

UNIVERSIDADE EVANGÉLICA DE GOIÁS – UniEVANGÉLICA PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM MOVIMENTO HUMANO E REABILITAÇÃO
PPGMHR

Efeitos do Treinamento Físico Aeróbio sobre a Resposta Humoral dos Órgãos Linfoides
Primários e Secundários em Camundongos



PAULA MARCIANO BRAGA

ANÁPOLIS, GO

2026

UNIVERSIDADE EVANGÉLICA DE GOIÁS – UniEVANGÉLICA PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM MOVIMENTO HUMANO E REABILITAÇÃO
PPGMHR

Efeitos do Treinamento Físico Aeróbico sobre a Resposta Humoral dos Órgãos Linfoides

PAULA MARCIANO BRAGA

Primários e Secundários em Camundongos

**Dissertação de Mestrado Apresentada ao
PPGMHR para obtenção do título de mestre
em Ciências da Reabilitação.**

Orientador: Prof. Dr. Rodolfo de Paula Vieira

ANÁPOLIS, GO

2026

FICHA CATALOGRÁFICA

B813

Braga, Paula Marciano.

Efeitos do treinamento físico aeróbico sobre a resposta humoral dos órgãos linfoides primários e secundários em camundongos / Paula Marciano Braga – Anápolis: Universidade Evangélica de Goiás – UniEvangélica, 2026.

70p.; il.

Orientador: Prof. Dr. Rodolfo de Paula Vieira.

Dissertação (mestrado) – Programa de pós-graduação em Movimento Humano e Reabilitação – Universidade Evangélica de Goiás - UniEvangélica, 2026.

1. Treinamento físico 2. Resposta imunológica 3. Citocinas 4. Órgãos linfoides
5. Modulação anti-inflamatória I. Vieira, Rodolfo de Paula II. Título

CDU 615.8

Catálogo na Fonte

Elaborado por Rosilene Monteiro da Silva CRB1/3038


FOLHA DE APROVAÇÃO
EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO AERÓBIO SOBRE A RESPOSTA
HUMORAL DOS ÓRGÃOS LINFOIDES PRIMÁRIOS E SECUNDÁRIOS EM
CAMUNDONGOS
PAULA MARCIANO BRAGA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Movimento Humano e Reabilitação -PPGMHR da Universidade Evangélica de Goiás - UniEVANGÉLICA como requisito parcial à obtenção do grau de MESTRE.


Aprovado em 19 de dezembro de 2026.

Linha de Pesquisa: Linha de Pesquisa: Efeitos Agudos e Crônicos do Exercício Físico


Banca examinadora

Documento assinado digitalmente
 **RODOLFO DE PAULA VIEIRA**
Data: 19/02/2026 11:39:14-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Rodolfo de Paula Vieira

Documento assinado digitalmente
 **VIVIANE SOARES**
Data: 03/03/2026 09:20:17-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Viviane Soares

Documento assinado digitalmente
 **FLAVIO AIMBIRE SOARES DE CARVALHO**
Data: 02/03/2026 10:55:41-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Flavio Aimbire Soares de Carvalho

TERMO DE APROVAÇÃO (fornecida pela Coordenação do PPGMHR)

Anápolis, 19 de fevereiro de 2026.

Efeitos do Treinamento Físico Aeróbio sobre a Resposta Humoral dos Órgãos Linfoides
Primários e Secundários em Camundongo

Paula Marciano Braga

Dissertação apresentada à Universidade Evangélica de Goiás - UniEVANGÉLICA para
obtenção do título de Mestre em Movimento Humano e Reabilitação.

Banca Examinadora

Presidente: Prof. Dr. Rodolfo de Paula Vieira, Orientador – UniEVANGÉLICA

Membro interno: Prof.^a Dr.^a Viviane Soares, Coorientador – UniEVANGÉLICA

Membro Externo: Prof. Dr. Flavio Rogerio da Silva Carvalho – UNIFESP

Membro Externo: Prof.^a Dr.^a Juliana de Melo Batista dos Santos – USP

Agradecimentos

Agradeço, primeiramente, a Deus pela força e perseverança ao longo desta jornada. Ao meu orientador, Prof. Dr. Rodolfo de Paula Vieira, sou profundamente grata pelo acompanhamento exigente, pelas orientações valiosas e pela confiança depositada em meu trabalho. Agradeço também aos membros da banca examinadora, Prof.^a Dr.^a Viviane Soares, Prof. Dr. Gaspar Rogerio da Silva Chiappa, Prof. Dr. Flavio Rogerio da Silva Carvalho e Prof.^a Dr.^a Juliana de Melo Batista dos Santos, pelas contribuições críticas e sugestões que enriqueceram esta dissertação.

Reconheço o apoio institucional do Programa de Pós-Graduação em Movimento Humano e Reabilitação e da Universidade Evangélica de Goiás, que forneceram infraestrutura e ambiente acadêmico propícios à realização da pesquisa.

Sou grata aos colegas e amigos do grupo de pesquisa/laboratório, em especial ao meu esposo, Irwing Franck, pelas discussões, apoio técnico e incentivos nos momentos difíceis. À minha família, agradeço pelo amor, paciência e suporte incondicional, pela compreensão das ausências, pelas palavras de incentivo e por acreditarem em mim sempre.

Por fim, agradeço a todas as pessoas que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a conclusão deste trabalho. A cada uma delas, deixo minha sincera gratidão.

Listas de ilustrações, tabelas, quadros, figuras, abreviaturas e símbolos

Ilustrações

Figura 1 – Leucócitos no sangue.....

Figura 2 – Citocinas no plasma.....

Figura 3 – Resposta humoral do órgão linfoide primário medula óssea.....

Figura 4 – Resposta humoral do órgão linfoide secundário baço.....

Figura 5 – Resposta humoral do órgão linfoide secundário linfonodos.....

Abreviaturas e Siglas

IL Interleucina

TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
HSPC	Células-tronco hematopoiéticas e progenitoras
MALT	Tecido linfoide associado às mucosas
TCR	Receptor de células T
HSC	Células-tronco hematopoiéticas
G-CSF	Fator estimulador de colônias de granulócitos
SCF	Fator de Células-Tronco

Resumo

O estudo investigou os efeitos do treinamento físico aeróbio de intensidade moderada sobre a resposta imunológica em camundongos C57BL/6, com foco nos órgãos linfoides primários e secundários. O objetivo foi avaliar como o exercício influencia a resposta imunológica celular e humoral sistêmica. A metodologia incluiu a adaptação de camundongos a uma esteira, seguida por um protocolo de treinamento de quatro semanas, com análises de hemograma e citocinas. Os resultados mostraram uma modulação imunológica significativa, caracterizada por redução de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β e TNF- α) e aumento de mediadores anti-inflamatórios (IL-1RA e IL-10), sem ativação exacerbada das vias Th1, Th2 ou Th17. A conclusão aponta que o treinamento físico promove um perfil imunológico anti-inflamatório e regulatório, sugerindo seu potencial como uma intervenção não farmacológica na promoção da saúde e prevenção de doenças inflamatórias.

Palavras-chave:

Treinamento físico; resposta imunológica; citocinas; órgãos linfoides; modulação anti-inflamatória.

Abstract

The study investigated the effects of moderate-intensity aerobic exercise on the immune response in C57BL/6 mice, focusing on primary and secondary lymphoid organs. The objective was to evaluate how exercise influences systemic cellular and humoral immune responses. The methodology included acclimating mice to a treadmill, followed by a four-week training protocol, with analyses of complete blood counts and cytokines. Results showed significant immune modulation, characterized by reduced pro-inflammatory cytokines (IL-1 β and TNF- α) and increased anti-inflammatory mediators (IL-1RA and IL-10), without exacerbated activation of Th1, Th2, or Th17 pathways. The conclusion indicates that physical training promotes an anti-inflammatory and regulatory immune profile, suggesting its potential as a non-pharmacological intervention for health promotion and prevention of inflammatory diseases.

Key words

Physical training; immune response; cytokines; lymphoid organs; anti-inflammatory modulation.

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	2
1.1 O sistema imunológico.....	2
1.2 Órgãos linfoides.....	3
1.2.1 Órgãos linfoides primários.....	3
1.2.2 Órgãos linfoides secundários.....	4
1.3 Exercício físico e o sistema imunológico.....	5
1.3.1 Exercício físico e componentes celulares do sistema imunológico.....	9
1.3.2 Exercício físico e componentes humorais do sistema imunológico.....	12

2. OBJETIVOS.....	16
2.1 Objetivo	
geral.....	16
2.2 Objetivos	
específicos.....	16
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1 Camundongos e delineamento	
experimental.....	17
3.2. Protocolo de treinamento físico aeróbio de intensidade	
moderada.....	17
3.3 Avaliação da inflamação	
sistêmica.....	18
3.4 Avaliação da resposta humoral do órgão linfoide primário medula	
óssea.....	19
3.5 Avaliação da resposta humoral dos órgãos linfoides secundários, baço e	
nodos	
linfáticos.....	19
3.6 Dosagem de citocinas por	
ELISA.....	20
3.7 Análise	
estatística.....	21
4. RESULTADOS.....	22
4.1 Efeitos do treinamento físico sobre o peso e sobre a capacidade física dos	
camundongos.....	22

4.2	Efeitos do treinamento físico sobre o número de leucócitos no sangue.....	22
4.3	Efeitos do treinamento físico sobre a resposta humoral sistêmica.....	25
4.4	Efeitos do treinamento físico sobre a resposta humoral do órgão linfóide primário medula óssea.....	30
4.5	Efeitos do treinamento físico sobre a resposta humoral do órgão linfóide secundário baço.....	34
4.6	Efeitos do treinamento físico sobre a resposta humoral do órgão linfóide secundário linfonodos.....	38
5.	DISCUSSÃO.....	42
6.	CONCLUSÃO.....	47
7.	REFERÊNCIAS.....	48

1. Introdução

1.1. O Sistema Imunológico

O sistema imunológico é definido como uma rede complexa e integrada de células, tecidos e moléculas solúveis que evoluiu para proteger o hospedeiro contra uma vasta gama de patógenos infecciosos e toxinas ambientais (1). A sua função primordial é a manutenção da homeostase biológica através da distinção precisa entre os componentes próprios do organismo ("*self*") e os agentes estranhos ou ameaçadores ("*non-self*") (2). Além da defesa antimicrobiana, este sistema desempenha um papel fundamental na vigilância imunológica, identificando e eliminando células hospedeiras alteradas, como as células neoplásicas (3). Recentemente, reconheceu-se que o sistema imune também é essencial para o reparo tecidual e para a regulação de processos metabólicos sistêmicos (4).

Estruturalmente, o sistema imunológico é dividido em duas linhagens funcionais: a imunidade inata e a imunidade adaptativa (5). A imunidade inata constitui a primeira linha de defesa, caracterizando-se por uma resposta rápida, porém com especificidade limitada, utilizando barreiras físicas, proteínas plasmáticas e células como macrófagos e neutrófilos (6). Em contrapartida, a imunidade adaptativa é mediada por linfócitos T e B, apresentando alta especificidade antigênica e a capacidade de gerar memória imunológica (7). Esta memória permite que o organismo responda de forma mais célere e vigorosa a exposições subsequentes ao mesmo antígeno (8).

A organização anatômica do sistema imune baseia-se nos órgãos linfoides (9). Os órgãos linfoides primários, que compreendem a medula óssea

e o timo, são os locais onde ocorre a produção e a maturação inicial das células imunes (10). Já os órgãos linfoides secundários, como os linfonodos, o baço e os tecidos linfoides associados às mucosas, fornecem o ambiente especializado onde as células imunes interagem com os antígenos para iniciar as respostas adaptativas (11). A coordenação entre estes componentes celulares e estruturais garante a robustez e a plasticidade necessárias para a sobrevivência do hospedeiro frente aos desafios imunológicos (12).

1.2. Os Órgãos Linfoides

O sistema imunológico humano é sustentado por uma rede organizada de órgãos linfoides, que fornecem o microambiente necessário para o desenvolvimento, maturação e ativação das células de defesa (13). Esses órgãos são classificados em primários e secundários, uma distinção baseada em suas funções específicas na vida biológica dos linfócitos (14). Enquanto os órgãos primários focam na geração do repertório imune, os secundários são os locais onde as respostas imunes adaptativas são orquestradas (15). A integridade estrutural desses tecidos é fundamental para a vigilância imunológica eficiente e para a manutenção da homeostase do hospedeiro (16).

1.2.1. Os Órgãos Linfoides Primários

Os órgãos linfoides primários, também conhecidos como órgãos centrais, compreendem a medula óssea e o timo (17). Sua função primordial é a linfopoiese, processo que envolve a produção de linfócitos a partir de células-tronco hematopoiéticas e sua maturação funcional (18). A constituição básica desses órgãos inclui um estroma especializado, composto por células epiteliais,

fibroblastos e uma matriz extracelular que fornece sinais químicos cruciais para a diferenciação celular (19).

A medula óssea é o local onde ocorre a hematopoiese sistêmica e a maturação completa dos linfócitos B (20). Ela é constituída por nichos vasculares e endosteais que regulam a proliferação de progenitores e a seleção de células B que não reagem contra o próprio organismo (21). Já o timo é o órgão especializado na educação das células T (22). Sua estrutura é dividida em córtex e medula, onde timócitos interagem com células epiteliais tímicas para passar pelos processos de seleção positiva e negativa (23). Este ambiente garante que apenas linfócitos T funcionais e autotolerantes sejam liberados na circulação periférica (24).

1.2.2. Os Órgãos Linfoides Secundários

Os órgãos linfoides secundários, ou periféricos, incluem os linfonodos, o baço e os tecidos linfoides associados às mucosas (MALT), como as amígdalas e as placas de Peyer (25). A principal função desses órgãos é capturar antígenos provenientes dos tecidos ou do sangue, facilitando o encontro entre antígenos e linfócitos virgens (26). A constituição desses tecidos é altamente organizada em zonas distintas para células T e células B, permitindo interações celulares otimizadas para a produção de anticorpos e ativação citotóxica (27).

Os linfonodos atuam como filtros biológicos para a linfa, drenando fluidos dos tecidos intersticiais e monitorando a presença de patógenos através de macrófagos e células dendríticas (28). O baço, por sua vez, desempenha uma função análoga para o compartimento sanguíneo, sendo composto pela polpa

branca, rica em linfócitos, e pela polpa vermelha, responsável pela remoção de hemácias senescentes (29). O MALT protege as superfícies mucosas expostas ao ambiente externo, apresentando uma estrutura menos encapsulada, mas altamente eficiente na indução de respostas imunes locais (30). Em todos esses órgãos, a formação de centros germinativos é essencial para a maturação da afinidade dos anticorpos e a geração de células de memória (31).

1.3. Exercício Físico e Sistema Imunológico

O sistema imunológico é uma rede complexa cujas funções são moduladas de forma dinâmica pela prática regular de exercícios físicos (32). No centro dessa regulação estão os órgãos linfóides primários, nomeadamente o timo e a medula óssea, que atuam como os principais locais de linfopoiese (33). O exercício físico é capaz de influenciar o microambiente desses tecidos, alterando tanto a produção quanto a exportação de células imunes para a periferia (34). Estudos conduzidos em humanos e modelos animais sugerem que a atividade física pode atuar como um agente rejuvenescedor para o sistema imune (35).

O timo é o órgão essencial para a maturação, diferenciação e seleção do repertório de linfócitos T (36). Um dos maiores desafios da imunologia moderna é a involução tímica associada à idade, que resulta na substituição do tecido epitelial por gordura e na redução da saída de células T virgens (37). Pesquisas em modelos de ratos demonstram que o exercício aeróbico crônico é capaz de mitigar esse processo, preservando a celularidade e a arquitetura do parênquima tímico (38). Em humanos, evidências robustas indicam que ciclistas master, que realizam exercício físico aeróbico mantêm níveis de

interleucina-7 (IL-7) e uma massa tímica superiores aos de indivíduos sedentários da mesma faixa etária (39). Além disso, protocolos de treinamento de alta intensidade têm demonstrado modular a expressão de genes reguladores do apoptose no ambiente tímico (40).

Diferentemente do timo, a medula óssea funciona como o nicho hematopoiético central, sendo responsável pela produção de linfócitos B e de todos os progenitores mieloide e linfoide (41). O exercício agudo promove uma mobilização imediata de células-tronco e progenitoras hematopoiéticas (HSPCs) da medula para o sangue periférico (42). Esse recrutamento é mediado por alterações hemodinâmicas e pela ativação do sistema nervoso simpático, que altera a sinalização de quimiocinas no nicho medular (43). O treinamento físico contínuo, ou seja, o exercício físico aeróbico sem intervalos, também parece otimizar o nicho de células B, prevenindo o declínio funcional das células precursoras que ocorre naturalmente com o envelhecimento (44). Em modelos de camundongos, o exercício aeróbico foi associado a um aumento na diferenciação de progenitores linfoides comuns, sugerindo uma medula óssea mais eficiente (45).

A distinção entre os efeitos adaptativos no timo e na medula óssea é fundamental para compreender a imunossenescência e a resposta imunológica ao estresse (46). Enquanto o timo responde predominantemente através da manutenção da produção de novas células T para garantir a diversidade imunológica, a medula óssea apresenta uma dinâmica de mobilização celular rápida em resposta ao esforço (47). A intensidade, o volume e o tipo de exercício realizado são determinantes críticos para a magnitude dessas adaptações teciduais (48). Em última análise, o exercício físico estabelece-se

como uma intervenção não farmacológica capaz de fortalecer as bases estruturais da imunidade sistêmica (49).

A atividade física é um modulador sistêmico da homeostase imune e, além de alterar o tráfego e a função de leucócitos periféricos, pode influenciar diretamente a “produção” de novas células imunes ao atuar sobre os órgãos linfóides primários: o timo e a medula óssea. [50,51]. Esses dois compartimentos são funcionalmente complementares, pois a medula óssea sustenta a hematopoiese e gera progenitores linfoides e mieloides, enquanto o timo oferece um microambiente epitelial especializado para a maturação e seleção de linfócitos T, garantindo tolerância central e diversidade do repertório de receptores de células T (TCR). [50,52]. Com o envelhecimento, ocorre involução tímica progressiva, com redução da produção de linfócitos T naíve e impacto sobre diversidade imunológica, fenômenos fortemente ligados à imunossenescência e ao aumento de vulnerabilidade a infecções e pior resposta vacinal. [53].

No timo, os efeitos do exercício são melhores descritos como preservação funcional indireta e modulação de marcadores de “output tímico”, mais do que como reversão anatômica robusta da involução em todos os modelos e intensidades. [54,55]. Em adultos mais velhos com histórico de atividade física intensa ao longo da vida (p.ex., ciclistas master) apresentam maior frequência de células T naíve e de recentes emigrantes tímicos em comparação a pares sedentários, sugerindo manutenção superior da produção tímica (ou de seus correlatos) no contexto de envelhecimento. [54]. Essas diferenças associam-se a um perfil sistêmico mais favorável ao timo (p.ex., menor IL-6 e maior IL-7 circulante no grupo fisicamente ativo), coerente com a

noção de que fatores inflamatórios e endócrino-metabólicos modulam o microambiente tímico e sua eficiência de timopoiese. [54,53]. Em contrapartida, em camundongos idosos submetidos a treinamento moderado em esteira por meses, observou-se melhora do balanço naíve:memória em compartimentos periféricos (p.ex., baço), porém com pouca ou nenhuma reversão de medidas intratímicas, indicando que parte do “benefício T” do exercício pode ocorrer também por mecanismos extratímicos (redistribuição, remoção seletiva ou dinâmica periférica de subpopulações). [56]. Na medula óssea, o exercício atua sobre um eixo mecanobiológico–neuroimune–endócrino que alcança diretamente o nicho hematopoético, composto por células estromais, endoteliais, osteolineares e sinais locais que regulam quiescência, autorrenovação, diferenciação e migração de células-tronco hematopoiéticas e células-tronco hematopoiéticas e progenitoras (HSC/HSPC). [52,57]. Em camundongos mostram que o treinamento de endurance pode aumentar expressivamente o conteúdo medular e a mobilização de células-tronco/progenitoras hematopoiéticas, reduzir adiposidade da cavidade medular e elevar a expressão de citocinas hematopoiéticas associadas ao exercício, indicando remodelamento do nicho em direção a um estado mais hematopoieticamente “produtivo”. [58]. Além disso, treinamento físico em camundongos foi capaz de expandir a quantidade de células-tronco hematopoiéticas (HSC) em nichos específicos e modificar parâmetros funcionais avaliados por transplante de medula óssea, sustentando que adaptações induzidas por exercício podem afetar tanto “quantidade” quanto “qualidade” do compartimento hematopoético. [59].

Em um contexto de agressão/terapia, a pré-condição por exercício em receptores aumentou sobrevida e reconstituição hematológica pós-transplante, associando-se a maior sobrevivência celular medular e melhor desempenho do microambiente após o procedimento. [60]. Em humanos, uma única sessão de exercício dinâmico vigoroso mobiliza CD34+ para o sangue periférico, fenômeno relevante tanto para a fisiologia do tráfego de progenitores quanto para potenciais aplicações translacionais em coleta de HSC, com participação provável de sinais hemodinâmicos, fator estimulador de colônias de granulócitos (G-CSF) e via β 2-adrenérgica. [61]. De forma convergente, revisões mecanísticas descrevem que a mobilização por exercício envolve sinais do nicho (p.ex., células estromais/osteoblastos, fator de células-tronco (SCF), fator estimulador de colônias de granulócitos (G-CSF) e noradrenalina simpática) e tende a aumentar com maior intensidade relativa do esforço. [62]. Ainda, a atividade física aeróbica pode alterar componentes estromais do nicho, como células-tronco mesenquimais derivadas da medula óssea, aumentando sua abundância e favorecendo potencial osteogênico em modelos experimentais, o que é consistente com um nicho mais “osteogênico/menos adipogênico” e, em paralelo, mais permissivo à hematopoiese saudável. [63]. Em condições metabólicas inflamatórias, como obesidade, a literatura aponta que o treinamento físico aeróbico pode reverter mielopoiese aberrante ao restaurar características do microambiente medular (p.ex., redução de adiposidade, aumento de fatores de retenção de HSC e diminuição de citocinas pró-inflamatórias), sugerindo que o exercício não apenas mobiliza células, mas também “reprograma” o nicho. [51]. Assim, embora timo e medula óssea sejam órgãos linfóides primários, o exercício parece impactá-los por vias parcialmente

distintas: no timo, predominam associações com preservação de output e ambiente sistêmico menos inflamatório ao longo do tempo, enquanto na medula óssea há evidência direta e consistente de remodelamento do nicho, expansão/mobilização de HSC/HSPC e melhora funcional em modelos pré-clínicos e humanos. [55,58,61].

1.3.1. Exercício Físico e Componentes Celulares do Sistema Imunológico

O exercício físico é um estressor fisiológico altamente regulado que reorganiza, de forma aguda e crônica, a distribuição e a funcionalidade dos principais compartimentos celulares do sistema imunológico, com implicações para vigilância imunológica, inflamação sistêmica e susceptibilidade a infecções (63,64,65). Em nível sistêmico, uma das respostas mais consistentes ao esforço é a leucocitose, cuja magnitude e cinética dependem da intensidade/duração do exercício e são explicadas, em grande parte, pela ação combinada de catecolaminas (mobilização rápida/"demarginação") e cortisol (efeito tardio), alterando transitoriamente o tráfego entre sangue e tecidos (66). Esse "tráfego imunológico" é central para compreender por que o exercício modifica contagens de neutrófilos, monócitos e linfócitos no sangue periférico sem necessariamente representar ganho ou perda real de células no organismo, mas sim redistribuição entre compartimentos (63,66,67).

No braço inato, neutrófilos e monócitos respondem ao exercício com mudanças quantitativas e qualitativas, e a literatura descreve que sessões prolongadas e/ou muito intensas podem deprimir temporariamente parâmetros funcionais (por exemplo, *burst* respiratório, apresentação antigênica), enquanto a prática regular tende a favorecer um fenótipo de menor inflamação basal e melhor prontidão imune (64,65). Em adultos mais velhos, a associação entre

maior atividade física aeróbica habitual e melhor preservação de dinâmica migratória de neutrófilos (quimiotaxia/quimiocinese) sugere que o estilo de vida ativo pode atenuar aspectos funcionais da imunossenescência no compartimento mieloide (68). Além disso, intervenções de treinamento (por exemplo, programas estruturados de semanas) têm sido usadas para testar causalidade, indicando que diferentes modelos de exercício podem modular respostas bactericidas de neutrófilos e monócitos em adultos previamente sedentários, reforçando a noção de “treinabilidade” de componentes inatos (69).

No braço adaptativo, o exercício agudo promove aumento imediato transitório de linfócitos circulantes durante o esforço, seguido por linfopenia na recuperação, fenômeno interpretado como redistribuição seletiva de subpopulações para tecidos periféricos e/ou compartimentos linfóides (67). Dentro desse eixo, células NK e subtipos de células T (incluindo perfis funcionais tipo 1) exibem mudanças marcantes após exercício intenso, podendo ocorrer redução temporária de proliferação linfocitária e de citocinas relacionadas à resposta celular, coerente com uma janela curta de modulação imunológica pós-esforço (67).

Em paralelo, revisões de referência na área destacam que períodos de treinamento muito intenso ou esforço prolongado sem adequada recuperação/nutrição podem ampliar a transitoriedade de disfunções imunológicas, enquanto o exercício regular moderado associa-se a menor risco de doenças respiratórias comuns e melhor regulação inflamatória (64,70). Do ponto de vista mecanístico, a comunicação músculo-sistema imune envolve miocinas e mediadores metabólicos produzidos pelo músculo esquelético, com

destaque para vias em que o exercício influencia imunometabolismo e pode contribuir para reduzir inflamação crônica e modular respostas em contextos como envelhecimento e doenças metabólicas (71). A relação entre atividade física em geral e envelhecimento imunológico também é suportada por evidências de que altos níveis de atividade na vida adulta podem estar associados a atenuação de características centrais da imunossenescência, incluindo aspectos ligados a “saída tímica” reduzida e composição de subpopulações de linfócitos T (72). Esses efeitos celulares e sistêmicos têm relevância clínica quando avaliados por desfechos funcionais do hospedeiro, como respostas vacinais, que servem como “teste de estresse” do sistema imune adaptativo em humanos (73,74). Em ensaios com adultos mais velhos, programas de exercício moderado foram associados a melhora de títulos/seroproteção pós-vacinação contra influenza, sustentando que adaptações ao treinamento podem potencializar respostas efetoras e memória imunológica em populações com resposta vacinal tipicamente reduzida (73,74). Em síntese, a literatura indica que o exercício físico atua como modulador dinâmico dos componentes celulares do sistema imune, redistribuindo células (efeito agudo), influenciando funções efetoras (inato e adaptativo) e, no longo prazo, favorecendo um perfil de melhor imunovigilância e menor inflamação basal quando praticado de forma regular e bem periodizada (64,65,70).

1.3.2. Exercício Físico e Componentes Humorais do Sistema Imunológico

O exercício físico desencadeia uma resposta humoral dinâmica, caracterizada por alterações transitórias e adaptações crônicas em citocinas, quimiocinas, fatores de crescimento e proteínas plasmáticas que integram a comunicação entre músculo, sistema imune e órgãos metabólicos (75, 57).

Uma ideia central contemporânea é que o músculo esquelético atua como órgão secretor/endócrino durante o exercício, liberando “mioquinas” (incluindo citocinas e fatores de crescimento) capazes de modular processos inflamatórios, metabólicos e vasculares em múltiplos tecidos (57,76).

Entre essas mioquinas, a interleucina-6 (IL-6) é a mais consistentemente descrita como aumentada de forma aguda durante esforços prolongados e/ou intensos, com liberação relacionada à contração muscular e ao estado energético (por exemplo, disponibilidade de glicogênio) (75,77). Evidências em humanos mostram que a IL-6 pode ser expressa e liberada pelo músculo em exercício sem aumento paralelo de TNF- α circulante, reforçando que sua elevação no esforço não precisa refletir um “perfil pró-inflamatório clássico”, o qual é caracterizado, em termos patológicos, por aumento concomitante de IL-6 e TNF- α (77).

Além disso, a própria IL-6, em concentrações comparáveis às do exercício extenuante, pode induzir um ambiente anti-inflamatório ao elevar, funcionando com um gatilho, os níveis de IL-1ra e IL-10, além de aumentar os níveis de cortisol, favorecendo uma resposta regulatória anti-inflamatória e ajudando a explicar parte da imunomodulação pós-esforço (78). Em nível sistêmico, revisões integrativas sustentam que a repetição de estímulos agudos (sessões de treino) contribui para um “ajuste” do eixo pró e anti-inflamatório, inibindo o desenvolvimento do quadro inflamatório denominado de inflamação subclínica, ou inflamação de baixo grau ao longo do tempo, embora a magnitude dessa adaptação dependa do fenótipo, composição corporal e carga total de treinamento (79,80).

No contexto das quimiocinas, estudos de intervenção indicam que o exercício físico aeróbico regular pode reduzir MCP-1 (CCL2) e IL-8 (CXCL8) em populações cardiometabólicas, sugerindo impacto favorável sobre recrutamento leucocitário e sinalização inflamatória associada ao tecido adiposo visceral, promovendo uma diminuição do estado pró-inflamatório nessa população (81). Essa modulação é biologicamente plausível porque IL-8 e MCP-1 estão ligadas, respectivamente, à quimiotaxia/ativação de neutrófilos e ao recrutamento de monócitos, processos diretamente implicados em inflamação tecidual e remodelamento vascular/metabólico, incluindo os processos de aterosclerose e arteriosclerose (81,82).

Para além de citocinas e quimiocinas, o exercício altera proteínas plasmáticas do sistema humoral, como componentes do sistema complemento, com evidências clássicas de ativação aguda (geração de anafilatoxinas) após esforço e, mais recentemente, sínteses que descrevem padrões distintos conforme modalidade esportiva ou da atividade física, dano muscular e duração (ex.: ultraendurance vs. treino contínuo) (83,84). No plano crônico, uma literatura de revisão por escopo indica que o treinamento pode associar-se a reduções em complemento C3 circulante e a mudanças em outras proteínas do complemento, reforçando o caráter sensível do complemento à carga de exercício e ao estado de aptidão (84).

Outro eixo humoral de grande relevância clínica é a resposta de fase aguda, na qual metanálises e revisões mostram que o treinamento físico tende a reduzir proteína C-reativa (PCR/CRP), inclusive com benefícios observáveis mesmo sem perda ponderal acentuada, embora reduções maiores sejam

frequentemente vistas quando há diminuição de adiposidade, acompanhada por um período mais longo de exercício (85,80).

No âmbito mucosal, as imunoglobulinas secretórias, especialmente IgA salivar, representam um marcador funcional do “braço humoral” de barreiras, e treinamentos intensos podem reduzir transitoriamente parâmetros de imunidade de mucosa, com recuperação variável conforme volume, intensidade e duração (86). Estudos de temporada em atletas demonstram que níveis mais baixos e/ou quedas persistentes de IgA salivar ao longo do treinamento podem predizer maior risco de infecções do trato respiratório superior, sugerindo utilidade aplicada para monitorar carga e vulnerabilidade imunológica (87,88).

Em síntese, o exercício físico remodela o sistema humoral por meio de picos agudos de citocinas (com destaque para IL-6) que acionam vias regulatórias, ajustes em quimiocinas relacionadas a tráfego leucocitário, alterações em proteínas do sistema complemento e redução de marcadores de fase aguda, enquanto a mucosa pode ser particularmente sensível a cargas elevadas e recuperação inadequada (75,78,81,84,85,86).

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

Avaliar os efeitos do treinamento físico aeróbio sobre a resposta imunológica celular humoral sistêmica e associada aos órgãos linfoides primários em camundongos da linhagem C57BL/6.

2.2. Objetivos Específicos

Analisar os efeitos do treinamento físico aeróbio sobre a resposta celular humoral sistêmica.

Analisar os efeitos do treinamento físico aeróbio sobre a resposta humoral do órgão linfóide primário, medula óssea.

Analisar os efeitos do treinamento físico aeróbio sobre a resposta humoral dos órgãos linfoides secundários, baço e linfonodos.

3. Material e Métodos

3.1. Camundongos e delineamento experimental

Foi realizado um estudo experimental, utilizando 32 camundongos distribuídos igualmente em dois grupos, da linhagem C57BL/6, que possuem um perfil imunológico prevalente de via de Th1, perfil semelhante a maioria da população brasileira, machos, com oito semanas de idade e peso corporal entre 18 e 21 g. Os camundongos foram provenientes do Biotério Central da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP) e mantidos no Biotério da Universidade Nove de Julho (UNINOVE), na qual o trabalho foi realizado, em caráter de colaboração. As condições ambientais do biotério foram controladas, para temperatura (22–25 °C), umidade relativa do ar (50–60%) e ciclo claro/escuro de 12 horas.

Todos os procedimentos experimentais foram conduzidos de acordo com as normas éticas para uso de animais em pesquisa, com aprovação prévia do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA), sob o protocolo nº AN004.2014.

Um total de 32 camundongos foi distribuído aleatoriamente em dois grupos experimentais ($n = 2 \times 8$ por grupo), sem perdas durante o protocolo, a saber:

- (1) Grupo Controle (CTRL; $n = 16$) – camundongos não submetidos ao treinamento físico;
- (2) Grupo Exercício (EXE; $n = 16$) – camundongos submetidos ao protocolo de treinamento aeróbio.

3.2. Protocolo de treinamento físico aeróbio de intensidade moderada

O treinamento físico aeróbio foi realizado em esteira elétrica adaptada para camundongos (modelo KT 400, marca Imbramed®, Rio Grande do Sul, BR), por um período de 04 semanas. A frequência semanal do treinamento foi de 05 vezes por semana, no volume de 60 minutos por sessão de treinamento, a uma velocidade de 0,2Km/h com a esteira inclinada em 25%. Antes e após as sessões de treinamento eram realizados 05 minutos de atividade para aquecimento e desaquecimento a uma velocidade de 0,2Km/h.

Na semana anterior ao início do treinamento, os animais foram submetidos a três dias de adaptação à atividade na esteira, a qual constou de 10 minutos de atividade a uma velocidade de 0,2Km/h, com as demais condições idênticas às utilizadas no treinamento físico. Quarenta e oito horas após o terceiro dia de adaptação os animais foram submetidos a um teste de esforço máximo, para que pudesse ser obtido o máximo desempenho (100% da capacidade máxima de exercício) e posteriormente calculado as intensidades de treinamento (leve = 50% e moderada = 75%) da máxima alcançada no teste. O teste consistiu de 05 minutos de aquecimento a uma velocidade de 0,2Km/h, a qual era aumentada em 0,1Km/h a cada 2,5 minutos até a exaustão dos animais. Os animais foram considerados exaustos quando não corriam mesmo após 10 estímulos mecânicos. Este mesmo teste físico foi aplicado 72 horas antes do sacrifício dos animais com o intuito de avaliar se os

animais melhoravam o condicionamento físico após as 04 semanas de treinamento (75).

Intervalo de Tempo (min)	Velocidade (Km/h)
0 – 5	(aquecimento) 0,2
5 – 7,5	0,3
7,5 – 10	0,4
10 – 12,5	0,5
12,5 – 15	0,6
15 – 17,5	0,7
17,5 – 20	0,8
20 – 22,5	0,9
22,5 – 25	1
---	+0,1 km/h a cada 2,5 min até exaustão

Vel Pré	Vel Pós	Vel Pré	Vel Pós	% Vel Pré	% Vel Pós	% Vel Pré	% Vel Pós
1,5	1,6	2,0	2,3	0,9	0,96	1,2	1,38
1,5	1,6	1,6	1,8	0,9	0,96	0,96	1,104
1,7	1,8	1,5	1,7	1,02	1,08	0,9	1,035
1,5	1,3	1,8	2,1	0,9	0,78	1,08	1,242
1,9	1,7	1,6	1,6	1,14	1,02	0,96	0,9888
1,8	1,6	1,7	1,8	1,08	0,96	1,02	1,0506
2,0	1,8	1,6	1,6	1,2	1,08	0,96	0,9888
1,6	1,4	1,6	1,7	0,96	0,84	0,96	1,0368
1,6	1,6	1,4	1,6	0,96	0,96	0,84	0,9408
1,7	1,6	1,8	2,0	1,02	0,96	1,08	1,2096
1,6	1,6	1,9	2,3	0,96	0,96	1,14	1,3566
1,7	1,6	2,0	2,4	1,02	0,96	1,2	1,428
1,6	1,7	1,7	2,0	0,96	1,02	1,02	1,2138
1,7	1,8	1,7	2,0	1,02	1,08	1,02	1,2138
1,7	1,8	1,6	1,9	1,02	1,08	0,96	1,1424
1,6	1,7	1,5	1,8	0,96	1,02	0,9	1,107

Ao final do protocolo de treinamento, os camundongos foram anestesiados com uma associação de cetamina (100 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg). Sob anestesia, 24 horas após o último teste físico, as avaliações a seguir foram realizadas, seguindo-se a eutanásia dos camundongos, imediatamente após a coleta de sangue (~1,2 mL, que corresponde a aproximadamente 90% do volume de sangue de cada animal) (89).

3.3. Avaliação da inflamação sistêmica

A inflamação sistêmica foi avaliada através do hemograma completo (série branca, série vermelha, plaquetas), utilizando-se para isso, uma alíquota de 20 μ L do sangue total, imediatamente após a coleta, através do analisador hematológico automatizado (Sysmex XS-800i™, Kobe, Japão). Após anestesia, realizou-se a laparotomia para coleta de sangue por punção da veia cava inferior, obtendo-se entre 0,8 e 1,2 mL de sangue em tubos contendo EDTA K3. Após o uso dos 20 μ L do sangue total para o hemograma completo, o restante do sangue foi centrifugado a $2.095 \times g$, a 4 °C, por 10 minutos, e o soro obtido foi armazenado a -86 °C para posterior análise de citocinas, sendo as citocinas IL-1 β , IL-2, IL-5, CXCL1/KC, IL-12p40, IL-12p70, IL-13, IL-17, IL-23, IL-33, TNF- α e TSLP pró inflamatórias, enquanto que as citocinas IL-1ra, IL-4, IL-6, IL-10 e TGF- β apresentam perfil anti-inflamatório (89).

3.4. Avaliação da resposta humoral do órgão linfoide primário medula óssea

Para a avaliação da resposta humoral da medula óssea, foi realizado o lavado medular. Os fêmures foram retirados e limpos de maneira a preservar a epífise óssea e remover todo tecido adjacente e foram lavados em etanol 70%

para assepsia, seguido de lavagem em água desmineralizada estéril, dentro da cabine de fluxo laminar, em ambiente estéril (76). A epífise óssea foi então cuidadosamente cortada na extremidade distal, e com o auxílio de uma seringa de 1 mL e com uma agulha de 22 G 1 (0,70 x 25 mm) utilizando 1 mL *phosphate buffered saline* (PBS) estéril, o interior dos fêmures foram lavados. O material recuperado foi colado em um tubo cônico de prolipropileno de 15 mL e centrifugado à 1000 g, 7 minutos à 4º C. O sobrenadante foi coletado e armazenado para posterior análise das citocinas (89, 90).

3.5. Avaliação da resposta humoral dos órgãos linfoides secundários, baço e nodos linfáticos

O **baço** foi cuidadosamente removido em ambiente estéril dentro de uma cabine de fluxo laminar, e dissociado utilizando o êmbolo de uma seringa de 1 mL estéril em uma placa de Petri estéril de 52 mm (91, 92). Semelhantemente, os **linfonodos mediastinais** também foram submetidos ao mesmo processo, separadamente. Em seguida, o material obtido foi lavado com 5 mL de PBS estéril e passado em uma peneira celular estéril (100 µm) e o material transferido para um tubo cônico de prolipropileno de 15 mL, e centrifugado à 1000 g, 7 minutos à 4º C. O material foi ressuscitado novamente em 5 mL de PBS estéril e passado através de uma peneira celular estéril de 70 µm e novamente centrifugado como descrito acima. Em seguida, o material foi novamente ressuscitado e passado através de uma peneira estéril de 40 µm e novamente centrifugado como descrito acima. O material precipitado foi ressuscitado, agora em 1,5 mL de PBS estéril e 1,5 mL de solução de *lise* de hemácias. Procedeu-se esse procedimento por 5x até que não restassem mais hemácias, mas somente os leucócitos (92, 93). Os leucócitos totais foram

então ressuspensos em 5 mL de meio de cultura RPMI 1640 com 10% de soro fetal bovino inativado e 1% de penicilina e 1% de estreptomicina e contados utilizando um hematocitometro (câmara de Neubauer; Karlshure, Alemanha) (90). As células foram então colocadas em uma placa de cultura de células estéril de 24 poços, por 24 horas, na concentração de 5×10^4 / mL (77, 78). Após 24 horas de incubação, o sobrenadante foi coletado e armazenado para posterior análise das citocinas IL-1ra, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12p40, IL-12p70, IL-13, IL-17 e IL-23 por ELISA (90, 91).

3.6. Dosagem de citocinas por ELISA

As concentrações de IL-1 β (DY 401; Sensibilidade: 15.6-1000 pg/mL), IL-1RA (DY 480; Sensibilidade: 156-10000 pg/mL), IL-2 (DY 402; Sensibilidade: 15.6-1000 pg/mL), IL-4 (DY 404; Sensibilidade: 15.6-1000 pg/mL), IL-5 (DY 405; Sensibilidade: 31.2-2000 pg/mL), IL-6 (DY 406; Sensibilidade: 15.6-1000 pg/mL), CXCL1/KC (DY 453; Sensibilidade: 15.6-1000 pg/mL), IL-10 (DY 417; Sensibilidade: 31.2-2000 pg/mL), IL-12p40 (DY 499; Sensibilidade: 31.2-2000 pg/mL), IL-12p70 (DY 419; Sensibilidade: 39.1-2500 pg/mL), IL-13 (DY 413; Sensibilidade: 62.5-4000 pg/mL), IL-17 (DY 421; Sensibilidade: 15.6-1000 pg/mL), IL-23 (DY 1887; Sensibilidade: 39.1-2500 pg/mL), IL-33 (DY 3626; Sensibilidade: 15.6-1000 pg/mL), TNF- α (DY 410; Sensibilidade: 31.2-2000 pg/mL), TGF- β (DY 1679; Sensibilidade: 31.2-2000 pg/mL) e TSLP (DY 555; Sensibilidade: 15.6-1000 pg/mL) foram quantificadas no plasma e no sobrenadante de culturas celulares do baço e linfonodos e no lavado de medula óssea utilizando o ensaio imunoenzimático *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), utilizando kits comerciais DuoSet® (R&D

Systems®, Minneapolis, EUA), seguindo rigorosamente as instruções dos fabricantes (90).

3.7. Análise estatística

O software SPSS v.27 (IBM, Illinois, EUA) foi utilizado para a realização da análise estatística, enquanto o software GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, Califórnia, EUA) para a construção dos gráficos. A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro–Wilk. Foram comparados os dados do grupo Controle versus o grupo Treinado. O teste t de Student pareado para a análise intragrupo e o teste de Wilcoxon rank-sum para amostras não pareadas (entre grupos). Os resultados foram apresentados como média e desvio padrão. O nível de significância adotado foi de 5% ($p \leq 0,05$) e apresentado o intervalo de confiança 95% (95% CI).

4. Resultados

4.1. Efeitos do treinamento físico sobre o peso e sobre a capacidade física dos camundongos

A avaliação do peso dos camundongos revelou que tanto os camundongos do grupo Controle ($21,93 \pm 2,43$ x $25,61 \pm 2,61$ g; $p < 0.0001$; 95% CI -4.809 to -2.541) quanto do grupo Treinamento ($24,84 \pm 2,10$ x $26,96 \pm 1,17$ g; $p < 0.0002$; 95% CI -3.043 to -1.194) apresentaram aumento comparado o período antes e após as 4 semanas do protocolo experimental. Importante observar que o peso dos camundongos antes do início do protocolo experimental, revelou haver diferenças significativas entre os grupos ($p < 0.0015$; 95% CI -4.606 to -1.206).

Os resultados demonstraram que não houve diferença entre o teste físico inicial (velocidade máxima alcançada em Km/h) comparando-se os grupos Controle ($1,66 \pm 0,13$ Km/h) e Treinamento Físico ($1,68 \pm 0,16$ Km/h) ($p > 0.05$; 95% CI -0.1330 to 0.09554). Comparando-se os resultados pré e pós treinamento, excetuando-se o grupo controle ($1,62 \pm 0,13$ Km/h), o qual não foi submetido ao treinamento físico, observou-se que o treinamento físico foi capaz de melhorar a capacidade física dos camundongos Exercício Pré ($1,68 \pm 0,16$ Km/h) versus Exercício Pós ($1,68 \pm 0,16$ Km/h) ($p < 0.0043$; 95% CI -0.3874 to -0.07883). VERIFICAR.

4.2. Efeitos do treinamento físico sobre o número de leucócitos no sangue

A Figura 1 apresenta o número de leucócitos totais (Fig 1A), linfócitos (Fig 1B), neutrófilos (Fig 1C), monócitos (Fig 1D), eosinófilos (Fig 1E), basófilos (Fig 1F).

A análise do número de leucócitos totais (Fig 1A) revelou não haver diferenças antes do início do protocolo experimental entre o grupo Controle e o grupo Treinamento Físico ($p>0.05$; 95% CI -3160 to 3236), nem em relação ao grupo Controle pré e pós o período de intervenção ($p>0.05$; 95% CI -1618 to 2941). Já em relação ao grupo Treinamento Físico, o treinamento resultou em aumento significativo no número de leucócitos totais, mas permanecendo dentro da faixa de normalidade (5000/mm³ a 10000/mm³) ($p<0.0273$; 95% CI -4495 to -308.0).

Conforme apresentado na Figura 1B, a análise do número de linfócitos revelou não haver diferenças antes do início do protocolo experimental entre o grupo Controle e o grupo Treinamento Físico ($p>0.05$; 95% CI -3160 to 3236), nem em relação ao grupo Controle pré e pós o período de intervenção ($p>0.05$; 95% CI -1618 to 2941). Já em relação ao grupo Treinamento Físico, o treinamento resultou em aumento significativo no número de linfócitos, mas permanecendo dentro da faixa de normalidade (70-85% dos leucócitos totais) ($p<0.0173$; 95% CI -3416 to -387.2).

Conforme apresentado na Figura 1C, a análise do número de neutrófilos revelou não haver diferenças antes do início do protocolo experimental entre o grupo Controle e o grupo Treinamento Físico ($p>0.05$; 95% CI -632.0 to 647.3), nem em relação ao grupo Controle pré e pós o período de intervenção ($p>0.05$; 95% CI -424.4 to 513.9). Já em relação ao grupo Treinamento Físico, o treinamento não resultou em aumento significativo no número de neutrófilos,

mas permanecendo dentro da faixa de normalidade (10-25% dos leucócitos totais) ($p>0.05$; 95% CI -3416 to -387.2).

Conforme apresentado na Figura 1D, a análise do número de monócitos revelou não haver diferenças antes do início do protocolo experimental entre o grupo Controle e o grupo Treinamento Físico ($p>0.05$; 95% CI -125.9 to 128.8), nem em relação ao grupo Controle pré e pós o período de intervenção ($p>0.05$; 95% CI -69.46 to 112.8). Já em relação ao grupo Treinamento Físico, o treinamento resultou em aumento significativo no número de monócitos, mas permanecendo dentro da faixa de normalidade (2-6% dos leucócitos totais) ($p<0.0436$; 95% CI -146.2 to -2.434).

Conforme apresentado na Figura 1E, a análise do número de eosinófilos revelou não haver diferenças antes do início do protocolo experimental entre o grupo Controle e o grupo Treinamento Físico ($p>0.05$; 95% CI -47.30 to 48.55), nem em relação ao grupo Controle pré e pós o período de intervenção ($p>0.05$; 95% CI -31.74 to 36.74). Já em relação ao grupo Treinamento Físico, o treinamento resultou em diminuição no número de eosinófilos, mas permanecendo dentro da faixa de normalidade (0-2% dos leucócitos totais) ($p>0.05$; 95% CI -23.70 to 36.58).

Conforme apresentado na Figura 1F, a análise do número de basófilos revelou não haver diferenças antes do início do protocolo experimental entre o grupo Controle e o grupo Treinamento Físico ($p>0.05$; 95% CI -47.30 to 48.55), nem em relação ao grupo Controle pré e pós o período de intervenção ($p>0.05$; 95% CI -31.74 to 36.74). Já em relação ao grupo Treinamento Físico, o treinamento resultou em diminuição no número de basófilos, mas

permanecendo dentro da faixa de normalidade (0-1% dos leucócitos totais) ($p > 0.05$; 95% CI -23.70 to 36.58).

Figura 1 – Leucócitos no sangue

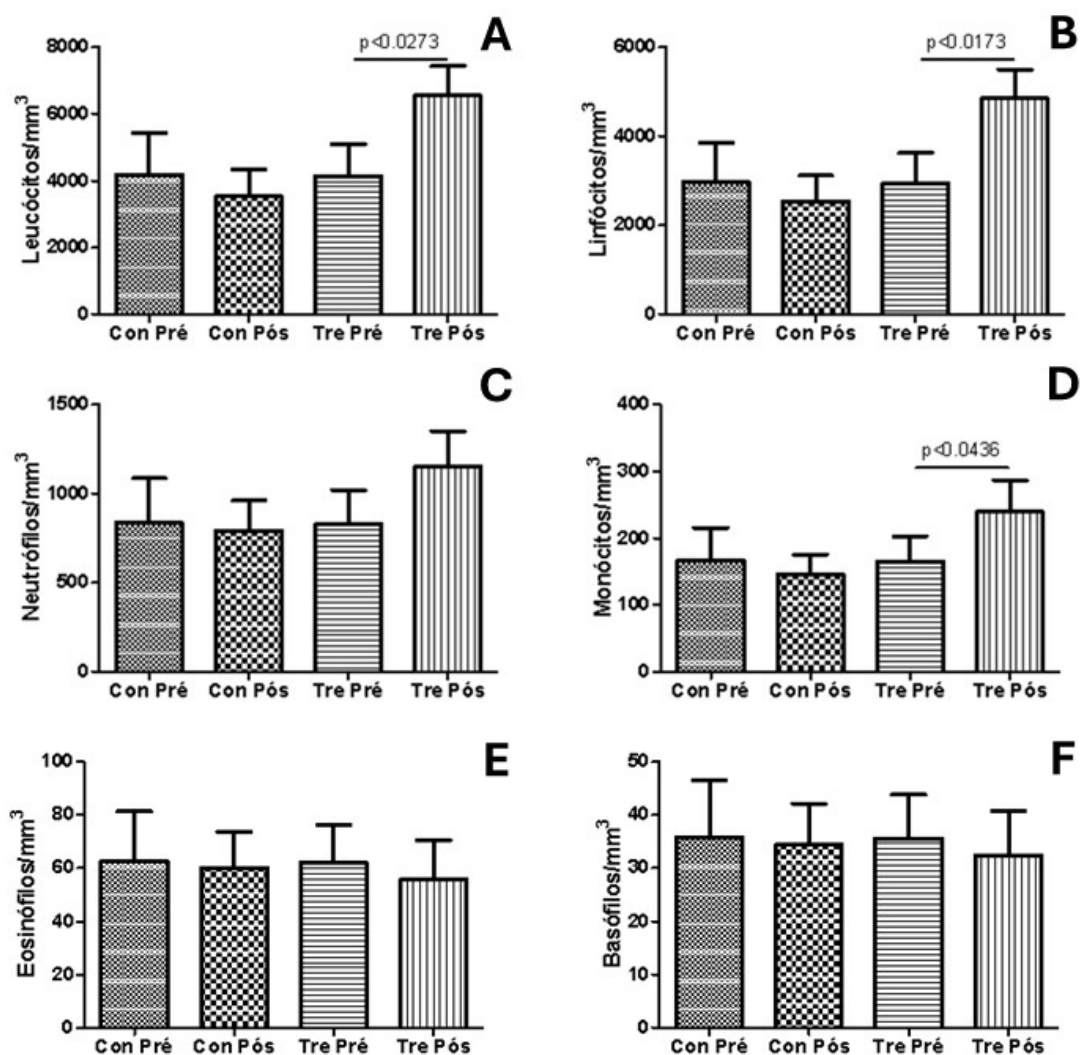


Figura 1 – mm = milímetros cúbicos. Con = grupo Controle. Tre = grupo Treino.

4.3. Efeitos do treinamento físico sobre a resposta humoral sistêmica

A figura 2 apresenta os níveis plasmáticos das citocinas IL-1 β (Fig 2A), IL-1RA (Fig 2B), IL-2 (Fig 2C), IL-4 (Fig 2D), IL-5 (Fig 2E), IL-6 (Fig 2F),

CXCL1/KC (Fig 2G), IL-10 (Fig 2H), IL-12 p40 (Fig 2I), IL-12 p70 (Fig 2J), IL-13 (Fig 2K), IL-17 (Fig 2L), IL-23 (Fig 2M), IL-33 (Fig 2N), TNF- α (Fig 2O), TGF- β (Fig 2P), TSLP (Fig 2Q) em camundongos controles sedentários (Con) e submetidos ao treinamento físico aeróbio (Tre).

A Figura 2A demonstra que os níveis plasmáticos de IL-1 β foram significativamente reduzidos no grupo submetido ao treinamento físico aeróbio em comparação ao grupo controle (Figura 2A; $p < 0.0001$; 95% CI 20.79 to 46.80), indicando uma atenuação da inflamação sistêmica induzida pelo exercício. Já a Figura 2B demonstra um aumento significativo das concentrações plasmáticas da citocina anti-inflamatória IL-1RA no grupo treinado em relação ao controle (Figura 2B; $p < 0.0001$; 95% CI -480.8 to -212.6), evidenciando um efeito anti-inflamatório compensatório associado ao treinamento físico. Reforçando esses achados anti-inflamatórios sistêmicos induzidos pelo treinamento físico, observamos que os níveis plasmáticos de IL-10 foram significativamente aumentados no grupo treinado em comparação ao controle (Figura 2H; $p < 0.0001$; 95% CI -28.33 to -17.07), indicando um claro efeito imunorregulador e anti-inflamatório do treinamento físico aeróbio. Do ponto de vista de mecanismo clássico dos efeitos anti-inflamatórios induzidos pelo treinamento físico, observamos que o grupo submetido ao treinamento físico aeróbio apresentou aumento significativo nos níveis plasmáticos de IL-6 em comparação ao grupo controle (Figura 2F; $p < 0.0022$; 95% CI -53.66 to -13.88), compatível com o papel da IL-6 como miocina (citocina liberada pelo músculo esquelético) durante o exercício físico. Importante ressaltar que esse aumento nos níveis plasmáticos de IL-6 são classicamente gatilhos anti-inflamatórios induzidos pelo treinamento físico e não um efeito pró-inflamatório,

uma vez que além dos aumentos observados nos níveis de IL-1RA e IL-10, foi observado também redução nos níveis de TNF- α no grupo treinamento, em comparação com o grupo controle (Figura 2O; $p < 0.0152$; 95% CI 12.39 to 91.52), reforçando o efeito anti-inflamatório sistêmico do exercício. Em relação aos níveis do fator quimiotático para neutrófilo pró-inflamatório CXCL1/KC, não foram detectadas diferenças significativas nos níveis plasmáticos de CXCL1/KC (Figura 2G; $p > 0.05$; 95% CI -15.99 to 7.856) entre os grupos, sugerindo ausência de ativação sistêmica da quimiotaxia neutrofílica.

Em relação à citocina IL-2 (Figura 2C; $p > 0.05$; 95% CI -10.15 to 25.37), não foram observadas diferenças significativas nos níveis plasmáticos de IL-2 entre os grupos controle e treinado, sugerindo manutenção da ativação basal de linfócitos T. Em relação às citocinas de perfil Th2 IL-4 (Figura 2D; $p > 0.05$; 95% CI -2.020 to 10.25), IL-5 (Figura 2E; $p > 0.05$; 95% CI -0.3213 to 17.79) e IL-13 (Figura 2K; $p > 0.05$; 95% CI -18.22 to -4.343), não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, indicando que o treinamento físico não promoveu polarização sistêmica para o perfil Th2 clássico. Esses achados são reforçados pelos resultados observados em relação aos níveis plasmáticos de TSLP (Figura 2Q; $p > 0.05$; 95% CI -264.3 to 184.1), os quais não demonstraram diferenças significativas entre os grupos controle e treinado, indicando que o exercício físico não induziu ativação sistêmica de alarminas epiteliais associadas à resposta Th2. De maneira similar, não foram detectadas diferenças significativas nos níveis plasmáticos de IL-33 (Figura 2N; $p > 0.05$; 95% CI -23.72 to 10.12) entre os grupos, indicando que o treinamento físico não promoveu liberação sistêmica de alarminas epiteliais. Por outro lado, observou-se aumento das concentrações

plasmáticas de TGF- β no grupo treinado em esteira ergométrica em relação ao controle (Figura 2P; $p < 0.0131$; 95% CI -5046 to -683.1), sugerindo ativação de mecanismos imunorregulatórios e de tolerância induzidos pelo treinamento físico.

Por outro lado, ao avaliarmos um importante marcador da ativação Th1, a citocina IL-12p40, observou-se redução significativa das concentrações plasmáticas de IL-12p40 no grupo treinado em relação ao grupo controle (Figura 2I; $p < 0.0046$; 95% CI 22.92 to 108.1), sugerindo diminuição da ativação da via Th1 sistêmica. Já em relação aos níveis plasmáticos da IL-12p70, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos, indicando que o treinamento físico não induziu ativação sistêmica da forma bioativa da IL-12 (Figura 2J; $p > 0.05$; 95% CI -23.13 to 4.442). Em relação a via de ativação de linfócitos Th17, mediada pela IL-17 e IL-23, não foram observadas diferenças significativas nos níveis plasmáticos de IL-17 (Figura 2L; $p > 0.05$; 95% CI -3.671 to 3.039) nem da IL-23 (Figura 2M; $p > 0.05$; 95% CI -12.52 to 5.832) entre os grupos, indicando que o treinamento físico não induziu resposta Th17 sistêmica, em níveis basais.

Assim, de forma integrada, os resultados demonstram que o treinamento físico aeróbio promoveu um perfil imunológico sistêmico anti-inflamatório e imunorregulador, caracterizado pela redução de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β e TNF- α) e pelo aumento de mediadores imunorregulatórios (IL-1RA, IL-6 e IL-10), sem induzir ativação sistêmica das vias Th1, Th2 ou Th17.

Figura 2 – Citocinas no plasma

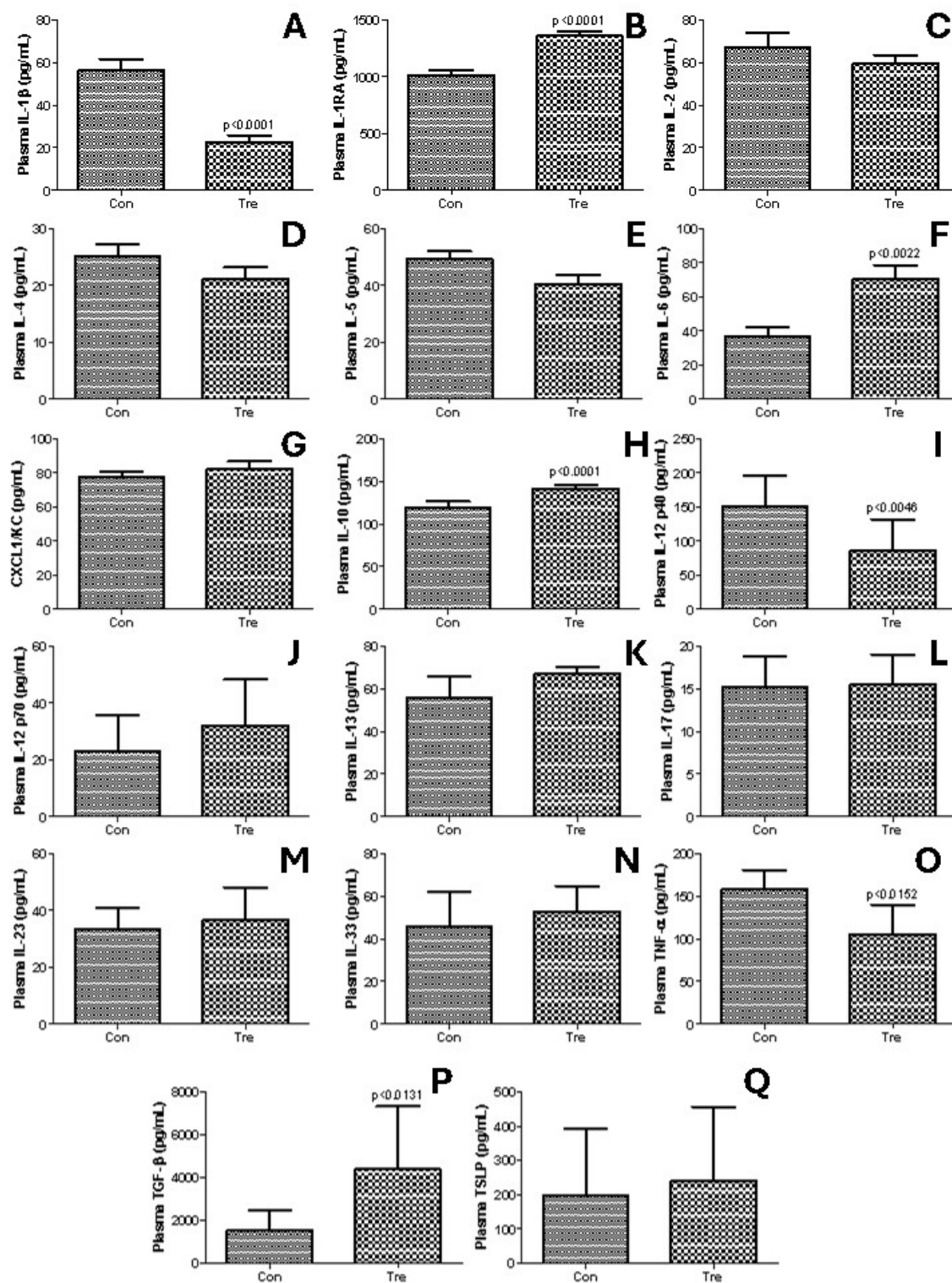


Figura 2 – IL-1 β = Interleucina 1 beta. IL-1RA = Antagonista do receptor da interleucina 1. CXCL1 = ligante de quimiocina 1. KC = quimiocina derivada de queratinócitos. TNF- α = fator de necrose tumoral alfa. TGF- β = fator de crescimento transformador beta. TSLP = Linfoietina estromal tímica. Pg/mL = picogramas por mililitros. Con = grupo Controle. Tre = grupo Treino.

4.4. Efeitos do treinamento físico sobre a resposta humoral do órgão linfóide primário medula óssea

A Figura 3 apresenta as concentrações de citocinas mensuradas no lavado medular (LM) de camundongos controles sedentários (Con) e submetidos ao treinamento físico aeróbio (Tre), permitindo a avaliação dos efeitos do exercício sobre o microambiente imunológico da medula óssea. Em relação aos níveis de IL-1RA no LM observou-se um aumento significativo das concentrações de IL-1RA no lavado medular dos animais submetidos ao treinamento físico aeróbio em comparação ao grupo controle (Figura 3A; $p < 0.0001$; 95% CI -146.5 to -94.61). Esse achado indica um fortalecimento do perfil anti-inflamatório e regulatório no microambiente medular induzido pelo exercício. Reforçando os dados acima, a avaliação dos níveis de IL-10 demonstrou que o grupo submetido ao treinamento físico aeróbio apresentou aumento significativo nos níveis de IL-10 no lavado medular em relação ao grupo controle (Figura 3D; $p < 0.0174$; 95% CI -130.1 to -15.21). Esse resultado reforça o efeito imunorregulador e anti-inflamatório do exercício sobre o nicho hematopoético.

Em relação às citocinas do perfil Th2, observamos que os níveis de IL-4 (Figura 3B; $p > 0.05$; 95% CI -27.80 to 14.22) no lavado medular não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos controle e treinado, sugerindo que o treinamento físico não promoveu polarização Th2 no compartimento medular. De maneira semelhante, as

concentrações de IL-5 (Figura 3C; $p > 0.05$; 95% CI -6.933 to 4.584) no lavado medular permaneceram semelhantes entre os grupos, indicando ausência de ativação da via Th2 associada à eosinopoiese ou resposta alérgica na medula óssea. Por último, confirmando os achados sobre o perfil Th2, as concentrações de IL-13 (Figura 3G; $p > 0.05$; 95% CI -13.34 to 2.574) no lavado medular não diferiram significativamente entre os grupos, indicando que o treinamento físico não induziu ativação de citocinas do perfil Th2 no microambiente medular.

Considerando-se o perfil Th1, verificou-se uma redução significativa das concentrações de IL-12 p40 no lavado medular dos animais treinados em comparação aos controles (Figura 3E; $p < 0.0005$; 95% CI 22.00 to 60.59), sugerindo diminuição do tônus pró-inflamatório e da sinalização associada à ativação mieloide na medula óssea. Por outro lado, observou-se um aumento discreto, porém estatisticamente significativo, nos níveis de IL-12 p70 no lavado medular do grupo treinado em relação ao grupo controle (Figura 3F; $p < 0.0154$; 95% CI -22.24 to -2.867). Apesar desse aumento, os valores permanecem dentro de uma faixa fisiológica, sem indicar ativação exacerbada da resposta Th1.

Em relação a resposta Th17, observamos que o grupo submetido ao treinamento físico aeróbio apresentou redução significativa dos níveis de IL-17 no lavado medular em comparação ao grupo controle (Figura 3H; $p < 0.0401$; 95% CI 0.9171 to 33.55), sugerindo supressão da sinalização associada à via Th17 e à inflamação neutrofílica no nicho medular. Por outro lado, diferente do esperado, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas nas concentrações de IL-23 (Figura 3I; $p > 0.05$; 95% CI -3.686 to 2.105) no lavado

medular entre os grupos controle e treinado, indicando manutenção da sinalização basal da via IL-23/IL-17.

Assim, de forma integrada, os resultados demonstram que o treinamento físico aeróbio promoveu uma modulação imunológica favorável no microambiente da medula óssea, caracterizada pelo aumento de citocinas imunoregulatórias e anti-inflamatórias (IL-1RA e IL-10) e pela redução de mediadores associados à inflamação e à resposta Th17 (IL-12 p40 e IL-17), sem induzir ativação significativa das vias Th2 ou Th1 clássicas. Esses achados indicam que o exercício físico contribui para a manutenção da homeostase imunológica e do equilíbrio do nicho hematopoético.

Figura 3 – Resposta humoral do órgão linfoide primário medula óssea

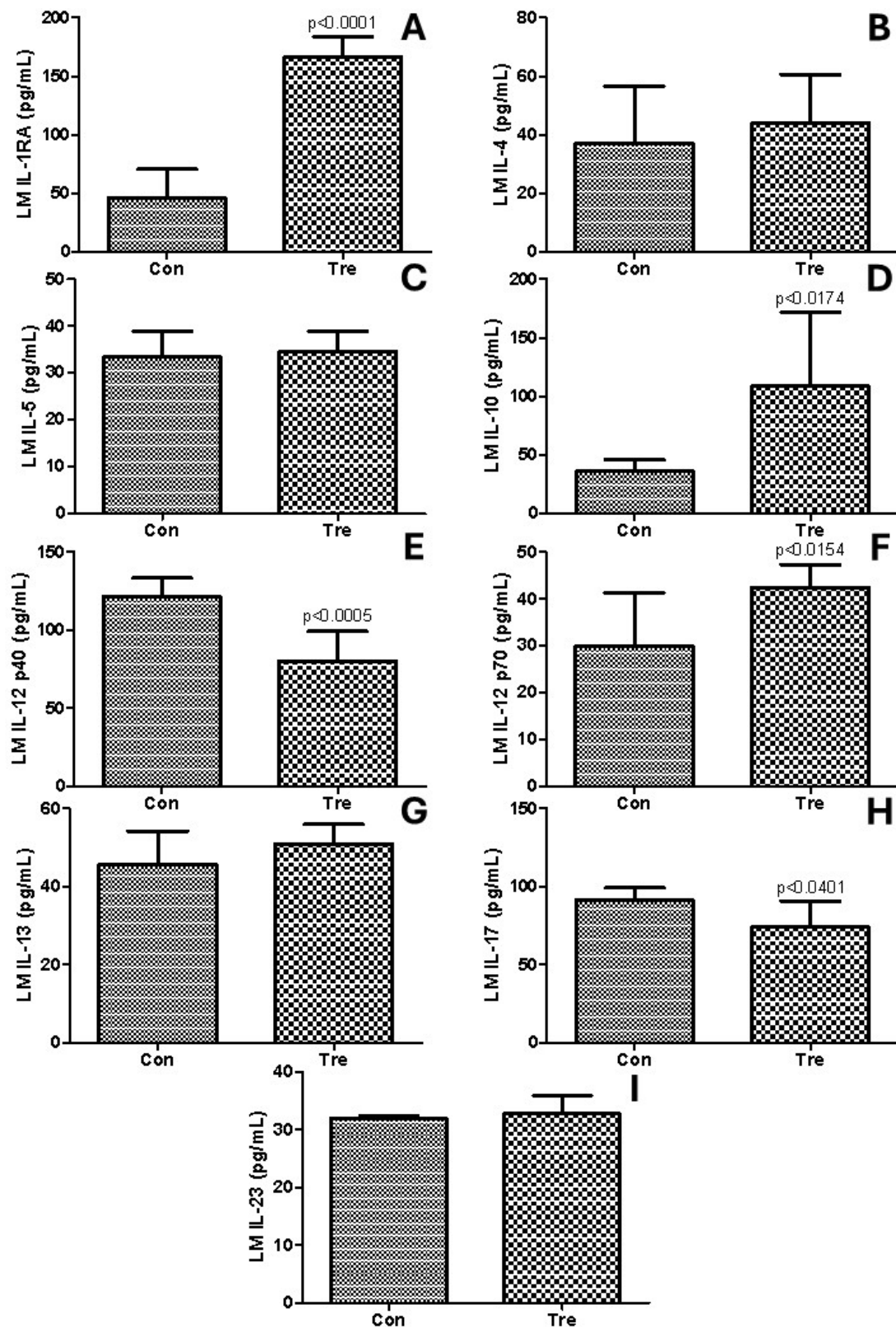


Figura 3 – LM = Lavado medular. IL-1RA = Antagonista do receptor da interleucina 1. Con = grupo Controle. Tre = grupo Treino. Pg/mL = picogramas por mililitros.

4.5. Efeitos do treinamento físico sobre a resposta humoral do órgão linfóide secundário baço

A Figura 4 apresenta as concentrações de citocinas mensuradas no baço de camundongos controles sedentários (Con) e submetidos ao treinamento físico aeróbio (Tre), permitindo a avaliação dos efeitos do exercício sobre o microambiente imunológico do baço. O painel A apresenta as concentrações da IL-1RA no lavado broncoalveolar (pg/mL) nos grupos controle (Con) e treinamento (Tre). Observa-se que o grupo treinamento apresentou aumento expressivo e estatisticamente significativo nos níveis de IL-1RA em comparação ao grupo controle (Figura 4A; $p < 0.0001$; -92.26 to -36.42). Esse achado indica uma ação do treinamento físico mediando mecanismos anti-inflamatórios locais no ambiente esplênico. Tais achados são reforçados pelo aumento dos níveis de IL-10 no baço (Figura 4D; $p < 0.0122$; -147.3 to -20.69) induzidos pelo treinamento físico, reforçando a indução de um perfil imunorregulatório e anti-inflamatório no baço após a intervenção.

Quando avaliamos os efeitos do treinamento físico no perfil Th2, mais especificamente sobre os níveis de IL-4 no baço, observamos que embora o grupo treinamento apresente valores médios ligeiramente superiores aos do grupo controle (Figura 4B; $p > 0.05$; -6.732 to 3.587), não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos, sugerindo que a intervenção não promoveu modulação relevante dessa citocina associada à resposta Th2 no tecido esplênico. Por outro lado, observa-se que o treinamento físico aumentou significativamente a concentração de IL-5 no baço (Figura 4C; $p < 0.0001$; -41.46 to -20.70), indicando modulação da resposta imune adaptativa no compartimento esplênico, possivelmente relacionada à ativação de vias associadas à resposta imunológica do tipo Th2. Tais achados são reforçados pelo fato do treinamento físico também ter aumentado os níveis de

IL-13 no baço (Figura 4G; $p < 0.0130$; -564.7 to -76.22), indicando ativação seletiva de vias associadas à resposta imune do tipo Th2 no tecido esplênico.

Quando avaliamos a resposta Th1, os resultados demonstraram que, apesar do treinamento físico apresentar valores médios numericamente superiores aos do grupo controle, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos, indicando ausência de modulação relevante da subunidade de IL-12 (IL-12 p40) (Figura 4E; $p > 0.05$; -58.62 to 14.97) no tecido esplênico. De igual maneira, os níveis de IL-12p 70 no baço não foram modificados pelo treinamento físico (Figura 4F; $p > 0.05$; -16.20 to 4.850). Assim, esses resultados sugerem que a intervenção com o treinamento físico não alterou de maneira significativa a via clássica Th1 mediada por IL-12 no baço.

Quando avaliados a via Th17/Th23, observamos que o treinamento físico reduziu os níveis de IL-17 no baço (Figura 4H; $p < 0.0273$; 3.248 to 48.45) em relação ao grupo controle, sugerindo atenuação da resposta inflamatória mediada por células Th17 no baço. Por outro lado, nenhum efeito do treinamento físico foi observado em relação aos níveis de IL-23 no baço (Figura 4I; $p > 0.05$; -14.97 to 0.7495), indicando que a intervenção com o treinamento não promoveu alteração relevante na via IL-23 no tecido esplênico.

Assim, os dados referentes aos efeitos do treinamento sobre o baço indicam que a intervenção promoveu uma modulação seletiva do perfil imunológico pulmonar, caracterizada principalmente pelo aumento de citocinas anti-inflamatórias (IL-1RA e IL-10) e pela redução de mediadores pró-inflamatórios associados à via Th17, sem induzir uma ativação inflamatória exacerbada.

Figura 4 – Resposta humoral do órgão linfoide secundário baço

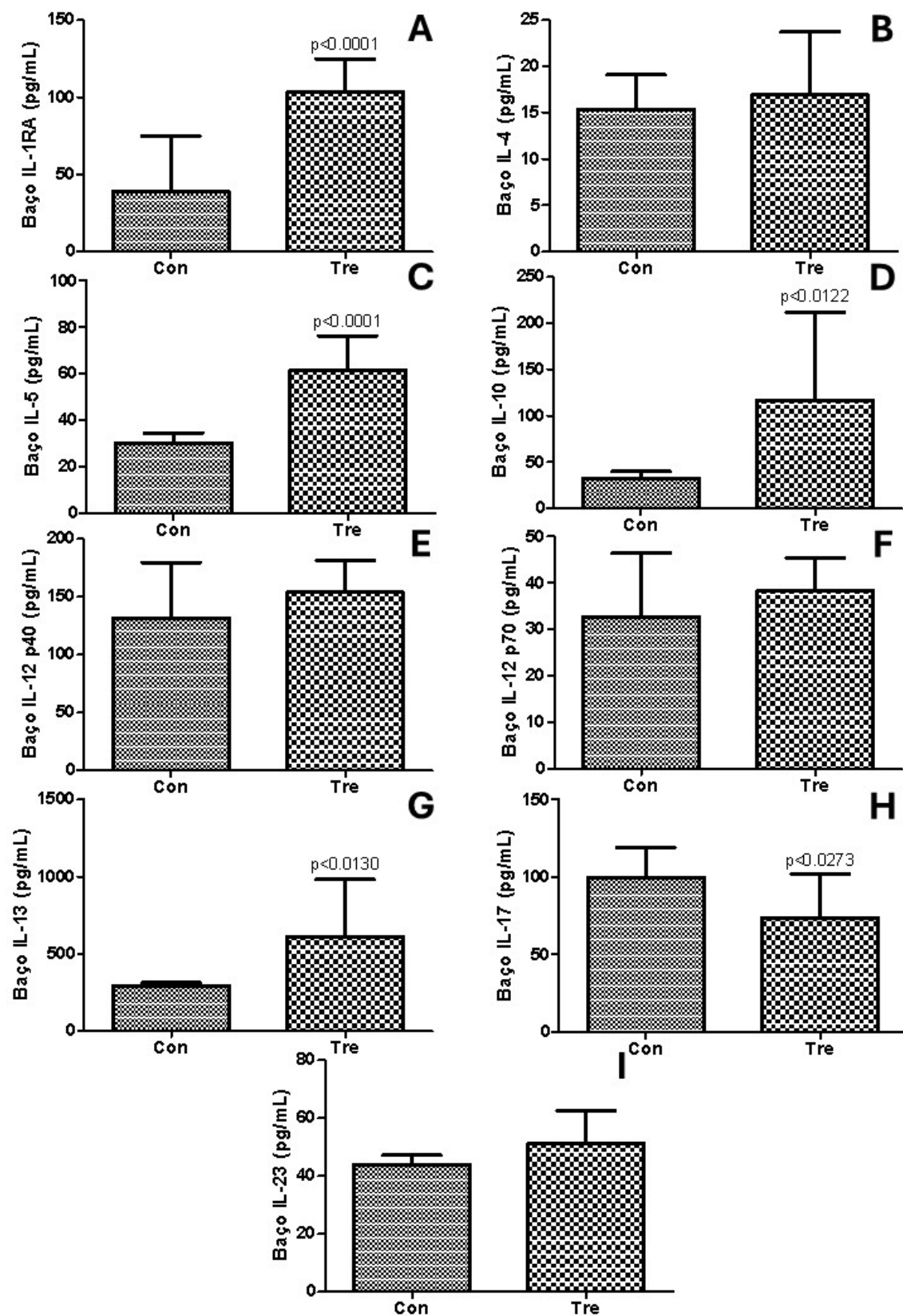


Figura 4 – LM = Lavado medular. IL-1RA = Antagonista do receptor da interleucina 1. Con = grupo Controle. Tre = grupo Treino. Pg/mL = picogramas por mililitros.

4.6. Efeitos do treinamento físico sobre a resposta humoral do órgão linfoide secundário linfonodos

A Figura 5 apresenta as concentrações de citocinas mensuradas nos linfonodos de camundongos controles sedentários (Con) e submetidos ao treinamento físico aeróbio (Tre), permitindo a avaliação dos efeitos do exercício sobre o microambiente imunológico dos linfonodos. O painel A apresenta as concentrações da IL-1RA nos linfonodos (pg/mL) dos grupos controle (Con) e treinamento (Tre). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, indicando que a intervenção não promoveu alterações relevantes nos níveis de IL-1RA (Figura 5A; $p > 0.05$; 95% CI -31.36 to 84.12) nesse compartimento linfóide. Em relação à citocina imunoregulatória e anti-inflamatória IL-10, observamos que o grupo treinamento apresentou aumento estatisticamente significativo dos níveis de IL-10 em relação ao grupo controle (Figura 5D; $p < 0.0001$; -26.62 to -20.15), indicando maior expressão de citocinas com perfil imunorregulatório e anti-inflamatório no compartimento linfonodal após a intervenção.

Quando avaliamos as citocinas biomarcadores do perfil Th2, observamos que o grupo treinamento apresentou aumento significativo de citocinas IL-4, IL-5, IL-13 e IL-10 em comparação ao grupo controle (Figura 5B; $p < 0.0001$; 95% CI -9.829 to -4.848), evidenciando modulação da resposta Th2 associada à IL-4 no tecido linfonodal após a intervenção. Já em relação aos níveis de IL-5 nos linfonodos, não foram identificadas diferenças

estatisticamente significativas entre os grupos controle e treinamento (Figura 5C; $p > 0.05$; 95% CI -3.158 to 31.91). Por último, em relação a citocina IL-13, O painel G demonstra as concentrações de IL-13 nos linfonodos. O grupo treinamento apresentou redução estatisticamente significativa dos níveis de IL-13 em relação ao grupo controle (Figura 5G; $p < 0.0001$; 95% CI 99.32 to 165.0), indicando modulação negativa dessa citocina associada à resposta do tipo Th2 no tecido linfonodal, o que contrasta com o aumento induzido pelo treinamento físico nos níveis de IL-5.

Em relação a análise do perfil Th1, observamos que o grupo treinamento apresentou redução significativa da citocina IL-12 p40 quando comparado ao grupo controle (Figura 5E; $p < 0.0001$; 51.77 to 82.10), indicando diminuição da expressão dessa subunidade da IL-12 no tecido linfonodal. Já em relação à citocina IL-12 p70 (Figura 5F; $p > 0.05$; -29.62 to 20.47) não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos controle e treinamento, sugerindo ausência de modulação relevante da via clássica Th1 mediada por IL-12 p70 nesse tecido.

A análise da via IL-17/IL-23, a qual tem um papel pró-inflamatório, demonstrou que o treinamento físico resultou numa redução significativa dos níveis de IL-17 (Figura 5H; $p < 0.0002$; 12.20 to 30.93) em comparação ao grupo controle, evidenciando diminuição da resposta pró-inflamatória associada à via Th17 no compartimento linfonodal após a intervenção. Reforçando esses dados, os resultados demonstraram que o treinamento físico resultou em redução estatisticamente significativa da IL-23, que atua como precursora da IL-17, em relação ao grupo controle (Figura 5I; $p < 0.0001$; 111.2 to 128.7), indicando que o treinamento físico efetivamente inibe a via IL-17/IL-23 no

tecido linfonodal. Portanto, os dados indicam que a intervenção promoveu modulação seletiva do perfil de citocinas nos linfonodos, caracterizada principalmente pelo aumento da citocina regulatória (IL-10) e pela modulação dos biomarcadores da via Th2 e pela redução de biomarcadores associados à via Th17.

Figura 5 – Resposta humoral do órgão linfoide secundário linfonodos

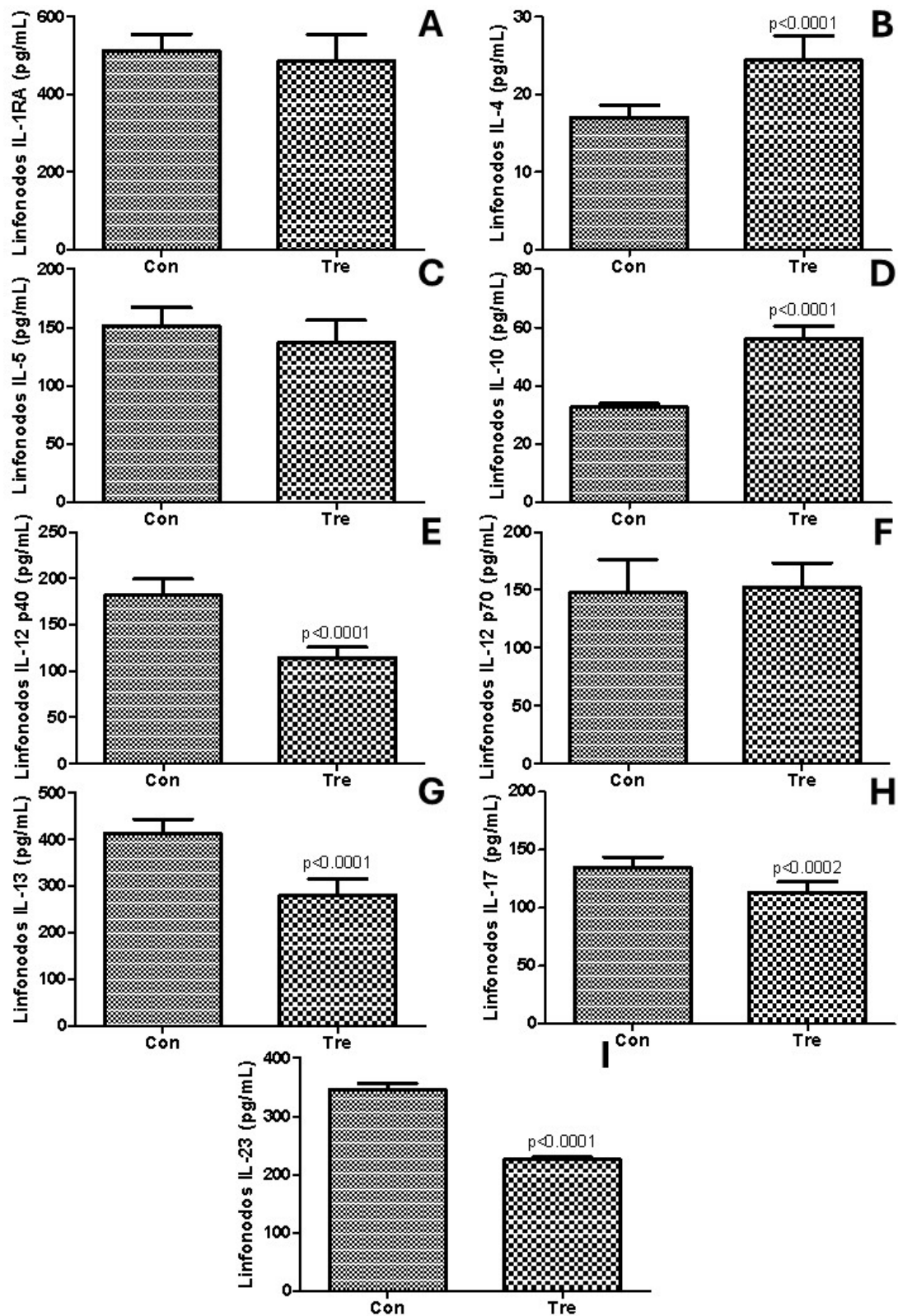


Figura 5 – LM = Lavado medular. IL-1RA = Antagonista do receptor da interleucina 1. Con = grupo Controle. Tre = grupo Treino. Pg/mL = picogramas por mililitros.

Discussão

O presente estudo teve como objetivo investigar os efeitos do treinamento físico aeróbio de intensidade moderada sobre a resposta imunológica humoral sistêmica e associada aos órgãos linfoides primários e secundários em camundongos C57BL/6. Os principais achados demonstram que o treinamento físico promoveu uma modulação imunológica ampla e coordenada, caracterizada por um perfil predominantemente anti-inflamatório e imunorregulatório no compartimento sistêmico, na medula óssea, no baço e nos linfonodos, sem induzir ativação inflamatória exacerbada das vias clássicas Th1, Th2 ou Th17, pela elevação de citocinas pró inflamatórias. Esses resultados reforçam o conceito do exercício físico como uma intervenção não farmacológica capaz de modular a homeostase imune em múltiplos níveis organizacionais.

No compartimento sistêmico, os resultados demonstraram redução significativa das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β e TNF- α , acompanhada por aumento de mediadores anti-inflamatórios e imunorregulatórios, como IL-1RA, IL-10 e TGF- β . Esse padrão é amplamente consistente com a literatura que descreve o treinamento aeróbio regular como indutor de um estado de inflamação de baixo grau reduzida, fenômeno particularmente relevante na prevenção de doenças crônicas associadas à inflamação sistêmica persistente (79,80). A elevação concomitante de IL-6 plasmática observada neste estudo deve ser interpretada à luz do seu papel como mioquina, liberada pelo músculo esquelético durante o exercício, atuando como um sinalizador metabólico e anti-inflamatório, e não como um marcador de inflamação clássica (94,95).

Estudos experimentais e clínicos demonstram que a IL-6 derivada do músculo é capaz de induzir a produção de IL-1RA e IL-10, inibindo a produção de TNF- α por monócitos e macrófagos, configurando um eixo anti-inflamatório dependente do exercício (96,97). Assim, os achados sistêmicos observados neste trabalho corroboram o modelo conceitual segundo o qual o treinamento físico repetido promove um “reajuste” do balanço pró/anti-inflamatório, contribuindo para a manutenção da homeostase imunológica.

A medula óssea representa o principal órgão linfóide primário responsável pela hematopoiese e pela geração de células do sistema imune. No presente estudo, o treinamento físico induziu aumento significativo das citocinas anti-inflamatórias IL-1RA e IL-10 no lavado medular, associado à redução de IL-12p40 e IL-17. Esses achados sugerem que o exercício físico promove um ambiente medular menos pró-inflamatório e potencialmente mais favorável à manutenção da função hematopoética. A literatura recente tem demonstrado que o exercício físico é capaz de remodelar o nicho hematopoético, reduzindo a adiposidade medular, modulando a atividade de células estromais e alterando a sinalização de quimiocinas e citocinas envolvidas na retenção e diferenciação de células-tronco hematopoéticas tanto em modelos animais quanto em humanos (84–86). A redução de IL-17 observada no lavado medular é particularmente relevante, uma vez que essa citocina tem sido associada à mielopoiese inflamatória e à disfunção do nicho hematopoético em condições de estresse crônico e envelhecimento (87,88). Embora tenha sido observado um discreto aumento de IL-12p70 no lavado medular, esse achado ocorreu dentro de uma faixa fisiológica e não foi acompanhado por aumento sistêmico ou esplênico dessa citocina, sugerindo

que o treinamento físico não induziu uma ativação Th1 exacerbada. Assim, os dados indicam que o exercício atua predominantemente como modulador do microambiente medular, favorecendo um perfil regulatório sem comprometer a capacidade de resposta imune.

O baço, enquanto órgão linfóide secundário responsável pela vigilância imunológica do compartimento sanguíneo, apresentou um padrão de resposta caracterizado pelo aumento de IL-1RA e IL-10, associado à redução de IL-17. Esses resultados indicam que o treinamento físico induziu um perfil esplênico anti-inflamatório, semelhante ao observado no plasma e na medula óssea, sugerindo uma resposta integrada entre os diferentes compartimentos imunes. Interessantemente, observou-se aumento significativo de citocinas associadas ao perfil Th2, como IL-5 e IL-13, no baço. Esse achado pode refletir uma adaptação funcional do compartimento esplênico, uma vez que respostas Th2 não são necessariamente inflamatórias e podem estar associadas a mecanismos de reparo tecidual e regulação imunológica (89,90). Além disso, o aumento dessas citocinas ocorreu sem elevação concomitante de IL-4 sistêmica ou esplênica, sugerindo uma modulação seletiva e não uma polarização Th2 clássica. A redução de IL-17 no baço reforça a hipótese de que o exercício físico atenua vias inflamatórias associadas à ativação Th17, que têm sido implicadas na patogênese de diversas doenças autoimunes e inflamatórias crônicas (91,92). Assim, o perfil observado no baço sugere que o treinamento físico contribui para um estado de vigilância imunológica eficiente, porém menos propenso à inflamação exacerbada.

Os linfonodos desempenham papel central na iniciação e modulação das respostas imunes adaptativas. Neste estudo, o treinamento físico promoveu

aumento significativo de IL-10 nos linfonodos, acompanhado por redução das citocinas IL-12p40, IL-17 e IL-23. Esse conjunto de alterações indica uma inibição da via Th17/IL-23, reconhecidamente pró-inflamatória, e um fortalecimento de mecanismos regulatórios locais. A diminuição simultânea de IL-17 e IL-23 é particularmente relevante, uma vez que a IL-23 é essencial para a manutenção e expansão de células Th17 (93). A inibição dessa via sugere que o treinamento físico exerce efeito modulador direto ou indireto sobre os circuitos de diferenciação e manutenção de linfócitos Th17 nos linfonodos. Esses achados são consistentes com estudos experimentais que demonstram redução da atividade Th17 após intervenções de exercício físico regular (94,95). O aumento de IL-4 observado nos linfonodos, contrastando com a redução de IL-13, sugere uma modulação complexa do eixo Th2 nesse compartimento. Essa dissociação pode refletir diferenças na cinética de produção dessas citocinas ou no papel funcional específico que desempenham no microambiente linfonodal. Importante destacar que essas alterações ocorreram em um contexto de aumento de IL-10, reforçando o predomínio de um perfil regulatório.

De forma integrada, os resultados deste estudo indicam que o treinamento físico aeróbio de intensidade moderada promove uma reprogramação imunológica sistêmica e tecidual, caracterizada por redução do tônus inflamatório e fortalecimento de mecanismos regulatórios. Essa modulação ocorre de maneira coordenada entre plasma, medula óssea, baço e linfonodos, sugerindo que o exercício físico atua como um modulador global da rede imunológica. Esses achados têm importantes implicações fisiológicas e clínicas, uma vez que estados de inflamação crônica de baixo grau estão

associados ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares, metabólicas, autoimunes e neurodegenerativas (96,97). A capacidade do exercício físico de modular simultaneamente múltiplos compartimentos do sistema imune reforça seu potencial como estratégia terapêutica e preventiva.

Entre as limitações do presente estudo, destaca-se a ausência de análises fenotípicas celulares detalhadas, como citometria de fluxo, que poderiam elucidar quais subpopulações celulares são responsáveis pelas alterações humorais observadas. Além disso, a avaliação de marcadores funcionais, como resposta a desafio infeccioso ou vacinal, poderia fortalecer a interpretação funcional dos achados. Estudos futuros devem explorar diferentes intensidades e durações de treinamento, bem como avaliar os efeitos do exercício em modelos de inflamação crônica ou imunossenescência. A integração de análises transcriptômicas e metabolômicas poderá fornecer uma compreensão mais aprofundada dos mecanismos moleculares subjacentes à imunomodulação induzida pelo exercício.

DETALHAR O TIPO DE TREINAMENTO IMPLANTADO.

Conclusões

Em conclusão, o presente estudo demonstra que o treinamento físico aeróbico de intensidade moderada exerce efeitos imunomoduladores benéficos sobre a resposta humoral sistêmica e sobre os órgãos linfoides primários e secundários, promovendo um perfil anti-inflamatório e regulatório. Esses resultados contribuem para o entendimento dos mecanismos pelos quais o exercício físico influencia a homeostase imunológica e reforçam seu papel como ferramenta fundamental na promoção da saúde e prevenção de doenças de etiologia imunológica e inflamatória.

Referências

1. Parkin J, Cohen B. An overview of the immune system. *Lancet*. 2001;357(9270):1777-89.
2. Chaplin DD. Overview of the immune response. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125(2 Suppl 2):S3-23.
3. Gonzalez H, Hagerling C, Werb Z. Roles of the immune system in cancer: from tumor initiation to metastatic progression. *Genes Dev*. 2018;32(19-20):1267-1284.
4. Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*. 2008;454(7203):428-35.
5. Marshall JS, Warrington R, Watson W, Castle HL. An introduction to immunology and immunopathology. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2018;14(Suppl 2):49.
6. Turvey SE, Broide DH. Innate immunity. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125(2 Suppl 2):S24-32.
7. Bonilla FA, Oettgen HC. Adaptive immunity. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125(2 Suppl 2):S33-40.
8. Farber DL, Netea MG, Radbruch A, Rajewsky K, Zinkernagel RM. Immunological memory: lessons from the past and a look to the future. *Nat Rev Immunol*. 2016;16(2):124-38.
9. Ruddle NH, Akirav EM. Secondary lymphoid organs: responding to genetic and environmental cues in ontogeny and inflammation. *J Immunol*. 2009;183(4):2205-12.

10. Pearse G. Normal structure, function and histology of the thymus. *Toxicol Pathol.* 2006;34(5):504-14.
11. Mebius RE, Kraal G. Structure and function of the spleen. *Nat Rev Immunol.* 2005;5(8):606-16.
12. Iwasaki A, Medzhitov R. Control of adaptive immunity by the innate immune system. *Nat Immunol.* 2015;16(4):343-53.
13. Parkin J, Cohen B. An overview of the immune system. *Lancet.* 2001;357(9270):1777-89.
14. Di Sabatino A, Carsetti R, Corazza GR. Post-splenectomy and hyposplenic states. *Lancet.* 2011;378(9785):86-97.
15. Ruddle NH, Akirav EM. Secondary lymphoid organs: responding to genetic and environmental cues in ontogeny and inflammation. *J Immunol.* 2009;183(4):2205-12.
16. Junt T, Moseman EA, Iannacone M, Massberg S, Zinkernagel RM, von Andrian UH, et al. Subcapsular sinus macrophages in lymph nodes clear lymph-borne viruses and present them to antiviral B cells. *Nature.* 2007;450(7166):110-4.
17. Pearse G. Normal structure, function and histology of the thymus. *Toxicol Pathol.* 2006;34(5):504-14.
18. Montecino-Rodriguez E, Berent-Maoz B, Dorshkind K. Causes, consequences, and reversal of immune system aging. *J Clin Invest.* 2013;123(3):958-65.
19. Savino W. The thymus is a multistep networking in the neuroendocrine-immune system. *Dev Immunol.* 2002;9(2):85-90.

20. Nagasawa T. Microenvironmental niches in the bone marrow required for B-cell development. *Nat Rev Immunol.* 2006;6(2):107-16.
21. Pieper K, Grimbacher B, Eibel H. B-cell biology and development. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;131(4):959-71.
22. Miller JF. The discovery of thymus function and of T cells. *Immunol Rev.* 2002;185:7-14.
23. Klein L, Kyewski B, Petrie HT, Raeuwsky K. Tolerance of T-cell repertoire: central and peripheral mechanisms. *Nat Rev Immunol.* 2014;14(6):377-91.
24. Takahama Y. Journey through the thymus: stromal guides for T-cell development and selection. *Nat Rev Immunol.* 2006;6(2):127-35.
25. Mebius RE, Kraal G. Structure and function of the spleen. *Nat Rev Immunol.* 2005;5(8):606-16.
26. Willard-Mack CL. Normal structure, function, and histology of lymph nodes. *Toxicol Pathol.* 2006;34(5):409-24.
27. Victora GD, Nussenzweig MC. Germinal centers. *Annu Rev Immunol.* 2012;30:429-57.
28. Girard JP, Moussion C, Forster R. HEVs, lymphatics and homeostatic immune cell trafficking in lymph nodes. *Nat Rev Immunol.* 2012;12(11):762-73.
29. Bronte V, Pittet MJ. The spleen in local and systemic regulation of immunity. *Immunity.* 2013;39(5):806-18.

30. Mowat AM. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nat Rev Immunol*. 2003;3(4):331-41.
31. Mesin L, Ersching J, Victora GD. Germinal center B cell dynamics. *Immunity*. 2016;45(3):471-82.
32. Nieman DC, Wentz LM. The compelling link between physical activity and the body's defense system. *J Sport Health Sci*. 2019;8(3):201-217.
33. Montecino-Rodriguez E, Berent-Maoz B, Dorshkind K. Causes, consequences, and reversal of immune system aging. *J Clin Invest*. 2013;123(3):958-65.
34. Krüger K, Mooren FC. Exercise-induced muscle inflammation: recent advances and novel signals. *Exerc Immunol Rev*. 2014;20:8-29.
35. Simpson RJ, Lowder TW, Spielmann G, Bigley AB, LaVoy EC, Kunz H. Can exercise help rescue the immune system from ageing? *Ageing Res Rev*. 2012;11(3):356-67.
36. Miller JF. The discovery of thymus function and of T cells. *Immunol Rev*. 2002;185:7-14.
37. Lynch HE, Goldberg GL, Chidgey A, Van den Brink MR, Boyd R, Sempowski GD. Thymic involution and immune reconstitution. *Trends Immunol*. 2009;30(7):366-73.
38. Valente MJ, Rocha-Pereira P, Santos-Silva A, Belo L. Effects of chronic physical exercise on the thymus of rats. *Cell Tissue Res*. 2016;364(3):613-23.
39. Duggal NA, Pollock RD, Lazarus NR, Harridge S, Lord JM. Major features of immunosenescence, including reduced thymic output, are

- ameliorated by high levels of physical activity in adulthood. *Aging Cell*. 2018;17(2):e12750.
40. Liaw CH, Huang CC, Hsu MC. High-intensity interval training modulates thymic cell cycle and survival markers. *Med Sci Sports Exerc*. 2020;52(10):2145-52.
41. Nagasawa T. Microenvironmental niches in the bone marrow required for B-cell development. *Nat Rev Immunol*. 2006;6(2):107-16.
42. Baker JM, Simpson RJ. Acute exercise and the mobilization of hematopoietic stem and progenitor cells. *Exerc Immunol Rev*. 2017;23:8-21.
43. Emmons R, Niemi CP, DeLisio R. Effects of acute exercise on bone marrow-derived stem and progenitor cells. *Stem Cells Dev*. 2016;25(11):811-22.
44. Kunz HE, Simpson RJ, DiNardo C, Siska C, Gupta P. Exercise and the bone marrow microenvironment. *J Appl Physiol (1985)*. 2019;126(2):331-340.
45. Turner JE, Brum PC. Exercise training, immunity and the aging process. *Ageing Res Rev*. 2019;49:60-70.
46. Pawelec G. Age and immunity: What is "immunosenescence"? *Exp Gerontol*. 2018;105:4-9.
47. Fragala MS, Levy AS, Walsh SM, Li SY, Blackburn JR, Hill AR. Exercise and the aging immune system. *Aging Dis*. 2011;2(3):243-56.
48. Peake JM, Neubauer O, Walsh NP, Simpson RJ. Recovery of the immune system after exercise. *J Appl Physiol (1985)*. 2017;122(5):1077-1087.

49. Walsh NP, Gleeson M, Shephard RJ, Gleeson M, Woods JA, Bishop NC, et al. Position statement. Part one: Immune function and exercise. *Exerc Immunol Rev.* 2011;17:6-63.
50. Ma D, Wei Y, Liu F. Regulatory mechanisms of thymus and T cell development. *Dev Comp Immunol.* 2013;39(1-2):91-102. doi:10.1016/j.dci.2011.12.013.
51. Vanhie JJ, Ouchi N. How Does Lifestyle Affect Hematopoiesis and the Bone Marrow Microenvironment? *Exerc Sport Sci Rev.* 2022;50(4):252-260. PMID: 36114677.
52. Yu VWC, Scadden DT. Hematopoietic Stem Cell and Its Bone Marrow Niche. *Curr Top Dev Biol.* 2016;118:21-44. PMID: 27137653.
53. Thomas R, Wang W, Su DM. Contributions of Age-Related Thymic Involution to Immunosenescence and Inflammaging. *Immun Ageing.* 2020;17:2. PMID: PMC6971920.
54. Duggal NA, Pollock RD, Lazarus NR, Harridge S, Lord JM. Major features of immunosenescence, including reduced thymic output, are ameliorated by high levels of physical activity in adulthood. *Aging Cell.* 2018;17(2):e12750. doi:10.1111/accel.12750. PMID: 29517845.
55. Woods JA, Ccedia MA, Zack MD, Lowder TW, Lu Q. Exercise training increases the naïve to memory T cell ratio in old mice. *Brain Behav Immun.* 2003;17(5):384-392. doi:10.1016/S0889-1591(03)00030-8. PMID: 12946660.

56. Pinho S, Frenette PS. Haematopoietic stem cell activity and interactions with the niche. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2019;20(5):303-320. PMID: PMC6483843.
57. Baker JM, De Lisio M, Parise G. Endurance exercise training promotes medullary hematopoiesis. *FASEB J.* 2011;25(12):4348-4357. PMID: 21868472.
58. De Lisio M, Parise G. Characterization of the effects of exercise training on hematopoietic stem cell quantity and function. *J Appl Physiol* (1985). 2012;113(10):1576-1584. PMID: 23019311.
59. De Lisio M, Baker JM, Parise G. Exercise promotes bone marrow cell survival and recipient reconstitution post-bone marrow transplantation, which is associated with increased survival. *Exp Hematol.* 2013;41(2):143-154. doi:10.1016/j.exphem.2012.10.003. PMID: 23063724.
60. Agha NH, Baker FL, Kunz HE, et al. Vigorous exercise mobilizes CD34+ hematopoietic stem cells to peripheral blood via the β 2-adrenergic receptor. *Brain Behav Immun.* 2018;68:66-75. PMID: 29017969.
61. Emmons R, Niemi GM, De Lisio M. Exercise as an Adjuvant Therapy for Hematopoietic Stem Cell Mobilization. *Stem Cells Int.* 2016;2016:7131359. PMID: PMC4830735.
62. Marędziak M, Śmieszek A, Chrzęstek K, Basinska K, Marycz K. Physical Activity Increases the Total Number of Bone-Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells, Enhances Their Osteogenic Potential, and

- Inhibits Their Adipogenic Properties. *Stem Cells Int.* 2015;2015:379093. doi:10.1155/2015/379093. PMID: 26167185.
63. Walsh NP, Gleeson M, Shephard RJ, Gleeson M, Woods JA, Bishop NC, et al. Position statement. Part one: Immune function and exercise. *Exerc Immunol Rev.* 2011;17:6-63. PMID: 21446352.
64. Gleeson M. Immune function in sport and exercise. *J Appl Physiol* (1985). 2007 Aug;103(2):693-9. doi: 10.1152/jappphysiol.00008.2007. PMID: 17303714.
65. Nieman DC, Wentz LM. The compelling link between physical activity and the body's defense system. *J Sport Health Sci.* 2019 May;8(3):201-217. doi: 10.1016/j.jshs.2018.09.009. PMID: 31193280.
66. McCarthy DA, Dale MM. The leucocytosis of exercise. A review and model. *Sports Med.* 1988 Dec;6(6):333-63. doi: 10.2165/00007256-198806060-00002. PMID: 3068772.
67. Gleeson M, Bishop NC. The T cell and NK cell immune response to exercise. *Ann Transplant.* 2005;10(4):43-8. PMID: 17037088.
68. Bartlett DB, Fox O, McNulty CL, Greenwood HL, Murphy L, Sapey E, et al. Habitual physical activity is associated with the maintenance of neutrophil migratory dynamics in healthy older adults. *Brain Behav Immun.* 2016 Aug;56:12-20. doi: 10.1016/j.bbi.2016.02.024. PMID: 26928196.
69. Bartlett DB, Shepherd SO, Wilson OJ, Adlan AM, Wagenmakers AJM, Shaw CS, Lord JM. Neutrophil and Monocyte Bactericidal Responses to

- 10 Weeks of Low-Volume High-Intensity Interval or Moderate-Intensity Continuous Training in Sedentary Adults. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:8148742. PMID: 28656073.
70. Gleeson M. Immune function in sport and exercise. *J Appl Physiol* (1985). 2007 Aug;103(2):693-9. doi: 10.1152/jappphysiol.00008.2007. PMID: 17303714.
71. Bay ML, Pedersen BK. Muscle-Organ Crosstalk: Focus on Immunometabolism. *Front Physiol*. 2020 Sep 9;11:567881. doi: 10.3389/fphys.2020.567881. PMID: 33013484.
72. Duggal NA, Pollock RD, Lazarus NR, Harridge S, Lord JM. Major features of immunosenescence, including reduced thymic output, are ameliorated by high levels of physical activity in adulthood. *Aging Cell*. 2018 Apr;17(2):e12750. doi: 10.1111/accel.12750. PMID: 29517845.
73. Kohut ML, Arntson BA, Lee W, Rozeboom K, Yoon KJ, Cunnick JE, McElhaney J. Moderate exercise improves antibody response to influenza immunization in older adults. *Vaccine*. 2004 Jun 2;22(17-18):2298-306. doi: 10.1016/j.vaccine.2003.11.023. PMID: 15149789.
74. Woods JA, Keylock KT, Lowder T, Vieira VJ, Zelkovich W, Dumich S, et al. Cardiovascular exercise training extends influenza vaccine seroprotection in sedentary older adults: the immune function intervention trial. *J Am Geriatr Soc*. 2009 Dec;57(12):2183-91. doi: 10.1111/j.1532-5415.2009.02563.x. PMID: 20121985.
75. Brandao-Rangel MAR, Moraes-Ferreira R, Silva-Reis A, Souza-Palmeira VH, Almeida FM, da Silva Olimpio FR, Oliveira CR, Damaceno-

- Rodrigues NR, Pesquero JB, Martin L, Aimbire F, Albertini R, Faria SS, Vieira RP. Aerobic physical training reduces severe asthma phenotype involving kinins pathway. *Mol Biol Rep.* 2024 Apr 10;51(1):499. doi: 10.1007/s11033-024-09474-w. PMID: 38598121.
76. Ligeiro de Oliveira AP, Peron JP, Santos Franco AL, Golega BA, Vieira RP, Ibanez OC, Ribeiro OG, Cabrera WH, De Franco M, Oliveira-Filho RM, Rizzo LV, Vargaftig BB, de Lima WT. Ovariectomized OVA-sensitized mice display increased frequency of CD4(+)Foxp3(+) T regulatory cells in the periphery. *PLoS One.* 2013 Jun 17;8(6):e65674. doi: 10.1371/journal.pone.0065674. PMID: 23799034; PMCID: PMC3684611.
77. Garcia M, Santos-Dias A, Bachi ALL, Oliveira-Junior MC, Andrade-Souza AS, Ferreira SC, Aquino-Junior JCJ, Almeida FM, Rigonato-Oliveira NC, Oliveira APL, Savio LEB, Coutinho-Silva R, Müller T, Idzko M, Siepmann T, Vieira RP. Creatine supplementation impairs airway inflammation in an experimental model of asthma involving P2 × 7 receptor. *Eur J Immunol.* 2019 Jun;49(6):928-939. doi: 10.1002/eji.201847657. Epub 2019 Apr 18. PMID: 30888047.
78. Gleeson M, Bishop NC, Stensel DJ, Lindley MR, Mastana SS, Nimmo MA. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. *Nat Rev Immunol.* 2011;11(9):607–615.
79. Petersen AMW, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol.* 2005;98(4):1154–1162.

80. Pedersen BK, Febbraio MA. Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6. *Physiol Rev.* 2008;88(4):1379–1406.
81. Febbraio MA, Pedersen BK. Muscle-derived interleukin-6: mechanisms for activation and possible biological roles. *FASEB J.* 2002;16(11):1335–1347.
82. Starkie R, Ostrowski SR, Jauffred S, Febbraio M, Pedersen BK. Exercise and IL-6 infusion inhibit endotoxin-induced TNF- α production in humans. *FASEB J.* 2003;17(8):884–886.
83. Steensberg A, Fischer CP, Keller C, Møller K, Pedersen BK. IL-6 enhances plasma IL-1ra, IL-10, and cortisol in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003;285(2):E433–E437.
84. Frodermann V, Rohde D, Courties G, et al. Exercise reduces inflammatory cell production and cardiovascular inflammation via regulation of hematopoietic stem and progenitor cells. *Nat Med.* 2019;25(11):1761–1771.
85. Emmons R, Niemi GM, De Lisio M. Hematopoiesis with obesity and exercise: role of the bone marrow niche. *Exerc Immunol Rev.* 2017;23:82–95.
86. Hoeksema MA, de Winther MPJ. Exercise and regulation of hematopoiesis. *Curr Opin Lipidol.* 2018;29(1):1–6.
87. Zhang J, Wang X, Vikash V, et al. IL-17A promotes inflammatory myelopoiesis in response to chronic stress. *Immunity.* 2017;46(4): 719–731.

88. Mei Y, Bresson D, Vignali DAA, Fathman CG. Th17 cells and IL-17 in inflammatory diseases. *Nat Rev Immunol*. 2014;14(9):585–600.
89. Wynn TA. Type 2 cytokines: mechanisms and therapeutic strategies. *Nat Rev Immunol*. 2015;15(5):271–282.
90. Gause WC, Wynn TA, Allen JE. Type 2 immunity and wound healing: evolutionary refinement of adaptive immunity by helminths. *Nat Rev Immunol*. 2013;13(8):607–614.
91. Korn T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. IL-17 and Th17 cells. *Annu Rev Immunol*. 2009;27:485–517.
92. McGeachy MJ, Cua DJ. Th17 cell differentiation: the long and winding road. *Immunity*. 2008;28(4):445–453.
93. Gaffen SL, Jain R, Garg AV, Cua DJ. The IL-23–IL-17 immune axis: from mechanisms to therapeutic testing. *Nat Rev Immunol*. 2014;14(9):585–600.
94. Dorneles GP, Haddad DO, Fagundes VO, et al. High intensity interval exercise enhances immune function and reduces inflammation in physically inactive adults. *Brain Behav Immun*. 2016;55: 1–11.
95. Krüger K, Mooren FC. T cell homing and exercise. *Exerc Immunol Rev*. 2007;13:37–54.
96. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature*. 2002;420(6917):868–874.

97. Franceschi C, Garagnani P, Parini P, Giuliani C, Santoro A. Inflammaging: a new immune–metabolic viewpoint for age-related diseases. *Nat Rev Endocrinol*. 2018;14(10):576–590.