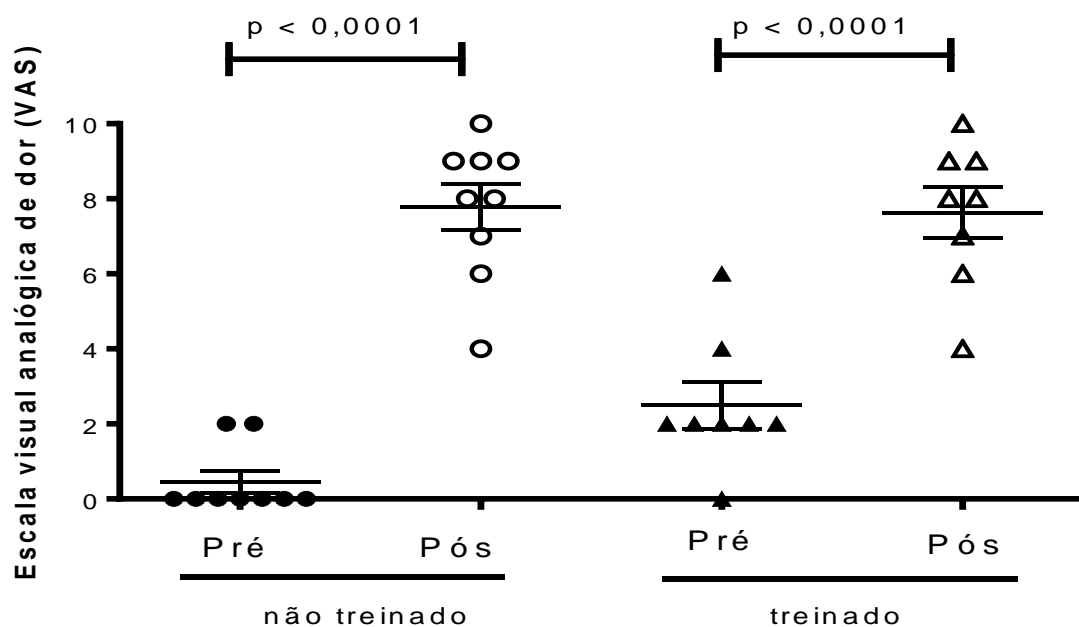


Figura 5. Valores da percepção de dor antes (Pré) e imediatamente após a sessão de exercício (Pós).

Além da avaliação das escalas de percepção e dos parâmetros fisiológicos, procedeu-se a medida da concentração de lactato no sangue dos voluntários jovens treinados e não treinados após submissão ao exercício de força. A concentração de lactato aumentou imediatamente após a sessão em ambos os grupos, com diferença estatística entre eles. Duas horas após o término da sessão de treinamento os valores retornaram aos níveis pré exercício (Figura 6).

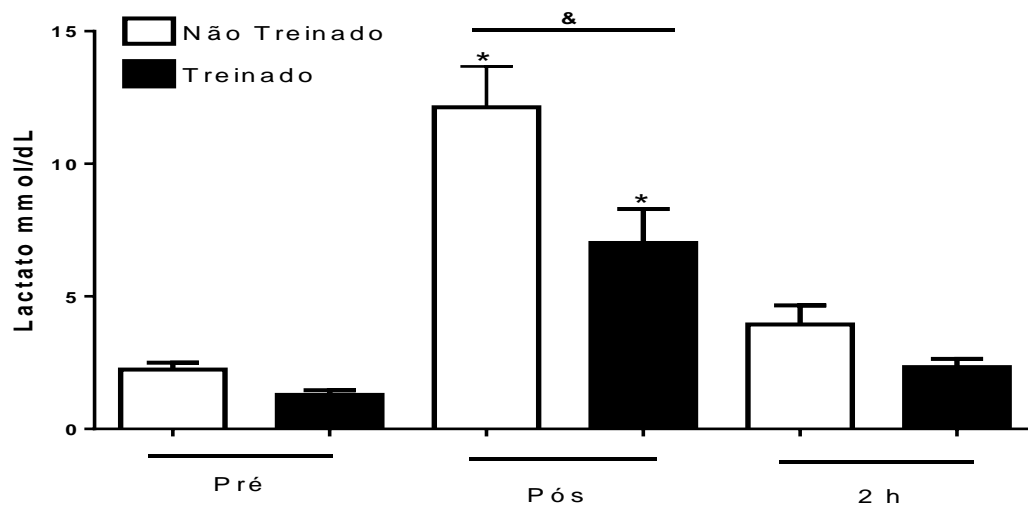


Figura 6. Concentração de lactato em mmol/dl. A dosagem do lactato ocorreu em diferentes momentos (Pré = pré-exercício; Pós = imediatamente após o exercício e 2h = 2hs após o término do exercício) *= diferença em relação ao pré-exercício; &= diferença entre os grupos.

Em decorrência do treinamento de força e da elevada probabilidade de ocorrer micro lesões células com extravasamento de creatina quinase (CK), esta enzima foi avaliada no sangue destes indivíduos. Os valores referentes à CK encontram-se representados na figura 7. Houve um aumento no grupo não treinado 2 horas após o exercício que se manteve até 24 horas. Já em relação ao grupo treinado o aumento aconteceu apenas 24 horas após a sessão de treino.

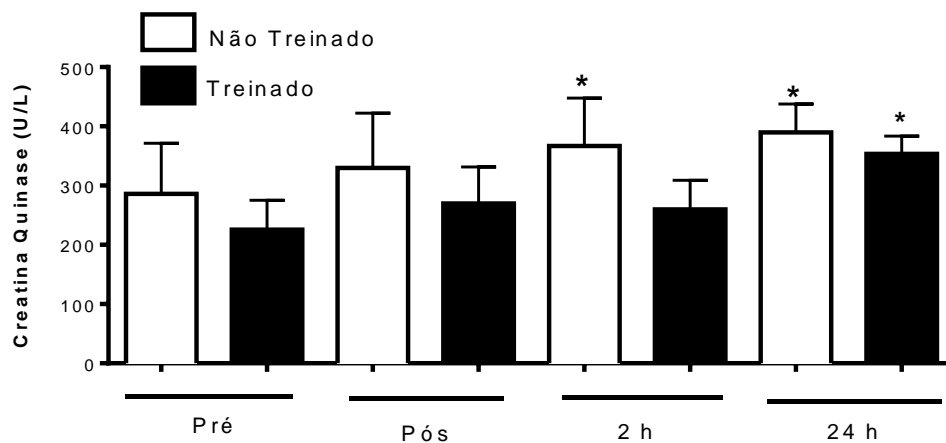


Figura 7. Valores de creatina quinase em U/L nos voluntários jovens treinados ou não treinados submetidos ao exercício de força. A dosagem da creatina ocorreu em diferentes momentos (Pré = pré-exercício; Pós = imediatamente após o exercício; 2h = 2hs após o término do exercício e 24h = 24hs após o término do exercício). * = diferença em relação aos valores pré-exercício.

Sabendo-se da relação direta entre exercício de força, microlesões do sarcolema e resposta inflamatória, avaliou-se o perfil de leucócitos circulantes nos voluntários submetidos ao treinamento de força. Os leucócitos totais aumentaram após o exercício (imediatamente após, permanecendo até 2 horas após o término do exercício) para ambos os grupos, ainda no tempo de 2 horas houve uma diferença estatística entre os grupos. Observou-se que os valores retornaram aos níveis iniciais 24 horas após a sessão (Figura 8).

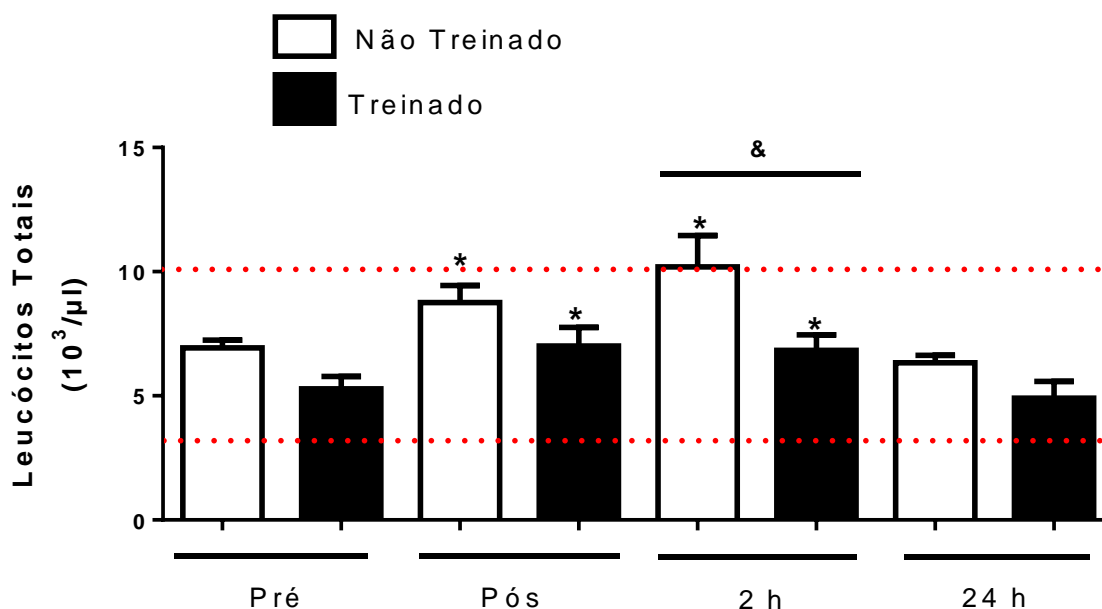


Figura 8. Leucócitos totais em $10^3/\mu\text{l}$ em voluntários jovens treinados e não treinados submetidos a uma sessão de treinamento de força. As dosagens foram realizadas em diferentes momentos (Pré = pré-exercício; Pós = imediatamente após o exercício e 2h = 2hs após o término do exercício) *= diferença em relação ao pré exercício; &= diferença entre os grupos. Linha pontilhada= valores de referência (mínimo e máximo).

Após a avaliação dos leucócitos totais, houve uma avaliação fenotípica destas células em cada tempo de treinamento para ambos os grupos submetidos ao treinamento de força. A população de linfócitos apresentou perfil semelhante para os dois grupos ao longo do tempo, aumentando imediatamente após a sessão e apresentando valores abaixo dos valores pré exercício 2 horas após (Figura 9). Em relação aos monócitos (Figura 10), houve aumento imediatamente após o exercício, retornado aos valores iniciais 24 horas após. Já os neutrófilos (Figura 11) aumentaram imediatamente após a sessão de exercício e continuaram aumentando até 2 horas, sendo que, nesse tempo, os valores apresentaram diferença entre os grupos. Os valores retornaram aos níveis pré-exercício 24 horas após.

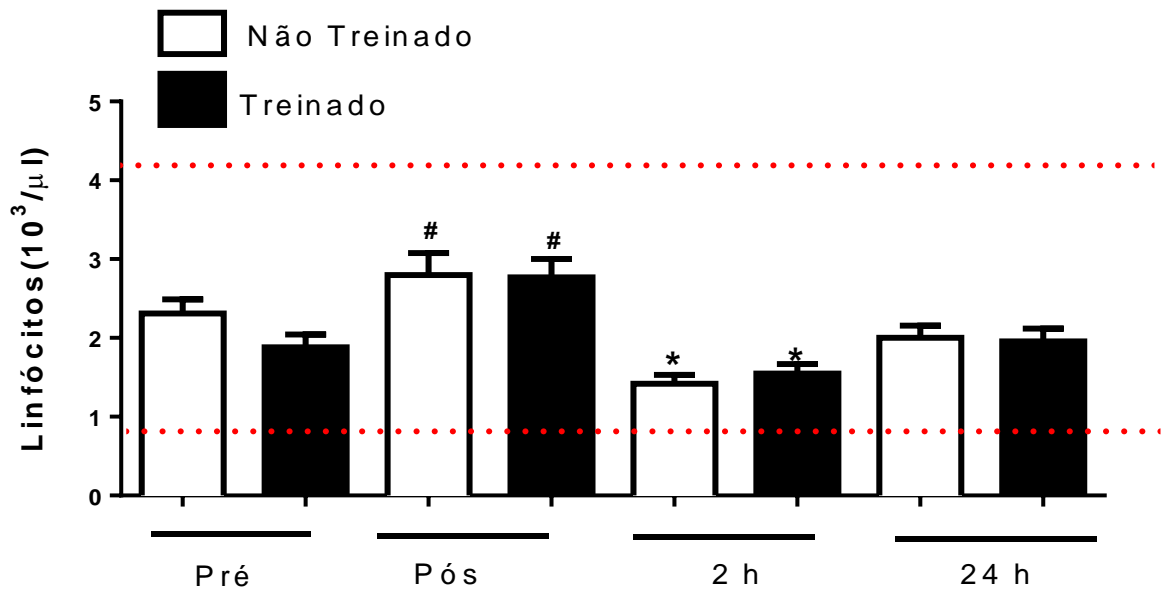


Figura 9. Linfócitos em $10^3/\mu\text{l}$ em voluntários jovens treinados e não treinados submetidos a uma sessão de treinamento de força. As dosagens foram realizadas em diferentes momentos (Pré = pré-exercício; Pós = imediatamente após o exercício e 2h = 2hs após o término do exercício) #= diferença em relação aos outros valores; *= diferença em relação ao pré-exercício. Linha pontilhada= valores de referência (mínimo e máximo).

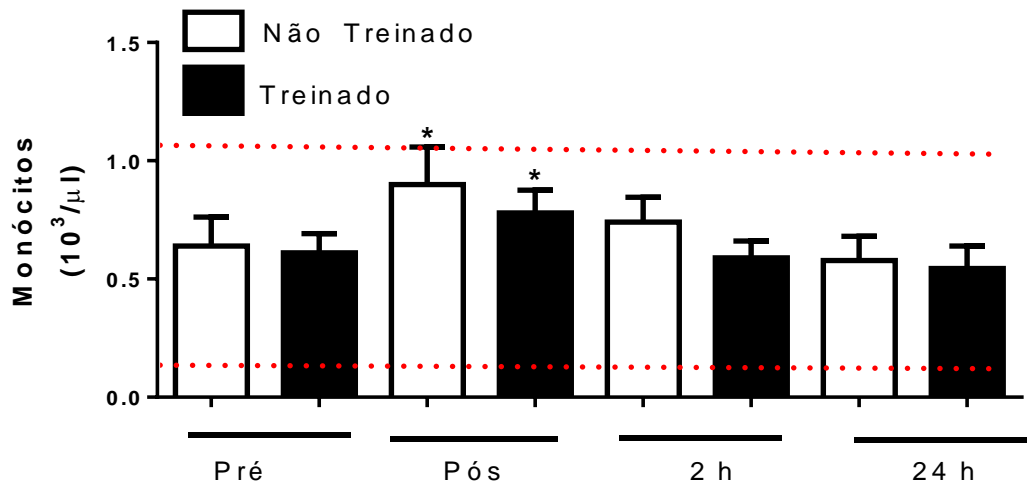


Figura 10. Monócitos em $10^3/\mu\text{l}$ em voluntários jovens treinados e não treinados submetidos a uma sessão de treinamento de força. As dosagens foram realizadas em diferentes momentos (Pré = pré-exercício; Pós = imediatamente após o exercício e 2h = 2hs após o término do exercício) *= diferença em relação aos valores pré-exercício. Linha pontilhada= valores de referência (mínimo e máximo)

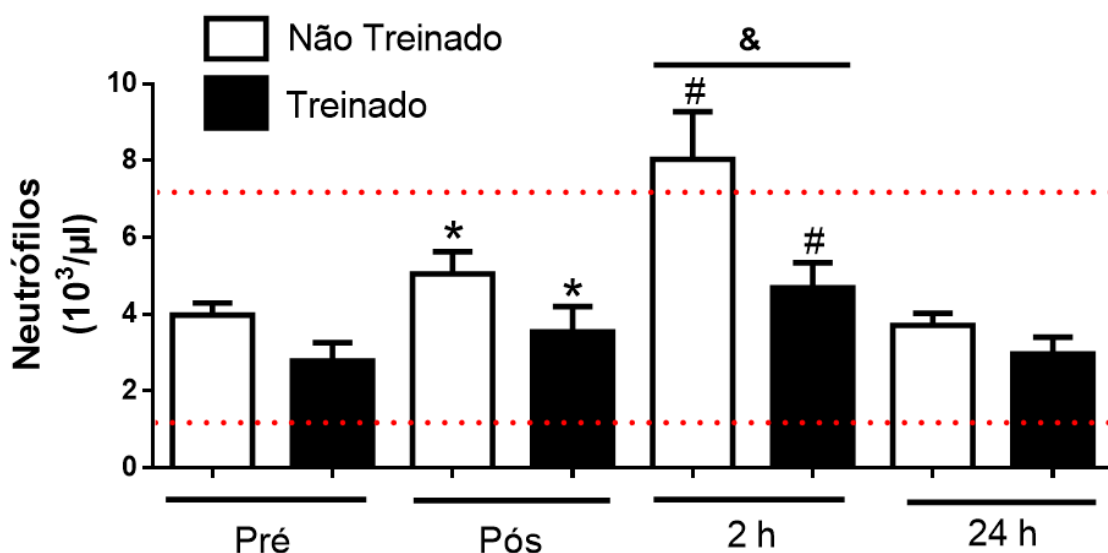


Figura 11. Neutrófilos em $10^3/\mu\text{l}$ em voluntários jovens treinados e não treinados submetidos a uma sessão de treinamento de força. As dosagens foram realizadas em diferentes momentos (Pré = pré-exercício; Pós = imediatamente após o exercício e 2h = 2hs após o término do exercício) # = valores diferentes de todos os outros; * = diferença em relação ao pré exercício; & = diferença entre os grupos. Linha pontilhada = valores de referência (mínimo e máximo).

Após avaliação do perfil fenotípico circulante nos voluntários treinados e não treinados, submetidos ao exercício de força, decidiu-se avaliar o padrão das proteínas solúveis (citocinas) nestes indivíduos. Observou-se que os níveis plasmáticos pré-exercício de apelina (Figura 12) apresentaram diferença entre os grupos nos tempos de 2h e 24h após o exercício. Apenas o grupo treinado apresentou diferença em relação aos valores pré-exercício. Já para o BDNF, houve um aumento apenas para o grupo treinado imediatamente após a sessão de exercício (Figura 13), enquanto observou-se um aumento do FABP3 (Figura 14) imediatamente após o exercício, padrão este que persistiu até 2 horas, sendo que nesse tempo houve diferença entre os grupos. Na Figura 15 pode-se observar que a FSTL-1 apresentou diferença entre os grupos nos valores pré-exercício e, imediatamente após. Apenas no grupo treinado houve diferença em relação aos valores pré-exercício para esta citocina. Por outro lado, a IL-15 apresentou níveis similares entre os dois grupos (Figura 16). Finalmente, a Osteonectina, apenas 24

horas após a sessão de exercício apresentou diferença entre os grupos (Figura 17).

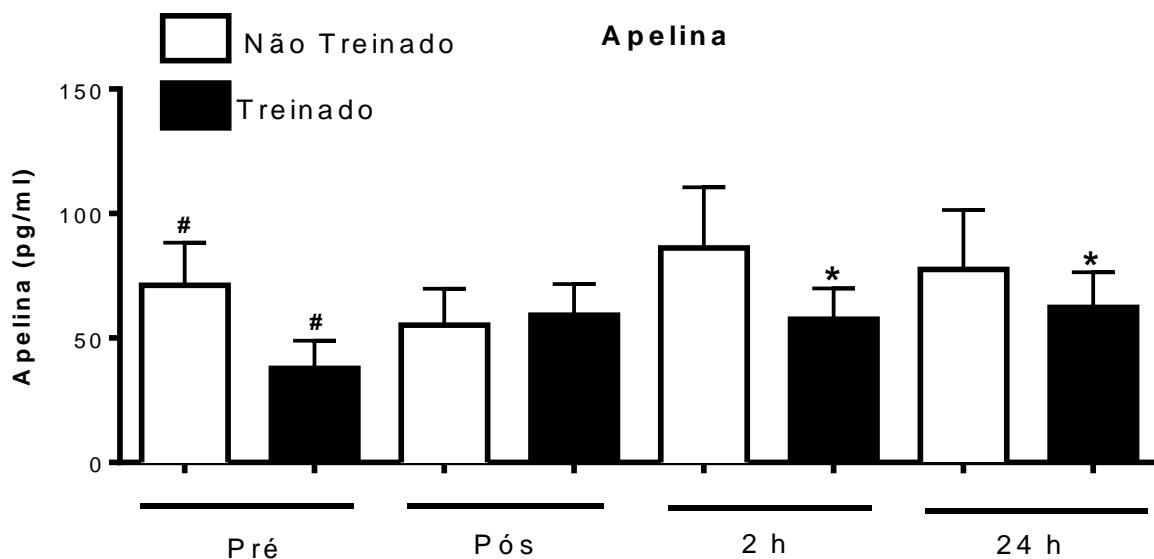


Figura 12. Valores de Apelina em pg/ml μ l em voluntários jovens treinados e não treinados submetidos a uma sessão de treinamento de força. (As dosagens foram realizadas em diferentes momentos (Pré = pré-exercício; Pós = imediatamente após o exercício e 2h = 2hs após o término do exercício) #=diferença em relação aos outros valores * = diferença em relação ao pré exercício).

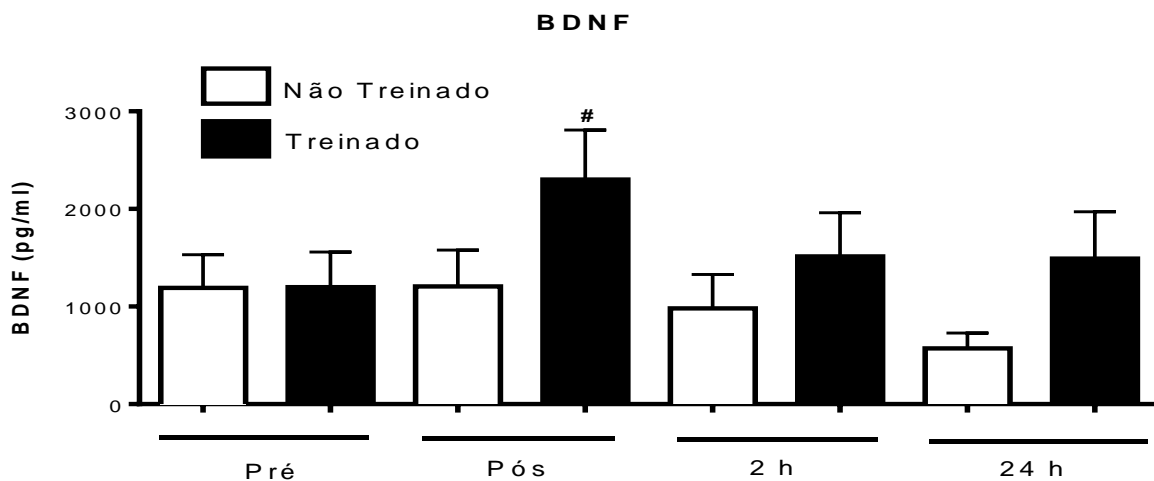


Figura 13. Valores de BDNF em pg/ml μ l em voluntários jovens treinados e não treinados submetidos a uma sessão de treinamento de força. (As dosagens foram realizadas em diferentes momentos (Pré = pré-exercício; Pós = imediatamente após o exercício e 2h = 2hs após o término do exercício) #=diferença em relação aos outros valores

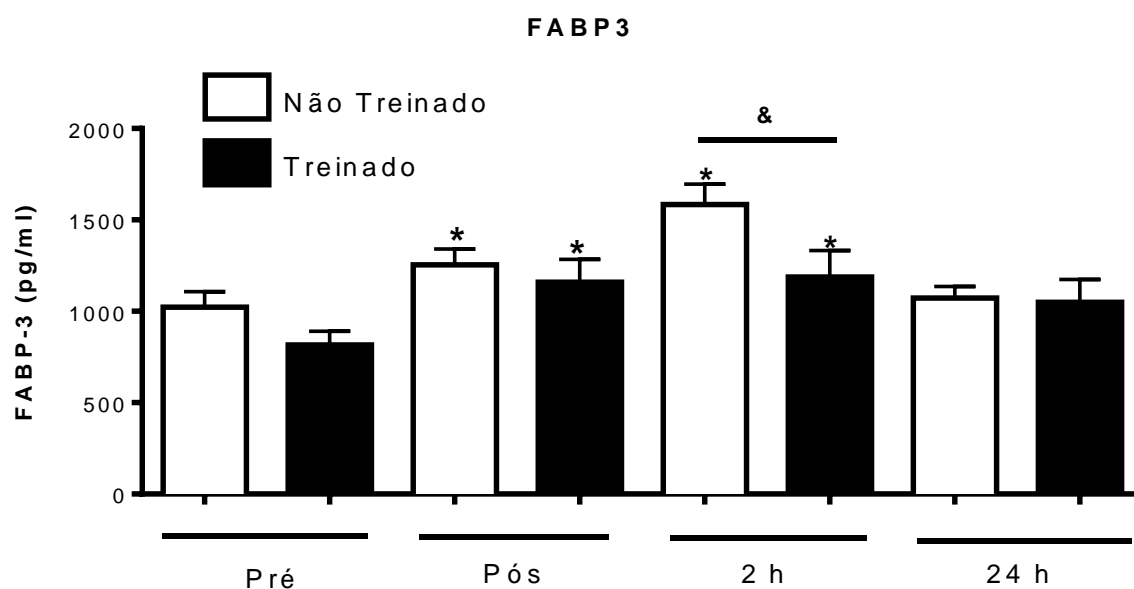


Figura 14. Valores de FABP3 em pg/ml em voluntários jovens treinados e não treinados submetidos a uma sessão de treinamento de força. As dosagens foram realizadas em diferentes momentos (Pré = pré-exercício; Pós = imediatamente após o exercício e 2h = 2hs após o término do exercício) *= diferente em relação ao pré exercício; &= diferença entre os grupos.

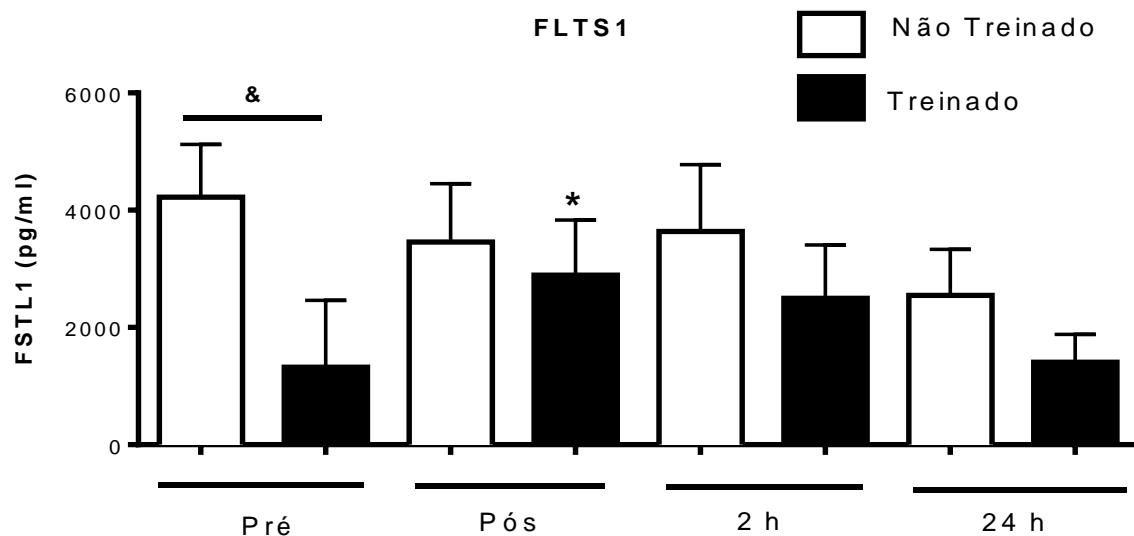


Figura 15. Valores de FSTL-1 em pg/ml em voluntários jovens treinados e não treinados submetidos a uma sessão de treinamento de força. As dosagens foram realizadas em diferentes momentos (Pré = pré-exercício; Pós = imediatamente após o exercício e 2h = 2hs após o término do exercício) &= diferença entre os grupos; * = diferença em relação ao pré exercício.

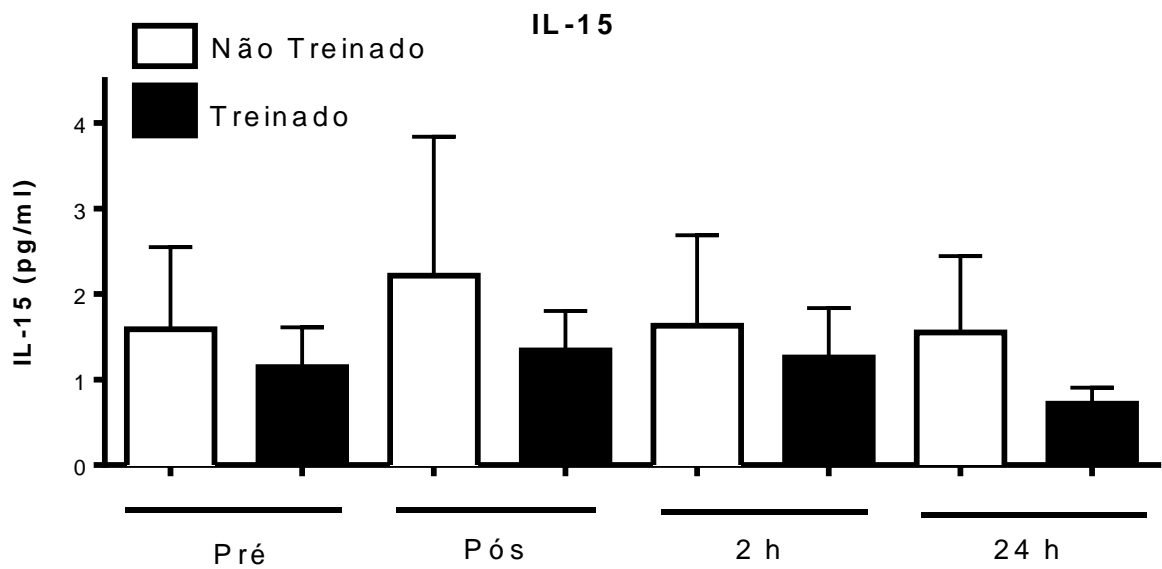


Figura 16. Valores de IL-15 em pg/ml em voluntários jovens treinados e não treinados submetidos a uma sessão de treinamento de força. As dosagens foram realizadas em diferentes momentos (Pré = pré-exercício; Pós = imediatamente após o exercício e 2h = 2hs após o término do exercício).

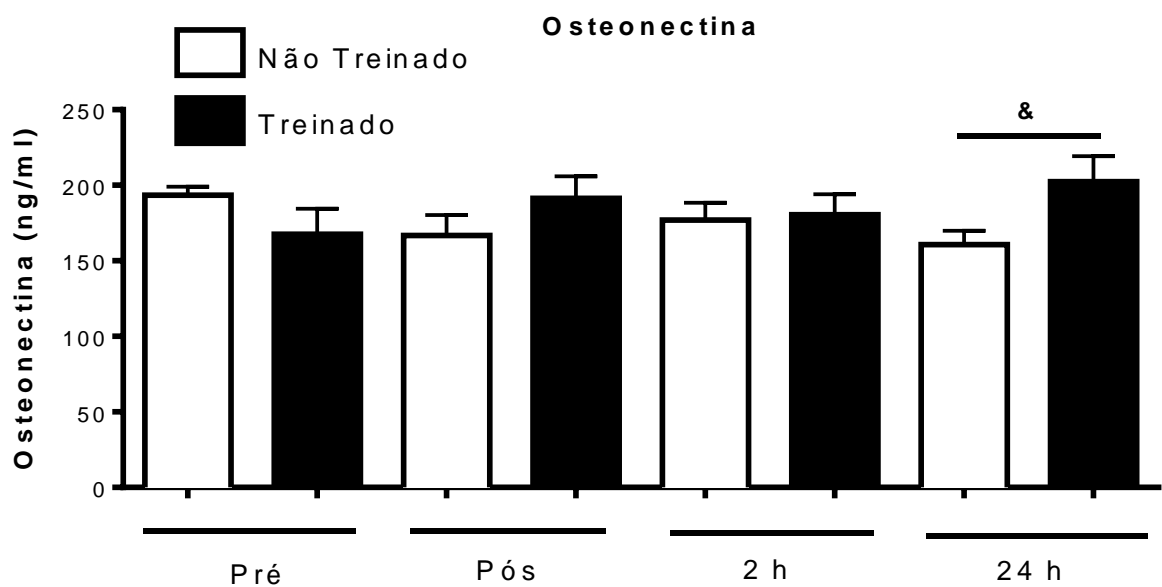


Figura 17. Valores de Osteonectina em ng/ml em voluntários jovens treinados e não treinados submetidos a uma sessão de treinamento de força. As dosagens foram realizadas em diferentes momentos (Pré = pré-exercício; Pós = imediatamente após o exercício e 2h = 2hs após o término do exercício) &= diferença entre os grupos

6 DISCUSSÃO

No presente estudo buscou-se avaliar as respostas bioquímicas e imunológicas após uma sessão de exercício de força, objetivando a hipertrofia muscular esquelética, em indivíduos treinados e não treinados. Para isso, adotou-se um protocolo de exercício com as variáveis do treinamento organizadas para o desenvolvimento de hipertrofia muscular (BOMPA, 2012). Em relação à caracterização da amostra apenas a variável percentual de gordura foi diferente, com o grupo treinado apresentando menores valores. O que já era um resultado esperado, uma vez que uma das adaptações ao treinamento é a redução do percentual de gordura corporal (McARDLE, KATCH, KATCH, 2011).

A análise dos dados demonstrou que o protocolo de exercícios de treinamento de força foi capaz de elevar parâmetros fisiológicos como frequência cardíaca (FC), a percepção subjetiva de esforço (PSE) e escala visual de dor (VAS). Estes parâmetros juntamente com as concentrações de lactato, tem sido utilizado como forma de avaliar a intensidade do exercício (BOURDON *et al.*, 2017).

A PSE tem sido amplamente utilizada para determinar a intensidade do exercício resistido, pois está relacionada aos marcadores fisiológicos da resposta ao estresse ocasionado pelo exercício (MORISHITA *et al.*, 2013). Quanto mais alto o valor reportado na escala de esforço percebido, conseqüentemente maior a intensidade do exercício (MATTACOLA *et al.*, 1997). No nosso estudo a média dos valores reportados por ambos os grupos atingiu valores próximos ao máximo. Além disso, quando a PSE é utilizada juntamente com a escala de percepção de dor, pode nos fornecer um parâmetro que permite inferir que o exercício poderia ter levado a prováveis danos, uma vez que a dor muscular tem sido associada a danos às proteínas contráteis, filamentos intermediários e / ou tecido conjuntivo em torno das fibras musculares, e subsequente processo inflamatório. (CHEUNG *et al.*, 2003; HOWATSON *et al.*, 2008).

O protocolo de exercícios proposto neste estudo também aumentou o nível de lactato sanguíneo imediatamente após o exercício. Além disso, esse aumento foi diferente quando comparado o grupo treinado e o grupo não treinado. Diferentemente dos resultados do presente estudo, Messonnier *et al.*, (2013) e Green *et al.*, (2014) observaram maiores concentrações de lactato no grupo treinado em comparação com o não treinando, entretanto, estes estudos avaliaram o limiar de lactato e não a concentração após o exercício como no nosso estudo.

O aparecimento de CK na circulação tem sido geralmente considerado como um marcador indireto de dano muscular, uma vez que o extravasamento da CK na corrente sanguínea estaria associado a ruptura da matriz extracelular, lâmina basal e do sarcolema, principalmente devido ao estresse mecânico e metabólico decorrentes do exercício (CORMIE *et al.*, 2011; CONCEIÇÃO *et al.*, 2012, KOCH 2014).

O dano muscular provocado pelo treinamento de força parece ser um importante estímulo para resposta hipertrófica da musculatura esquelética (SCHOENFELD, 2012), no entanto o mesmo tende a ser atenuado com sua continuidade, pois o organismo promove adaptações que recuperam a musculatura afetada, criando uma proteção parcial contra eventuais mecanismos causadores de dano que possam ocorrer novamente (NOSAKA e NEWTON, 2002; BARROSO, 2013). Esta adaptação conhecida como efeito da carga repetida (BARROSO *et al.*, 2005), poderia explicar o atraso no aparecimento da CK no resultado do grupo treinado no presente estudo.

Sendo os exercícios agudos e crônicos indutores de uma resposta inflamatória (TOFT *et al.*, 2002), o perfil total e diferenciado de leucócitos circulantes nos praticantes destas atividades, possivelmente estaria relacionado à intensidade e carga impostas pelos protocolos de treinamento. Nesse sentido, no presente estudo observamos aumento no número de leucócitos imediatamente após o exercício com persistência até duas horas após em ambos os grupos avaliados. Essa elevação do número de leucócitos, após uma única sessão de treinamento de força, pode estar relacionada ao papel dessas células na

regeneração do tecido muscular esquelético, visto que elas migram da barreira endotelial e atuam na agregação do tecido muscular esquelético danificado durante o exercício (FORBES e ROSENTHAL, 2014; TIDBALL, 2017). Também foi observada uma menor média do número de leucócitos no grupo treinado em relação ao não treinado. Acredita-se que essa diferença se deva pela adaptação ao treinamento, fato que levaria a uma resposta menos acentuada ao exercício (TOFT *et al.*, 2002).

Dentre as populações de leucócitos, o número de linfócitos aumentou imediatamente após o exercício e duas horas após o treino, apresentando redução abaixo dos valores pré-exercício em ambos os grupos. Esta linfopenia foi previamente descrito após o término de diferentes protocolos de exercícios (PEDERSEN e TOFT, 2000). A população de monócitos assim como ocorre com os linfócitos e neutrófilos, desempenha um papel fundamental na reparação tecidual (WALSH *et al.*, 2011). No nosso estudo observamos um aumento no número de monócitos imediatamente após o exercício em ambos os grupos. Em relação aos neutrófilos apesar do comportamento ao longo do tempo ter sido semelhante entre os dois grupos, o grupo treinado apresentou menor valor médio no tempo de 2h que o grupo não treinado. A elevação no número de leucócitos totais, neutrófilos, linfócitos e monócitos foi investigada no ciclismo (KAKANIS *et al.*, 2010; STRÖMBERG *et al.*, 2017), esteira (PEAK *et al.*, 2005), corrida (NUNES-SILVA *et al.*, 2018), e exercício excêntrico unilateral de extensores do joelho (SAKELLIU *et al.*, 2016). No entanto, não há informações consistentes sobre os efeitos de protocolos de treinamento de força na contagem dessas células.

No estudo de Sakelliou *et al.*, (2016) eles observaram um aumento no número de leucócitos totais imediatamente após o exercício, com um pico 2 horas após e esses valores permaneceram elevados até 24 horas após o exercício. Já para os neutrófilos houve um aumento imediatamente após enquanto que para os linfócitos, monócitos e basófilos não foi observado diferença. Entretanto, o protocolo de treinamento utilizado por eles (exercício excêntrico unilateral de extensores de joelho na cadeira isocinética a 30°/segundo e 20 séries de 15

repetições e 30 segundos de intervalo entre as séries por 8 dias) diferiu do presente estudo. Além da diferença no protocolo de exercício, os voluntários também fizeram uso de suplementos antioxidantes o que pode ter influenciado nos resultados.

Após a realização do exercício de força e possível liberação de citocinas na corrente sanguínea, ocorre um aumento no fluxo de neutrófilos, monócitos, linfócitos e outras células que participam da regeneração tecidual, sinalizando indiretamente o aumento da permeabilidade dos vasos sanguíneos e, assim, um aumento na transição de fluidos e proteínas para o espaço extracelular (SAXTON *et al.*, 2003). As citocinas são produzidas e liberadas primariamente pelas células do sistema imune, além das células musculares ativas, do tecido adiposo e das células endoteliais (PEAK *et al.*, 2015). O equilíbrio entre as ações pró-inflamatórias e regulatórias das várias citocinas contribui para a regeneração do tecido lesado (TIDBALL *et al.*, 2005).

Assim, nos últimos anos o estudo de distintas citocinas com perfis inflamatórios e regulatórios tem ganhado destaque no contexto da atividade física em decorrência de sua importância no metabolismo e no processo de remodelamento muscular. Uma citocina relativamente nova e que merece destaque nesta área do conhecimento é a apelina por atuar no aumento da força de contração cardíaca e também por estar associada ao metabolismo da insulina (PERJÉS *et al.*, 2014). Em nosso estudo, mostramos que os níveis de apelina elevaram-se nos indivíduos treinados 2h e 24h após o término do exercício. Fujie *et al.*, (2014) também mostrou que os níveis de apelina após o treino foram maiores para o grupo de indivíduos treinados em relação àqueles não treinado. Vale ressaltar que o protocolo de exercício utilizado por eles também foi diferente, consistindo em exercício aeróbio. Ainda no contexto do treinamento aeróbio, Kadoglou *et al.*, (2013) constataram que os níveis circulantes de apelina aumentaram após 6 meses de treinamento, enquanto que o treinamento resistido não induziu alterações em indivíduos com diabetes mellitus tipo 2. Os nossos achados com adultos jovens treinados e não treinados também diferiram dos

dados de Kadoglou *et al.*, (2012), pois demonstraram que indivíduos em maior atividade física apresentaram níveis plasmáticos maiores de adiponectina em relação àqueles fisicamente menos ativos.

Outra citocina denominada BDNF, também recebeu destaque no presente estudo por atuar em neurônios do sistema nervoso central e do sistema nervoso periférico, auxiliando em sua sobrevivência e estimulando seu crescimento. (JI-HYEON *et al.*, 2018). Observamos um aumento nos níveis plasmáticos de BDNF nos indivíduos treinados imediatamente após a sessão de exercício. Corroborando parcialmente com os dados de Gimiat *et al.*, (2018) uma vez que eles avaliaram a produção plasmática de BDNF em idosos com diferentes status de treinamento e observaram um aumento nas concentrações circulantes após a primeira sessão de treinamento, diferente entre iniciantes e praticantes avançados de exercício. Archer *et al.*, (2011) demonstraram que o exercício físico é uma intervenção eficaz para reduzir a progressão de doenças neurodegenerativas, tais como a doença de Parkinson e Alzheimer. Essa neuroproteção conferida pelo exercício físico está intimamente associada aos seus efeitos secundários modulando a expressão de citocinas, como o BDNF (GIBBONS *et al.*, 2014; ZOLADZ *et al.*, 2014).

A FABP3 é uma citocina que está envolvida no metabolismo dos ácidos graxos, e realiza o transporte da membrana celular para as mitocôndrias para a oxidação (NAM *et al.*, 2015). Schmitt *et al.*, (2003), avaliaram a expressão de FABP3 em indivíduos treinados e não treinados e observaram que indivíduos treinados possuem maior expressão de FABP3 do que indivíduos não treinados. No nosso estudo, as concentrações de FABP3 aumentaram imediatamente após o exercício e continuaram aumentando até duas horas após o exercício, porém sem diferença entre os grupos. Embora não haja muita informação associando o nível plasmático de FABP3 e exercício físico, esta citocina parece apresentar uma correlação positiva com o consumo máximo de oxigênio e proporção de fibras do músculo esquelético tipo I, sugerindo um papel para FABP3 no metabolismo aeróbio (PARIKH *et al.*, 2008).

A FLST1 é uma outra citocina com ações distintas na manutenção da homeostase e remodelamento cardíaco (GORGENS *et al.*, 2013). Os dados do nosso estudo corroboram com os de Nam *et al.*, (2015) que também observaram diferença nos níveis basais de FSTL1 entre o grupo treinado e não treinado. Mihal *et al.*, (2008) demonstraram que adaptações cardíacas estruturais e morfológicas acontecem tanto no treinamento aeróbio quanto no treinamento de força. Enquanto o primeiro está mais relacionado a um maior volume e carga de pressão, levando a alterações miocárdicas específicas, como dilatação do ventrículo esquerdo e aumento da massa ventricular esquerda; o segundo está associado a uma elevação acentuada na pressão arterial sistólica e diastólica. Ou seja, tanto o treinamento de força quanto o treinamento aeróbio causam hipertrofia ventricular esquerda, mas a espessura da parede é maior no treinamento de força, enquanto a dilatação do ventrículo esquerdo é uma característica proeminente do treino aeróbio.

Shimano *et al.*, (2011) avaliaram o papel da FSTL-1 em camundongos *knock-out* e camundongos que super expressam a FSTL-1 em nenhum dos casos houve influência no tamanho do coração ou na função sob condições basais. No entanto, análises posteriores desses modelos revelaram que a FSTL1 funciona como um regulador negativo do crescimento cardíaco sob condições de hipertrofia induzida por sobrecarga de pressão. Estes dados mostram que FSTL1 tem uma atividade anti-hipertrofica e protege contra o remodelamento cardíaco em resposta a estímulos hipertroficantes patológicos.

Os níveis circulantes de IL-15 não apresentaram diferenças entre os grupos e nem entre os tempos no nosso estudo, o que difere dos dados mostrados por Bazigir *et al.*, (2015) que observaram que o nível circulante da citocina foi diferente entre indivíduos treinados e não treinados em exercício de força, sugerindo que o nível circulante de IL-15 pode ser influenciado pelo nível de treinamento. A inconsistência desses resultados pode ser atribuída às características dos indivíduos (por exemplo, idade, inflamação basal, status de treinamento e composição corporal) e / ou às diferenças na metodologia (por exemplo, volume de

treinamento, intensidade e tempo do período de treinamento) sendo necessário mais estudos com treinamento de força e diferentes normativas de carga.

5 CONCLUSÃO

O treinamento de força, seguindo o protocolo proposto, elevou os parâmetros bioquímicos e inflamatórios após uma sessão de treinamento, sendo que o perfil das citocinas estudadas aumentaram principalmente para o grupo treinado (apalina, BDNF, FSTL-1), retornando ao seu nível de normalidade 24 horas após a sessão de exercício.

6 REFERÊNCIAS

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.

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE (ACSM). Guidelines for exercise testing and prescription, 2017.

ARCHER T. Physical exercise alleviates debilities of normal aging and Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand*.123:221–238, 2011.

BARROSO, R.; TRICOLI, V.; UGRINOWITSCH, C. Adaptações neurais e morfológicas ao treinamento de força com ações excêntricas. *Revista Brasileira de Ciência e Movimento*, v. 13, n. 2, p. 111-122, 2005.

BARROSO, R. Influência da modulação do dano muscular e da inflamação sobre o efeito da carga repetida e as vias de sinalização de hipertrofia do músculo esquelético. 2013. 88 f.Tese (Doutorado)– Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

BEATON LJ, TARNOPOLSKY MA, PHILLIPS SM. Contraction-induced muscle damage in humans following calcium channel blocker administration. *J Physiol* 544: 849-859, 2002.

BRADSHAW, A. D. Diverse biological functions of the SPARC family of proteins. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 44(3), 480–488. S1357-2725(12) 00004-0 [pii]. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2011.12.021>. 2012.

BRAMHAM CR, MESSAOUDI E. BDNF function in adult synaptic plasticity: the synaptic consolidation hypothesis. *Prog Neurobiol*; 76:99-125, 2005.

BOGDANIS G. C., “Effects of physical activity and inactivity on muscle fatigue,” *Frontiers in Physiology*, vol. 3, 2012.

BOMPA, T. O. Teoria e Metodologia do Treinamento. São Paulo: Editora Phorte, 2012.

BOURDON PC, CARDINALE M, MURRAYA et al. Monitoring Athlete Training Loads: Consensus Statement *International Journal of Sports Physiology and Performance*, 12, S2-161 -S2-170 2017 <https://doi.org/10.1123/IJSP.2017-0208>, 2017.

CHILD R, BROWN S, DAY S, DONNELLY A, ROPER H, SAXTON J. Changes in indices of antioxidant status, lipid peroxidation and inflammation in human skeletal muscle after eccentric muscle actions. *Clin Sci (Lond)* 96: 105-115, 1999.

CRAMERI RM, AAGAARD P, QVORTRUP K, LANGBERG H, OLESEN J, KJAER M. Myofibre damage in human skeletal muscle: effects of electrical stimulation versus voluntary contraction. *J Physiol* 583: 365-380, 2007.

CHAN MH, CAREY AL, WATT MJ, AND FEBBRAIO MA. Cytokine gene expression in human skeletal muscle during concentric contraction: evidence that IL-8, like IL-6, is influenced by glycogen availability. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 287: R322-R327, 2004.

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. *Immunol Cell Biol* 94: 140-145, 2016.

CONCEIÇÃO, M.S.; LIBARDI, C.A.; NOGUEIRA, F.R.D.; BONGANHA, V.; GÁSPARI, A.F.; CHACON-MIKAHIL, 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. *Eur J Appl Physiol*, 112:3205–3213, 2012.

CHEUNG K, HUME PA, MAXWELI L: Delayed onset muscle soreness: treatment strategies and performance factors. *Sports Med* 33:145-164, 2003.

DE LA ROSA, AF; FARTO, H. *Treinamento Desportivo: do ortodoxo ao contemporâneo*. São Paulo. Phorte, 2007.

EGAN B, ZIERATH JR. Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. *Cell Metab* ;17(2):162-84. 2013.

FRANCHI , MV; RUOSS, S; VALDIVIESO, P; MITCHELL,KW; SMITH,W; ATHERTON, AJ; NARICI,MV; FLÜCK, M. Regional regulation of focal adhesion kinase after concentric and eccentric loading is related to remodeling of human skeletal muscle *Acta Physiol* doi: 10.1111/apha.13056, 2018.

FLUCK M, SCHMUTZ S, WITTEWER M, HOPPELER H AND DESPLANCHES D. Transcriptional reprogramming during reloading of atrophied rat soleus muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 289: R4-14, 2005.

FOSCHINI D, PRESTES J, CHARRO MA. Relação entre exercício físico, dano muscular e dor muscular de início tardio. *Rev Bras Cineantropom Desempenho Humano*; 9(1): 101-106. 2007.

FOSCHINI D, PRESTES J. Respostas hormonais e imunes agudas decorrentes do treinamento de força em Bi-Set. *Fit Perf J.*; 6(1): 37-44. 2007.

FORBES S. J AND ROSENTHAL N, "Preparing the ground for tissue regeneration: from mechanism to therapy," *Nature Medicine*, vol. 20, no. 8, pp. 857–869, 2014.

FLECK, STEVEN J. Fundamentos do Treinamento de Força Muscular/ Steven J. Fleck e William J. Kraemer; Cecy Ramires Maduro. – 2.ed. – Porto Alegre: Editora Artes Médicas Sul Ltda. 1999.

FEBBRAIO MA, STEENSBERG A, KELLER C, STARKIE RL, NIELSEN HB, KRUSTRUP P, OTT P, SECHER NH, AND PEDERSEN BK. Glucose ingestion attenuates interleukin-6 release from contracting skeletal muscle in humans. *J Physiol* 549: 607-612, 2003.

FUJIE S, SATO K, MIYAMOTO-MIKAMI E, HASEGAWA N, FUJITA S, SANADA K, HAMAOKA T, IEMITSU M Reduction of arterial stiffness by exercise training is associated with increasing plasma apelin level in middle-aged and older adults. *PLoS One* 9(4): e93545. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093545>, 2014.

GREEN M, HORNSBY H.J. et al Lactate Threshold Comparison in Anaerobic vs. Aerobic Athletes and Untrained Participants. *International Journal of Exercise Science* 7(4): 329-338, 2014.

GLEESON, M. Immune function in sport and exercise. *J Appl Physiol*; 103:693-699, 2007.

GIBBONS TE, PENCE BD, PETR G, OSSYRA JM, MACH HC, BHATTACHARYA TK, PEREZ S, MARTIN SA, MCCUSKER RH, KELLEY KW, RHODES JS, JOHNSON RW, WOODS JA. Voluntary wheel running, but not a diet containing (-)-epigallocatechin-3-gallate and β -alanine, improves learning, memory and hippocampal neurogenesis in aged mice. *Behav Brain Res*. Oct 1;272:131-40, 2014.

HOWATSON G, VAN SOMEREN KA: The prevention and treatment of exercise-induced muscle damage. *Sports Med* 38:483-503, 2008.

HAWKE TJ. Muscle stem cell and exercise training. *Exerc Sport Sci Rev.* 33(2): 63-68, 2005.

IZADI MR, AFOUSI AG, FARD MA, BIGI MAB. High-intensity interval training lowers blood pressure and improves apelin and NOx plasma levels in older treated hypertensive individuals *Journal of Physiology and Biochemistry* <https://doi.org/10.1007/s13105-017-0602-0>, 2017.

JÄRVINEN, T. A. H.; JÄRVINEN, T. L. N.; KÄÄRIÄINEN, M.; KALIMO, H.; JÄRVINEN, M. Muscle Injuries - Biology and Treatment. *American Journal of Sports Medicine*, v. 33, n. 5, p. 745-763, 2005.

JABRI, B AND ABADIE, V. IL-15 functions as a danger signal to regulate tissue-resident T cells and tissue destruction *Nat Rev Immunol.* 15(12): 771–783. doi:10.1038/nri3919. 2015.

JONES DA, NEWHAM DJ, ROUND JM, TOLFEE SE. Experimental human muscle damage: morphological changes in relation to other indices of damage. *J Physiol* 375: 435-448, 1986.

JENKINS NDM, MIRAMONTI AA, HILL EC, SMITH CM, COCHRANE-SNYMAN KC, HOUSH TJ AND CRAMER JT Greater Neural Adaptations following High- vs. Low-Load Resistance Training. *Front. Physiol.* 8:331. doi: 10.3389/fphys.2017.00331, 2017.

KAKANIS M.W, PEAKE J.M BRENUETAL E.W. The open window of susceptibility to infection after acute exercise in healthy young male elite athletes,” *Exercise Immunology Review*, vol. 16, pp. 119–137, 2010.

KADOGLOU NP, VRABAS IS, KAPELOUZOU A, ANGELOPOULOU N. The association of physical activity with novel adipokines in patients with type 2 diabetes. *Eur J Intern Med* 23:137–142, 2012.

KADOGLOU NP, FOTIADIS G, KAPELOUZOU A, KOSTAKIS A, LIAPIS CD, et al. The differential anti-inflammatory effects of exercise modalities and their association with early carotid atherosclerosis progression in patients with type 2 diabetes. *Diabet Med* 30:e41–50, 2013.

LEANDRO CG, CASTRO RM, NASCIMENTO E, PITHON-CURI TC, CURI R. Mecanismos adaptativos do sistema imunológico em resposta ao treinamento físico. *Rev Bras Med Esporte*;13:343-48, 2007.

MAGAUDDA, L.; DI MAURO, D.; TRIMARCHI, F.; ANASTASI, G. Effects of Physical Exercise on Skeletal Muscle Fiber: Ultrastructural and Molecular Aspects. *Basic Applied Myology*, v. 14, n. 1, p. 17-21, 2004.

MANSO, MG; VALDIVIESO, NM; CABALLERO, JAR. Planificación del Entrenamiento Deportivo. Madri. Gymnos, 1996.

MACNEIL LG, BAKER SK, STEVIC I, TARNOPOLSKY MA. 17beta-estradiol attenuates exercise-induced neutrophil infiltration in men. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 300: R1443-1451, 2011.

MAHONEY DJ, SAFDAR A, PARISE G, MELOV S, FU M, MACNEIL L, KACZOR J, PAYNE ET, TARNOPOLSKY MA. Gene expression profiling in human skeletal muscle during recovery from eccentric exercise. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 294: R1901-1910, 2008.

MATTACOLA, C.G., PERRIN, D.H., GANSNEDER, B.M., ALLEN, J.D., MICKEY, C.A. A comparison of visual analog and graphic rating scales for assessing pain following delayed onset muscle soreness. *Journal of Sport Rehabilitation*, 6:38-46, 1997.

MIHI, C., DASSEN, W. R. M., & KUIPERS, H. Cardiac remodelling: concentric versus eccentric hypertrophy in strength and endurance athletes. *Netherlands Heart Journal*, 16(4), 129–133.doi:10.1007/bf03086131 , 2008.

MORISHITA S, YAMAUCHI S, FUJISAWA C, DOMEN K. Rating of Perceived Exertion for Quantification of the Intensity of Resistance Exercise. *Int J Phys Med Rehabil* 1: 172. doi:10.4172/2329-9096.1000172, 2013.

MARKLUND P, MATTSSON CM, WAHLIN-LARSSON B, PONSOT E, LINDVALL B, LINDVALL L, EKBLÖM B, KADI F. Extensive inflammatory cell infiltration in human skeletal muscle in response to an ultraendurance exercise bout in experienced athletes. *J Appl Physiol* 114: 66-72, 2013 -1910, 2008.

MAHONEY DJ, SAFDAR A, PARISE G, MELOV S, FU M, MACNEIL L, KACZOR J, PAYNE ET, TARNOPOLSKY MA. Gene expression profiling in human skeletal muscle during recovery from eccentric exercise. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 294: R1901-1910, 2008.

MALM C, SJODIN TL, SJOBERG B, LENKEI R, RENSTROM P, LUNDBERG IE, EKBLÖM B. Leukocytes, cytokines, growth factors and hormones in human skeletal muscle and blood after uphill or downhill running. *J Physiol* 556: 983-1000, 2004.

MARKLUND P, MATTSSON CM, WAHLIN-LARSSON B, PONSOT E, LINDVALL B, LINDVALL L, EKBLÖM B, KADI F. Extensive inflammatory cell infiltration in human skeletal muscle in response to an ultraendurance exercise bout in experienced athletes. *J Appl Physiol* 114: 66-72, 2013.

McARDLE, W.D.; KATCH, F.I. e KATCH, V.L. Fisiologia do Exercício: energia, nutrição e desempenho humano. Editora Guanabara Koogan. Sétima edição, 2011.

MORITANI, T. AND H. A. DE VRIES. Neural factors versus hypertrophy in the time course of muscle strength gain. *Am J Phys Med.* 58:115-130, 1979.

MAYHEW DL, THYFAULT JP, KOCH AJ. Rest-Interval length affects leukocyte levels during heavy resistance exercise. *J Strength Cond Res.* 19(1): 16-22, 2005.

MESSONNIER LA, EMHOFF CW, FATTOR JA, HORNING MA, CARLSON TJ, BROOKS GA. Lactate kinetics at the lactate threshold in trained and untrained men. *J Appl Physiol* 114: 1593–1602, 2013.

NAM J., PERERA P., R. GORDON et al., “Follistatin-like 3 is a mediator of exercise-driven bone formation and strengthening,” *Bone*, vol. 78, pp. 62–70, 2015.

NEUBAUER O, KONIG D, WAGNER KH. Recovery after an Ironman triathlon: sustained inflammatory responses and muscular stress. *Eur J Appl Physiol* 104: 417-426, 2008.

NEUBAUER O, SABAPATHY S, LAZARUS R, JOWETT JB, DESBROW B, PEAKE JM, CAMERON-SMITH D, HASELER LJ, WAGNER KH, BULMER AC. Transcriptome analysis of neutrophils after endurance exercise reveals novel signaling mechanisms in the immune response to physiological stress. *J Appl Physiol* 114: 1677-1688, 2013.

NUNES-SILVA A, MOREIRA JM, FREITAS-LIMA LC et al., “Intense aerobic exercise modifies leucocytes number, lymphocyte subpopulation and cytokine levels in peripheral blood,” *Gazzetta Medica Italiana Archivio per le Scienze Mediche*, vol. 177, pp. 79–87, 2018.

NIEMAN DC, KONRAD M, HENSON DA, KENNERLY K, SHANELY RA, AND WALLNER-LIEBMANN SJ. Variance in the acute inflammatory response to prolonged cycling is linked to exercise intensity. *J Interferon Cytokine Res* 32: 12-17, 2012.

NIEMAN DC, LUO B, DREAU D, HENSON DA, SHANELY RA, DEW D, AND MEANEY MP. Immune and inflammation responses to a 3-day period of intensified running versus cycling. *Brain Behav Immun* 39: 180-185, 2014.

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

OSAKA, K.; NEWTON, M. Repeated eccentric exercise bouts do not exacerbate muscle damage and repair. *Journal of Strength and Conditioning Research*, v. 16, n. 1, p. 117-122, 2002.

PEDERSEN BK, HOFFMAN-GOETZ L. Exercise and the immune system: Regulation integration and adaptation. *Physiol Reviews*; 80:1055-81. *Physiol* 2005;98:1154-62, 2000.

PETERSEN AM, PEDERSEN BK. The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl* PARIKH H, NILSSON E, LING C, POULSEN P, ALMGREN P, NITTBY H, ERIKSSON KF, VAAG A and GROOP LC. Molecular correlates for maximal oxygen uptake and 550 type 1 fibers. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 294: E1152-E1159, 2008.

PAULSEN G, CRAMERI R, BENESTAD HB, FJELD JG, MORKRID L, HALLEN J, RAASTAD T. Time course of leukocyte accumulation in human muscle after eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc* 42:75-85, 2010.

PEAKE JM, SUZUKI K, WILSON G, HORDERN M, NOSAKA K, MACKINNON L, COOMBES JS. Exercise-induced muscle damage, plasma cytokines, and markers of neutrophil activation. *Med Sci Sports Exerc* 37: 737-745, 2005.

PAULSEN, G., R. CRAMERI, H. B. BENESTAD, J. G. FJELD, L. MORKRID, J. HALLEN, and T. RAASTAD. Time Course of Leukocyte Accumulation in Human Muscle after Eccentric Exercise. *Med. Sci. Sports Exerc.*, Vol. 42, No. 1, pp. 75–85, 2010.

PEAKE JM, SUZUKI K, WILSON G et al., "Exercise-induced muscle damage, plasma cytokines, and markers of neutrophil activation," *Medicine and Science in Sports and Exercise*, vol. 37, no. 5, pp. 737–745, 2005.

PERJÉS Á., SKOUMAL R., TENHUNEN O. et al., "Apelin increases cardiac contractility via protein kinase C ϵ - and extracellular signal-regulated kinase-dependent mechanisms," *PLoS One*, vol. 9, no. 4, article e93473, 2014.

PILEGAARD H, SALTIN B, NEUFER PD. Exercise induces transient transcriptional activation of the PGC-1 α gene in human skeletal muscle. *J Physiol*. 2003.

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

PAULSEN G, EGNER IM, DRANGE M, LANGBERG H, BENESTAD HB, FJELD JG, HALLEN J, RAASTAD T. A COX-2 inhibitor reduces muscle soreness, but

does not influence recovery and adaptation after eccentric exercise. *Scand J Med Sci Sports* 20: e195-207, 2010.

PERJÉS A, SKOUMAL R, TENHUNEN O. et al., “Apelin increases cardiac contractility via protein kinase C ϵ - and extracellular signal-regulated kinase-dependent mechanisms,” *PLoS One*, vol. 9, no. 4, article e93473, 2014.

PEDERSEN K, SALTIN B. Exercise as medicine – evidence for prescribing exercise as therapy in 26 different chronic diseases. *Scand J Med Sci Sports. (Suppl. 3)* 25: 1– 72 doi: 10.1111/sms.12581, 2015.

PEAKE JM, GATTA PD, SUZUKI K, NIEMAN DC. Cytokine expression and secretion by skeletal muscle cells: regulatory mechanisms and exercise effects 2015.

PEAKE JM. Exercise-induced alterations in neutrophil degranulation and respiratory burst activity: possible mechanisms of action. *Exerc Immunol Rev* 8: 49-100, 2002.

PEDERSEN BK, AND FEBBRAIO MA. Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6. *Physiol Rev* 88: 1379-1406, 2008.

RAMEL A, WAGNER KH, ELMADFA I. Acute impact of submaximal resistance exercise on immunological and hormonal parameters in young men. *J Sports Sci*; 21(12): 1001-1008. 2003.

REIHMANE D, JURKA A, TRETJAKOV S, AND DELA F. Increase in IL- 6, TNF- α , and MMP-9, but not sICAM-1, concentrations depends on exercise duration. *Eur J Appl Physiol* 113: 851-858, 2013.

RAASTAD T, RISOY BA, BENESTAD B, FJELD G, HALLÉN J. Temporal relation between leukocyte accumulation in muscles and halted recovery 10–20 h after strength exercise. *J Appl Physiol*; 95(6): 2503-2509, 2003.

ROSA LF, VAISBERG MW. Influências do exercício na resposta imune. *Rev Bras Med Esporte*. 8:167-72, 2003.

ROGERS CJ, NORTHOFF H, ABBASI A, AND SIMON P. Position statement. Part one: Immune function and exercise. *Exerc Immunol Rev* 17: 6-63, 2011.

SCHMITT B, FLUCK M, DECOMBAZ J, KREIS R, BOESCH C, WITTEW M, GRABER F, VOGT M, HOWALD H AND HOPPELER H. Transcriptional adaptations of lipid metabolism in tibialis anterior muscle of endurance-trained athletes. *Physiol Genomics* 15: 148-157, 2003.

SONGSORN P, RUFFINO J & NIELS B. J. VOLLAARD. No effect of acute and chronic supramaximal exercise on circulating levels of the myokine SPARC, *European Journal of Sport Science*, DOI: 10.1080/17461391.2016.1266392, 2016.

SCHMITT B, FLUCK M, DECOMBAZ J, KREIS R, BOESCH C, WITTEW M, GRABER F, VOGT M, HOWALD H AND HOPPELER H. Transcriptional adaptations of lipid metabolism in tibialis anterior muscle of endurance-trained athletes. *Physiol Genomics* 15: 148-157, 2003.

STRÖMBERG A, RULLMAN E, JANSSON E., AND GUSTAFSSON T., Exercise-induced upregulation of endothelial adhesion molecules in human skeletal muscle and number of circulating cells with remodeling properties. *Journal of Applied Physiology*, vol. 122, no. 5, pp. 1145–1154, 2017.

SANTOS, A. P. R. SIERRA, R. OLIVEIRA ET AL., Marathon race affects neutrophil surface molecules: role of inflammatory mediators. *PLoS One*, vol. 11, no. 12, article e0166687, 2016.

SAKELLIU AFATOUROS,I.G., .ATHANAILIDIS ETAL I., Evidence of a redox-dependent regulation of immune responses to exercise induced inflammation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol. 2016, Article ID 2840643, 19 pages, 2016.

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

SIRI WE. Body composition from fluid spaces and density: analyses of methods; in: *Techniques for measuring body composition*. Washington DC, Natl Acad. Sci. National Res. Council, pp. 223-244. 13. 1961.

SCHMUTZ S, DAPP C, WITTEW M, VOGT M, HOPPELER H AND FLUCK M. Endurance training modulates the muscular transcriptome response to acute exercise. *Pflugers Arch* 451: 678-687, 2006.

SMITH, C.; KRUGER, M.J.; SMITH, R.M. e MYBURGH, K.H. The inflammatory response to skeletal muscle injury: illuminating complexities. *Sports Med*; 38:947-969, 2008.

STEELE, J.; BUTLER, A.; COMERFORD, Z.; DYER, J.; NATHAN, L.; WARD, J.; FISHER, J.; GENTIL, J.; SCOTT, C.; OZAKI, H. Similar acute physiological responses from effort and duration matched leg press and recumbent cycling tasks. *PeerJ*, 2018.

SUZUKI K, NAKAJI S, YAMADA M, LIU Q, KURAKAKE S, OKAMURA N, KUMAE T, UMEDA T, AND SUGAWARA K. Impact of a competitive marathon race on

systemic cytokine and neutrophil responses. *Med Sci Sports Exerc* 35: 348-355, 2003.

SHEK PN, SABISTON BH, BUGUET A, AND RADOMSKI MW. Strenuous exercise and immunological changes: a multiple-time-point analysis of leukocyte subsets, CD4/CD8 ratio, immunoglobulin production and NK cell response. *Int J Sports Med* 16: 466-474, 1995.

SIMONSON SR, JACKSON CGR. Leukocytosis occur in response to resistance exercise in men. *J Strength Cond Res.* 18(2): 266-271.

SAXTON JM, CLAXTON D, WINTER E, POCKLEY G. Peripheral blood leucocyte functional responses to acute eccentric exercise in humans are influenced by systemic stress, but not by exercise-induced muscle damage. *Clin Sci (Lond).* 104(1): 69-77. 2003.

TOFT AD, JENSEN LB, BRUUNSGAARD H, IBFELT T, HALKJAER-KRISTENSEN J, FEBBRAIO M, et al. Cytokine response to eccentric exercise in young and elderly humans. *Am J Physiol*; 283:C289-95. 2002.

TIDBALL J. G., "Regulation of muscle growth and regeneration by the immune system," *Nature Reviews Immunology*, vol. 17, no. 3, pp. 165–178, 2017.

TIDBALL, J.G. Inflammatory processes in muscle injury and repair. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*:R345-R353, 2005.

TIDBALL JG, DORSHKIND K, WEHLING-HENRICKS M. Shared signaling systems in myeloid cell- mediated muscle regeneration. *Development* 141: 1184-1196, 2014.

TOUMI H, BEST TM. The inflammatory response: friend or enemy for muscle injury? *Br J Sports Med* 37: 284-286, 2003.

VAN DE VYVER M, AND MYBURGH KH. Variable inflammation and intramuscular STAT3 phosphorylation and myeloperoxidase levels after downhill running. *Scand J Med Sci Sports* 24: e360-71, 2014.

WALSH NP, GLEESON M, SHEPHARD RJ, GLEESON M, WOODS JA, BISHOP NC, FLESHNER M, GREEN C, PEDERSEN BK, HOFFMAN-GOETZ L, ZOLADZ JA, MAJERCZAK J, ZELIGOWSKA E, MENCEL J, JASKOLSKI A, JASKOLSKA A, MARUSIAK J. Moderate-intensity interval training increases serum brain-derived neurotrophic factor level and decreases inflammation in Parkinson's disease patients. *J Physiol Pharmacol.* Jun;65(3):441-8, 2014.

ŽÁKOVSKÁ, B. KNECHTLE, D. CHLÍBKOVÁ, M. MILIČKOVÁ, T. ROSEMANN, AND P. T. NIKOLAIDIS, The effect of a 100-km ultra-marathon under freezing

conditions on selected immunological and hematological parameters. *Frontiers in Physiology*, vol. 8, 2017.

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

ZAKHAROV, A. *Ciência do Treinamento Desportivo*. Rio de Janeiro. Palestra, *Conceitos de Carga de Treinamento*. 1992.

7 ANEXOS

ANEXO I

PAR-Q (QUESTIONÁRIO DE PRONTIDÃO PARA A ATIVIDADE FÍSICA)

1 - Alguma vez um médico lhe disse que você possui um problema do coração e lhe recomendou que só fizesse atividade física sob supervisão médica?

() SIM () NÃO

2 - Você sente dor no peito, causada pela prática de atividade física?

() SIM () NÃO

3 - Você sentiu dor no peito no último mês?

() SIM () NÃO

4 - Você tende a perder a consciência ou cair, como resultado de tonteira ou desmaio?

() SIM () NÃO

5 - Você tem algum problema ósseo ou muscular que poderia ser agravado com a prática de atividade física?

() SIM () NÃO

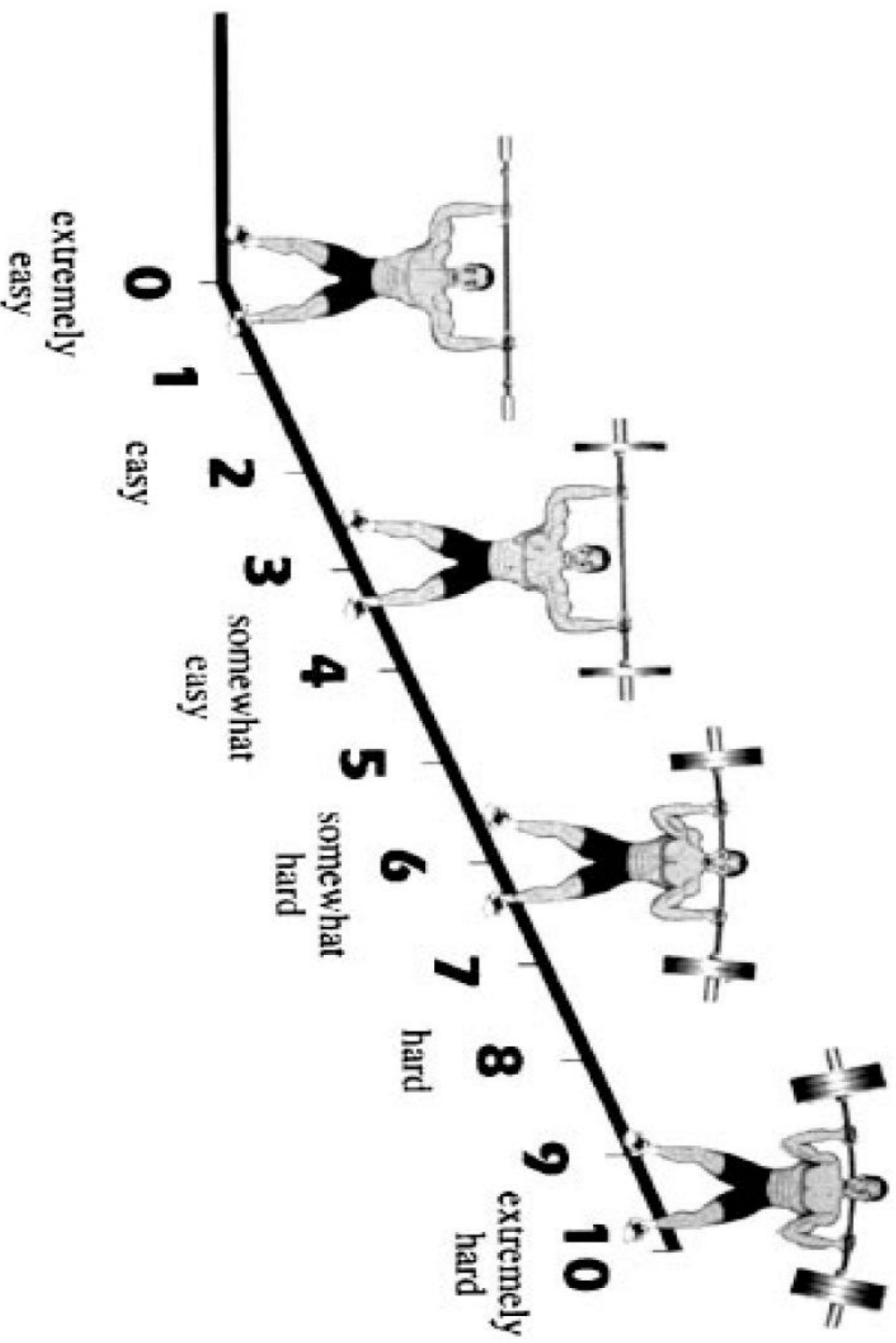
6 - Algum médico já lhe recomendou o uso de medicamentos para a sua pressão arterial, para circulação ou coração?

() SIM () NÃO

7 - Você tem consciência, através da sua própria experiência ou aconselhamento médico, de alguma outra razão física que impeça sua prática de atividade física sem supervisão médica?







() SIM () NÃO

ASSINATURA _____ OURO PRETO _____ DE _____ DE 2019



ANEXO II
FIGURE 1. OMNI Perceived Exertion Scale for Resistance Exercise.




CHOOSE THE FACE THAT BEST DESCRIBES HOW YOU FEEL

					
0	2	4	6	8	10
No Hurt	Hurts Little Bit	Hurts Little More	Hurts Even More	Hurts Whole Lot	Hurts Worst

From Wong DL, Hochstetler/Eaton M, Wilson D, Winkelman M, Schwartz P, eds. *Wong's Essentials of Pediatric Nursing*, 9th ed. St. Louis, MO: Mosby; 2001:1301. Reprinted by permission.

Research Article

Strength Training Session Induces Important Changes on Physiological, Immunological, and Inflammatory Biomarkers

Ayla Karine Fortunato,^{1,2} Washington Martins Pontes,^{1,2} Débora Maria Soares De Souza,² Jéssica Santos Ferreira Prazeres,^{1,2} Lucas Soares Marcucci-Barbosa,¹ Júlia Miranda Mól Santos,¹ Érica Leandro Marciano Veira ,³ Eduardo Bearzoti,⁴ Kelerson Mauro De Castro Pinto,^{1,2} André Talvani ,² and Albená Nunes Da Silva ^{1,2}

¹Laboratório de Inflamação e Imunologia do Exercício (LABIEX), Centro Desportivo da Universidade Federal de Ouro Preto (CEDUFOP/UFOP), Ouro Preto, MG, Brazil

²Laboratório da Imunobiologia da Inflamação (LABIIN/ICEB), Instituto de Ciência Exatas e Biológicas (ICEB/UFOP), Ouro Preto, MG, Brazil

³Laboratório Interdisciplinar de Investigação Médica (LIIM), Faculdade de Medicina (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brazil

⁴Departamento de Estatística, Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), Ouro Preto, MG, Brazil

Correspondence should be addressed to Albená Nunes Da Silva; albenanunes@hotmail.com

Received 8 February 2018; Revised 30 March 2018; Accepted 18 April 2018; Published 26 June 2018

Academic Editor: Alejandro Lucia

Copyright © 2018 Ayla Karine Fortunato et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Strength exercise is a strategy applied in sports and physical training processes. It may induce skeletal muscle hypertrophy. The hypertrophy is dependent on the eccentric muscle actions and on the inflammatory response. Here, we evaluate the physiological, immunological, and inflammatory responses induced by a session of strength training with a focus on predominance of the eccentric muscle actions. Twenty volunteers were separated into two groups: the untrained group (UTG) and the trained group (TG). Both groups hold 4 sets of leg press, knee extensor, and leg curl at 65% of personal one-repetition maximum (1RM), 90 s of recovery, and 2nd conc/3rd eccen of duration of execution in each repetition. Blood samples were collected immediately before and after, 2 hours after, and 24 h after the end of the exercise session. The single session of strength training elevated the heart rate (HR), rating of perceived exertion (RPE), visual analog scale (VAS), and lactate blood level in UTG and TG. Creatine kinase (CK) levels were higher at 2 and 24 h after the end of the exercise in UTG and, in TG, only at 24 h. The number of white blood cells (WBC) and neutrophils increased in UTG and TG, post and 2 h after exercise. Lymphocytes increased postexercise but reduced 2 h after exercise in both groups, while the number of monocytes increased only immediately after the exercise session in UTG and TG. The strength training session elevated the levels of apelin and fatty acid-binding proteins-3 (FABP3) in both groups and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in TG. The single exercise session was capable of inducing elevated HR, RPE, lactate level, and CK levels. This protocol changed the count/total number of circulating immune cells in both groups (UTG and TG) and also increased the level of plasmatic apelin, BDNF, and FLT3L only in TG and FABP3 myokines in both groups.

1. Introduction

Regular physical exercise has achieved wide acceptance by the overall population, professional organizations, and the medical community. Many important international

communities—such as UNESCO and ACSM—have been stimulating the inclusion of regular physical exercise for the population around the world. Nowadays, there is a strong body of scientific evidences for prescribing physical exercise as a prevention and therapy in many different

chronic diseases. This amount of information suggests that physical exercise is able to work as a therapy on these disease pathogenesis and symptoms, and the interpretation of these scientific literatures can also indicate the optimal type and dose for prescription of physical exercise [1–3]. Regular physical exercise can be driven by different protocols, such as aerobic, anaerobic, endurance, strength, or flexibility and—with their particularities—can promote reducing risk of obesity and metabolic syndrome-associated diseases, as well as benefits in morph functional alterations in the body [4]. According to the adjustment of the exercise protocol, it can cause temporary microtraumas of varying degrees in skeletal muscles [5, 6]. These skeletal muscle microtraumas induce the tissue regeneration process. In this process, immune cells such as neutrophils and macrophages are activated to work in the recovery of tissue homeostasis, producing pro- and anti-inflammatory mediators (IL-6, TNF- α , and IL-10) [7–10]. In addition, the microtraumas which are exercise-induced are dependent on the load components and include disruption of the extracellular matrix and basal lamina of the sarcolemma. This may result in the release into the blood, intracellular proteins such as myoglobin (Mb), lactate dehydrogenase (LDH) and aspartate aminotransferase, and creatine kinase (CK) [6].

The protocols of strength training exercises are an essential part of various training processes, such as in health maintenance, in recreational practitioners, and in the improvement of professional sports performance [11–14]. Strength exercise protocols are classified as predominantly anaerobic due to their characteristics (intensity and duration) and allow greater control of muscle actions (concentric, eccentric, and isometric) [15, 16].

The strength training has been related to the induction of skeletal muscle hypertrophy according to the following parameters: load components around 60–85% of the values obtained in maximum strength test (1RM (one repetition maximum)), three to six series, six to twelve repetitions, and pauses between sets of one to three minutes [15].

Since there is a close relation between exercises with the systemic and local inflammatory response [7–10], inflammatory exercise-induced processes emerge as beneficial and necessary processes, as once it is a mechanism responsible for the regeneration and repair of skeletal muscle tissue. However, the inflammatory process which is exercise-induced needs to be maintained under control to be efficient. Situations, including type of exercise, amount of muscle recruited, and type of muscle action (concentric and eccentric), define the magnitude of local and systemic inflammation. Another important aspect may be the status of practitioners.

There is a body of evidence showing that many types of exercise protocols can modulate the plasma level of myokines, which are cytokines produced in the skeletal muscle tissue. The entire “secretome” of exercising skeletal muscle has not yet been described. Here, we investigated some myokines such as apelin, brain-derived neurotrophic factor (BDNF), fatty acid-binding proteins-3 (FABP3), follistatin-like-1 (FLST1), osteonectin, and interleukin-15 (IL-15). Apelin is important in increasing the strength of cardiac contraction [17] and is also associated with insulin metabolism. BDNF when

produced and secreted in muscle tissue has metabolic properties increasing fat oxidation by AMPK activation, and this molecule also regulates satellite cell differentiation and regeneration of skeletal muscle tissue [18]. FABP3 is a protein that facilitates the transport of intracellular fatty acids, and chronic physical exercise is effective in provoking an upregulation, since trained individuals have a greater expression of this molecule [19]. FLST1 exerts therapeutic effects by modulating cardiac hypertrophy in heart failure (HF) with *preserved* ejection fraction (HFpEF) [20]. Recently, many studies have attributed exercise as a cancer-inhibiting factor, but the mechanisms remain unclear. Osteonectin is a protein with the capacity to influence pathways involved in extracellular matrix assembly such as procollagen processing and collagen fibril formation as well as the capacity to influence osteoblast differentiation and osteoclast activity [21]. Interleukin-15 (IL-15) has been considered an anabolic myokine due to its presence when promoting the synthesis of contractile proteins [22].

In this sense, the aim of this study was to investigate the effects of single strength training sessions on physiological (HR, RPE, VAS, and lactate), immunological (leukocyte number), and skeletal muscle mediators, for example, myokines, apelin, BDNF, FABP3, FLST1, osteonectin, and IL-15, in trained (TG) and untrained (UTG) subjects.

2. Materials and Methods

2.1. Subjects. Twenty young male volunteers ranging from 18 to 35 years old were separated into two groups: an untrained group (UTG), weight of 74.8 ± 14.2 (kg) and a trained group (TG) consisting of trained practitioners, weight of 72.2 ± 3.8 (kg), that had been practicing strength training for at least 6 months continuously. The inclusion criteria for both groups were the absence of musculoskeletal lesions in the last six months in the lower limbs, spine, and pelvis; no smoking; no drinking of alcohol for at least 3 days prior to the study. The exclusion criteria for the volunteers were absence on the test day, any disease and/or clinical condition that compromises the performance, or any use of anabolic hormones or supplements. Ethical clearance for this study was obtained from the Ethical Committee of the Federal University of Ouro Preto, MG (Res. 196/96 - CAAE 56307716.2.0000.5150).

2.2. Strength Exercise Protocol. The volunteers performed a strength training session according to the load regulations for skeletal muscle hypertrophy. Immediately before, immediately after, and 2 hours after the training session, blood samples were collected from the radial vein to quantify physiological markers, leukocytes, and myokines. All procedures were performed in the Laboratory of Inflammation and Exercise Immunology (LABIEX/CEDUFOP) from Ouro Preto University (UFOP), Ouro Preto, Brazil.

Each volunteer came to the laboratory for a total of three times. On the first day, the volunteers were submitted to a physical examination which determined their body composition (body fat), weight, height, and circumference of the thigh and calf, as well as determining the range of motion

of the knee joint. On the second trial day, the volunteers performed the one-repetition maximum test (1RM), and on the third trial day—respecting a minimum interval of one week (7 days)—the volunteers performed a single strength training session in a leg press, knee extensor, and leg curl. First, the volunteers warmed up in a cycle ergometer for 5 minutes in a low intensity. After that, both groups (UTG and TG) performed 4 sets of leg press, knee extensor, and leg curl exercises in this sequence. The overload was adjusted at 65% of personal one-repetition maximum (1RM) for each machine. The time of recovery was 90 s, and the duration of muscle tension was 2 seconds for concentric action and 3 seconds for eccentric action in each repetition. The volunteers performed between 8 and 10 repetitions for each exercise. All training sessions spent around 35–40 minutes. The volunteers were oriented not to perform any physical exercise at least for 3 days. After the training session, peripheral blood was collected immediately before, immediately after, 2 hours after, and 24 hours after the end of exercise. Blood samples were collected from the median cubital vein by a professional nurse. The collected blood was taken to the Immunobiology of Inflammation Laboratory (LABIIN), Clinical Analysis Laboratory (LAPAC), and Interdisciplinary Laboratory of Medical Investigation (LIIM) to be analyzed. The blood samples were taken from the median cubital vein in the forearm using two different types of tube: an S-Monovette® tube 2.7 ml, EDTA K3, was used for hemogram analyses, and an S-Monovette 7.5 ml Serum tube that does not contain any anticoagulant was used for plasma separation for protein analyses. The blood was transported using standard conditions for transport of biological materials. The time spent to transport the blood samples was around 10 minutes in appropriate conditions in a cooler box with ice.

2.3. Heart Rate (HR), Rate of Perceived Exertion (RPE), and Visual Analog Scale (VAS). Heart rate was assessed by using a personal POLAR tool, and the values were recorded during the all-strength training session. After each set of exercise for every session, the volunteers noted their rate of perceived exertion using the Borg scale [23] as modified by Robertson et al. [24] (modified 0–10 Borg scale/OMNI-RES) to summarize the total perception of physiologic stress in the whole body, and the visual analog scale (VAS) [25] was used to represent the perception of specific pain in the legs.

2.4. Lactate Level. The lactate level for peripheral blood circulation was analyzed by using Accutrend Plus (Roche) before, immediately after, and 2 hours after the end of the strength training session.

2.5. Postworkout Nutrition Strategy. To prevent volunteers from suffering from dehydration, fatigue, and sudden drop of glucose, they were fed within 30 minutes of posttraining. The meal was based on the mean age of the groups (25.5 years) and weight (73.45 kg), using the FAO/WHO formula (1985) for energy determination ($15.3 \times P + 679$), plus 30% of the total value, since the activity was preformed until exhaustion. The average daily caloric recommendation for volunteers was 2.343 kcal/day, with 20% dedicated to the posttraining meal.

The diet followed the recommendation of the Brazilian Society of Sports Medicine (2009) and focused on the supply of complex carbohydrates (about 70% of the total amount of calories offered), since it plays a crucial role in energy supply and—after the effort carbohydrate intake—aims to restore depleted glycogen stores, to guarantee anabolic standard, and to reduce protein degradation [26–28].

2.6. Full Blood Counts (Hemogram). Full blood counts were performed using a five-part differential hematology analyzer (Beckman Coulter AcT 5diff AL Hematology Analyzer, California, USA). The hematology analyzer uses a sequential dilution system and dual-focused flow fluid dynamic technologies employing the Coulter principle of impedance to count and size the cells.

2.7. Human Myokine Protocol. In this study, a HMYOMAG-56K MILLIPLEX® MAP Human Myokine Magnetic Bead Panel and Luminex® were used for analysis of myokines following the manufacturer's protocols. In this study, the human myokines analyzed were apelin, brain-derived neurotrophic factor (BDNF), fatty acid-binding proteins-3 (FABP3), follistatin-like-1 (FLST1), osteonectin, and interleukin-15 (IL-15).

2.8. Statistical Analysis. Initially, characterization traits (weight, height, percentage of body fat, and age) of both groups (TG and UTG) were compared with *t*-tests. Statistical models were then fitted, according to the factors of group, time, and their interaction, using PROC MIXED of the SAS software [29]. Firstly, the model of a split plot design in time was considered. However, since time cannot be randomized, there may be a covariance structure for the observations other than the one ordinarily induced by the randomization procedure [29]. Therefore, an alternative and more general model was also considered, with an unstructured residual covariance structure, using the option *type=un* in the *repeated* statement [30]. Such models were compared according to the Akaike criterion, and in all cases, the split plot model provided a better fit. The factors group, time, and their interaction were tested using type 3 *F* tests, with a significance level of 0.05. If the null hypothesis of such tests was rejected, the least squares means were obtained, which is more suitable for unbalanced data, as in the present study, where the final number of volunteers was different in each group. Least squares means of factor time were compared using the Tukey *post hoc* adjustment. The assumption of normal distribution for the residuals of the fitted models was verified with the Shapiro-Wilk test. If this assumption was violated, the level combinations of groups and times were compared with the nonparametric Kruskal-Wallis test. In case of significant differences, Dunn's multiple comparison test was used to identify where these differences resided. Nonparametric analyses were used with the Prism software. To correlate lactate level and leukocytes, the Pearson correlation analysis with linear regression was used. The level of significance is 95% ($p = 0.05$).

3. Results

The volunteers' weight was 74.8 ± 14.2 (kg) in UTG, while in TG it was 72.2 ± 3.8 (kg). The mean of height in UTG was 175.1 ± 8.4 (cm) and, in TG, 173.5 ± 7.7 (cm), while the percentage of body fat (% BF) was 15.0 ± 8.7 and 9.8 ± 2.9 in UTG and TG, respectively. The mean of age (years) of the volunteers in UTG was 24.5 ± 2.8 and in TG 26.6 ± 1.3 . There was no difference ($p = 0.10$) in a % BF values between TG and UTG volunteers (Table 1).

Table 2. Characterization of volunteers. This table shows the absolute values and means of each volunteer for weight (kg), height (cm), percentage of body fat (%BF) and age (years) ($p = 0.05$).

3.1. Strength Training Session Induces Physiological Changes. After the single strength training protocol session, the heart rate increased from 71.8 ± 10.4 to 140.2 ± 8.2 bpm/min ($p < 0.0001$) in UTG and from 68.1 ± 10.5 to 139 ± 15.5 bpm/min ($p < 0.0001$) in TG (Figure 1(a)), and the rate of perceived exertion (RPE/OMNI-RES) was elevated from 1.7 ± 1.7 to 9.6 ± 0.9 ($p < 0.0001$) in UTG and from 4.0 ± 1.3 to 9.5 ± 0.8 ($p < 0.0001$) in TG (Figure 1(b)). In the same direction, the visual analog scale (VAS) was elevated from 0.4 ± 0.9 ($p < 0.0001$) in UTG and from 2.5 ± 1.8 to 7.6 ± 1.9 ($p < 0.0001$) in TG (Figure 1(c)). The lactate levels were elevated from 2.2 ± 0.8 to 12.1 ± 4.6 mmol/dl ($p < 0.0004$) in UTG, and interestingly, TG had a lower elevation from 1.4 ± 0.6 to 8.3 ± 4.1 mmol/dl ($p < 0.0007$), and it was statistically different (Figure 1(d)). Furthermore, the level of circulating creatine kinase (CK) increased from 286 ± 270.7 (U/l) for the pre-exercise situation to 367 ± 255 (U/l) at 2 h and 389 ± 151 (U/l) at 24 hours in UTG and in TG from 225 ± 155 (U/l) for the pre-exercise situation to 353 ± 90 (U/l) at 24 hours after the end of exercise (Figure 1(e)).

3.2. A Single, Lower Member Strength Training Session Was Able to Change the Count of White Blood Cells. The strength training exercise protocol increased the number of white blood cells from 6.9 ± 0.9 ($10^3/\mu\text{l}$) to 8.7 ± 2.1 ($10^3/\mu\text{l}$) immediately after and 10.2 ± 3.9 ($10^3/\mu\text{l}$) at 2 hours after exercise in UTG, and from 5.2 ± 1.5 ($10^3/\mu\text{l}$) to 7.0 ± 2.3 ($10^3/\mu\text{l}$) and 6.8 ± 1.9 ($10^3/\mu\text{l}$) in the peripheral blood circulation in TG (Figure 2(a)) ($p < 0.0001$). The data shows an increase in the number of circulating neutrophils from 3.9 ± 1.0 ($10^3/\mu\text{l}$) to 5.0 ± 1.8 ($10^3/\mu\text{l}$) immediately after and 8.0 ± 3.9 ($10^3/\mu\text{l}$) at 2 hours after the end of the session in UTG ($p < 0.0001$). The exercise protocol also elevated the number of neutrophils from 2.7 ± 1.4 ($10^3/\mu\text{l}$) to 3.5 ± 2.0 ($10^3/\mu\text{l}$) immediately after and 4.6 ± 2.0 ($10^3/\mu\text{l}$) at 2 h after the end of the session in TG (Figure 2(b)) ($p < 0.0001$). Lymphocyte cells also increased from 2.3 ± 0.5 ($10^3/\mu\text{l}$) to 2.8 ± 0.8 ($10^3/\mu\text{l}$) in the moment immediately after in UTG and from 1.8 ± 0.5 ($10^3/\mu\text{l}$) to 2.7 ± 0.7 ($10^3/\mu\text{l}$) in TG ($p < 0.0001$). Interestingly, the number of lymphocytes reduced in both groups to 1.4 ± 0.3 ($10^3/\mu\text{l}$) in UTG and to 1.5 ± 0.3 ($10^3/\mu\text{l}$) in TG at 2 hours after the end of the exercise session

(Figure 2(c)) ($p = 0.0004$). In addition, the number of monocytes increased from 0.6 ± 0.3 ($10^3/\mu\text{l}$) to 0.9 ± 0.4 ($10^3/\mu\text{l}$) in UTG and from 0.6 ± 0.2 ($10^3/\mu\text{l}$) to 0.7 ± 0.3 ($10^3/\mu\text{l}$) only immediately after the end of the strength exercise protocol (Figure 2(d)) ($p < 0.0001$). The elevation of the subpopulations of leukocytes had a different behavior after the strength training exercise protocol when comparing UTG and TG.

3.3. There Is a Correlation between the Intensity of Exercise and the Perturbation of the Immune System. The plasma lactate level positive correlated with the total number of leukocytes (Figure 3(a)), neutrophils (Figure 3(b)), and monocytes (Figure 3(c)) immediately after exercise. This parameter also directly correlated with total number of leukocytes (Figure 3(e)) and neutrophils (Figure 3(f)) 2 hours after the end of the exercise session.

3.4. The Strength Training Exercise Protocol Was Able to Elevate the Myokine Levels in the Circulation. The strength exercise protocol was able to change the levels of important myokines. The plasmatic apelin levels increased in UTG (Figure 4(a)) 2 h and 24 h after the exercise protocol ($p = 0.0025$). The BDNF levels increase only in TG immediately after the end of exercise (Figure 4(b)) ($p = 0.0147$). The FABBP3 molecule levels increased in both groups (UTG and TG) postexercise and 24 hours after the end of the session (Figure 4(c)) ($p < 0.0001$). FLTS1 increased postexercise only in TG (Figure 4(d)) ($p = 0.0467$). FLTS1 (Figure 4(d)) expressed different levels ($p = 0.0293$) when comparing the basal level between TG and UTG. The single strength training session had no difference in the plasmatic levels of oncostatin (Figure 4(e)) and IL-15 (Figure 4(f)) molecules.

4. Discussion

There are some noteworthy findings from this study: (i) the single strength training session was able to induce physiological stress, (ii) the local skeletal muscle contraction (lower members) was able to change the leukocyte counting in the peripheral blood, and finally (iii) the single strength training session is an enough stimuli to produce and release myokines (apelin, BDNF, FABP3, and FLTS1) in the peripheral blood circulation.

The monitoring of the physiological workload in this protocol was guaranteed by the necessity of stimuli modifying the body homeostasis. The strength training exercise protocol was able to change physiological parameters such as heart rate (HR), rate of perceived exertion (RPE), and visual analog scale (VAS). In addition, this strength exercise protocol also increased the level of lactate (immediately after) and creatine kinase (2 and 24 hours) in the blood circulation from the volunteers. The interesting result here is that the level of increase in lactate levels immediately after the end of exercise was different when comparing UTG and TG. TG appears to produce less lactate or may remove it faster than does UTG from the circulation. The possible explanation for this perception could be the increase in key enzyme

TABLE 1: List of foods offered and their macronutrient values.

Food	Amount	Caloric value	Protein	Carbohydrate	Total fat
Grape juice	200 g	123 kcal	0.6 g	30.2 g	0 g
Orange	90 g	42.3 kcal	0.8 g	10.5 g	0.1 g
Low-fat yogurt	70 g	39.2 kcal	4.0 g	5.3 g	0.1 g
Granola	20 g	77.6 kcal	1.9 g	14.7 g	1.2 g
Whole bread	44 g	110 kcal	4.1 g	20.6 g	0 g
Turkey breast	32 g	44.8 kcal	9.6 g	0 g	0.3 g
Ricotta	20 g	34.8 kcal	2.2 g	0.6 g	2.6 g
Lettuce	10 g	1.3 kcal	0.1 g	0.2 g	0 g
Tomato	30 g	6.1 kcal	0.2 g	1.5 g	0 g
Total	511 g	459 kcal	23.2 g (20.6%)	80.2 g (71%)	4.1 g (8.3%)

TABLE 2: The characterization of the volunteers. This table shows the absolute values and means of each volunteer for weight (kg), height (cm), percentage of body fat (% BF), and age (years) ($p = 0.05$). UTG presented 24.5 ± 2.8 of age, 74.8 ± 14.2 (kg) of body weight, 175.1 ± 8.4 of height (cm), and 15.0 ± 8.7 of percentage of body fat (BF). TG had 26.6 ± 1.3 of age (years), 72.2 ± 3.8 (kg) of body weight, 173.5 ± 7.7 of height (cm), and 9.8 ± 2.9 of percentage of body fat.

Volunteers	Weight (kg)	Height (cm)	% BF	Age	BMI
Untrained (UTG)					
V1G1	60.7	164	16.7	30	22.5
V2G1	82.5	168	30.5	25	29.2
V3G1	63.5	187	4.5	22	18.1
V4G1	68.6	179	8.2	27	21.4
V5G1	55.8	168	4.4	22	19.7
V6G1	66.8	167	5.5	21	23.8
V7G1	83	185	15.2	25	24.2
V8G1	85.4	177	22.8	27	27.1
V9G1	75.5	169	16.9	21	26.4
V10G1	106	186	24.6	25	30.7
Mean	74.8	175.1	15.0	24.5	24.3
SD	14.2	8.4	8.7	2.8	3.8
Trained (TG)					
V1G2	70	167	13	27	25.1
V2G2	74.4	181	7.7	24	22.7
V3G2	74.7	162	13.3	26	28.4
V4G2	77.4	180	6.3	29	23.8
V5G2	70.4	170	7.2	28	24.3
V6G2	68	174	6.9	26	22.4
V7G2	66	162	12	27	25.1
V8G2	77.8	186	10	26	22.4
V9G2	69.2	175	7.6	26	22.6
V10G2	74.4	178	14.1	27	23.4
Mean	72.2	173	9.8	26.6	24.1
SD	3.8	7.7	2.9	1.3	1.8

activities induced by the training process, such as enzymes of glycolysis, such as glycogen phosphorylase, phosphofructokinase (PFK), and lactate dehydrogenase (LDH) [31]. Herein,

in this study, the plasmatic level of CK increased in both TG and UTG; however, in TG this increase occurred only 24 h after the end of the strength exercise session. The appearance of CK in blood has been generally considered to be an indirect marker of muscle damage, and unaccustomed exercise, particularly eccentric muscle contractions, initiates mechanical muscle damage of varying degrees [6].

Over the past two decades, a variety of studies has demonstrated that exercise induces considerable physiological change in the immune system. Acute and chronic exercise alters the number and function of circulating cells of the innate immune system (e.g., neutrophils, monocytes, and natural killer (NK) cells) [32, 33]. Acute physical exercise is able to change immunological variables up to 8 hours postexercise, including significant NK cell suppression, NK cell phenotype changes, a significant increase in total lymphocyte counts, and a significant increase in eosinophil cell counts all at 8 hours postexercise [34]. High intense interval training (HIIT) is able to promote lymphocyte oxidative stress and reduce super antigen-induced proliferation [35]. Long-distance running is able to increase the number of circulating total leukocytes with the increase in neutrophils, monocytes, and lymphocytes including B and T cells [36]. Therefore, it has been suggested that exercise represents a physical stress that is able to modify the counting of immune cells in the peripheral blood circulation. The elevation in the number of the white blood cells, neutrophils, lymphocytes, and monocytes was investigated in cycling [34, 37], treadmill [38–41], running race [42–44], eccentric unilateral repetitions of knee extensors [45], aerobic exercises, such as gymnastics and circular dance [46], and four different experimental conditions [47].

However, there is less information about the effects of the strength training protocol on the response of number of white blood cells and in the levels of myokines. The analyses of results show that the single session of strength training for lower members can elevate the total number of white blood cells. In UTG, the number of white blood cells was increased immediately after, had a further increase 2 hours after the end of exercise, and then returned to basal levels 24 hours after the end of the session. In UTG, the number of white blood cells was equally higher immediately and 2 hours after the end of exercise (Figure 2(a)). This elevation in the

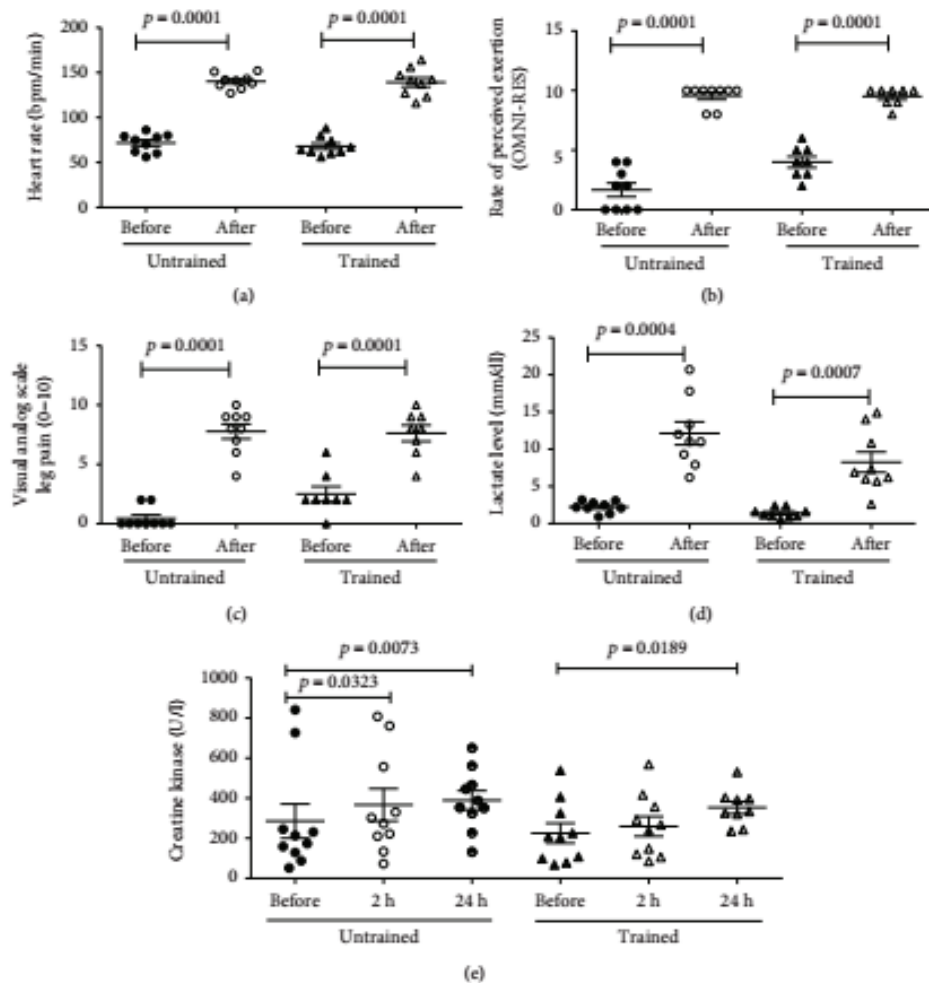


FIGURE 1: The strength training exercise protocol alters physiological markers. The single strength training protocol session elevated the heart rate in UTG and TG. The RPE and VAS were also elevated in both groups. The lactate levels were elevated differently when comparing UTG and TG. The CK level increased at 2 h and at 24 hours in UTG and in TG only 24 hours after the end of exercise. Data are presented in mean and standard errors, and the level of significance is $p < 0.05$.

number of white blood cells was followed by the increase in the number of neutrophils postexercise and further increased 2 hours after the end of the exercise session in TG and UTG (Figure 2(b)). The lymphocyte number also increased immediately after exercise and then expressed an important reduction in the number of these cells in both UTG and TG (Figure 2(c)). This lymphopenia phenomenon was previously described after the end of different exercise protocols and could be associated to the "The open window theory" that is characterized by short-term suppression of the immune system following an acute bout of endurance exercise. The biphasic response of total lymphocyte numbers may be due to circulating stress hormones, including epinephrine, norepinephrine, and cortisol. It has been suggested that catecholamines induce the initial increase in lymphocyte number [34]. Another important aspect of this data is that the status of physical condition may change the response to the same relative physical stress when comparing

TG and UTG. There are a robust number of papers showing changes in the number of white blood and subpopulation cells after different exercise protocols; however, there is less information about the effects of single session for strength training on the number of peripheral blood cells [34, 48, 49]. The elevation in the number of leukocytes after a single strength training session could be related to the role of these cells in the regeneration of skeletal muscle tissue, as this cell may transigrate the endothelial barrier and work to regenerate the skeletal muscle tissue that was damaged during the exercise [50, 51].

Interestingly, the plasma level of lactate was positively correlated with the increase in the number of total leukocytes, neutrophils, and monocytes immediately after exercise and with leukocytes and neutrophils 2 hours after the end of the session (Figure 3). These data show that the immune system is responsive to the intensity of exercise in a strength training protocol. The important question about the

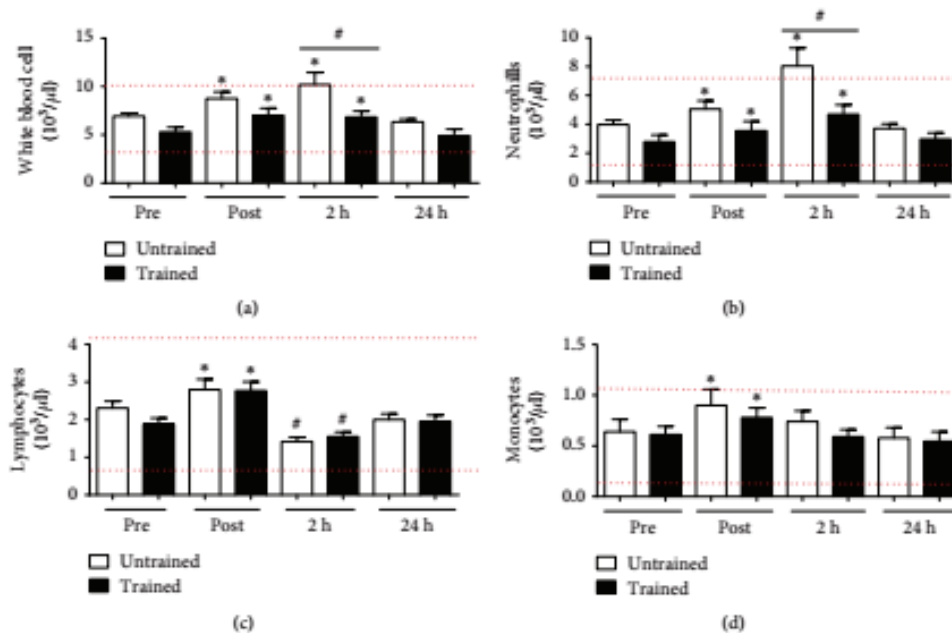


FIGURE 2: The strength training exercise protocol alters the number of subpopulation in the white blood cells (leukocytes). The red lines mean the reference value. The single session of exercise was able to elevate the number of white blood cells immediately and 2 hours in UTG and TG (Figure 2(a)). The number of neutrophils was elevated differently in both groups (Figure 2(b)). The number of lymphocytes increased immediately after in both groups and then reduced at 2 h (Figure 2(c)). The monocyte number increased in both groups (Figure 2(d)). Data are presented in least squares means and standard error, with the level of significance adopted at $p < 0.05$. *Difference between time points and # difference between groups.

relationship between exercise and immune system is the possibility of “training” (modulate) the immune response by the physical exercise intensity. Furthermore, the effects or intensity and duration of exercise on this modulation of immune system response are completely unknown. The meaning of the correlations between the intensity of exercise marked by the lactate levels and the number of leukocytes could show that the more intense the exercise session is, the more stress it can induce in the immune system. However, there was no relationship between intensity and any myokines (data not shown).

This process seems to produce some of the symptoms associated with muscle injury, including the loss of muscle function, delayed onset muscle soreness (DOMS), and an increase in muscle proteins in circulation representing damage to the plasma membrane [10]. After injury, the repair mechanism of the muscle damage is highly synchronized, and this inflammatory response needs to be controlled; otherwise, the inflammatory cells could cause extra damage by producing reactive oxygen species (ROS) and local proinflammatory cytokines [8, 49]. Therefore, this local inflammatory process needs to be maintained under careful control to recover homeostasis and skeletal muscle tissue function.

Studies involving systemic inflammatory responses following exercise protocols have demonstrated a variety of responses, such as the type of exercise, the amount of muscle tissue recruited, the status (aerobic or anaerobic), the type of muscle action (concentric or eccentric), and lastly, the duration and intensity which define the magnitude of local and

systemic inflammation [6, 52]. It is known, for example, that the number of circulating leukocytes increases after a “downhill” and eccentric bicycle exercise [34–37]. In contrast, there is a minor variation in plasma concentrations of circulating leukocytes after two kinds of exercise—eccentric quadriceps and flexor elbow [53–55].

Cytokines are responsible for the coordination, amplification, and regulation of the magnitude and duration of inflammatory events and their effects [56–58]. Skeletal muscle can produce cytokines, and in this scenario, they are called myokines [1–3]. After the intensive physical exercise of force, and possible release of cytokines into the bloodstream, there is an increase in the influx of neutrophils, monocytes, lymphocytes, and other cells that participate in tissue regeneration, indirectly signaling the increased permeability of blood vessels and thus an increase in the transition of fluid and proteins into the extracellular space [59]. Cytokines are produced and released primarily by cells of the immune system, in addition to the active muscle cells, adipose tissue, and endothelial cells, and have proinflammatory (IL-1 β , TNF- α , and IL-6) and regulatory (IL-6, IL-10, and IL-1ra) modulation [60]. The balance between proinflammatory and regulatory actions of the various cytokines contributes to the complete regeneration of damaged tissue [7–9].

Variations in inflammatory responses of strength exercises are related to the duration, intensity, and other physiological factors related to stress, such as body temperature, endocrine response, metabolic acidosis, oxidative stress, and muscle damage caused by the exercise session [6, 32, 58].

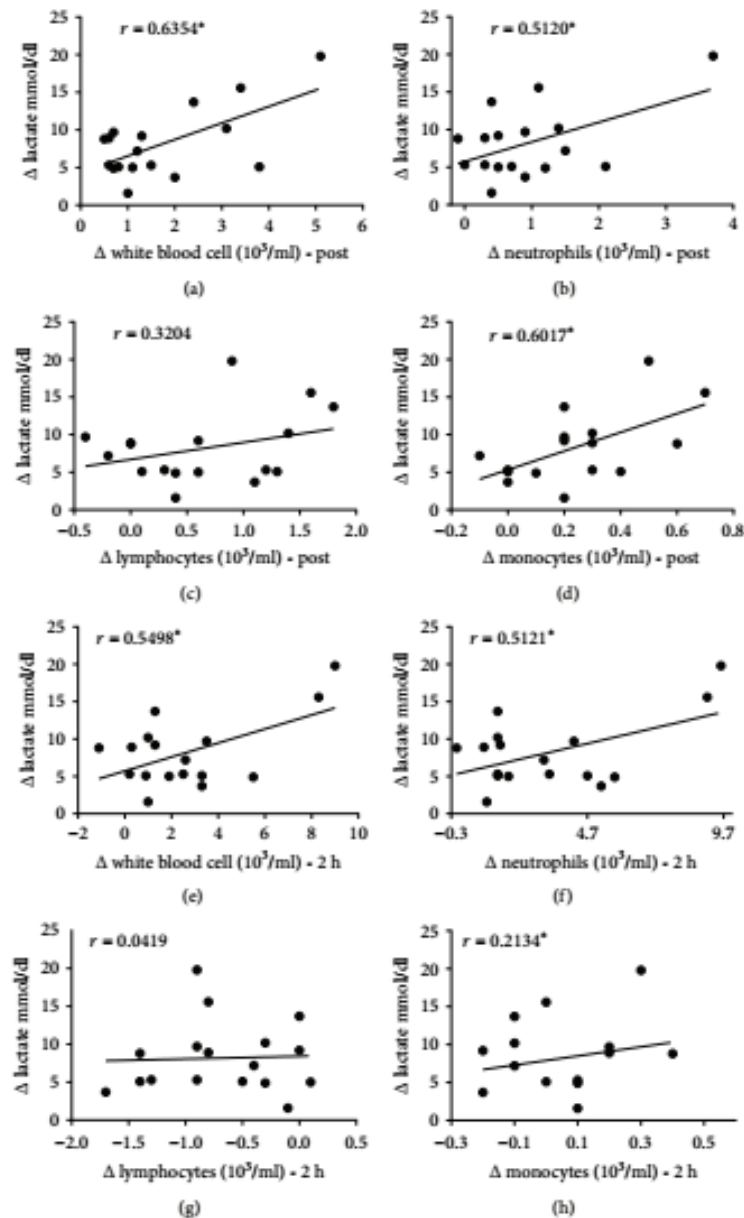


FIGURE 3: The plasma level of lactate was positively correlated with the increase in the number of leukocytes. There was a relationship between the plasma lactate level and the number of total leukocytes (Figure 3(a)), neutrophils (Figure 3(b)), and monocytes (Figure 3(c)) immediately after exercise. This relationship is still maintained with leukocytes (Figure 3(e)) and neutrophils (Figure 3(f)) 2 hours after the end of the session. *Statistical significance.

According to some authors, a reduced inflammatory response would also be accompanied by a reduced regenerative capacity. It is now firmly established that skeletal muscle tissue produces and secretes cytokines and other proteins, which have been named “myokines,” and these proteins subsequently exert auto-, para-, and/or endocrine effects. Thus, the skeletal muscle can be classified as an endocrine organ [1–3]. Since the description of the first members, the

list of myokines has constantly been growing demonstrating that the skeletal muscle has the capacity to express several myokines—some simultaneously, others in a temporally or context-controlled manner. For most currently described myokines, contractile activity is the key regulatory element for expression and secretion.

The finding that the muscle secretome, which is an endocrine organ, consists of several hundred secreted peptides

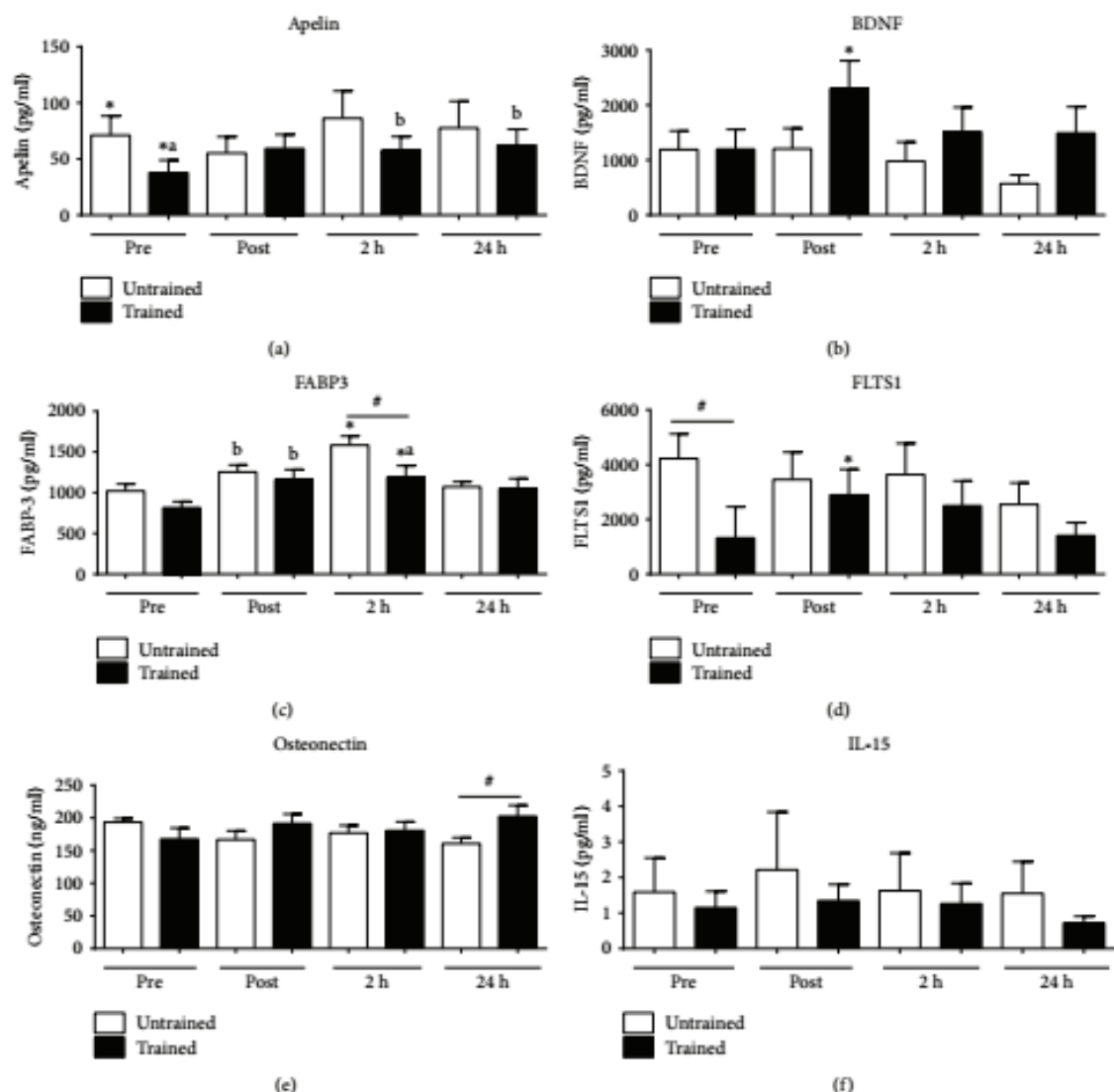


FIGURE 4: The single strength training exercise protocol induces alterations in the level of circulating myokines. The single session of exercise was able to elevate the level of some myokines IL-6 in TG 2 hours (Figure 3(a)), BDNF in UTG 2 hours (Figure 3(c)), and FABP3 immediately after exercise and 2 hours (Figure 3(g)). This exercise protocol did not change IL-15 (Figure 3(b)), apelin (Figure 3(d)), osteonectin (Figure 3(f)), and oncostatin (Figure 3(h)). Data are presented in least squares means and standard error, with the level of significance adopted at $p < 0.05$. *, #, a, b Statistical difference between groups.

provides a conceptual basis and a whole new paradigm for understanding how muscles communicate with other organs, such as the adipose tissue, the liver, the pancreas, the bones, and the brain [1–3]. The analyses of the results show that a single session of strength training is able to modulate some of myokines.

The basal plasma of UTG and TG volunteers shows different levels of apelin (Figure 4(a)), a potent inotropic agent and vasodilator molecule, and this result can indicate that the status training can influence the level of circulating cytokines [61]. The strength training session increases the level of myokines at 2 h and 24 h in TG. This molecule is widely expressed in various organs such as the heart, lung,

kidney, liver, adipose tissue, gastrointestinal tract, brain, adrenal glands, endothelium, and human plasma and is associated with pressure control, cardiac embryogenic development, and differentiation of adipose tissue.

Apelin is important in increasing the strength of cardiac contraction [17] and is also associated with insulin metabolism. BDNF is a neurotrophic factor also produced by skeletal muscle cells. BDNF acts on certain neurons of the central nervous system and the peripheral nervous system, helping to support the survival of existing neurons and encouraging the growth and differentiation of new neurons and synapses. A single session of strength training was able to increase the level of BDNF in TG when comparing the time before and

immediately after the session (Figure 4(b)). The increase in BDNF after exercise has been described and could be associated with the protection to the nervous system against Alzheimer's, Parkinson's, and dementia diseases [1–4].

The fatty acid-binding proteins-3 (FABP3) is a small cytoplasmic protein released from cardiac myocytes following an ischemic episode. These molecules are involved in active fatty acid metabolism, where it transports fatty acids from the cell membrane to mitochondria for oxidation. A single session of strength exercise was able to elevate the plasma level of these molecules in both groups immediately after and 2 h after the end of exercise (Figure 4(c)). Even though there is not much information associating the level of plasma FABP3 and exercise, some papers have shown that the level of FABP is influenced by exercise, PPAR- α agonists, and testosterone and oscillates with a circadian rhythm. In muscle cells, FABP is involved in the uptake of fatty acids and their subsequent transport towards the mitochondrial β -oxidation system [62].

Follistatin-like-1 (FLST1) is a cytokine with diverse actions in the maintenance of cardiac homeostasis and remodeling. Follistatin-like-1 (Fst1) is a secreted glycoprotein expressed in the adult heart and is induced in response to injurious conditions that promote myocardial hypertrophy and heart failure [63]. Here, the basal levels of FLST1 between TG and UTG present a statistical difference (Figure 4(d)). There is research showing that exercise can induce the elevation of FLST1 in circulation, depending on the type of exercise and the status of the group [63]. Here, the single strength training session elevated the plasma concentration of these molecules immediately after the end of exercise, but only in TG. The plasmatic level of osteonectin, that is, glycoprotein, which plays a vital role in bone mineralization, was not changed. The level of IL-15 that is a cytokine, which regulates the activation and proliferation of T and natural killer (NK) cells, was not affected by the single session of strength training.

Together, these results show that the strength training session is enough stimuli to change physiological parameters such as HR, RPE, VAS, and lactate levels. This exercise protocol also induces changes in the counting of white blood cells, especially neutrophils, lymphocytes, and monocytes. In addition, a single session of strength training can modulate some important myokines such as Apelin, FABP3, and FLST1.

5. Conclusion

According to these results, a single session of strength exercise protocol could change the physiological and immunological parameters and stimulate the production and release of important myokines. The acute strength training session induces the elevation of the heart rate, RPE, VAS, lactate, and CK. This protocol also changed the number of white blood cells (neutrophils, lymphocytes, and monocytes) and myokines such as IL-6, BDNF, and FABP3 myokines. In this sense, the strength training session is able to modulate some aspects of immune systems.

5.1. Future Perspectives. There is a straight relationship between exercise and the immune system. Exercise may modulate the immune system response acutely and chronically. Nevertheless, physical exercise also induces the release of myokines in the blood circulation. The physiological function of myokines produced by the skeletal muscle is to protect and improve the functionality of many organs. Furthermore, there is convincing evidence that factors secreted by the skeletal muscle act as endocrine signaling mediators and are involved in the beneficial effects of exercise on almost all cell types and organs. From now on, it is important to discover the role of these molecules in the systems and the organs of the body and investigate the difference between physical exercise protocols in the levels of these myokines.

Data Availability

The data used to support the findings of this study are available from the corresponding author upon request.

Conflicts of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

Acknowledgments

The authors would like to thank the Pilot Laboratory and Clinical Analysis (LAPAC/UFOP). They would also like to especially thank Érica Leandro Marciano Vieira and the Interdisciplinary Laboratory of Medical Investigation (LIST) for all the support in the myokine analysis. André Talvani was supported by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico with the Fellowship of Research Productivity.

References

- [1] B. K. Pedersen and B. Saltin, "Exercise as medicine – evidence for prescribing exercise as therapy in 26 different chronic diseases," *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, vol. 25, pp. 1–72, 2015.
- [2] B. K. Pedersen and M. A. Febbraio, "Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6," *Physiological Reviews*, vol. 88, no. 4, pp. 1379–1406, 2008.
- [3] B. K. Pedersen and M. A. Febbraio, "Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ," *Nature Reviews Endocrinology*, vol. 8, no. 8, pp. 457–465, 2012.
- [4] E. C. Gomes, A. N. Silva, and M. R. d. Oliveira, "Oxidants, antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species," *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol. 2012, Article ID 756132, 12 pages, 2012.
- [5] A. C. Lucas da Nobrega, "The subacute effects of exercise: concept, characteristics, and clinical implications," *Exercise and Sport Sciences Reviews*, vol. 33, no. 2, pp. 84–87, 2005.
- [6] J. M. Peake, K. Nosaka, and K. Suzuki, "Characterization of inflammatory responses to eccentric exercise in humans," *Exercise Immunology Review*, vol. 12, 2006.

- [7] L. L. Smith, "Tissue trauma: the underlying cause of overtraining syndrome?," *Journal of Strength and Conditioning Research*, vol. 18, no. 1, pp. 185–193, 2004.
- [8] J. G. Tidball, "Inflammatory processes in muscle injury and repair," *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, vol. 288, no. 2, pp. R345–R353, 2005.
- [9] C. Smith, M. J. Kruger, R. M. Smith, and K. H. Myburgh, "The inflammatory response to skeletal muscle injury: illuminating complexities," *Sports Medicine*, vol. 38, no. 11, pp. 947–969, 2008.
- [10] K. Cheung, P. A. Hume, and L. Maxwell, "Delayed onset muscle soreness: treatment strategies and performance factors," *Sports Medicine*, vol. 33, no. 2, pp. 145–164, 2003.
- [11] R. J. Bloomer, A. H. Goldfarb, L. Wideman, M. J. McKenzie, and L. A. Consitt, "Effects of acute aerobic and anaerobic exercise on blood markers of oxidative stress," *The Journal of Strength & Conditioning Research*, vol. 19, no. 2, pp. 276–285, 2005.
- [12] R. J. Bloomer, M. J. Falvo, A. C. Fry, B. K. Schilling, W. A. Smith, and C. H. R. I. S. T. O. P. H. E. R. A. MOORE, "Oxidative stress response in trained men following repeated squats or sprints," *Medicine & Science in Sports & Exercise*, vol. 38, no. 8, pp. 1436–1442, 2006.
- [13] R. J. Bloomer, "The role of nutritional supplements in the prevention and treatment of resistance exercise-induced skeletal muscle injury," *Sports Medicine*, vol. 37, no. 6, pp. 519–532, 2007.
- [14] R. J. Bloomer, B. K. Schilling, R. E. Karlage, M. S. Ledoux, R. F. Pfeiffer, and J. Callegari, "Effect of resistance training on blood oxidative stress in Parkinson disease," *Medicine and Science in Sports and Exercise*, vol. 40, no. 8, pp. 1385–1389, 2008.
- [15] W. J. Kraemer and N. A. Ratamess, "Fundamentals of resistance training: progression and exercise prescription," *Medicine & Science in Sports & Exercise*, vol. 36, no. 4, pp. 674–688, 2004.
- [16] M. V. Franchi, N. D. Reeves, and M. V. Narici, "Skeletal muscle remodeling in response to eccentric vs. concentric loading: morphological, molecular, and metabolic adaptations," *Frontiers in Physiology*, vol. 8, 2017.
- [17] Á. Perjés, R. Skoumal, O. Tenhunen et al., "Apelin increases cardiac contractility via protein kinase C α - and extracellular signal-regulated kinase-dependent mechanisms," *PLoS One*, vol. 9, no. 4, article e93473, 2014.
- [18] S. Schnyder and C. Handschin, "Skeletal muscle as an endocrine organ: PGC-1 α , myokines and exercise," *Bone*, vol. 80, pp. 115–125, 2015.
- [19] G. Lammers, F. Poelkens, N. T. L. van Duijnhoven et al., "Expression of genes involved in fatty acid transport and insulin signaling is altered by physical inactivity and exercise training in human skeletal muscle," *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, vol. 303, no. 10, pp. E1245–E1251, 2012.
- [20] F. A. Zouein, L. E. de Castro Bras, D. V. da Costa, M. L. Lindsey, M. Kurdi, and G. W. Booz, "Heart failure with preserved ejection fraction: emerging drug strategies," *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, vol. 62, no. 1, pp. 13–21, 2013.
- [21] E. M. Rosset and A. D. Bradshaw, "SPARC/osteonectin in mineralized tissue," *Matrix Biology*, vol. 52–54, pp. 78–87, 2016.
- [22] A. Rinnov, C. Yfanti, S. Nielsen et al., "Endurance training enhances skeletal muscle interleukin-15 in human male subjects," *Endocrine*, vol. 45, no. 2, pp. 271–278, 2014.
- [23] G. A. V. Borg, "Psychophysical bases of perceived exertion," *Medicine & Science in Sports & Exercise*, vol. 14, no. 5, pp. 377–381, 1982.
- [24] R. J. Robertson, F. L. Goss, J. Rutkowski et al., "Concurrent validation of the OMNI perceived exertion scale for resistance exercise," *Medicine & Science in Sports & Exercise*, vol. 35, no. 2, pp. 333–341, 2003.
- [25] R. C. Wilson and P. W. Jones, "A comparison of the visual analogue scale and modified Borg scale for the measurement of dyspnoea during exercise," *Clinical Science*, vol. 76, no. 3, pp. 277–282, 1989.
- [26] E. S. Cyrino and S. M. Zucas, "Influência da ingestão de carboidratos sobre o desempenho físico," *Revista da educação física/UEM*, vol. 10, no. 1, pp. 73–79, 1999.
- [27] C. P. Lambert, L. L. Frank, and W. J. Evans, "Macronutrient considerations for the sport of bodybuilding," *Sports Medicine*, vol. 34, no. 5, pp. 317–327, 2004.
- [28] A. J. Hernandez and R. M. Nahas, "Diretriz da Sociedade Brasileira de Medicina do Esporte: Modificações dietéticas, reposição hídrica, suplementos alimentares e drogas: comprovação de ação ergogênica e potenciais riscos para a saúde," *Revista Brasileira Medicina do Esporte*, vol. 15, p. 2, 2009.
- [29] E. R. Ziegel, R. Littell, G. Milliken, W. Stroup, and R. Wolfinger, "SAS[®] System for mixed models," *Technometrics*, vol. 39, no. 3, p. 344, 1997.
- [30] K. Hinkelmann and O. Kempthorne, *Design and Analysis of Experiments*, vol. 1, John Wiley & Sons, Hoboken, 2008.
- [31] G. C. Bogdanis, "Effects of physical activity and inactivity on muscle fatigue," *Frontiers in Physiology*, vol. 3, 2012.
- [32] N. P. Walsh, M. Gleeson, R. J. Shephard et al., "Position statement. Part one: immune function and exercise," *Exercise Immunology Review*, vol. 17, pp. 6–63, 2011.
- [33] N. P. Walsh, M. Gleeson, D. B. Pyne et al., "Position statement part two: maintaining immune health," *Exercise Immunology Review*, vol. 17, pp. 64–103, 2011.
- [34] M. W. Kakanis, J. M. Peake, E. W. Breen et al., "The open window of susceptibility to infection after acute exercise in healthy young male elite athletes," *Exercise Immunology Review*, vol. 16, pp. 119–137, 2010.
- [35] R. Tossige-Gomes, K. B. Costa, V. d. O. Ottone, F. d. C. Magalhães, F. T. Amorim, and E. Rocha-Vieira, "Lymphocyte redox imbalance and reduced proliferation after a single session of high intensity interval exercise," *PLoS One*, vol. 11, no. 4, article e0153647, 2016.
- [36] H. Y. Luk, A. L. McKenzie, A. A. Duplanty et al., "Leukocyte subset changes in response to a 164-km road cycle ride in a hot environment," *International Journal of Exercise Science*, vol. 9, no. 1, pp. 34–46, 2016.
- [37] A. Strömberg, E. Rullman, E. Jansson, and T. Gustafsson, "Exercise-induced upregulation of endothelial adhesion molecules in human skeletal muscle and number of circulating cells with remodeling properties," *Journal of Applied Physiology*, vol. 122, no. 5, pp. 1145–1154, 2017.
- [38] J. M. Peake, K. Suzuki, G. Wilson et al., "Exercise-induced muscle damage, plasma cytokines, and markers of neutrophil activation," *Medicine and Science in Sports and Exercise*, vol. 37, no. 5, pp. 737–745, 2005.

- [39] P. R. D. S. Neves, T. R. D. S. Tenório, T. A. Lins et al., "Acute effects of high- and low-intensity exercise bouts on leukocyte counts," *Journal of Exercise Science & Fitness*, vol. 13, no. 1, pp. 24–28, 2015.
- [40] H.-K. Kim, M. Konishi, M. Takahashi et al., "Effects of acute endurance exercise performed in the morning and evening on inflammatory cytokine and metabolic hormone responses," *PLoS One*, vol. 10, no. 9, article e0137567, 2015.
- [41] J. A. Siedlik, J. A. Deckert, S. H. Benedict et al., "T cell activation and proliferation following acute exercise in human subjects is altered by storage conditions and mitogen selection," *Journal of Immunological Methods*, vol. 446, pp. 7–14, 2017.
- [42] A. Nunes-Silva, J. M. Moreira, L. C. Freitas-Lima et al., "Intense aerobic exercise modifies leucocytes number, lymphocyte subpopulation and cytokine levels in peripheral blood," *Gazzetta Medica Italiana Archivio per le Scienze Mediche*, vol. 177, pp. 79–87, 2018.
- [43] V. C. Santos, A. P. R. Sierra, R. Oliveira et al., "Marathon race affects neutrophil surface molecules: role of inflammatory mediators," *PLoS One*, vol. 11, no. 12, article e0166687, 2016.
- [44] A. Žakovská, B. Knechtle, D. Chlibková, M. Miličková, T. Rosemann, and P. T. Nikolaidis, "The effect of a 100-km ultra-marathon under freezing conditions on selected immunological and hematological parameters," *Frontiers in Physiology*, vol. 8, 2017.
- [45] A. Sakelliou, I. G. Fatouros, I. Athanailidis et al., "Evidence of a redox-dependent regulation of immune responses to exercise-induced inflammation," *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol. 2016, Article ID 2840643, 19 pages, 2016.
- [46] V. C. Santos, I. R. Procida, E. A. A. Zicolau et al., "Effect of regular exercise on leukocyte function in young and middle-aged women," *Journal of Exercise Science & Fitness*, vol. 11, no. 2, pp. 57–62, 2013.
- [47] V. M. Natale, I. K. Brenner, A. I. Moldoveanu, P. Vasilios, P. Shek, and R. J. Shephard, "Effects of three different types of exercise on blood leukocyte count during and following exercise," *Revista Paulista de Medicina*, vol. 121, no. 1, pp. 09–14, 2003.
- [48] D. C. Nieman and B. K. Pedersen, "Exercise and immune function," *Sports Medicine*, vol. 27, no. 2, pp. 73–80, 1999.
- [49] A. Nunes-Silva, P. T. T. Bernardes, B. M. Rezende et al., "Treadmill exercise induces neutrophil recruitment into muscle tissue in a reactive oxygen species-dependent manner. An intravital microscopy study," *PLoS One*, vol. 9, no. 5, article e96464, 2014.
- [50] S. J. Forbes and N. Rosenthal, "Preparing the ground for tissue regeneration: from mechanism to therapy," *Nature Medicine*, vol. 20, no. 8, pp. 857–869, 2014.
- [51] J. G. Tidball, "Regulation of muscle growth and regeneration by the immune system," *Nature Reviews Immunology*, vol. 17, no. 3, pp. 165–178, 2017.
- [52] J. Cannon, S. Orencole, R. Fielding et al., "Acute phase response in exercise: interaction of age and vitamin E on neutrophils and muscle enzyme release," *The American Journal of Physiology*, vol. 259, 6 Part 2, pp. R1214–R1219, 1990.
- [53] J. G. Cannon, M. A. Fiatarone, R. A. Fielding, and W. J. Evans, "Aging and stress-induced changes in complement activation and neutrophil mobilization," *Journal of Applied Physiology*, vol. 76, no. 6, pp. 2616–2620, 1994.
- [54] F. X. Pizza, J. B. Mitchell, B. H. Davis, R. D. Starling, R. W. Holtz, and N. Bigelow, "Exercise induced muscle damage: effect on circulating leukocyte and lymphocyte subsets," *Medicine and Science in Sports and Exercise*, vol. 27, no. 3, pp. 363–370, 1995.
- [55] C. Malm, P. Nyberg, M. Engström et al., "Immunological changes in human skeletal muscle and blood after eccentric exercise and multiple biopsies," *The Journal of Physiology*, vol. 529, no. 1, pp. 243–262, 2000.
- [56] F. X. Pizza, B. H. Davis, S. D. Henrickson et al., "Adaptation to eccentric exercise: effect on CD64 and CD11b/CD18 expression," *Journal of Applied Physiology*, vol. 80, no. 1, pp. 47–55, 1996.
- [57] F. Pizza, D. Cavender, A. Stockard, H. Baylies, and A. Beighle, "Anti-inflammatory doses of ibuprofen: effect on neutrophils and exercise-induced muscle injury," *International Journal of Sports Medicine*, vol. 20, no. 2, pp. 98–102, 1999.
- [58] F. X. Pizza, H. Baylies, and J. B. Mitchell, "Adaptation to eccentric exercise: neutrophils and E-selectin during early recovery," *Canadian Journal of Applied Physiology*, vol. 26, no. 3, pp. 245–253, 2001.
- [59] J. M. Saxton, D. Claxton, E. Winter, and A. G. Pockley, "Peripheral blood leucocyte functional responses to acute eccentric exercise in humans are influenced by systemic stress, but not by exercise-induced muscle damage," *Clinical Science*, vol. 104, no. 1, pp. 69–77, 2003.
- [60] J. M. Peake, P. Della Gatta, K. Suzuki, and D. C. Nieman, "Cytokine expression and secretion by skeletal muscle cells: regulatory mechanisms and exercise effects," *Exercise Immunology Review*, vol. 21, pp. 8–25, 2015.
- [61] A. I. Moldoveanu, R. J. Shephard, and P. N. Shek, "The cytokine response to physical activity and training," *Sports Medicine*, vol. 31, no. 2, pp. 115–144, 2001.
- [62] M. Furuhashi and G. S. Hotamisligil, "Fatty acid-binding proteins: role in metabolic diseases and potential as drug targets," *Nature Reviews Drug Discovery*, vol. 7, no. 6, pp. 489–503, 2008.
- [63] J. Nam, P. Perera, R. Gordon et al., "Follistatin-like 3 is a mediator of exercise-driven bone formation and strengthening," *Bone*, vol. 78, pp. 62–70, 2015.

