

LEONARDO COSTA PEREIRA

A Influência do Treinamento Excêntrico nos Níveis Séricos de IL-6 e no Polimorfismo -174C/G da IL-6.

Brasília, 2013



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE *EDITAL Nº*
01/2011

LEONARDO COSTA PEREIRA

A Influência do Treinamento Excêntrico nos Níveis Séricos de IL-6 e no Polimorfismo -174C/G da IL-6.

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Orientadora
Prfa. Dra. Margô Gomes de Oliveira Karnikowski

Brasília, 2013

LEONARDO COSTA PEREIRA

A Influência do Treinamento Excêntrico nos Níveis Séricos de IL-6 e no Polimorfismo -174C/G da IL-6.

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Aprovado em: _____/_____/2013.

Banca Examinadora

Prfa. Dra. MARGÔ GOMES DE OLIVEIRA KARNIKOWSKI (Presidente)
Universidade de Brasília – UnB
Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Prof. Dr. JOÃO PAULO CHIEREGATO MATHEUS
Universidade de Brasília – UnB
Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Profra. Dra. JAMILA REIS DE OLIVEIRA
Universidade de Brasília – UnB
Programa de Graduação da Universidade de Brasília – FCE

Dedico esta dissertação aos meus pais que me deram muito apoio nos momentos mais difíceis da minha vida, a meu filho que nos momentos tristes me alegrou, a minha esposa que sempre foi compreensiva e companheira, a meu irmão e amigos que não mediram esforços para me ajudar, a minha orientadora e colegas que me ensinaram que por mais que achamos que o nosso conhecimento já está bem profundo, estamos enganado pois o conhecimento é algo que está sempre a se renovar, a todos os idosos, que colaboram e constroem um futuro melhor. Obrigado por tudo!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por iluminar meu caminho e minhas escolhas.

Aos meus pais, José Pereira Sobrinho e Penha Maria Costa Pereira, meus irmãos, Carla Auxiliadora Costa Pereira, Claudia Costa Pereira e Eduardo Costa, minha esposa, Tatiane Moreira dos Santos Menezes, meu filho Lucas Moreira Costa, toda minha família, e amigos que, com muito carinho e apoio, me acompanhou para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

Aos amigos, Alexandre Barboza Pires, Debora Tavares e Alex de Almeida Jerônimo pela parceria e apoio para organização e execução das coletas.

À ProfªDraª Margô Gomes de Oliveira Karnikowski pela paciência na orientação e incentivo que tornaram possível a conclusão desta dissertação.

Às instituições, Universidade Católica de Brasília- UCB, Serviço Social do Comercio- SESC/DF e a Associação dos Servidores da Polícia Federal do Distrito Federal-DIREF, que apoiaram de forma direta ao desenvolvimento da pesquisa.

Aos idosos, que cederam um pouco do seu tempo para realizarem exames muitas vezes dolorosos e cansativos.

Aos amigos e colegas, pelo incentivo e pelo apoio constantes.

‘Tem gente que escreve por ego, ou só pra fazer firula, meu texto é simples, sincero, é tinta que sai da medula, eu chuto as palavras pra fora e elas que vem me buscar num jogo de bola e gandula...’

Gabriel o Pensador

RESUMO

Introdução: Com o crescente envelhecimento da população brasileira estratégias que possam contribuir para a manutenção da saúde desse grupo etário são de suma relevância. Assim, estudos que abordam a prática de treino físico e a influencia genética sobre as respostas geradas no organismo de idosos vêm sendo desenvolvidos. **Objetivo:** A presente pesquisa teve por objetivo avaliar a relação do polimorfismo do gene promotor -174 C/G da IL-6 sobre as respostas da IL-6 sistêmica e dano muscular após treinamento de força excêntrico em homens idosos. **Metodologia:** Foram determinados os níveis de CK e de IL-6 nos momento pré, 0 h, 3 h, 24 h, 48 horas pós treino excêntrico para homens idosos. Foram identificadas as frequências genicas do polimorfismo do gene promotor IL6 G-174C e foram analisadas as possíveis relações genéticas com os níveis séricos da IL-6 e CK nos diferentes momentos. Para determinação da frequência genotípica foi empregado o teste de Hardy-Weinberg. Para efeito de análise estatística os sujeitos foram divididos em dois grupos genotípicos GG e CC/CG. Os dados contínuos foram expressos em média e erro padrão. Para comparar as medidas de CK e IL-6 foi utilizada ANOVA. As correlações entre o polimorfismo do gene promotor -174 C/G da IL-6 e os resultados de CK, IL-6, lipidograma, idade, altura e composição corporal foram determinadas pelo teste T independente. **Resultados:** Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos genotípicos e as variáveis antropométricas ($p>0,05$), perfil lipídico ($p>0,05$) e CK em todos os momentos ($p>0,05$). Foram verificadas diferenças entre os níveis de IL-6 basais e pós treino para todos os momentos entre os grupos ($p=0,029$). **Conclusão:** O treino excêntrico influenciou na modulação de CK e IL-6 independentemente do Polimorfismo do gene promotor -174 C/G da IL-6.

Palavras chaves: Treino excêntrico, homens idosos, IL-6, CK

ABSTRACT

Introduction: With the increasing aging of the Brazilian population, strategies that may contribute to the maintenance of the health of this age group are of supreme importance. Studies what approach the practice of physical training and the genetic influence on the responses generated in the body of the elderly are being developed.

Objective: The present research purposed to assess the relationship between polymorphism of the gene promoter -174 C/G from IL-6 about the replies of systemic IL-6 and muscle damage after eccentric strength training in elderly men.

Methodology: Were determined the CK and the IL-6 levels in pre moment, 0 h, 3 h, 24 h, 48 hours after eccentric training in elderly men. Were identified the gene frequencies of polymorphism of promoter gene IL6 G-174C and were analyzed the possible genetic relationships with serum levels of IL-6 and CK in different moments. For determination of the genotype frequency was employed the test of Hardy-Weinberg. For the purpose of statistical analysis the subjects were divided into two genotypic groups GG and CC/CG. Continuous data were expressed as average and standard error. To compare the measures of CK and IL-6 it was used ANOVA. The correlations between the polymorphism of the gene promoter -174 C/G of IL-6 and the results of CK, IL-6, lipidogram, age, height and body composition were determined by independent T test. **Results:** No significant differences were found between the genotypic groups and anthropometric variables ($p>0,05$), lipid profile ($p>0,05$) and CK in every moment ($p>0,05$). Differences were found between the levels of IL-6 basal and after training for all moments about the groups ($p=0,029$). **Conclusion:** The eccentric training was influenced in the modulation of CK and IL-6 independently of polymorphism of the gene promoter -174 C/G from IL-6.

Key Word: Eccentric exercise, elderly man, IL-6, CK

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Pirâmide etária da população brasileira referente ao censo realizado no ano de 2010.	16
Figura 2. Representação do dano muscular pré e pós ação excêntrica.	17
Figura 3. Imagem microscópica das estruturas do músculo esquelético.	20
Figura 4. Principal mecanismo de ação da IL-6	24
Figura 5. Fluxograma cronológico do experimento.	29
Figura 6. Foto gel de agarose extração de DNA sangue total, de 16 sujeitos.	32
Figura 7. Foto gel de agarose PCR, para 13 sujeitos.	32
Figura 8. Foto sequenciamento, presença genótipo G/G.	33
Figura 9. Foto sequenciamento, presença genótipo G/C.	33
Figura 10. Foto sequenciamento, presença genótipo C/C.	34
Figura 11. Esquema de representação da tensão ativa	35
Figura 12. Atividade creatino-quinase (CK) atividade em resposta ao treino excêntrico para população estudada. * Diferença significativa para pré-treino, 0 h, 3 h e 48 h pós treino; # Diferença significativa para pré-treino, 0 h, 3 h e 24 h pós treino ($p \leq 0.05$).	40
Figura 13. Atividade Interleucina 6 (IL-6) em resposta ao treino excêntrico para os grupos de genótipos de GG e GC/CC. * Diferença significativa para o Grupo GC/CC ($p \leq 0.05$).	41
Figura 14. Ativação da força durante as 10 séries do exercício excêntrico. * Diferença significativa em relação à Série 1 ($p \leq 0,05$).	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Frequência alélica para o genótipo de IL-6 e caracterização dos grupos.	38
Tabela 2 - Características Físicas para os sujeitos e Genótipos (media \pm DV).	39
Tabela 3 - Ação de Creatina quinase (CK) interleucina 6 (IL-6) para os grupos genótipos de IL-6 na linha de base, pico e área sob a curva (AUC) durante 48h.	40
Tabela 4 - Pico de força (N-M) durante as 10 séries diferenças entre os grupos.	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACSM - American College of Sport Medicine

AUC - Area Under the Curve

BIA - Bioelectrical Impedance Analysis
COLt - Colesterol Total
CK - Creatina Quinase
DP - Desvio Padrão
DCNT - Doenças Crônicas Não Transmissíveis
ELISA - Enzyme Linked Immunosorbent assays
TNF - Fator de Necrose Tumoral Alfa
HDL- High Densit Lipoprotein
HUB - Hospital Universitário de Brasília
IL-6 - Interleucina 6
IL-1 Interleucina um Beta
IPAQ - International Physical Activit Questionnare
LDL - Low Densit Lipoprotein
PCR - Proteína C Reativa
SAT - Signal Transcerand Activators of Transcription
SUS - Sistema Único de Saúde
TF - Treino de Força
TGL - Triglicerídeos Livres
1RM - Uma Repetição Máxima
UCB - Universidade Católica de Brasília
VLDL - Very Low Densit Lipoprotein
C - Citosina
G - Guanina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
1.1 ENVELHECIMENTO	15
1.2 TREINO EXCÊNTRICO E SEUS EFEITOS NA MANUTENÇÃO DA SAÚDE DO IDOSO	18
1.3 CITOCINA INTERLEUCINA-6: MARCADOR DE INFLAMAÇÃO SENIL	22
1.4 POLIMORFISMO DA IL-6: INFLUÊNCIA NO TREINO FÍSICO	25
2. OBJETIVOS	27
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
3. MÉTODOS	28
3.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA	28
3.2 PROCEDIMENTOS	29
Figura 5. Fluxograma cronológico do experimento	29
3.3 COLETA DE SANGUE	29
3.4 DOSAGEM SÉRICA DE CK	30
3.6 EXTRAÇÃO DE DNA	31
3.7 DETERMINAÇÃO DO GENÓTIPO E DIVISÃO DOS GRUPOS PARA ANÁLISE ESTÁTISTICA	31
3.8 DOSAGEM DE IL-6	34
3.9 EXERCÍCIO EXCÊNTRICO	34
3.10 AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CORPORAL BIOIMPEDÂNCIA ELÉTRICA (BIA- <i>Bioelectrical Impedance Analysis</i>)	35
3.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA	36
3.12 COMITE DE ÉTICA	37
4. RESULTADOS	38
5. DISCUSSÃO	44
6. CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS	48
ANEXOS	55
ANEXO 1. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	55
ANEXO 2. IPAQ VERSÃO LONGA	56
ANEXO 3. ARTIGO SUBMETIDO	64
ANEXO 4. UTILIZAÇÃO DO KIT QIAGEN	64

1. INTRODUÇÃO

1.1 ENVELHECIMENTO

Nos últimos anos vem ocorrendo vários avanços científicos no que se refere ao envelhecimento humano, no entanto não existe consenso no mundo científico quanto a um delineamento cronológico que caracterize o idoso. A discussão que permeia a idade cronológica enquanto parâmetro para se definir o início da velhice vem sendo questionada, e no olhar demográfico, a velhice está focalizada, prioritariamente, pelos limites numéricos (32; 39; 52).

A área de saúde, as instituições assistenciais, culturais e burocráticas, pública e privadas estabelecem números, que variam de 60 a 65 anos, para caracterizar a velhice. De acordo com a Organização Mundial da Saúde - OMS esta idade é fixada em 60 anos para países em desenvolvimento e 65 anos em países desenvolvidos, classificação que busca vislumbrar a situação econômica e social de cada país (21). No Brasil, conforme dispõe o Estatuto do Idoso, um indivíduo é considerado velho a partir dos 60 anos (48).

O aumento do número de idosos ocorre em escala global e no Brasil o crescimento da população idosa se dá de forma acelerada (5; 54; 18). Todo ano, 650 mil novos idosos são incorporados à população brasileira (5; 21; 54). As projeções mais conservadoras indicam que, em 2020, seremos o sexto país do mundo em número de idosos, superando os 30 milhões de indivíduos nessa faixa etária. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), existem atualmente 20 milhões de idosos no país o que corresponde a 10,7% da população brasileira (22). Deste contingente de 5% são do sexo masculino (Figura 1).

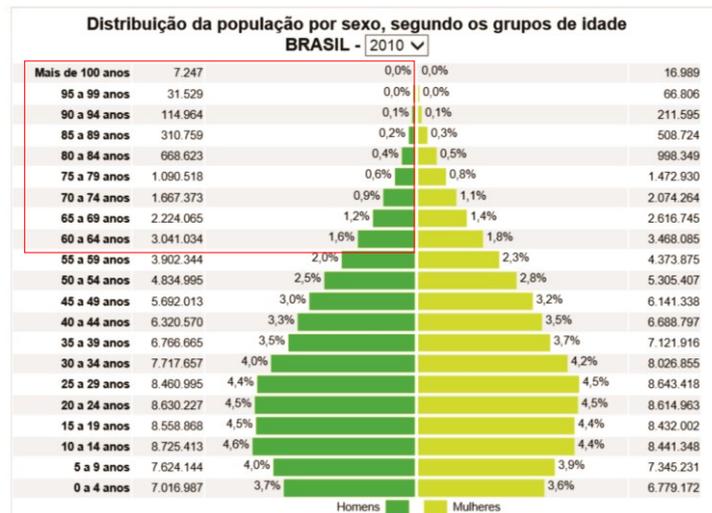


Figura 1. Pirâmide etária da população brasileira referente ao censo realizado no ano de 2010. Fonte: Demográfico IC. Disponível em: <www. ibge. gov.br>. Acesso em. 2012.

Apesar do envelhecimento populacional se constituir em realidade no Brasil, o conhecimento das condições de saúde dos idosos no país e seus impactos biopsico sociais e econômicos, a médio e longo prazo, ainda necessitam ser melhores descritos. No entanto, se verifica que grande parte da população idosa é portadora de Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT), algumas das quais vem associadas a limitações funcionais (19). Em menos de 40 anos, passamos de um cenário de mortalidade próprio de uma população jovem para um quadro de enfermidades complexas e onerosas, típicas de uma população envelhecida, caracterizado por DCNT e múltiplas, que perduram por anos, com exigência de cuidados constantes, medicações contínuas e exames periódicos (54). A mudança de paradigma causada pela transição demográfica nos remete, portanto, a uma transição igualmente relevante que é a epidemiológica. Neste sentido, o perfil de doenças que atingem a população brasileira modificou-se nos evidenciando um cenário misto de DCNT e infecto-contagiosas ocorrendo simultaneamente.

A ampliação do número de idosos está diretamente relacionada à saúde, pois gera uma maior demanda para o sistema único de saúde (SUS) e para a assistência social (21; 62).

Considerando todos os aspectos mencionados acredita-se que a velhice é difícil de ser definida, principalmente quando se almeja uma definição que não se restrinja a perdas fisiológicas. Envelhecimento saudável, desejado para todos e por todos, deve ser compreendido em sua totalidade, e em suas múltiplas dimensões, visto que se constitui em um momento do processo biológico, mas não deixa de ser um fato social e cultural (18). A prevenção e a manutenção da saúde do idoso estão a cargo principalmente do SUS, e no que se refere aos homens idosos vem sendo abordada pela Portaria nº 1.944, de 27 de agosto de 2009, a qual por meio Política Nacional De Atenção Integral À Saúde Do Homem desenvolve ações que visam um envelhecimento saudável e ativo. O nível de autonomia e a preservação da independência do idoso relacionam-se com a manutenção da capacidade funcional, que se encontra influenciada pelas modificações geradas pelo processo de envelhecimento. Dentre estas modificações destacam-se as expressivas alterações sobre as funções do músculo esquelético e nas respostas inflamatórias (19). Cabe ressaltar que, apesar da perda de massa magra e de força advindas do envelhecimento, há uma relativa capacidade de preservação do músculo em gerar força excêntrica (9). As ações excêntricas promovem o aumento da força e massa muscular e geram resposta inflamatória, dependendo do método de exercício excêntrico aplicado (Figura 2) (12).

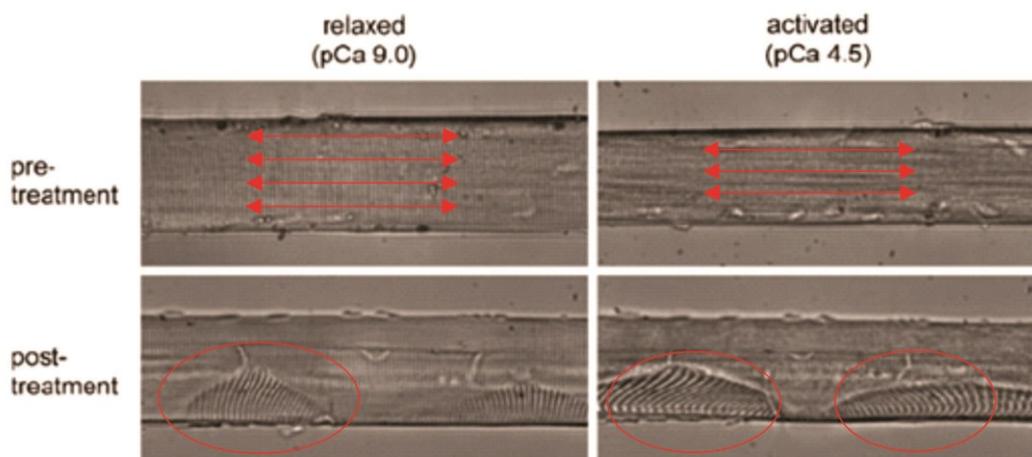


Figura 2. Representação do dano muscular pré e pós ação excêntrica.
Fonte: Choi, *et al*, 2012.

Do ponto de vista biológico, o envelhecimento caracteriza-se pelas mudanças morfológicas e funcionais resultantes das transformações a que o organismo se

submete ao longo da vida, porém nem toda mudança que ocorre em nosso organismo está fundamentalmente ligada à idade por si só. Faz-se necessário incluir outros fatores que contribuem para essas mudanças no organismo, como os ambientais, radicais livres, alterações imunológicas, alimentação e atividade física (19; 18).

Não é novidade que o fenômeno de imunosenescência compreende uma série de modificações. Sistemas orgânicos que sofrem com esse processo, destaca-se o sistema imunológico, cuja resposta das funções são diminuídas ao longo do tempo, recorrente de alterações na tolerância imunológica, como mudanças nas subpopulações celulares e níveis de síntese de citocinas (21), levando a uma maior vulnerabilidade à doenças e infecções, incluindo um aumento da atividade inflamatória basal, definido como *inflammaging* e/ou inflamação senil, o qual pode encontrar-se associado com maior incidência de eventos crônicos não transmissíveis, tais como doenças cardiovasculares (52), osteoporose (50), *Diabetes mellitus* (51) e caquexia geriátrica na vida tardia (1), dentre outros.

A prática regular de exercícios físicos durante todo o ciclo da vida vem sendo cada vez mais estimulada enquanto estratégia de busca de um envelhecimento saudável (9; 12; 14). Sendo assim, surgem questões relacionadas a quais protocolos e modalidades de exercícios físicos devem ser prescritos para indivíduos idosos. Neste quesito há de se considerar as diferentes respostas inflamatórias advindas não somente do tipo, da intensidade, volume e frequência de treino como das especificidades de cada gênero (12; 26; 35).

1.2 TREINO EXCÊNTRICO E SEUS EFEITOS NA MANUTENÇÃO DA SAÚDE DO IDOSO

Tanto as atividades da vida diária quanto o treinamento esportivo produzem adaptações estruturais e funcionais no músculo esquelético (15). O músculo esquelético humano possui a capacidade de exercer tensões distintas em resposta à imposição de resistências externas. A consequência frente a tais resistências pode

ser a geração de um torque sobre os ossos, as articulações que levam a produção ou não de movimento, de modo a suportar a sobrecarga imposta. Essa relação entre resistência externa e torque leva a diferenciação do que se denomina de ações musculares (37). Na respectiva ação muscular dinâmica ocorrem duas fases sendo descritas como concêntrica e excêntrica. A fase concêntrica é caracterizada pelo encurtamento muscular ou aproximação da origem e inserção muscular associada à fase em que a resistência externa é superada pela ação do músculo. Já a etapa excêntrica é caracterizada pelo alongamento das fibras musculares ou quando a origem se afasta da inserção, sendo que a resistência externa vence a muscular (33; 47).

Portanto, durante a ação concêntrica a fibra muscular é encurtada através da força gerada pelas pontes cruzadas (26), enquanto que na fase excêntrica, a capacidade muscular elástica induz ao seu alongamento com diminuição do recrutamento de pontes cruzadas. Por isso, a literatura frequentemente refere-se às ações excêntricas como uma situação de alongamento ativo dos sarcômeros (30; 37).

Na fase excêntrica os sarcômeros sofrem diversas alterações no seu comprimento em decorrência das ações musculares realizadas, o que causa uma modificação na sobreposição dos miofilamentos e na quantidade de pontes cruzadas ativas em paralelo (12; 34; 37). Durante esse processo de contração muscular, podem ocorrer danos nas estruturas musculares resultando no rompimento das membranas, sarcolema, túbulos T, miofibrilas, das cabeças de miosina, dos filamentos de actina e das próprias linhas Z, considerado o ponto frágil dessa estrutura, por meio do alto grau de sobrecarga imposto ao sarcômero, principalmente nas ações excêntricas (Figura 3). O dano gerado pode ser potencializado com a maior velocidade de execução das ações excêntricas associadas ao nível de aptidão em que o indivíduo se encontra (34).

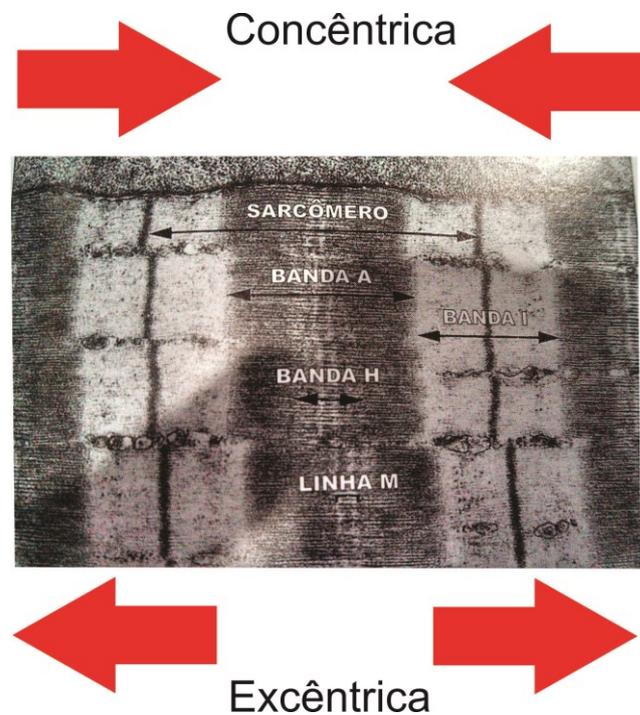


Figura 3. Imagem microscópica das estruturas do músculo esquelético.
Fonte: Robergs & Roberts, 2002.

Diversos grupos de pesquisa têm procurado analisar respostas adaptativas frente a protocolos de treino onde as ações excêntricas são executadas com diferentes metodologias (12; 14; 30; 37; 47; 53; 58). Dentre esses grupos, particularmente o de Smith e colaboradores (2000) pioneiro ao destacar que o teste de uma repetição máxima (1RM) clássico, muito utilizado para avaliação da magnitude de força, reflete apenas a máxima força que pode ser gerada durante uma ação muscular concêntrica. Sendo assim, não representa de forma fidedigna a magnitude de força gerada na fase excêntrica.

Nesse contexto, Hollander e colaboradores (2007) mostraram uma diferença de 20 a 60% a mais na força gerada nas ações excêntricas em relação às concêntricas, em exercícios frequentemente utilizados na prática do treinamento de força. Portanto, se faz necessário reconhecer estas diferenças no momento de se estipular a carga máxima para a fase excêntrica por meio do teste de 1RM.

Entretanto, o exercício excêntrico é um importante recurso na recuperação e prevenção de lesão do sistema musculoesquelético (17) devido ao fortalecimento do tecido muscular, e conectivo (30), além de adaptações neurais (33).

Quando se fala em adaptações geradas pelo treino excêntrico, devemos imaginar a aplicabilidade desse método para diversos públicos. A redução do número e tamanho das fibras musculares, especialmente do tipo II, parece ser a maior razão para a redução da massa muscular durante o envelhecimento. Como consequência, observam-se alterações fisiológicas como: desinervação, disfunção mitocondrial, inflamação do tecido muscular, alterações hormonais, desordens metabólicas, diminuição do consumo de oxigênio, perda da mobilidade e função muscular, aumento da fadiga muscular e fraturas esqueléticas, bem como aumento do risco de quedas (9).

Neste contexto de envelhecimento humano, uma das intervenções terapêuticas que vem sendo sugerida é a prática regular de exercícios a qual poderia contribuir na prevenção do aumento dos marcadores sistêmicos de inflamação e dos processos crônicos não transmissíveis associados ao envelhecimento (12; 15). No entanto, com relação aos marcadores inflamatórios, os estudos são controversos e variam conforme o protocolo de treinamento utilizado (17; 23; 56).

O *American College of Sports Medicine (ACSM)* em seu posicionamento de 1998 sobre atividade física e saúde pública acrescentou à prática do treinamento de força (TF), reconhecendo a importante contribuição do TF para o controle de DCNT e manutenção da autonomia, uma vez que mantém a funcionalidade e a força muscular, inclusive em idosos. Um dos benefícios do TF é a manutenção do tecido muscular esquelético, o qual auxilia na manutenção da postura, locomoção, produção de calor, entre outras (9; 44). Neste sentido, o treinamento que vem sendo recomendado para idosos é o treinamento de hipertrofia com intensidade de 60-80% de uma repetição máxima (1RM) ou mesmo 6-12RM (1). Por conseguinte, o treinamento de força excêntrico promove maiores respostas de dano muscular, caracterizado por elevações da creatina quinase plasmática, mioglobina, entre outros marcadores, do que os treinamentos convencionais, o que pode acelerar o processo de ganho muscular (12; 30; 67).

Não existe consenso sobre a influência do treinamento de força nas concentrações de marcadores inflamatórios tais como a IL-6, tão pouco sobre a

influência do polimorfismo da IL-6 sobre as concentrações de marcadores inflamatórios e dano muscular em indivíduos saudáveis e idosos, em especial para a população masculina (14; 17; 35; 36; 37; 51).

1.3 CITOCINA INTERLEUCINA-6: MARCADOR DE INFLAMAÇÃO SENIL

Vários marcadores sanguíneos são utilizados como indicadores de inflamação sistêmica, incluindo a interleucina 6 (IL-6), Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α), interleucina 1-beta (IL-1 β), resistina, leptina e proteína C reativa (PCR) (14; 51; 65).

A IL-6 é uma citocina com características estruturais pertencente à família da hematopoietina, e com massa molecular inferior a 30 kDa (64). Tem a sua síntese a partir de linfócitos T e macrófagos, podendo também ser produzida a partir do tecido adiposo e muscular (4; 64). Em seres humanos, encontra-se IL-6 sendo ainda produzida a partir das células endoteliais vasculares, fibroblastos e outras células em resposta a IL-1 β e ao TNF- α (51; 61).

Quanto à função que desempenha nos organismos vivos é caracterizada como uma proteína com atividade pleiotrópica e multifuncional. Participa da homeostase dos sistemas neuro-endócrino e imunitário por desempenhar importantes papéis nas reações de fase aguda, na resposta ao estresse e no equilíbrio entre as vias pró-inflamatória e anti-inflamatória (4; 14).

Sabe-se que uma das propriedades das citocinas, de maneira geral, é o fato de se ligarem a receptores específicos nas membranas das células-alvo, desencadeando as vias de transdução de sinais, permitindo assim a expressão do gene nas células-alvo (4; 64). Desta forma para a IL-6 pode desencadear a realização de suas funções nos diferentes tipos celulares, é necessário um complexo receptor (IL-6/IL-6R). Este consiste na associação de uma glicoproteína ligante denominada gp80 com outra sinalizadora, denominada gp130. O complexo formado ao se ligar à proteína gp80 interage, nas células-alvo, com pelo menos uma molécula da proteína gp130 da membrana celular e desta forma desencadeia processos intracelulares de crescimento e diferenciação (4). O complexo receptor da IL-6 usa a enzima tirosina-quinase, cuja fosforilação é responsável por ativar as

proteínas *Signal Transducer and Activator of Transcription* (STAT) do citoplasma que, quando ativadas, participam do controle genético. Uma vez ativados, os complexos translocam-se para o núcleo celular onde reconhecem sítios das regiões promotoras dos seus genes-alvo. Estes sítios, em geral, encontram-se bastante próximos a sítios de ligação de outros fatores de transcrição, o que sugere uma ação combinada desses fatores na regulação genética (4; 31;64).

Como exemplificação de sua influência na resposta de fase aguda, pode-se ressaltar sua ação promotora da síntese de proteínas plasmáticas, como o fibrinogênio, em hepatócitos. Ademais, IL-6 age isoladamente ou de forma auxiliar, na proliferação, diferenciação, crescimento e atividade de diferentes tipos celulares tais como, células mielóides, megacariócitos, osteoclastos, células neurais e hepatócitos (4;27;61; 64). Pode funcionar também como um fator de crescimento para as células B durante o processo de diferenciação desses linfócitos. Similarmente, pode agir como fator de crescimento para algumas células plasmáticas malignas que crescem independentemente e secretam IL-6 como um fator de crescimento autócrino (36; 64).

Na atualidade, a literatura científica comporta evidências de associação dos níveis de IL-6 com entidades clínicas que representam agravos à saúde característicos do envelhecimento, tais como: perda de massa corporal magra, anemia, osteopenia, diminuição da albumina sérica e aumento de proteínas inflamatórias (PCR e Amilóide A) (14). No que se refere ao perfil de morbidades prevalentes e impactantes para a saúde na velhice, cabe ressaltar trabalhos que apontam para um maior nível sérico de IL-6 entre idosos com desordens linfoproliferativas, mieloma múltiplo, doenças de Alzheimer e osteoporose (25; 1), bem como aqueles estudos que associam IL-6 com maior declínio funcional e mortalidade acentuada do indivíduo (29; 28; 36).

Sendo assim, dentre os principais mediadores da inflamação senil, destaca-se a IL-6, que exibe papel central no processo inflamatório e prognóstico negativo de várias doenças associadas ao envelhecimento, em especial em indivíduos sedentários (Figura 4) (14; 25; 1).

No entanto, sabe-se que os níveis séricos de IL-6 também se modificam durante e após o exercício físico de diferentes modalidades e intensidades e que a IL-6 quando produzida pelo músculo por estímulo do exercício físico parece exercer

um papel benéfico ao organismo e também auxilia na recuperação muscular por meio da ativação das células satélites (9; 14; 15; 17).

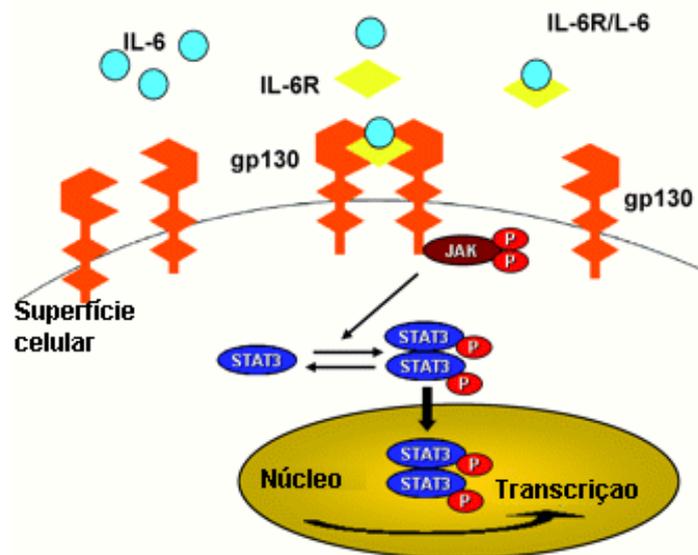


Figura 4. Principal mecanismo de ação da IL-6
 Fonte: Adaptado de Ahmed, *et al*, 2000.

Já se passaram anos desde os primeiros estudos a fim de analisar a ação do exercício físico e as possíveis respostas séricas de citocinas (28; 65). Através das análises desses estudos, notou-se que o exercício relacionado com a IL-6 desencadeia um efeito anti-inflamatório mediado pela Interleucina 1RA (IL-1RA) e interleucina 10 (IL-10), o que pode reduzir a síntese do TNF- α (31; 35).

O treinamento físico regular reduz o nível de IL-6 em repouso e estimula a liberação de citocinas anti-inflamatórias, tais como IL-1RA e IL-10, constituindo assim um mecanismo plausível dos efeitos benéficos da exercício na prevenção de doença cardiovascular (14; 20; 23; 65).

A IL-6 combinada a exercícios físicos está também envolvida com indução de proliferação de células satélites, as quais são células quiescentes precursoras de novos miotubos, que auxiliam na regeneração e hipertrofia

muscular (23; 41; 49). Além disso, participa do estímulo e manutenção do aumento da concentração de cálcio intracelular, o qual é componente crucial para a resposta adaptativa do tecido muscular esquelético ao exercício (12; 23).

1.4 POLIMORFISMO DA IL-6: INFLUÊNCIA NO TREINO FÍSICO

Na atualidade, acredita-se que determinados polimorfismos do gene de IL-6 estão associados a uma maior produção deste mediador inflamatório, sendo a sua produção geneticamente influenciada e dependente da idade e do gênero (31). As diferenças existentes na expressão da IL-6, entre indivíduos, podem ser resultado dos polimorfismos que ocorrem na região promotora do gene da IL-6 (65). Sugere-se então que essas variações genéticas possam ao menos em parte explicar a suscetibilidade às doenças e as diferentes respostas apresentadas aos exercícios físicos, uma vez que podem vir acompanhadas pelo aumento dos níveis séricos de IL-6 (42)

A literatura apresenta controvérsias no que diz respeito à relação do polimorfismo com os aumentos séricos desta proteína frente ao treinamento resistido ou não. Existem estudos que indicam a presença dessa associação entre o polimorfismo – 174C/G e o aumento da IL-6 sérica pós sessão de treino (42; 65). Por outro lado, existem estudos que não identificaram essa relação em seus resultados (24; 46).

O polimorfismo do gene da IL-6 vem sendo estudado e associado com a resposta aguda e crônica frente a várias metodologias de treinamento físico, sendo o polimorfismo de nucleotídeo único *single nucleotide polymorphism* (SNP) na posição -174 o principal foco das pesquisas (24; 46; 42;51; 65). Acredita-se que essa mudança de bases G→C na posição –174 afeta a transcrição do gene, podendo alterar os níveis plasmáticos da IL-6 (24; 51), com significado relevante na resposta ao treino físico.

Há estudos encontrados na literatura que relacionam o polimorfismo na posição -174 C/G da região promotora da IL-6 com alterações nos níveis séricos

dessa citocina em respostas ao treinamento físico de diversas modalidades (24; 46; 42; 65).

Além disso, pesquisas que não envolvem treino físico demonstram um aumento nos índices de IL-6 associado a homozigoto -174GG comparado ao homozigoto -174CC, enquanto outros encontraram dosagens mais elevadas dessa citocina para a homozigose CC (6; 19; 25).

Contudo, os resultados dos estudos em relação à atividade e aos efeitos dos polimorfismos sobre os índices plasmáticos desse mediador e a resposta ao treino físico excêntrico necessitam de esclarecimento, especialmente em homens idosos, partindo daí a motivação do estudo.

2. OBJETIVOS

Avaliar a relação do polimorfismo do gene promotor -174 C/G da IL-6 sobre as respostas da IL-6 sistêmica e dano muscular após treinamento de força excêntrico em homens idosos.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a frequência dos genótipos produzidos pelo polimorfismo C/G da posição -174 da região promotora do gene para IL-6 em homens idosos;
- Investigar as possíveis correlações da idade, das medidas antropométricas, perfil lipídico, níveis de IL-6 e magnitude de força com os diferentes genótipos do polimorfismo C/G da posição -174 da região promotora do gene para IL-6;
- Determinar os níveis séricos da IL-6 antes e após o treinamento de força excêntrico na população alvo do estudo.
- Determinar os níveis séricos de CK antes e após o treinamento de força excêntrico na população alvo do estudo.

3. MÉTODOS

A presente pesquisa foi realizada com caráter experimental e natureza quantitativa, com manipulação de amostra humana. As variáveis independentes serão o modelo de treinamento excêntrico de alto dano e o polimorfismo do gene promotor -174 C/G da IL-6 e as variáveis dependentes serão as concentrações plasmáticas de IL-6, creatina quinase (CK), composição corporal, força isométrica e excêntrica e lipidograma.

3.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

Todos os idosos foram convidados a participarem do estudo por meio de palestra explicativa e após leitura e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. Para a determinação do nível de atividade física, realizou-se a aplicação do *International Physical Activity Questionnaire* (IPAQ), versão completa. Foram incluídos na amostra inicial 46 indivíduos do sexo masculino, com 60 anos ou mais, ativos fisicamente.

Fora excluídos da amostra aqueles que apresentaram alteração nos níveis pressóricos (n=3), manifestações de doenças cardiovasculares ou pulmonares (n=2), alterações ortopédicas, uso de medicamentos beta-bloqueadores (n=6), que não realizarem os exames de avaliação do estado de saúde (n=3) e que não obtiveram a classificação de ativos fisicamente segundo as orientações de Marsahl e Baumann (2001)(n=0), totalizando 14 exclusões e que não realizaram todas as coletas de sangue (pré, imediatamente após (0h), 3h, 24h e 48h) (n=4). Sendo assim

os 28 indivíduos completaram todas as etapas do experimento e constituíram a amostra final.

3.2 PROCEDIMENTOS

O desenvolvimento da pesquisa ocorreu em blocos, onde 50 idosos foram contatados por telefone e quatro declinaram ao convite. Houve quatro encontros após o contato, onde neles ocorreram os procedimentos diversos necessários em nosso experimento, assim como descrito e representado na figura 5.

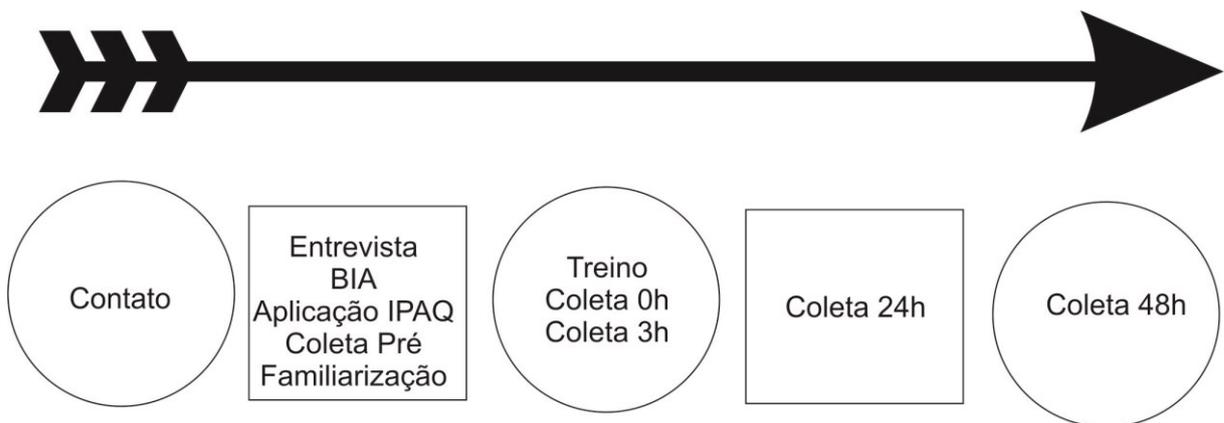


Figura 5. Fluxograma cronológico do experimento.

3.3 COLETA DE SANGUE

A coleta foi realizada por profissional habilitado vinculado a um laboratório da região e nas condições de higiene exigidas pelos órgãos públicos responsáveis.

Foram coletados no momento pré-treino 1 tubo *Ethylene diamine tetra acetic acid* (EDTA) de 4ml da tampa roxa, 2 tubos com gel separador de 4ml da tampa vermelha e amarelo, 1 tubo de 9ml da tampa vermelha, totalizando

aproximadamente 20ml de sangue total. Para cada momento pós-treinos 0h, 3h, 24h e 48h, utilizou-se 1 tubo de 9ml da tampa vermelha e 1 tubo com gel separador de 4ml da tampa vermelha e amarelo. Todos os tubos utilizados eram da marca *Vacutainer*, e as agulhas *Greiner Bio-One* de 25X0,8mm para coleta de sangue a vácuo. Quando verificado a fragilidade capilar utilizou-se seringas descartáveis de 20ml com a agulha de 25X0,7mm da marca Injex. As análises bioquímicas foram realizadas no laboratório do Hospital Universitário de Brasília- HUB e a centrifugação e análises genotípicas e de citocinas foram feitas no laboratório de Imunogerontologia da Universidade Católica de Brasília- UCB.

Após cada coleta tomava-se o cuidado de se levar o sangue em recipiente fechado e refrigerado para o laboratório de Imunogerontologia da UCB, onde os tubos com gel e os sem agentes anticoagulante eram centrifugados a uma velocidade 2500 repetições por minuto, durante 10 minutos. Em seguida os tubos reservados para análises genéticas (sangue total) e inflamatórias (soro) foram abertos e distribuídos em ependorfes identificados e posteriormente congelados para suas respectivas análises. Os tubos com gel foram armazenados em uma geladeira a 5°, pois no dia seguinte eram encaminhados para análises bioquímicas no HUB.

3.4 DOSAGEM SÉRICA DE CK

Antes da sessão foi coletada 5 mL de sangue e após o término do treino 3 h, 24 h e 48 h sendo analisado utilizando a metodologia cinético-espectrofotométrica. O valor considerado limítrofe para CK utilizado nessa pesquisa foi de 155U/L conforme referido por DA SILVA, *et al*, 2011 e PASSAGLIA, *et al*, 2013.

3.5 LIPIDOGRAMA

Para o lipidograma foi realizado a dosagem de Colesterol total - COLt e frações no aparelho *AutoHumalyzer* fabricado pela *Human* - GMBH (Alemanha). O COLt e Triglicerídio livres - TGL foram obtidos pelo teste colorimétrico totalmente enzimático de glicose oxidase peroxidase. Enquanto a fração de *high density lipoprotein* - HDL foi avaliada conforme descrito por Kimberly *et al.*, 1999. A dosagem dos TGL foi processado em um método também enzimático descrito por Wahlefeld, 1974. As frações *very low density lipoprotein* - VLDL e *low density lipoprotein* - LDL, por sua vez, foram obtidas através da equação de Friedwald, em amostras cuja concentração de TGL não foi maior que 400 mg/dL. A equação consiste em: $VLDL = \text{valor TGL} / 5 \text{ mg/dL}$ e $LDL = \text{COLt} - (\text{HDL} + \text{VLDL})$.

3.6 EXTRAÇÃO DE DNA

O DNA total foi isolado a partir de sangue periférico de acordo com procedimentos padrão (QIAamp DNA Mini Kit, Qiagen, Brasil).

3.7 DETERMINAÇÃO DO GENÓTIPO E DIVISÃO DOS GRUPOS PARA ANÁLISE ESTÁTISTICA

A partir de amostra de sangue total, o DNA genômico total foi obtido conforme descrito em manuais de laboratório utilizando o KIT QIAGEN (anexo 4). Após a extração do DNA genômico, a frequência dos alótipos C/G foi determinada por meio da técnica de análise de fragmentos de restrição obtidos pela reação em cadeia da polimerase (PCR-RFLP). Por fim, foi feito a amplificação da região promotora 174 e seqüenciamento genômico com Big Dye conforme metodologia descrita por Olomolaiye, *et al*, 1998 (Figura 6 e 7).

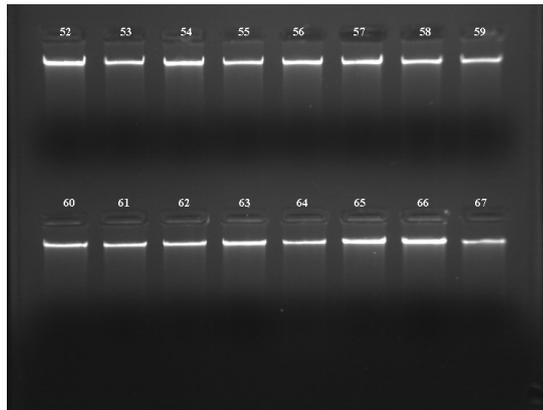


Figura 6. Foto gel de agarose extração de DNA sangue total, de 16 sujeitos.

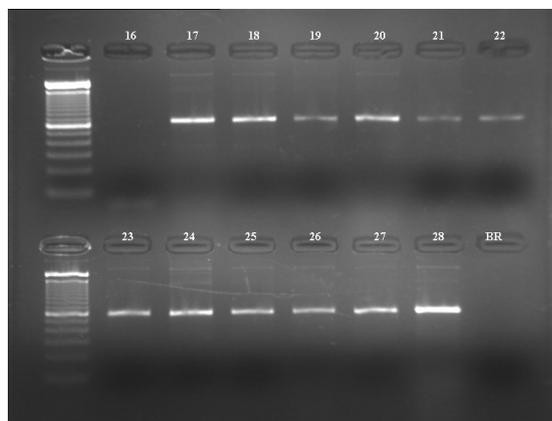


Figura 7. Foto gel de agarose PCR, para 13 sujeitos.

DNA é composto por duas fitas, a principal (forward ou sense) e a complementar (reverse ou anti-sense). Quando sequenciamos o produto de PCR com o primer reverse, analisamos a fita complementar. Para utilização dos dados, analisamos a fita principal. Por isso que ao identificar no sequenciamento o genótipo G/G, utilizamos a nomenclatura C/C. Pois o nucleotídeo G é da fita complementar, e o C é da fita principal. Pois G se liga com C (ou C com G), T com A (ou A com T) (Figura 8, 9 e 10).

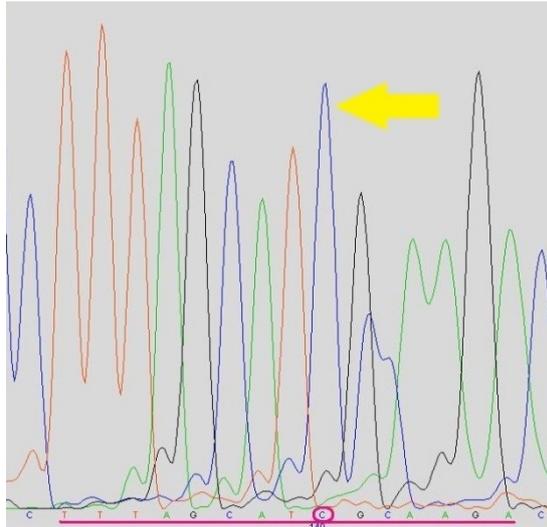


Figura 8. Foto sequenciamento, presença genótipo G/G.

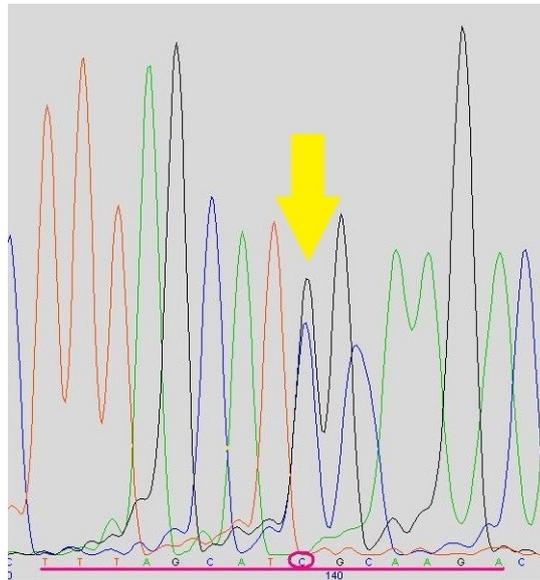


Figura 9. Foto sequenciamento, presença genótipo G/C.

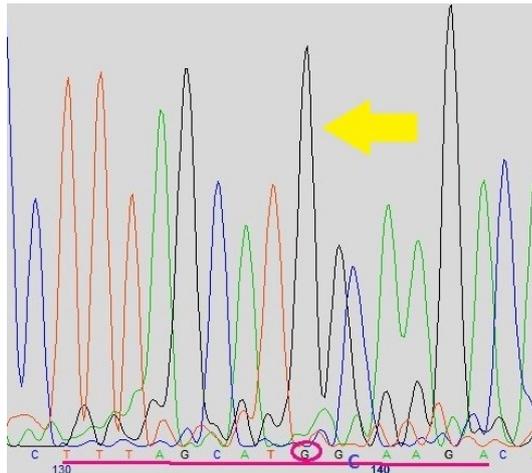


Figura 10. Foto sequenciamento, presença genótipo C/C.

3.8 DOSAGEM DE IL-6

A concentração de IL-6 no soro foi determinada pelo método *Enzyme-linked immunosorbent assays* (ELISA), utilizando-se kits comercializados pela *Biolegend* (San Diego, CA, E.U.A). Este foi procedimento para determinação do nível sérico do mediador inflamatório IL-6 em amostras de soro coletadas antes e após a intervenção. As amostras foram processadas em duplicata e os pontos da curva de calibração em triplicata, sendo que a escala utilizada foi picogramas por mililitro (pg/ml). Esse ensaio teve um limiar de detecção experimental de XX pg/ml.

3.9 EXERCÍCIO EXCÊNTRICO

A força muscular foi avaliada usando um Biodex System ® 4 Pro dinamômetro isocinético (Biodex Medical Systems Inc., EUA). O grupo muscular avaliado foi o de extensores de joelho do membro dominante. Os avaliados foram orientados e treinados para o movimento específico de extensão de joelhos tanto nos momentos

em que o braço de apoio do dinamômetro se deslocava para baixo (*speed toward* = $45^\circ/\text{s}$) quanto para cima (*speed Away* = $120^\circ/\text{s}$). No entanto o braço somente exercia resistência no deslocamento para baixo gerando uma força excêntrica ativa (Figura 11). A amplitude do movimento da articulação do joelho previamente foi coletada por um goniômetro manual *CARCI*, limitando a extensão em 135° e a flexão em 90° .

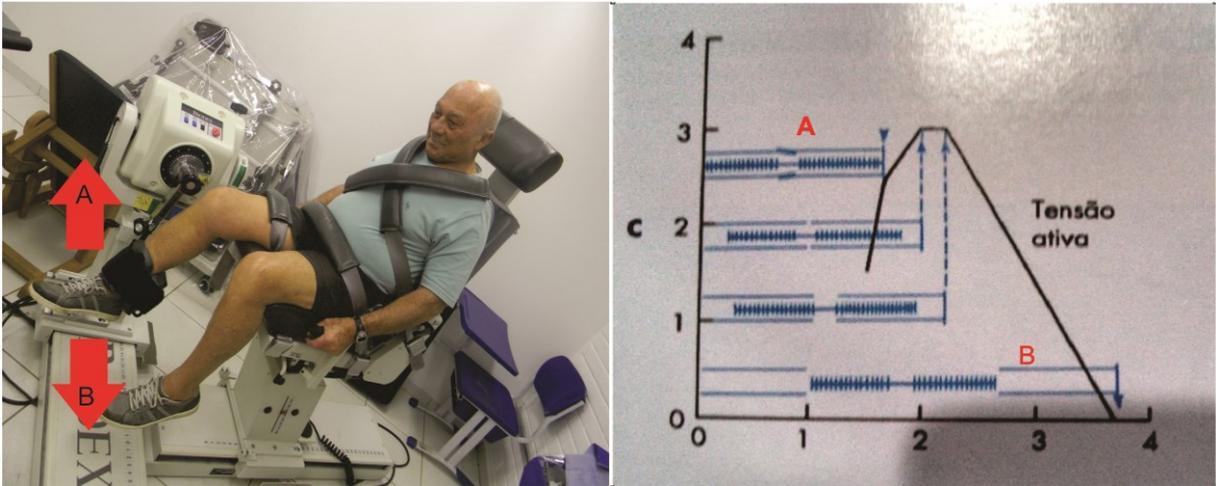


Figura 11. Esquema de representação da tensão ativa
Fonte: Adaptado de Robergs & Roberts, 2002

Com 24 horas de antecedência ao treino foi realizada uma familiarização dos avaliados com o equipamento, onde realizaram 2 séries de 7 repetições com intervalo de 120 segundos entre as séries, e 24h após a familiarização realizou-se o treino com 10 séries de 7 repetições com intervalo de 120 segundos entre as séries, onde a fase inicial era o joelho em extensão e a final do joelho em flexão. Os avaliados foram posicionados no equipamento conforme as instruções do fabricante e protocolo utilizado foi adaptado de Willoughby, VanEnk & Taylor (2003).

3.10 AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CORPORAL BIOIMPEDÂNCIA ELÉTRICA (BIA- *Bioelectrical Impedance Analysis*)

Para a avaliação da composição corporal, foi utilizado o teste de bioimpedância elétrica, realizado no aparelho tetrapolar BIA Biodynamics modelo 310®, versão de software 6.0. Algumas instruções foram passadas aos participantes para que observassem alguns cuidados para diminuir os erros nas medidas: jejum absoluto de no mínimo 4 horas antes do teste, não realizar exercícios nas 12 horas que antecedem o teste, urinar 30 minutos antes do teste, não consumir álcool e alimentos contendo cafeína (café, refrigerantes a base de cola, chocolates, achocolatados e chás) nas 24h anteriores ao teste e não fazer uso de diurético a menos de 24 horas do teste. Solicitou-se também ao voluntário que retirasse todos os objetos de metal como colares, anéis, pulseiras, relógios, cintos e outros. As instruções para utilização do aparelho foram seguidas de acordo com as recomendações do fabricante.

3.11 ANALISE ESTATÍSTICA

Equilíbrio de *Hardy-Weinberg* foi determinado usando o teste χ^2 para comparar a frequência genotípica observada com a esperada dentro do Equilíbrio de *Hardy-Weinberg*. Dados contínuos são expressos por médias \pm DP ou médias simples (com 95% intervalo de confiabilidade), se for o caso. Testes de *Shapiro-Wilk* foram aplicados para verificar a normalidade da distribuição das variáveis do estudo. No caso da não ou da normal distribuição, foi realizada a transformação logarítmica. Utilizou-se ANOVA com medidas repetidas para comparar a ação da CK e da IL-6 ao longo das 48h pós-treino na população estudada. O componente de esfericidade foi verificado com o teste de *Mauchley*. Quando o pressuposto de esfericidade não foi encontrado, a importância da *F-ratios* foi ajustada de acordo ao Procedimento de *Greenhouse-Geisser*. O Teste *post-hoc* de *Tukey* com o Arranjo de *Bonferroni* foi aplicado na ocorrência da importância. Comparações de subtipos genotípicos foram feitas através do teste *t* independente. A área sob a curva (AUC - *Area under the curve*) de CK e IL-6 foi calculada entre os pontos de 0 h e 48 h. O nível de

significância foi de $p \leq 0,05$ e o software SPSS versão 20.0 (Somers, NY, EUA) foi utilizado como ferramenta para o tratamento estatístico.

3.12 COMITE DE ÉTICA

O estudo atendeu aos requisitos fundamentais da Resolução CNS 196/96 e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UCB parecer 272-10.

4. RESULTADOS

Os dados da frequência dos alelos para o polimorfismo da IL-6 estão dispostos na tabela 1. As frequências alélicas e genotípicas não tiveram diferença significativa segundo *Hardy-Weinberg* ($\chi^2 = 3.11$; $p = 0.078$).

Tabela 1 - Frequência alélica para o genótipo de IL-6 e caracterização dos grupos.

		Frequência
Frequência de alelos*	C	0.21 (7)
	G	0.79 (27)
Frequência de Genótipos	CC	0.04 (1)
	CG	0.21 (6)
	GG	0.75 (21)

* $\chi^2 = 3.11$; Grau de liberdade = 1; $p = 0.078$

Não houve correlação entre a idade, medidas antropométricas ou perfil lipídico para os genótipos de IL-6 genótipos (Tabela 2).

Tabela 2 - Características Físicas para os sujeitos e Genótipos (media \pm DV).

	GG	CC/CG	p-value
Idade, ano	70.7 \pm 4.0	71.6 \pm 4.0	0.627
Estatura, cm	166 \pm 7.2	166 \pm 2.6	0.960
Peso, kg	72.9 \pm 13.2	78.7 \pm 8.5	0.284
% de Gordura	27.0 \pm 5.4	30.8 \pm 2.8	0.088
MM, kg	52.7 \pm 7.6	54.3 \pm 5.6	0.619
IMC, kg/m ²	26.3 \pm 4.0	28.6 \pm 3.6	0.201
Colesterol, mg/dl	206 \pm 56	202 \pm 42	0.887
HDL, mg/dl	42 \pm 10	37 \pm 8	0.298
LDL, mg/dl	136 \pm 45	122 \pm 32	0.497
VLDL, mg/dl	31 \pm 12	43 \pm 22	0.229
Triglicerídes, mg/dl	151 \pm 58	212 \pm 111	0.207

Para determinar correlações genótipo-fenótipo, foram comparados os níveis séricos de CK e IL-6 entre os grupos (Tabela 3). Não houve diferença significativa entre o baseline, o Peak e a área sob a Curva- AUC das concentrações séricas de CK em relação aos grupos de genótipos. Atividade de CK em resposta ao exercício excêntrico para a população em estudo é mostrado na figura 12.

Tabela 3 - Ação de Creatina quinase (CK) interleucina 6 (IL-6) para os grupos genótipos de IL-6 na linha de base, pico e área sob a curva (AUC) durante 48h.

	GG	CC/CG	p-value
CK (U/l)			
Linha da base	164.5 (115.3 – 213.7)	102.9 (74.6 – 131.1)	0.249
Pico	262.7 (212.2 – 313.2)	217.0 (142.8 – 291.2)	0.326
AUC/h	200.4 (161.7 – 239.1)	179.0 (123.8 – 235.6)	0.559
IL-6 (pg/ml)			
Linha da Base	4.61 (2.97 – 6.25)	1.56 (0.01 – 3.28)	0.016
Pico	7.97 (4.20 – 11.74)	2.87 (1.41 – 4.32)	0.041
AUC/h	5.50 (3.22 – 7.78)	1.64 (0.52 – 2.77)	0.029

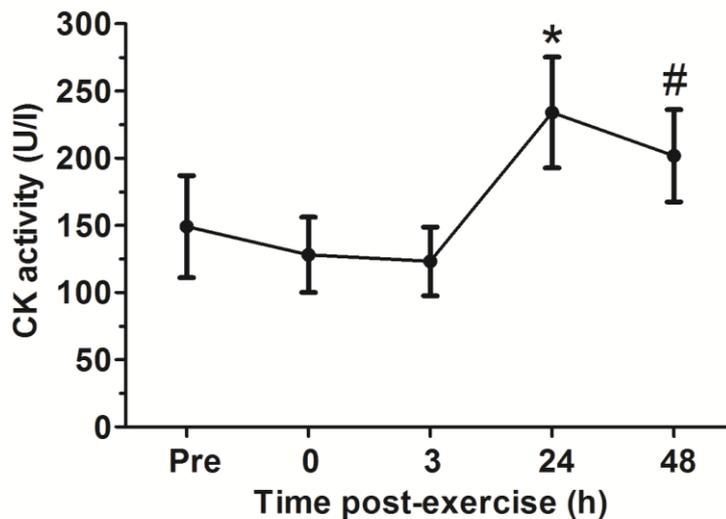


Figura 12. Atividade creatino-quinase (CK) atividade em resposta ao treino excêntrico para população estudada. * Diferença significativa para pré-treino, 0 h, 3 h e 48 h pós treino; # Diferença significativa para pré-treino, 0 h, 3 h e 24 h pós treino ($p \leq 0.05$).

A intervenção do treino provocou alterações estatisticamente significativas na concentração sérica de CK ao longo do tempo, $F(2,991, 80,756) = 20,675$, $p < 0,0005$, com o treino excêntrico os níveis séricos de CK aumentaram de $149,1 \pm 98,0$ U / l pré-treino para $234,0 \pm 106,2$ U / l em 24 h pós-treino. Já para as

concentrações séricas de IL-6 encontraram-se diferenças significativas entre os grupos analisados, onde para o *baseline* do grupo GG ($p=0,016$) foi mais elevado que o Grupo de GC e CC. Em resposta ao exercício o grupo GG, obteve um *peak* de IL-6 séricas ($p=0,041$) e a AUC ($p=0,029$) significativamente superiores (Tabela 3).

Devido a estas diferenças, a cinética de IL-6 foi analisada por genótipo (Figura 13).

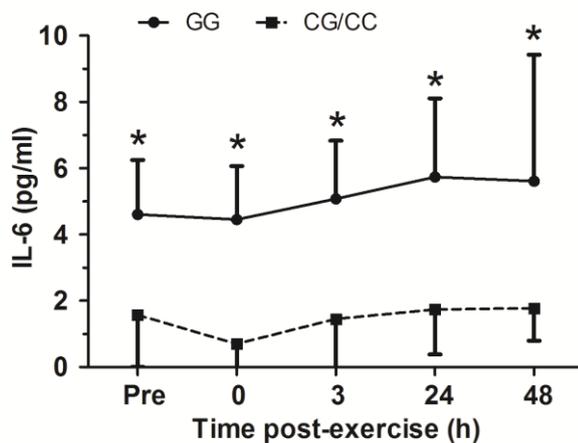


Figura 13. Atividade Interleucina 6 (IL-6) em resposta ao treino excêntrico para os grupos de genótipos de GG e GC/CC. * Diferença significativa para o Grupo GC/CC ($p \leq 0.05$).

A intervenção exercício excêntrico não levou a quaisquer alterações estatisticamente significativas na concentração de IL-6 ao longo do tempo para o grupo GG, $F(2,236, 44,724) = 0,498$, $p = 0,632$, e o grupo GC e CC, $F(2, 24) = 1,283$, $p = 0,305$. As concentrações de IL-6 foram significativamente maiores ($p < 0,05$) para o grupo GG durante todas as medidas de tempo. Não houve diferença significativa entre a média do *baseline* de força das 10 séries em relação aos grupos de genótipos. Ativação da força em resposta ao exercício excêntrico para a população em estudo é mostrado na figura 14.

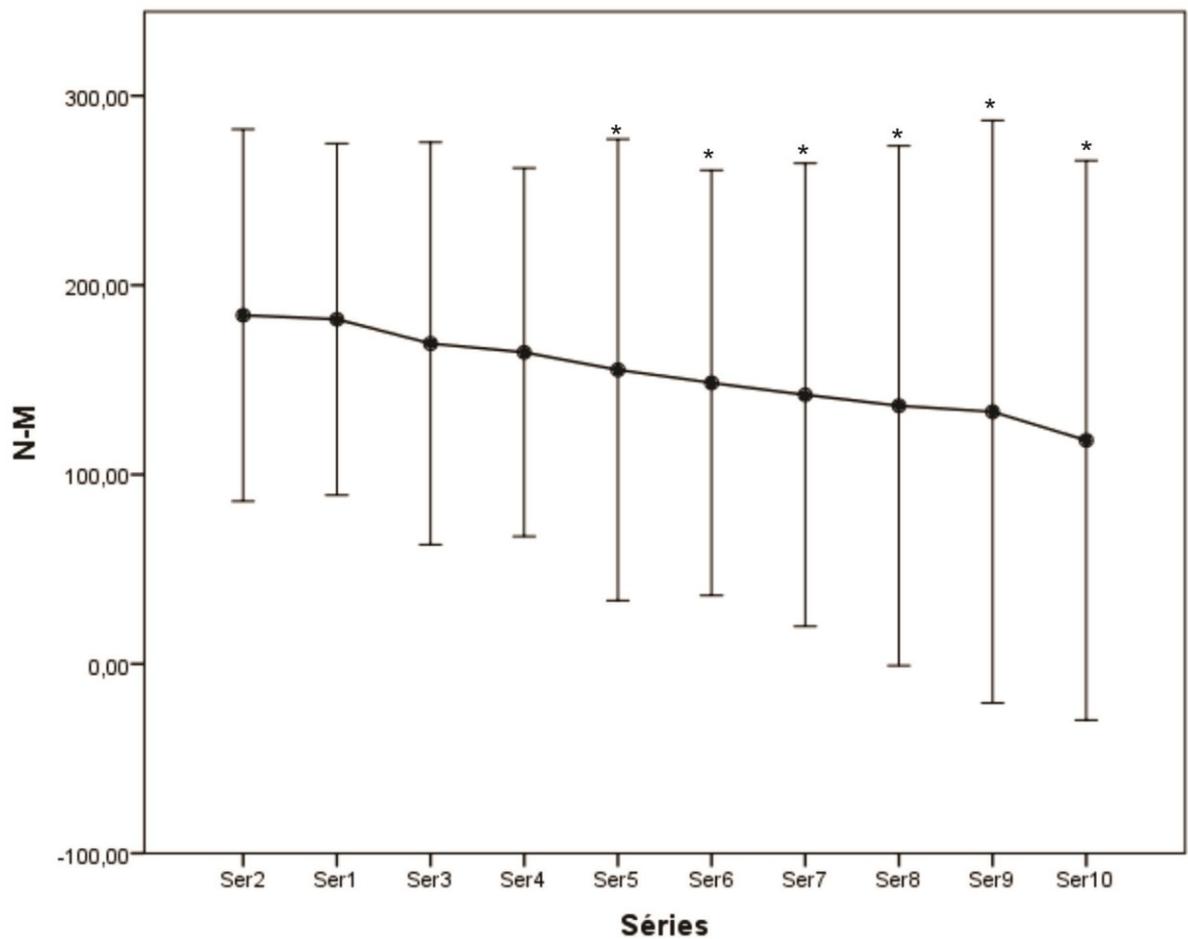


Figura 14. Ativação da força durante as 10 séries do exercício excêntrico. * Diferença significativa em relação à Série 1 ($p \leq 0,05$).

A intervenção do treino provocou alterações estatisticamente significativas na magnitude de força ao longo das séries, $p < 0,005$, com o treino excêntrico magnitude de força foi diminuída ao longo das séries de $181,97 \pm 46,42$ N-M *baseline* para $118,06 \pm 73,84$ N-M na 10ª série (Tabela 4).

Tabela 4 - Pico de força (N-M) durante as 10 séries diferenças entre os grupos.

	GG	CC/CG	<i>p</i> -value
Série 1	183,90 (50,86)	176,18 (32,01)	0,44
Série 2	179,03 (55,12)	199,35 (19,25)	0,06
Série 3	164,47 (57,42)	183,25 (37,32)	0,65
Série 4	161,01 (52,67)	175,11 (34,92)	0,86
Série 5	149,22 (66,04)	173,50 (40,61)	0,61
Série 6	142,00 (58,90)	167,56 (45,11)	0,97
Série 7	134,93 (68,07)	163,50 (25,47)	0,15
Série 8	127,19 (75,93)	163,72 (28,09)	0,15
Série 9	121,40 (84,77)	168,42 (26,97)	0,06
Série 10	109,03 (74,62)	145,14 (69,51)	0,59

5. DISCUSSÃO

O treinamento físico vem sendo estimulado em contraposição ao sedentarismo para todas as faixas etárias e vem gerando uma ampla discussão em torno dos protocolos utilizados, sobretudo aqueles que envolvem resistência. Em nosso estudo abordamos o treino excêntrico com sete repetições máximas de dez séries, o que nos permitiu observar o declínio de magnitude de força para o membro dominante na extensão do joelho. Assim, a partir da quinta série verificou-se o declínio significativo da força ($p=0,008$) o que possibilitou afirmar que a exaustão foi atingida, definido o número de séries a ser utilizado em um treino de sete repetições máximas, fato não descrito para muitos estudos que abordaram metodologia semelhante (14; 17; 42).

Os resultados obtidos demonstram que os idosos, que possuem de 66 a 75 anos, avaliados quanto à composição corporal se encontram com o percentual de gordura acima do recomendado, segundo preconizado pelo Colégio Americano de Medicina do Esporte (2). A elevação do percentual de gordura no envelhecimento vem sendo descrito sem uma exata etnologia, porém alguns estudos encontram forte relação com a diminuição das Atividades de Vida Diárias (AVD's), associada à transição nutricional que acomete todas as faixas etárias (8; 13). Alta prevalência de excesso de gordura corporal é um fator relevante, pois está diretamente relacionada a uma má condição de saúde, como alterações do perfil lipídico, o aumento da pressão arterial e a hiperinsulinemia, além dos fatores de risco para o desenvolvimento de doenças crônicas, como o diabetes tipo 2 e as doenças cardiovasculares, entre outras (8). Cabe ressaltar que, neste contexto os marcadores inflamatórios desempenham importantes funções e níveis aumentados destas moléculas vêm sendo amplamente relatados, a exemplo da IL-6 (4; 6; 19; 24; 25; 29; 35). Práticas variadas de atividade física podem modificar os efeitos negativos associados a DCNT, desde que sejam realizadas de forma orientada para segurança e eficiência do método escolhido (9).

O treino excêntrico foi utilizado no estudo como intervenção, pois na literatura já é bem descrito seus benefícios terapêuticos (26; 30; 33). No entanto, ainda é controversa sua ação sob a resposta inflamatória, principalmente em organismo de

idosos (12; 14; 17; 33). A intensidade e duração de ações musculares excêntricas podem induzir dano muscular, o que é almejado na realização do treino em busca da hipertrofia muscular e que pode ser inferido pelos níveis séricos de CK (31; 35). Os níveis séricos de CK atingiram valores máximos ($234,0 \pm 106,2$ U / l) após 24h da realização do treino, demonstrando que o treino excêntrico foi eficiente, no que tange ao surgimento de dano muscular, já que os limiares para homens são de 155U/L. No entanto, se percebeu a elevação da atividade de CK ao longo do experimento, resultado inclusive encontrado em outros estudos (11; 66; 10; 41). Os valores de pico para CK encontrados no nosso estudo divergem de outras pesquisas quanto a linha de tempo analisada uma vez que relatam pico de CK em 48 horas (10; 41; 47; 49; 59). Este estudo se limitou a verificar os valores de CK até 48h após o treino excêntrico, portanto nota-se que embora não significativa houve uma tendência de queda nos níveis de CK em 48h, quando comparada a 24h, mas não suficiente para alcançar os valores de *baseline*.

O dano muscular evidenciado pela elevação de CK na presente pesquisa pode indicar uma evolução do quadro de homeostase do organismo para um quadro inflamatório conforme já encontrado em outros estudos (17; 33; 37). A IL-6 vem sendo apontada na literatura como “fator exercício”, exercendo um papel de sinalizador de vias metabólicas envolvidas no exercício físico em diversas metodologias de treino, em diferentes faixas etárias e gênero (44), embora homens idosos não tenham sido referidos, até o momento quanto a este marcador após treino excêntrico. Foi verificado um aumento significativo ($p=0,029$) pós treino excêntrico nos níveis de IL-6 de 3 horas até 48 horas para os homens idosos avaliados. A função fisiológica da IL-6 em resposta ao treino excêntrico pode estar relacionada a efeitos dessa citocina sobre a indução de proliferação de células satélites precursoras de novos miotubos, que auxiliam na regeneração e hipertrofia muscular (23; 41; 49; 59). Além disso, a IL-6 pode estimular, via cálcio intracelular, a resposta adaptativa do tecido muscular esquelético ao exercício (12; 23). Em adição observou-se que a cinética de aumento de CK após 3 horas do treino excêntrico foi seguida pela cinética de elevação sérica de IL-6 demonstrando que os níveis dessa citocina acompanharam o dano muscular para a população estudada.

Após análise dos genótipos, notou-se que o polimorfismo do gene -174 G/C promotor da IL-6 possui relação com os níveis de IL-6, porém não com a concentração sérica de CK pré intervenção e pós treino excêntrico. Observou-se que o polimorfismo do gene -174 G/C promotor da IL-6 tem grande influência nos níveis séricos da IL-6 ($p=0,016$). Notou-se uma maior frequência alélica de G corroborando achados literários (65; 42; 6; 46; 24), e maior frequência genotípica do homozigoto de G, assim como encontrados em vários estudos já catalogados (65; 42; 24).

A presença do alelo C foi determinante para que os níveis séricos de IL-6 tanto basais ($p=0,016$), quanto ao longo de toda atividade aferida ($p=0,029$), alcançassem níveis menores. Por outro lado, o grupo homozigoto do alelo G obteve níveis mais elevados de IL-6, tanto pré treino quanto nos momentos pós treinos.

Esse resultado corrobora com pesquisas já realizadas com outros grupos (65; 42; 24), inferindo que população de homozigoto de G tenha os níveis séricos mais elevados, portanto sendo mais propícia a algumas doenças relacionadas a índices mais altos de IL-6 (4; 35; 45; 51).

Tanto os efeitos modulatórios do treino excêntrico quanto aos níveis de IL-6, ainda necessitam de maiores esclarecimentos, no entanto como a IL-6 é uma citocina multifuncional, e exerce um importante papel sinalizador metabólico (44). Sendo assim, pode-se inferir que a grupo estudado independentemente do genótipo imposto pelo gene -174 G/C da região promotora da IL-6 e dos níveis séricos de IL-6 pode se beneficiar com os efeitos positivos do treino excêntrico, no contexto de reabilitação da massa muscular.

Contudo, o grupo homozigoto de G, possuidor de níveis séricos basais significativamente mais elevados ($p=0,016$), exige maior atenção a fim de elucidar os efeitos das concentrações séricas para IL-6 no organismo humano, sobretudo em pessoas idosas.

6. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitiram observar que houve relação dos níveis séricos de CK em resposta ao treino excêntrico em homens idosos ativos, o que evidenciou a geração do dano muscular.

Acompanhando o dano muscular resultante do treinamento excêntrico, os níveis sanguíneos de IL-6 também se elevaram. No entanto, esta elevação não se deu na mesma intensidade considerando os diferentes grupos genotípicos para o polimorfismo na região promotora do gene -174 C/G da IL-6. Parece haver uma relação dos níveis séricos de IL-6 aumentados para os idosos portadores do genótipo homozigoto do alelo G mesmo antes da intervenção.

Quanto a frequência dos genótipos produzidos pelo polimorfismo C;G da posição -174 da região promotora do gene para IL-6 foi possível verificar que os idosos possuíam maior frequência tanto para o genótipo GG quanto para o alelo G.

Os grupos genotípicos não apresentaram relação com a idade, com as medidas antropométricas, com o perfil lipídico e nem mesmo com a magnitude de força demonstrando que estas variáveis não sofrem influência do genótipo investigado.

Este estudo contribuiu para identificar a relação do polimorfismo do gene promotor -174 C/G da IL-6 com os níveis séricos de IL-6 em resposta ao dano muscular induzido pelo treino excêntrico em homens idosos. Novos estudos devem ser realizados para esclarecer o significado fisiológico e da influência clínica da elevação dos níveis de IL-6 no sangue de idosos submetidos ao treinamento físico nesta população etária.

REFERÊNCIAS

1. American College of Sport Medicine Position Stand: Exercise and Physical Activity For Older Adults. *Medicine and Science in Sports and Exercise*.v.30, n.6, p.992-1008, 1998.
2. American College of Sport Medicine, 1's Guidelines for exercise Testing and Prescription, 7th ed, USA, 2006.
3. Ahmed ST and Ivashkiv LB. Inhibition of IL-6 and IL-10 signaling and Stat activation by inflammatory and stress pathways. *The Journal of Immunology*. 2000; 165: 5227-37.
4. Baran P, Nitz R, Grötzinger J, Scheller J and Garbers C. Minimal Interleukin 6 (IL-6) Receptor Stalk Composition for IL-6 Receptor Shedding and IL-6 Classic Signaling. *Journal of Biological Chemistry*. 2013; 288: 14756-68.
5. Barros MBdA, Francisco PMSB, Zanchetta LM and César CLG. Tendências das desigualdades sociais e demográficas na prevalência de doenças crônicas no Brasil, PNAD: 2003-2008; Trends in social and demographic inequalities in the prevalence of chronic diseases in Brazil. PNAD: 2003-2008. *Ciênc saúde coletiva*. 2011; 16: 3755-68.
6. Berthold HK, Laudes M, Krone W and Gouni-Berthold I. Association between the Interleukin-6 Promoter Polymorphism- 174G/C and Serum Lipoprotein (a) Concentrations in Humans. *PLoS One*. 2011; 6: e24719.
7. Brasil. Portaria MS/GM nº 1.944 de 27 de agosto de 2009. Institui no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS), a Política Nacional de Atenção Integral à Saúde do Homem. Diário Oficial da União, 2009.
8. Carneiro JAO, Santos-Pontelli TE, Vilaça KH, et al. Obese elderly women exhibit low postural stability: a novel three-dimensional evaluation system. *Clinics (Sao Paulo)*. 2012; 67: 475-81.
9. Carvalho TBd, Yamada AK, Crepaldi MD, Souza JCd, Prestes J and Verlengia R. Treinamento de força excêntrico em idosos: revisão acerca das adaptações fisiológicas agudas e crônicas. *Revista Brasileira de Ciência e Movimento*. 2012; 20: 112-21.

10. Chapman DW, Simpson JA, Iscoe S, Robins T and Nosaka K. Changes in serum fast and slow skeletal troponin I concentration following maximal eccentric contractions. *J Sci Med Sport*. 2013; 16: 82-5.
11. Chen TC, Lin K-Y, Chen H-L, Lin M-J and Nosaka K. Comparison in eccentric exercise-induced muscle damage among four limb muscles. *Eur J Appl Physiol*. 2011; 111: 211-23.
12. Choi SJ, Lim JY, Nibaldi EG, et al. Eccentric contraction-induced injury to type I, IIa, and IIa/IIx muscle fibers of elderly adults. *Age (Dordr)*. 2012; 34: 215-26.
13. Colín-Ramírez E, Orea-Tejeda A, Castillo-Martínez L, et al. Malnutrition syndrome, but not body mass index, is associated to worse prognosis in heart failure patients. *Clinical Nutrition*. 2011; 30: 753-8.
14. Conceicao MS, Libardi CA, Nogueira FR, et al. 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*. 2012; 112: 3205-13.
15. Correa CS, Baroni BM, Radaelli R, et al. Effects of strength training and detraining on knee extensor strength, muscle volume and muscle quality in elderly women. *Age (Dordr)*. 2012.
16. da Silva FOC and Macedo DV. Physical exercise, inflammatory process and adaptive condition: an overview. *Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum*. 2011; 13: 320-8.
17. de Barros BERTON RP, LIBARDI CA, CONCEIÇÃO MS, et al. Dano muscular: resposta inflamatória sistêmica após ações excêntricas máximas. *Rev bras Educ Fis Esporte*. 2012; 26: 367-74.
18. de Freitas MC, Queiroz TA and de Sousa JAV. O significado da velhice e da experiência de envelhecer para os idosos. *Rev Esc Enferm USP*. 2010; 44: 407-12.
19. de Oliveira Silva A, Tibana RA, Karnikowski MG, Funghetto SS and Prestes J. Inflammatory status in older women with and without metabolic syndrome: is there a correlation with risk factors? *Clin Interv Aging*. 2013; 8: 361-7.
20. de Souza JC, Tibana RA, de Sousa NM, et al. Association of cardiovascular response to an acute resistance training session with the ACE gene

- polymorphism in sedentary women: a randomized trial. *BMC Cardiovasc Disord.* 2013; 13: 3.
21. de Souza JC, Júnior FL, de Oliveira RJ, Pereira LC, Córdova COdA and Prestes J. IMUNUSENESCÊNCIA E EXERCÍCIO FÍSICO. *Educação Física em Revista.* 2010; 4.
22. DEL AIELS and DE AEEPS. Atenção integral na saúde do idoso no Programa Saúde da família: visão dos profissionais de saúde. *Rev Esc Enferm USP.* 2010; 44: 437-44.
23. Demográfico IC. Disponível em: < [www. ibge. gov. br](http://www.ibge.gov.br)>. Acesso em. 2012; 1.
24. Dieli-Conwright CM, Spektor TM, Rice JC, Sattler FR and Schroeder ET. Hormone therapy attenuates exercise-induced skeletal muscle damage in postmenopausal women. *J Appl Physiol.* 2009; 107: 853-8.
25. Eynon N, Ruiz JR, Meckel Y, et al. Is the -174 C/G polymorphism of the IL6 gene associated with elite power performance? A replication study with two different Caucasian cohorts. *Exp Physiol.* 2011; 96: 156-62.
26. Guzel S, Seven A, Kocaoglu A, et al. Osteoprotegerin, leptin and IL-6: association with silent myocardial ischemia in type 2 diabetes mellitus. *Diab Vasc Dis Res.* 2013; 10: 25-31.
27. Hollander DB, Kraemer RR, Kilpatrick MW, et al. Maximal eccentric and concentric strength discrepancies between young men and women for dynamic resistance exercise. *J Strength Cond Res.* 2007; 21: 34-40.
28. Joffe YT, Collins M and Goedecke JH. The relationship between dietary fatty acids and inflammatory genes on the obese phenotype and serum lipids. *Nutrients.* 2013; 5: 1672-705.
29. Karch I, Olszowska M, Tomkiewicz Pajak L, Drapisz S, Luszczak J and Podolec P. The effect of physical activity on serum levels of selected biomarkers of atherosclerosis. *Kardiol Pol.* 2013; 71: 55-60.
30. Kaufman E, Hall S, Surova Y, Widner H, Hansson O and Lindqvist D. Proinflammatory cytokines are elevated in serum of patients with multiple system atrophy. *PLoS One.* 2013; 8: e62354.

31. Lanferdini FJ, Rocha CSdS, Frasson VB and Vaz MA. Influência do treinamento excêntrico nas razões de torque de flexores/extensores do joelho. *Fisioterapia e Pesquisa*. 2010; 17: 40-5.
32. Lappalainen J. IL6 genotype and creatine kinase response to exercise. *Eur J Appl Physiol*. 2009; 106: 315.
33. Lima-Costa MF, Matos DL, Camargos VP and Macinko J. Tendências em dez anos das condições de saúde de idosos brasileiros: evidências da Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios (1998, 2003, 2008). *Ciência e Saúde Coletiva*. 2011; 16: 3689-96.
34. Lovering RM and Brooks SV. Eccentric exercise in aging and diseased skeletal muscle: good or bad? *J Appl Physiol*. 2013.
35. Machado M. O papel dos micro-traumas e das células satélites na plasticidade muscular. *Arquivos em Movimento*. 2011; 3: 103-16.
36. Marshall A and Bauman A. The international physical activity questionnaire: summary report of the reliability & validity studies. *IPAQ Executive Committee*. 2001: 1-25.
37. Mendham AE, Donges CE, Liberts EA and Duffield R. Effects of mode and intensity on the acute exercise-induced IL-6 and CRP responses in a sedentary, overweight population. *Eur J Appl Physiol*. 2011; 111: 1035-45.
38. Nakagomi A, Seino Y, Endoh Y, Kusama Y, Atarashi H and Mizuno K. Upregulation of monocyte proinflammatory cytokine production by C-reactive protein is significantly related to ongoing myocardial damage and future cardiac events in patients with chronic heart failure. *J Card Fail*. 2010; 16: 562-71.
39. Neme Ide B, Alessandro Soares Nunes L, Brenzikofer R and Macedo DV. Time course of muscle damage and inflammatory responses to resistance training with eccentric overload in trained individuals. *Mediators Inflamm*. 2013; 2013: 204942.
40. Olomolaiye O, Wood N and Bidwell J. A novel N1aIII polymorphism in the human IL-6 promoter. *European journal of immunogenetics*. 1998; 25: 267-.
41. Organization WH. *World health statistics 2011*. World Health Organization, 2011.

42. Passaglia DG, Emed LGM, Barberato SH, et al. Efeitos Agudos do Exercício Físico Prolongado: Avaliação Após Ultramaratona de 24 Horas. *Arq Bras Cardiol.* 2013; 100: 21-8.
43. Paulsen G, Mikkelsen UR, Raastad T and Peake JM. Leucocytes, cytokines and satellite cells: what role do they play in muscle damage and regeneration following eccentric exercise? *Exerc Immunol Rev.* 2012; 18: 42-97.
44. Pereira D, Garcia D, Narciso F, et al. Effects of 174 G/C polymorphism in the promoter region of the interleukin-6 gene on plasma IL-6 levels and muscle strength in elderly women. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research.* 2011; 44: 123-9.
45. Phillips T, Childs AC, Dreon DM, Phinney S and Leeuwenburgh C. A dietary supplement attenuates IL-6 and CRP after eccentric exercise in untrained males. *Med Sci Sports Exerc.* 2003; 35: 2032-7.
46. Prestes J, Donatto FF, Dias R, Frollin AB and Cavaglieri CR. Papel da Interleucina-6 como um sinalizador em diferentes tecidos durante o exercício físico. *Fitness & performance journal.* 2006: 348-53.
47. Rethorst CD, Moynihan J, Lyness JM, Heffner KL and Chapman BP. Moderating effects of moderate-intensity physical activity in the relationship between depressive symptoms and interleukin-6 in primary care patients. *Psychosomatic Medicine.* 2011; 73: 265-9.
48. Robergs RA and Roberts SO. Princípios fundamentais de fisiologia do exercício para aptidão, desempenho e saúde; Fundamental principles of exercise physiology to fitness, health and performance. Phorte, 2002.
49. Ruiz JR, Buxens A, Artieda M, et al. The- 174 G/C polymorphism of the IL6 gene is associated with elite power performance. *Journal of Science and Medicine in Sport.* 2010; 13: 549-53.
50. Santos HH, Avila MA, Hanashiro DN, Camargo PR and Salvini TF. The effects of knee extensor eccentric training on functional tests in healthy subjects. *Rev Bras Fisioter.* 2010; 14: 276-83.
51. Saúde BMD. *Estatuto do idoso.* Editora MS, 2003.
52. Serrano AL, Baeza-Raja B, Perdiguero E, Jardí M and Muñoz-Cánoves P. Interleukin-6 is an essential regulator of satellite cell-mediated skeletal muscle hypertrophy. *Cell Metab.* 2008; 7: 33-44.

53. Serrao PR, Gramani-Say K, Lessi GC and Mattiello SM. Knee extensor torque of men with early degrees of osteoarthritis is associated with pain, stiffness and function. *Rev Bras Fisioter.* 2012; 16: 289-94.
54. Shah T, Zabaneh D, Gaunt T, et al. Gene-centric analysis identifies variants associated with interleukin-6 levels and shared pathways with other inflammation markers. *Circ Cardiovasc Genet.* 2013; 6: 163-70.
55. Silva AO, Karnikowski MG, Funghetto SS, et al. Association of body composition with sarcopenic obesity in elderly women. *Int J Gen Med.* 2013; 6: 25-9.
56. Smith LL, Anwar A, Fragen M, Rananto C, Johnson R and Holbert D. Cytokines and cell adhesion molecules associated with high-intensity eccentric exercise. *Eur J Appl Physiol.* 2000; 82: 61-7.
57. Tannurel MCTMC, Alvesl M, de Senal RR and Chiancal TCM. Perfil epidemiológico da população idosa de Belo Horizonte, MG, Brasil erfil epidemiológico da população idosa de Belo Horizonte, MG, Brasil. *Revista Brasileira de Enfermagem.* 2010; 63.
58. Thaweewannakij T, Wilaichit S, Chuchot R, et al. Reference Values of Physical Performance in Well-Functioning, Community-Dwelling Thai Elderly People. *Phys Ther.* 2013.
59. Theodorou AA, Panayiotou G, Paschalis V, et al. Stair descending exercise increases muscle strength in elderly males with chronic heart failure. *BMC Res Notes.* 2013; 6: 87.
60. Toft AD, Jensen LB, Bruunsgaard H, et al. Cytokine response to eccentric exercise in young and elderly humans. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2002; 283: C289-95.
61. Tumilty S, McDonough S, Hurley DA and Baxter GD. Clinical effectiveness of low-level laser therapy as an adjunct to eccentric exercise for the treatment of Achilles' tendinopathy: a randomized controlled trial. *Arch Phys Med Rehabil.* 2012; 93: 733-9.
62. van de Vyver M and Myburgh K. Cytokine and satellite cell responses to muscle damage: interpretation and possible confounding factors in human studies. *J Muscle Res Cell Motil.* 2012; 33: 177-85.

63. van der Plas A, de Jonge S, de Vos RJ, et al. A 5-year follow-up study of Alfredson's heel-drop exercise programme in chronic midportion Achilles tendinopathy. *Br J Sports Med.* 2012; 46: 214-8.
64. Vincent B, Windelinckx A, Nielens H, et al. Protective role of alpha-actinin-3 in the response to an acute eccentric exercise bout. *J Appl Physiol.* 2010; 109: 564-73.
65. Virtuoso JF, Mazo GZ, Menezes EC, Cardoso ASA, Dias RG and Balbé GP. Perfil de morbidade referida e padrão de acesso a serviços de saúde por idosos praticantes de atividade física Morbidity profile and the standard of access to health services for elderly practitioners of physical activities. *Cien Saude Colet.* 2012; 17: 23-31.
66. Watanabe Y, Tanimoto M, Ohgane A, Sanada K, Miyachi M and Ishii N. Increased muscle size and strength from slow-movement, low-intensity resistance exercise and tonic force generation. *J Aging Phys Act.* 2013; 21: 71-84.
67. Willoughby DS, VanEnk C and Taylor L. Effects of concentric and eccentric contractions on exercise-induced muscle injury, inflammation, and serum IL-6. *J Exerc Physiol.* 2003; 6: 8-15.
68. Wu C-T, Hsieh C-C, Lin C-C, Chen W-C, Hong J-H and Chen M-F. Significance of IL-6 in the transition of hormone-resistant prostate cancer and the induction of myeloid-derived suppressor cells. *Journal of Molecular Medicine.* 2012; 90: 1343-55.
69. Yamin C, Duarte JA, Oliveira JM, et al. IL6 (-174) and TNFA (-308) promoter polymorphisms are associated with systemic creatine kinase response to eccentric exercise. *Eur J Appl Physiol.* 2008; 104: 579-86.
70. Yamin C, Oliveira J, Meckel Y, et al. CK-MM gene polymorphism does not influence the blood CK activity levels after exhaustive eccentric exercise. *Int J Sports Med.* 2010; 31: 213-7.
71. Yu JG, Liu JX, Carlsson L, Thornell LE and Stal PS. Re-evaluation of sarcolemma injury and muscle swelling in human skeletal muscles after eccentric exercise. *PLoS One.* 2013; 8: e62056.

ANEXOS

ANEXO 1. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convidamos o (a) Senhor (a) a participar do projeto de pesquisa com o título de “Relação do polimorfismo da il-6 com marcadores imunológicos, metabólicos e bioquímicos após sessão aguda de treinamento de força”, com objetivo principal de avaliar a relação do polimorfismo do gene promotor -174 C/G da IL-6 sobre as respostas imunológicas, bioquímicas e metabólicas após treinamento de força excêntrico em idosos. O projeto é de responsabilidade dos pesquisadores Prof.º Drº Jonato Prestes.

A participação na pesquisa consistirá em 17 dias de palestras explicativas, coletas de sangue, treinamento e avaliações físicas. Nos horários de 7h até às 16h. O treinamento não oferece riscos, mas é possível que nos primeiros dias ocorra algum desconforto muscular devido à adaptação ao treinamento.

Com a participação no estudo o (a) Senhor (a) será submetido (a) a uma bateria de avaliações objetivando avaliar parâmetros abrangentes do seu perfil físico, tais como avaliação da composição corporal (DEXA), avaliação de força muscular, coletas sanguíneas (Hemograma; Coleta de cinco (5) ml de sangue venoso), ergoespirometria (Teste em esteira até exaustão), taxa metabólica basal (TMB), eletrocardiograma de repouso (ECG), questionário sobre qualidade de vida (SF36), além de testes de capacidade funcional (agilidade, equilíbrio e flexibilidade).

Os testes serão realizados no ginásio I, Laboratório de Estudos de Força – LABEF e no Laboratório de Estudos em Atividade Física e Saúde – LEEFS, ambos da Universidade Católica Brasília. Os testes serão interrompidos imediatamente na ocorrência de algum desconforto, sendo que o (a) senhor (a) será encaminhado imediatamente para avaliação com o médico do Laboratório de Avaliação Física e Treinamento – LAFIT.

Os resultados serão entregues na forma de relatório, onde explanaremos de maneira clara as informações acerca do percentual de gordura, massa magra, índice de massa corporal, marcadores sanguíneos do sistema imunológico, saúde cardiovascular, oferecendo-lhe assim parâmetros acerca do seu desenvolvimento físico com a adesão ao projeto.

Os resultados desta pesquisa serão utilizados para a elaboração e apresentação de publicações e projetos de caráter científico na UCB. Todas as informações da pesquisa ficarão sob a responsabilidade do pesquisador responsável: Prof Dr. Jonato Prestes, tel. (61) 3356-9233 ou Comitê de Ética em Pesquisa (61) 3356-9784.

Em caso de ocorrência dos riscos citados acima os testes serão interrompidos e o tratamento emergencial será feito pelo médico local, que estará presente durante a realização dos testes (Dr. Benford-LAFIT).

Informamos que todas as informações fornecidas serão mantidas em sigilo e somente os pesquisadores envolvidos no projeto terão acesso a elas. Informamos ainda, que estaremos à disposição para orientar e esclarecer qualquer dúvida antes e durante a pesquisa. Em cada sessão estarão presentes no mínimo três profissionais para coleta dos dados assim como nos momentos do treinamento de força. Cada voluntário tem liberdade de se recusar a participar ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado.

EU.....Identidade....., declaro que fui informado e devidamente esclarecido do projeto de pesquisa intitulado como “Relação do polimorfismo da il-6 com marcadores imunológicos, metabólicos e bioquímicos após sessão aguda de treinamento de força” desenvolvido pelo Prof. Dr. Jonato Prestes do Programa de Mestrado e Doutorado em Educação Física da Universidade Católica de Brasília-UCB, quanto aos itens da resolução 196/96.

Declaro que após ser esclarecido pelo pesquisador a respeito da pesquisa, consinto voluntariamente em participar desta pesquisa.

Brasília.....de.....2010

Nome:.....
RG:.....Data de nascimento:...../...../.....Sexo M() F()
Endereço:.....nº.....Apto:.....
Bairro:.....cidade:.....CEP:.....Tel:.....

.....
Assinatura do declarante

Declaração do pesquisador

Declaro, para fins da realização da pesquisa, que cumprirei todas as exigências acima, na qual obtive de forma apropriada e voluntária, o consentimento livre e esclarecido do declarante acima, qualificado para a realização desta pesquisa

.....
Assinatura do pesquisador responsável



QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA.

Nome: _____ Data: ___/ ___/ ___

Idade : ____ Sexo: F () M () Você trabalha de forma remunerada: () Sim () Não.

Quantas horas você trabalha por dia: ____ Quantos anos completos você estudou: _____

De forma geral sua saúde está: () Excelente () Muito boa () Boa () Regular () Ruim

Nós estamos interessados em saber que tipos de atividade física as pessoas fazem como parte do seu dia a dia. Este projeto faz parte de um grande estudo que está sendo feito em diferentes países ao redor do mundo. Suas respostas nos ajudarão a entender que tão ativos nós somos em relação à pessoas de outros países. As perguntas estão relacionadas ao tempo que você gasta fazendo atividade física em uma semana **última semana**. As perguntas incluem as atividades que você faz no trabalho, para ir de um lugar a outro, por lazer, por esporte, por exercício ou como parte das suas atividades em casa ou no jardim. Suas respostas são MUITO importantes. Por favor, responda cada questão mesmo que considere que não seja ativo. Obrigado pela sua participação!

Para responder as questões lembre que:

- Atividades físicas **VIGOROSAS** são aquelas que precisam de um grande esforço físico e que fazem respirar MUITO mais forte que o normal
- Atividades físicas **MODERADAS** são aquelas que precisam de algum esforço físico e que fazem respirar UM POUCO mais forte que o normal

SEÇÃO 1- ATIVIDADE FÍSICA NO TRABALHO

Esta seção inclui as atividades que você faz no seu serviço, que incluem trabalho remunerado ou voluntário, as atividades na escola ou faculdade e outro tipo de trabalho não remunerado fora da sua casa. **NÃO** incluir trabalho não remunerado que você faz na sua casa como tarefas domésticas, cuidar do jardim e da casa ou tomar conta da sua família. Estas serão incluídas na seção 3.

1a. Atualmente você trabalha ou faz trabalho voluntário fora de sua casa?

() Sim () Não – Caso você responda não **Vá para seção 2: Transporte**

As próximas questões são em relação a toda a atividade física que você fez na **última semana** como parte do seu trabalho remunerado ou não remunerado. **NÃO** inclua o transporte para o trabalho. Pense unicamente nas atividades que você faz por **pelo menos 10 minutos contínuos**:

- 1b. Em quantos dias de uma semana normal você **anda**, durante **pelo menos 10 minutos contínuos**, **como parte do seu trabalho**? Por favor, **NÃO** inclua o andar como forma de transporte para ir ou voltar do trabalho.

_____ dias por **SEMANA** () nenhum - **Vá para a seção 2 - Transporte.**

- 1c. Quanto tempo no total você usualmente gasta **POR DIA** caminhando **como parte do seu trabalho** ?

____ horas _____ minutos

- 1d. Em quantos dias de uma semana normal você faz atividades **moderadas**, por **pelo menos 10 minutos contínuos**, como carregar pesos leves **como parte do seu trabalho**?

_____ dias por **SEMANA** () nenhum - **Vá para a questão 1f**

- 1e. Quanto tempo no total você usualmente gasta **POR DIA** fazendo atividades moderadas **como parte do seu trabalho**?

____ horas _____ minutos

- 1f.** Em quantos dias de uma semana normal você gasta fazendo atividades **vigorosas**, por **pelo menos 10 minutos contínuos**, como trabalho de construção pesada, carregar grandes pesos, trabalhar com enxada, escavar ou subir escadas **como parte do seu trabalho**:

_____ dias por **SEMANA** () nenhum - **Vá para a questão 2a.**

- 1g.** Quanto tempo no total você usualmente gasta **POR DIA** fazendo atividades físicas vigorosas **como parte do seu trabalho**?

_____ horas _____ minutos

SEÇÃO 2 - ATIVIDADE FÍSICA COMO MEIO DE TRANSPORTE

Estas questões se referem à forma típica como você se desloca de um lugar para outro, incluindo seu trabalho, escola, cinema, lojas e outros.

- 2a.** O quanto você andou na última semana de carro, ônibus, metrô ou trem?

_____ dias por **SEMANA** () nenhum - **Vá para questão 2c**

- 2b.** Quanto tempo no total você usualmente gasta **POR DIA andando de carro, ônibus, metrô**

ou trem?

_____ horas _____ minutos

Agora pense **somente** em relação a caminhar ou pedalar para ir de um lugar a outro na última semana.

- 2c. Em quantos dias da última semana você andou de bicicleta por **pelo menos 10 minutos contínuos** para ir de um lugar para outro? (**NÃO** inclua o pedalar por lazer ou exercício)

_____ dias por **SEMANA** () Nenhum - **Vá para a questão 2e.**

- 2d. Nos dias que você pedala quanto tempo no total você pedala **POR DIA** para ir de um lugar para outro?

_____ horas _____ minutos

- 2e. Em quantos dias da última semana você caminhou por **pelo menos 10 minutos contínuos** para ir de um lugar para outro? (**NÃO** inclua as caminhadas por lazer ou exercício)

_____ dias por **SEMANA** () Nenhum - **Vá para a Seção 3.**

- 2f. Quando você caminha para ir de um lugar para outro quanto tempo **POR DIA** você gasta? (**NÃO** inclua as caminhadas por lazer ou exercício)

_____ horas _____ minutos

SEÇÃO 3 – ATIVIDADE FÍSICA EM CASA: TRABALHO, TAREFAS DOMÉSTICAS E CUIDAR DA FAMÍLIA.

Esta parte inclui as atividades físicas que você fez na última semana na sua casa e ao redor da sua casa, por exemplo, trabalho em casa, cuidar do jardim, cuidar do quintal, trabalho de

manutenção da casa ou para cuidar da sua família. Novamente pense **somente** naquelas atividades físicas que você faz **por pelo menos 10 minutos contínuos**.

3a. Em quantos dias da última semana você fez atividades **moderadas** por pelo menos 10 minutos como carregar pesos leves, limpar vidros, varrer, rastelar **no jardim ou quintal**.

_____ dias por **SEMANA** () Nenhum - **Vá para questão 3b.**

3b. Nos dias que você faz este tipo de atividades quanto tempo no total você gasta **POR DIA** fazendo essas atividades moderadas **no jardim ou no quintal**?

_____ horas _____ minutos

3c. Em quantos dias da última semana você fez atividades **moderadas** por pelo menos 10 minutos como carregar pesos leves, limpar vidros, varrer ou limpar o chão **dentro da sua casa**.

_____ dias por **SEMANA** () Nenhum - **Vá para questão 3d.**

3d. Nos dias que você faz este tipo de atividades moderadas **dentro da sua casa** quanto tempo no total você gasta **POR DIA**?

_____ horas _____ minutos

3e. Em quantos dias da última semana você fez atividades físicas **vigorosas no jardim ou quintal** por pelo menos 10 minutos como carpir, lavar o quintal, esfregar o chão:

_____ dias por **SEMANA** () Nenhum - **Vá para a seção 4.**

3f. Nos dias que você faz este tipo de atividades vigorosas **no quintal ou jardim** quanto tempo

no total você gasta **POR DIA**?

_____ horas _____ minutos

SEÇÃO 4- ATIVIDADES FÍSICAS DE RECREAÇÃO, ESPORTE, EXERCÍCIO E DE LAZER.

Esta seção se refere às atividades físicas que você fez na última semana unicamente por recreação, esporte, exercício ou lazer. Novamente pense somente nas atividades físicas que faz **por pelo menos 10 minutos contínuos**. Por favor, **NÃO** inclua atividades que você já tenha citado.

4a. Sem contar qualquer caminhada que você tenha citado anteriormente, em quantos dias da

última semana você caminhou **por pelo menos 10 minutos contínuos** no seu tempo livre?

_____ dias por **SEMANA** () Nenhum - **Vá para questão 4b**

4b. Nos dias em que você caminha no seu tempo livre, quanto tempo no total você gasta **POR DIA?**

_____ horas _____ minutos

4c. Em quantos dias da última semana você fez atividades moderadas no seu tempo livre por pelo menos 10 minutos, como pedalar ou nadar a velocidade regular, jogar bola, vôlei, basquete, tênis e outros:

_____ dias por **SEMANA** () Nenhum - **Vá para questão 4d.**

4d. Nos dias em que você faz estas atividades moderadas no seu tempo livre quanto tempo no total você gasta **POR DIA?**

_____ horas _____ minutos

4e. Em quantos dias da última semana você fez atividades **vigorosas no seu tempo livre** por pelo menos 10 minutos, como correr, fazer atividades aeróbicas, nadar rápido, pedalar rápido ou trotar:

_____ dias por **SEMANA** () Nenhum - **Vá para seção 5.**

4f. Nos dias em que você faz estas atividades vigorosas **no seu tempo livre** quanto tempo no total

você gasta **POR DIA?**

_____ horas _____ minutos

SEÇÃO 5 - TEMPO GASTO SENTADO

Estas últimas questões são sobre o tempo que você permanece sentado todo dia, no trabalho, na escola ou faculdade, em casa e durante seu tempo livre. Isto inclui o tempo sentado estudando, sentado enquanto descansa, fazendo lição de casa visitando um amigo, lendo, sentado ou deitado assistindo TV. Não inclua o tempo gasto sentando durante o transporte em ônibus, trem, metrô ou carro.

5a. Quanto tempo no total você gasta sentado durante um **dia de semana?**

_____ horas _____ minutos

5b. Quanto tempo no total você gasta sentado durante em um **dia de final de semana?**

_____ horas _____ minutos

ANEXO 3. ARTIGO SUBMETIDO

For Peer Review

The influence of body composition in the strength of elderly Brazilian men.

Journal: *Journal of Gerontology: Medical Sciences*

Manuscript ID: Draft

Manuscript Type: Research Article

Date Submitted by the Author: n/a

Complete List of Authors: PEREIRA, LEONARDO; Universidade de Brasília, Pós graduação - UnB Ceilandia

Prestes, Jonato; Universidade Católica de Brasília, Pós Graduação em Educação Física

Melo, Gislane; Universidade Católica de Brasília, Pós Graduação em Educação Física

Neto, Luiz Sinésio; Universidade Federal de Tocantins, Universidade da Maturidade

Funghetto, Silvana; Universidade de Brasília, Pós Graduação Ceilandia

Pires, Alexandre; Universidade Católica de Brasília, Pós Graduação em Educação Física

Boff, Glaucia; Universidade de Brasília, Pós Graduação Ceilandia

Alves, Aline; Universidade de Brasília, Pós Graduação Ceilandia

Karnikowski, Margô; Universidade de Brasília, Pós Graduação Ceilandia

Keywords: Body Composition, Functional Performance, Physical Function

<http://mc.manuscriptcentral.com/jgms>

Manuscripts submitted to Journal of Gerontology: Medical Sciences

Abstract

Introduction: The Brazilian senior population constitutes 10% of its total population. The decrease of skeletal muscle is probably the most significant alteration, being associated with age and it is definitive in loss of strength. **Methodology:** 46 men of 60 years of age or more were divided in four groups by their percentage of body fat and their muscle mass where their medians were determined in which %Fat = 28,65 and muscle mass = 54,35Kg. For the evaluations the bioimpedance and the handgrip dynamometer were used. **Results:** Significant differences were observed between the four groups concerning lean weight and fat mass percentile ($p \geq 0,05$) characterizing the specificities of each group as the variables analyzed. **Discussion:** Regarding the strength, significant differences were found for all groups. However, group 03 registered the lowest performance in the strength evaluation and was characterized by having the highest body fat and lowest lean mass percentage.

Key Words: seniors; palmar grip strength; body composition.

Introduction

A striking fact today is the increase of the senior population on a global scale. In Brazil we observe a similar pattern in the population of 60 years of age. According to the Brazilian Institute for Geography and Statistics (IBGE), there are currently 20 million elderly people in the country, which corresponds to 10% of the Brazilian population (Brasil, 2010). From this quota, 5% are from the male sex.

Given the increased prevalence of elderly Brazilians, full time attention dedicated to senior's health, as assured by the Statue of the Elderly, gains new relevance. (Brasil, Estatuto do Idoso, 2004). Health preservation and maintenance of the elderly are mainly responsibilities of the Unified Health System (SUS), and what concerns senior men is being treated by the Portaria nº 1.944, of August 27th 2009, which through the National Politics for Integral Attention to Men's Health develop steps that aim a healthy and active aging process.

The autonomy level and the preservation of the independence of seniors is related to the maintenance of functional capacity as well as promoting health, which consequently leads to a healthy and active aging process. With this in mind, the assessment of functional capacity acquires importance so as to create strategies aiming to improve both the health and the life quality of seniors. (Borges *et al.*, 2008; Pereira, *et al*, 2011).

Among the various changes that undergo the aging process, the decrease in skeletal muscle is probably the most significant change being that studies show a direct influence on the quality of life of the individuals. (Caromano; Jung, 1999; Barbosa, *et al*, 2005; Silva, *et al*, 2013; Carvalho, *et al*, 2012).

The sarcopenia that is characterized by the slow but progressive loss of lean mass and skeletal muscle function is being associated with age and certain health problems. (Silva Neto, *et al* 2012). Studies suggest that sarcopenia is a determining factor in loss of muscle strength, including manual grip strength, especially within the seniors. (Barbosa, *et al*, 2005 Biljlsma, *et al*, 2012).

According to published research, maximum muscle strength is reached at about 30 years of age, this strength remains more or less stable until our fifth life decade, an age where it then begins to decline. Between the ages of 50 and 70, there is an approximate loss of 15% to 30% every 10 years. (Carvalho; Soares, 2004).

The handgrip strength has been characterized as an accessible mechanism in evaluating strength. In order for some of the Daily Life Activities (AVD's) to be performed well, they depend directly or indirectly on the manual handgrip strength (Reis *et al.*, 2003).

In association with muscle mass loss, an increase of fat mass can also occur, which is commonly observed in elderly individuals, a situation that is known as sarcopenial obesity. (Narici & Maffulli, 2010; Silva Neto, *et al* 2012; Stenholmo, *ET AL.* 2008; Oliveira, *et al.* 2011). Even though the phenomenon of sarcopenia and obesity, either in an isolated or combined way, can apply to both sexes, we observed only a few studies reporting its effect in male seniors. (Bijlsma, *et al*, 2012; Deriemaeker, *et al*, 2011; Forrest, *et al*, 2012; Giampaoli, *et al*, 1999). The same situation occurs with the association of fat mass gain and lean mass loss with strength and the AVD's, which still need to be clarified further.

Keeping this in mind, authors have been highlighting the importance of evaluating the muscle strength of the elderly, intervening with the treatment protocol so as to provide a

better quality of life for these seniors. (Souto, *et al*, 2010; Tanimoto, *et al*, 2012). This research aims to evaluate the relation of body composition with the handgrip strength in Brazilian male seniors.

Methodology

The sample was composed of 46 men of 60 years of age or more that were affiliated with the Maturity University (UMA) of the Federal University of Tocantins. The participants included in this research signed consent and explanation forms and declared to not have any signs of any ostiomipathology.

The subjects were divided in groups by their fat percentage and by their lean mass value following the criteria developed through a statistical analysis, where medians were defined: %Fat = 28.65 and Lean Weight = 54,35Kg in which these were the determining values to establish the groups. The groups were established as is seen on table 1:

Group	%Fat	Lean Weight (Kg)	Ranking
G1	≤28,65	≤54,35	↓G%↓PM
G2	≤28,65	>54,35	↓G%↑PM
G3	>28,65	≤54,35	↑G%↓PM
G4	>28,65	>54,35	↑G%↑PM

Table 1. Group Classification

For the evaluation of body composition, the electric bioimpedance test was used, carried through on the tetrapolar machine (BIA) Biodynamics model 310®, software version 6.0. Some instructions were given for the participants to follow so as to reduce the chances of error in the measurements: fasting of at least 04 (four) hours before the exam, no practicing of any exercise in the 12 (twelve) hours before the exam, urinating before the exam, no drinking

of alcohol and food with caffeine (coffee, sodas, chocolates or teas) in the last 24 (twenty four) hours prior to the exam and not make use of any diuretics less than 24 (twenty four) hours before the exam. It was also asked of the volunteers that they remove all metal objects, such as necklaces, rings, bracelets, watches, belts among others. The instructions for the use of the device were followed according to the manufacture's recommendations (Biodynamics Corporation,2012).

For the strength evaluation of both hands a hydraulic handgrip dynamometer of the *Jamar* model was used. The individuals sat down on a regular chair; feet firmly placed on the ground, back leaned against the back of the chair, arms flexed with the elbows in a 90°. The dynamometer was regulated according to the hand size of the participant. The test began with the voice command and lasted for 05 (five) seconds, each hand was evaluated 03 (three) times with a minimum recess of 03 (three) minutes between each try and only the try with the biggest value was considered valid (Su, C.Y, *et al*, 1994; Richards, L.G, *et al*, 1996; Figueiredo, I. M, *et al*, 2007).

For the descriptive analyzes of the sample, the average, the standard deviation, the median and the frequency were used. The regularity of the dependable variables was evaluated through the Shapiro Wilks test. For the inferential analysis the ANOVA ONE WAY and the Post Roc were used, having groups as independent variables – left and right handgrip strength, fat and lean mass percentage. The relevance level that was adopted was 5% and the software used was the SPSS for Windows version 18.0

Results

Initially, the normality of all the dependent variables was analyzed and no values over the allowed limit were found. The descriptive data of the total sample can be found on Table 2.

Table 2. Anthropometric data and waist-hip relation of elderly men that attend the Maturity University of the Federal University of Tocantins

	MCT(Kg)	EST (m)	%G	P.MAGR O (Kg)	C.CINT (cm)	C.QUAD (cm)	RCQ
Average	78,52	1,66	28,54	55,68	94,68	98,99	0,95
Standard Deviation	16,29	0,07	5,46	10,42	10,51	9,08	0,07
Minimum	50,00	1,54	15,70	34,30	77,00	65,00	0,86
Maximum	124,70	1,81	41,00	86,40	127,00	120,00	1,26

MCT = Total Body Composition; EST = Stature; P. Magro = Lean Weight; C. = Circumference; RCQ = Waist-Hip Relation

Significant differences between the four groups concerning lean weight ($p \geq 0,05$) and body fat percentage ($p \geq 0,05$) are observable, characterizing the specificities of each group in relation to the analyzed variables (Table 3).

Table 3. Descriptive values of the variables corresponding to lean weight and fat mass per group.

	Group 1 (13)	Group 2 (10)	Group 3 (10)	Group 4(13)
Lean Weight (kg)	49,93 \pm 4,13	60,39 \pm 3,43	44,60 \pm 5,97	66,4 \pm 8,64
Fat Mass (%G)	23,65 \pm 3,93	24,77 \pm 3,65	33,48 \pm 3,21	32,55 \pm 1,77

Regarding strength (Table 4) significant differences were found in all groups, where groups 02 and 04 presented stronger handgrip strength, being that group 02 was the strongest

for both right and left hands. Group 03 showed the weakest performance in the strength evaluation and was characterized by the highest percentage of fat and lowest lean weight.

Table 4. Comparison between values of handgrip strength of right and left hands between the classified body composition groups

Handgrip Strength Right Hand			
Groups	Average Kgf	DP	p
Group 1 (n=13)	32,31 ^{bcd}	6,31	F(3,45)=7,36; p=0,001
Group 2 (n=10)	38,0 ^{acd}	7,84	
Group 3 (n=10)	25,10 ^{abd}	6,06	
Group 4 (n=13)	35,46 ^{abc}	6,17	
Handgrip Strength Left Hand			
Group 1 (n=13)	31,46 ^{bcd}	7,34	F(3,45)=6,42; p=0,001
Group 2 (n=10)	38,2 ^{acd}	8,54	
Group 3 (n=10)	25,2 ^{abd}	5,86	
Group 4 (n=13)	36,76 ^{abc}	8,01	

a –Significant differences of group 1; b- Significant differences of group 2; c- Significant differences of group 3; d- Significant differences of group 4.

DISCUSSION

After the division of the groups, it was noticeable that G1 and G2 found themselves within the amount of fat percentage recommended of 25%, according to the American College of Sports Medicine (ACSM, 2006). On the other hand, G3 and G4 found themselves with percentages above the recommended rate.

Our study is corroborated with literature available worldwide. (Caramono, *et al*, 1999; Goodpaster, *et al*, 2000; Narici, *et al*, 2010; Pereira, *et al*, 2011). It was observed that the groups possessing higher percentages of lean mass, G2 and G4, registered higher scores of strength, even with various percentages of body fat. However, the results allow us to infer about the relation between the fat percentage and lean mass over strength, since G3 showed higher percentages of fat and a lean mass superior to G1, but were associated with a lower score for the handgrip strength having results similar to the studies of Delmonico, *et al* (2009); Pereira, *et al* (2011); Narici e Maffulli, (2010).

The relations of body composition alongside with manual handgrip strength in elderly men can be used as evaluations of indicators in daily life activities (REIS *et al*, 2003). Being able to execute with ease, without the help of others, motor gestures such as holding a glass of water, going up a flight of stairs, sitting down, among others, without having the risk of falling, demonstrates autonomy to accomplish everyday tasks, a fact that improves quality of life. (Clemson, *et al* 2012; Tanimoto, *et al* 2012).

The increase of fat percentage during the aging process is being described without an exact ethnology; however, some studies show a strong relation with the decrease of the AVD's associated with the nutritional transition that affects all age groups (Carneiro, *et al*, 2012; Colin-Ramirez, 2011; Ferreira, 2003).

High prevalence of excess body fat is an alarming factor, on account of it being directly related to poor health conditions, such as alterations in the lipid profile, increase in the arterial pressure and hyperinsulinemia, as well as the risk factors for developing chronic diseases like diabetes type 02 and cardiovascular disease among others. (Oliveira, *et al.*, 2004; Riveira, *et al*, 2010). Some studies report the need of conducting a retrospective evaluation so as to characterize senior groups with more or less coronary risks. These show a higher

prevalence of mortality in the group that shows elevated patterns in the %F in premature ages (Thorpe, *et al*, 2004).

The sarcopenia that is associated with aging is already a phenomenon well described in literature (Bijlsma, *et al*, 2012; Caroman, *et al*, 1999; Carvalho, *et al*, 2004; Colin-Ramirez, *et al*, 2011; Ha, *et al*, 2010; Narici, *et al*, 2010), being intimately associated with loss of strength and functionality in relation to the AVD's (Books, *et al*, 1994; Pereira, *et al*, 2011; Narici, M.V. AND N. Maffullia, 2010). The strength results from G2 were similar to those from other researches, where individuals of different age groups and both sexes who had a high level of lean mass and a low percentage of fat were able to promote more strength (Caromano, *et al*, 1999; Goodpaster, *et al*, 2000; Narici, *et al*, 2010; Pereira, *et al*, 2011).

In the manual handgrip results, the seniors showed average values of handgrip strength lower than normal for the left hand as well as for the right hand, except Group 02 (two) for the left hand (Bohannon, *et al*, 2006). This result is quite worrisome due to the fact that handgrip strength is used for almost all tasks we perform during our everyday and its measure and evaluation is of utmost importance because it provides an objective indicator of the functional integrity of the superior members (Moreira *et al*. , 2001; Artero, *et al*, 2011).

The loss of muscle strength through the years is being associated with an increase of unwariness of functional capacity (Lippincott, *et al*, 2008). Epidemiologically, studies have highlighted that the manual handgrip strength is the most useful factor of fragility when regarding chronological age and it is frequently used to characterize global muscular force. This way, the evaluation of muscle function in elderly people is fundamental to identify those in risk of incapacity due to skeletal-muscle deficits and to initiate interventions to decrease loss of strength, which can be necessary to the participating group of this study (Samuel; Rowe, 2012).

Baumgartner (2000) studied sarcopenial and/or obese men and women and in this research analyzed that when both sexes presented a combination of both dysfunctions of body composition they had higher chances of functional incapacity when compared to those with more muscle mass (Corona, *et al*, 2013). Due to this fact, the sarcopenial and obese population had a higher risk for 03 (three) or more physical incapacities when compared to people who only had sarcopenia or only obesity.

Conclusion

The study shows that elderly men who have more lean weight have significantly more strength than elderly men who have less lean weight. However, the results show that the levels of handgrip strength do not depend solely on lean weight, but also on %F, where the correlation of lean weight and fat percentage can indicate a better or worse condition to perform the isometric handgrip effort.

Bibliographical References:

1. Armstrong, L. (2006). ACSM's guidelines for exercise testing and prescription/American College of.

2. Brasil, Ministério da Saúde ,Básica, A. (2006). Série Pactos pela Saúde. Política Nacional de Atenção Básica.
3. Brasil, Ministério da Saúde ,Básica, A. (2010). Série B. Textos Básicos de Saúde. Política Nacional de Atenção Básica.
4. Barbosa, A. R., Souza, J. M., Lebrão, M. L., Laurenti, R., & Marucci, M. D. F. N. (2005). Anthropometry of elderly residents in the city of São Paulo, Brazil. *Cadernos de Saúde pública*, 21(6), 1929-1938.
5. Baumgartner, R. N. (2000). Body composition in healthy aging. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 904(1), 437-448.
6. Bijlsma, A. Y., Meskers, C. G. M., Ling, C. H. Y., Narici, M., Kurrle, S. E., Cameron, I. D., ... & Maier, A. B. (2012). Defining sarcopenia: the impact of different diagnostic criteria on the prevalence of sarcopenia in a large middle aged cohort. *Age*, 1-11.
7. Borges, L. J., Cardoso, A. S., Benedetti, T. R. B., Mazo, G. Z., Lopes, M. A., & Borgatto, A. F. (2008). Teste de resistência de força de membros superiores para idosos: comparação entre halteres com pesos diferentes; Strength resistance test of superior members for elderly people: comparison between dumbbells with different weight. *Rev. bras. cineantropom. desempenho hum*, 10(3), 261-265.
8. Brasil, E. I. (2003). Lei nº 10.741 de 01 de Outubro de 2003. Brasília-DF: Senado Federal.

9. Brasil. Portaria n.º 2.528 (2006) . Política Nacional de Saúde da Pessoa Idosa (PNSPI). Brasília; 8 p.
10. Brooks, S. V., & Faulkner, J. A. (1994). Skeletal muscle weakness in old age: underlying mechanisms. *Medicine and science in sports and exercise*, 26, 432-432.
11. Caromano, F. A., & Tsai, C. J. (1999). Estudo comparativo do desempenho em testes da força muscular entre indivíduos jovens e idosos através da miometria; Comparative study of the performance during tests of muscular strength among young and senior individuals through miometry. *Rev. fisioter. Univ. São Paulo*, 6(1), 101-12.
12. Carneiro, J. A. O., Santos-Pontelli, T. E., Vilaça, K. H., Pfrimer, K., Colafêmina, J. F., Carneiro, A. A. O., & Ferriolli, E. (2012). Obese elderly women exhibit low postural stability: a novel three-dimensional evaluation system. *Clinics*, 67(5), 475.
13. Carvalho, J., & Soares, J. M. (2004). Envelhecimento e força muscular: breve revisão. *Revista Portuguesa de Ciências do Desporto*, 4(3), 79-93.
14. Carvalho, T. B. D., Yamada, A. K., Crepaldi, M. D., Souza, J. C. D., Prestes, J., & Verlengia, R. (2012). Treinamento de força excêntrico em idosos: revisão acerca das adaptações fisiológicas agudas e crônicas. *Revista Brasileira de Ciência e Movimento*, 20(4), 112-121.

15. Chen, K. M., Hung, H. M., Lin, H. S., Haung, H. T., & Yang, Y. M. (2011). Development of the model of health for older adults. *Journal of Advanced Nursing*, 67(9), 2015-2025.
16. Clemson, L., Singh, M. A. F., Bundy, A., Cumming, R. G., Manollaras, K., O'Loughlin, P., & Black, D. (2012). Integration of balance and strength training into daily life activity to reduce rate of falls in older people (the LiFE study): randomised parallel trial. *BMJ: British Medical Journal*, 345.
17. Colín-Ramírez, E., Orea-Tejeda, A., Castillo-Martínez, L., Montaña-Hernández, P., Sánchez-Ramírez, A., Pineda-Juárez, J. A., & Rebollar-González, V. (2011). Malnutrition syndrome, but not body mass index, is associated to worse prognosis in heart failure patients. *Clinical Nutrition*, 30(6), 753-758.
18. Corona, L. P., Nunes, D. P., da Silva Alexandre, T., Santos, J. L. F., de Oliveira Duarte, Y. A., & Lebrão, M. L. (2013). Weight Gain Among Elderly Women as Risk Factor for Disability Health, Well-Being and Aging Study (SABE Study). *Journal of aging and health*, 25(1), 119-135.
19. Delmonico, M. J., Harris, T. B., Visser, M., Park, S. W., Conroy, M. B., Velasquez-Mieyer, P., ... & Goodpaster, B. H. (2009). Longitudinal study of muscle strength, quality, and adipose tissue infiltration. *The American journal of clinical nutrition*, 90(6), 1579-1585.

20. Deriemaeker, P., Aerenhouts, D., De Ridder, D., Hebbelinck, M., & Clarys, P. (2011). Health aspects, nutrition and physical characteristics in matched samples of institutionalized vegetarian and non-vegetarian elderly (> 65yrs). *Nutrition & metabolism*, 8(1), 1-8.
21. Figueiredo, I. M., Sampaio, R. F., Mancini, M. C., Silva, F. C. M., & Souza, M. A. P. (2007). Teste de força de preensão utilizando o dinamômetro Jamar; Test of grip strength using the Jamar dynamometer. *Acta Fisiatrica*, 14(2).
22. Forrest, K. Y., Bunker, C. H., Sheu, Y., Wheeler, V. W., Patrick, A. L., & Zmuda, J. M. (2012). Patterns and correlates of grip strength change with age in Afro-Caribbean men. *Age and ageing*, 41(3), 326-332.
23. Ferreira, M. T. (2010). O papel da atividade física na composição corporal de idosos. *Revista Brasileira de Ciências da Saúde*, 1(1).
24. Giampaoli, S., Ferrucci, L. U. I. G. I., Cecchi, F., Noce, C. L., Poce, A., Dima, F., ... & Menotti, A. L. E. S. S. A. N. D. R. O. (1999). Hand-grip strength predicts incident disability in non-disabled older men. *Age and Ageing*, 28(3), 283-288.
25. Goodpaster, B. H., Kelley, D. E., Thaete, F. L., He, J., & Ross, R. (2000). Skeletal muscle attenuation determined by computed tomography is associated with skeletal muscle lipid content. *Journal of Applied Physiology*, 89(1), 104-110.
26. Ha, L., Hauge, T., Spenning, A. B., & Iversen, P. O. (2010). Individual, nutritional support prevents undernutrition, increases muscle strength and improves QoL among elderly

at nutritional risk hospitalized for acute stroke: a randomized, controlled trial. *Clinical nutrition*, 29(5), 567-573.

27. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. Sayer, A. A., Dennison, E. M., Syddall, H. E., Jameson, K., Martin, H. J., & Cooper, C. (2008). The developmental origins of sarcopenia: using peripheral quantitative computed tomography to assess muscle size in older people. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 63(8), 835-840.

28. Manual Biodynamics Corporation. (1998-2012). All rights reserved.

29. Narici, M. V., & Maffulli, N. (2010). Sarcopenia: characteristics, mechanisms and functional significance. *British medical bulletin*, 95(1), 139-159.

30. Oliveira, C. L. D., Mello, M. T. D., Cintra, I. D. P., & Fisberg, M. (2004). Obesity and metabolic syndrome in infancy and adolescence. *Revista de Nutrição*, 17(2), 237-245.

31. Pereira, R., Cardoso, B. S., Itaborahy, A. S., & Machado, M. (2011). Analysis of handgrip strength from elderly women: a comparative study among age groups]. *Acta médica portuguesa*, 24(4), 521.

32. Reis, W. (2003). Relação entre força muscular de preensão manual e atividades da vida diária (AVDs) em idosos institucionalizados. *Rev. Reabilitar*, 5(19), 19-23.

33. Richards, L. G., Olson, B., & Palmiter-Thomas, P. (1996). How forearm position affects grip strength. *The American Journal of Occupational Therapy*, 50(2), 133-138.
34. Silva, A. O., Karnikowski, M. G. O., Funghetto, S. S., Stival, M. M., Lima, R. M., de Souza, J. C., ... & Prestes, J. (2013). Association of body composition with sarcopenic obesity in elderly women. *International journal of general medicine*, 6, 25.
35. Silva Neto, L. S., Karnikowski, M. G., Tavares, A. B., & Lima, R. M. (2012). Association between sarcopenia, sarcopenic obesity, muscle strength and quality of life variables in elderly women. *Revista Brasileira de Fisioterapia*, 16(5), 360-367.
36. Souto, P. P. C., BANDEIRA, T. F., & Sandoval, R. A. (2009). FORÇA MUSCULAR DE MEMBROS SUPERIORES E INFERIORES: estudo correlacional comparativo entre grupos de idosos. *Trances*, 3(1), 129-148.
37. Su, C. Y., Lin, J. H., Chien, T. H., Cheng, K. F., & Sung, Y. T. (1994). Grip strength in different positions of elbow and shoulder. *Archives of physical medicine and rehabilitation*, 75(7), 812.
38. Wu, S. W., Wu, S. F., Liang, H. W., Wu, Z. T., & Huang, S. (2009). Measuring factors affecting grip strength in a Taiwan Chinese population and a comparison with consolidated norms. *Applied ergonomics*, 40(4), 811-815.

ANEXO 4. UTILIZAÇÃO DO KIT QIAGEN

Protocolos – Sandro R. Valentini

PURIFICAÇÃO DE DNA A PARTIR DE GEL: (Qiagen – QIAquick Gel Extraction Kit Protocol)

Este protocolo é designado para extrair e purificar DNA de 70pb até 10kb de gel de agarose padrão ou "low-melt" em tampão TAE ou TEB. Até 400mg de agarose podem ser processados por coluna de centrifugação. Em algumas situações, este kit pode também ser usado para limpeza de DNA proveniente de reações enzimáticas (ver página 7 do manual da Qiagen para maiores informações).

Notas:

- A cor amarela do tampão QG indica um pH ≤ 7.5 .
 - Verificar se etanol (96-100%) foi adicionado ao tampão PE (ver etiqueta do próprio frasco).
 - Todos os passos de centrifugação são realizados a $\geq 10.000xg$ ($\cong 13.000rpm$) em uma microcentrífuga.
 - Para limpeza de DNA de soluções usando este protocolo, adicionar 3 volumes de tampão QG à reação, misturar e prosseguir com o passo 6.
1. Retirar o fragmento de DNA do gel de agarose com um bisturi limpo.
 2. Pesar o pedaço do gel em um tubo transparente. Adicionar 3 volumes de tampão QG para 1 volume do gel (geis $>2\%$ de agarose adicionar 6 volumes de tampão QG). *Ex: 300 μ l do tampão QG para cada 100mg do gel. O Peso máximo do pedaço do gel para cada coluna =400mg.*
 3. Incubar a 50°C até que o pedaço tenha dissolvido completamente (10 minutos, no máximo). Para ajudar a dissolver o gel, vortexar o tubo a cada 2-3min. durante a incubação. *Solubilizar toda agarose.*
 4. Adicionar 1 volume do gel de isopropanol na amostra e misturar. *Ex: Se o pedaço do gel pesar 100mg, adicionar 100 μ l de isopropanol. Este passo aumenta o rendimento de fragmentos de DNA $<500pb$ e $>4kb$. Para fragmentos de DNA entre 500pb e 4kb, adição de isopropanol não tem efeito. Não centrifugue a amostra neste estágio.*
 5. Colocar a coluna QIAquick num tubo coletor de 2mL.
 6. Aplicar a amostra na coluna QIAquick para a ligação do DNA e centrifugar por 1 min. *O volume máximo do reservatório é 800 μ L. Para volumes maiores que este, centrifugar em duas etapas.*
 7. Descartar o líquido do tubo coletor e colocar a coluna novamente no tubo coletor.
 8. (Opcional) Adicionar 0,5mL do tampão QG à coluna QIAquick e centrifugar por 1 min.
 9. Lavar adicionando 0,75mL do tampão PE na coluna QIAquick e centrifugar por 1 min. *NOTA: Se o DNA será usado para aplicações sensíveis ao sal, tal como ligações blunt e sequenciamento, deixar a coluna por 2-5 min após a adição do tampão PE, antes da centrifugação.*
 10. Descartar o líquido do tubo coletor e centrifugar a coluna QIAquick por 1 minuto adicional a $>10.000xg$ (aproximadamente 13.000rpm).
 11. Colocar a coluna QIAquick em um tubo limpo de 1.5mL.
 12. Para eluir o DNA, adicionar 50 μ L do tampão EB (Tris 10mM, pH 8,5) ou água (pH 8,5) no centro da membrana e centrifugar por 1 minuto. Alternativamente, para uma maior concentração de