



P.PORTO

Escola Superior de Saúde do Porto

Ana Margarida Magalhães Carvalho

**Impacto de uma prova de 10 km de
corrida em biomarcadores
inflamatórios e representativos do
sistema cardiovascular: comparação
entre atletas recreacionais com e
sem treino específico.**

Orientador: Fernando Ribeiro

Co-Orientador: Andreia Noites

Mestrado em Fisioterapia
Opção Córdio-Respiratória

Outubro de 2017

**Escola Superior de Saúde
Instituto Politécnico do Porto**

Ana Margarida Magalhães Carvalho

Impacto de uma prova de 10 km de corrida em biomarcadores inflamatórios e representativos do sistema cardiovascular: comparação entre atletas recreacionais com e sem treino específico.

Dissertação submetida à Escola Superior de Tecnologia a Saúde do Porto para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Fisioterapia – Opção Córdio-Respiratória, realizada sob a orientação científica do Professor Doutor Fernando Ribeiro e da Professora Doutora Andreia Noites.

Outubro de 2017

Impacto de uma prova de 10 km de corrida em biomarcadores inflamatórios e representativos do sistema cardiovascular: comparação entre atletas recreacionais com e sem treino específico.

Margarida Carvalho¹, Fernando Ribeiro², Andreia Noites³

margarida.carvalho.ft@gmail.com

¹ESS-P Porto- Escola Superior de Saúde do Porto

²ESS-UA- Escola Superior de Saúde da Universidade de Aveiro

³ATCFT – Área Técnico-Científica da Fisioterapia

Resumo

Introdução: Estudos anteriores observaram que, após exercício, atletas treinados apresentaram menor alteração nos níveis circulantes de biomarcadores inflamatórios e de stress cardiovascular do que atletas não treinados.

Objetivo: Comparar o impacto imediato e após 24 horas da realização de uma prova de 10 km de corrida em biomarcadores inflamatórios e representativos do sistema cardiovascular, entre atletas recreacionais com e sem treino específico. **Metodologia:** Recrutaram-se 18 atletas recreacionais (38,5 ± 14,5 anos), 10 homens e 8 mulheres, que foram divididos em dois grupos: grupo Treinados (T) e grupo Não Treinados (NT) . Foram colhidas amostras de sangue venoso antes (48h), imediatamente após, e 24h após, e realizada a análise dos seguintes biomarcadores: VEGF(fator de crescimento endotelial vascular), IL-6 (interleucina 6), CPR (proteína C-reativa), Grh (grelina), MMP2 (metaloproteinase-2 de matriz) e MMP9 (metaloproteinase-9 de matriz).

Resultados: Foi observado um aumento da CRP pós-prova nos dois grupos, e ambos voltaram aos valores basais após 24h; aumento da IL-6 em ambos, e retorno aos valores basais às 24 h no grupo NT; aumento dos níveis da Grelina em ambos (p<0,001), e retorno aos valores basais às 24h (p> 0.05); aumento dos níveis do VEGF em ambos e retorno aos valores basais após 24h; aumento da MMP2 no grupo NT (p≤0,005), e regresso aos valores basais após 24h (p>0,05); aumento, em ambos, da MMP9 (T: p<0,001; NT: p=0,003), e regresso aos valores basais após 24h (p≤0,005). **Conclusão:** O impacto de uma prova de 10 km de corrida parece ser semelhante em atletas recreacionais com e sem treino específico, em biomarcadores inflamatórios e representativos do sistema cardiovascular.

Palavras-Chave: Biomarcadores; Corrida; Exercício; Inflamação; Sistema cardiovascular.

Abstract

Background: Previous studies have found that trained athletes had lower changes in circulating levels of inflammatory biomarkers and cardiovascular stress than untrained athletes after exercise. **Aim:** To compare the immediate and 24-hour impact of a 10-km race on inflammatory and representative cardiovascular biomarkers between recreational athletes with and without specific training **Methods:** 18 recreational athletes (38.5 ± 14.5 years), 10 men and 8 women, were recruited and divided into two groups: the Trained (T) group and the Untrained group (NT). Venous blood samples were taken prior to the 10km race (48 hours before), immediately after, and 24 hours after the race. The following biomarkers were analyzed: VEGF (vascular endothelial growth factor), IL6 (interleukin 6), CPR (C-reactive protein), Ghr (gherlin), MMP2 (matrix metalloproteinase-2) and MMP9 (matrix metalloproteinase-9). **Results:** A significant increase in CRP was observed after the test in both groups, and both returned to baseline values after 24h; a significant increase of IL-6 after the test in both groups, and these values return to values similar to those at rest at 24 h in the NT group alone; a significant increase in the levels of Grh from rest to post-test in both groups ($p < 0.001$), and these values returned to resting levels at 24 hours ($p > 0.05$); a significant increase in VEGF levels from rest to post-test in both groups, with these values returning to resting levels at 24 hours; a significant increase in MMP2 levels only in the NT group, from rest to post-test ($p \leq 0.005$), and these values return to levels ($p > 0.05$), and a significant increase in both groups from MMP9 levels from rest to post-test (T: $p < 0.001$; NT: $p = 0.003$), these values returning to resting levels at 24 hours ($p \leq 0.005$). **Conclusion:** The impact of a 10-km race seems to be similar in recreational athletes with and without specific training in the inflammatory and representative cardiovascular biomarkers.

Key words: Biomarkers; cardiovascular system; Exercise; Inflammation; Running.

1 Introdução

O exercício físico regular e intenso promove adaptações cardíacas estruturais, funcionais e elétricas que são consideradas benéficas, e justificam os achados clínicos descobertos no coração do atleta (Eijsvogels, 2016). A prática regular de exercício está associada a uma diminuição da pressão sanguínea, reduzindo também o risco de enfarte agudo do miocárdio e ajuda a controlar o peso, entre outros benefícios para a saúde (Agarwal, 2012). Desportistas de resistência (endurance) vivem mais tempo quando comparados com a população geral, algo que pode ser explicado pelo treino físico regular, estilo de vida e genética (Farahmand et al, 2003). De facto, tem sido bem documentado que o exercício aeróbio com intensidade baixa a moderada realizado de forma regular (30-60 min/dia) reduz a morbidade cardiovascular e mortalidade (Lavie et al., 2015; Sanchis-Gomar et al., 2016). Do ponto de vista cardiovascular, a prática de exercício reduz a pressão arterial diastólica e sistólica, aumenta a fração de ejeção do ventrículo esquerdo, diminui a pressão diastólica final, melhora a função vascular aumentando a angiogénese cardíaca e a massa muscular cardíaca (Gomez-Cabrera, Domenech, & Viña, 2008; Mann & Rosenzweig, 2012; Pal, Radavelli-Bagatini, & Ho, 2013). Estes são alguns dos benefícios inerentes à corrida que faz com que hajam cada vez mais pessoas a realizar esta forma de exercício.

A prática de desportos de corrida de longa distância (duração) de forma competitiva parece produzir um conjunto de efeitos benéficos (Sanchis-Gomar, et al., 2016). Sanchis-Gomar et al, em 2016, observaram que em repouso a função sistólica do ventrículo direito e os níveis de biomarcadores representativos do sistema cardiovascular de atletas treinados parecem não sofrer alterações, corroborando a ideia de que qualquer alteração detectada nestas variáveis após as provas é transitória e não representa risco cardiovascular aumentado. A relevância clínica do aumento de biomarcadores cardíacos específicos de stress cardiovascular, pós-exercício, em indivíduos saudáveis também não é clara. Consequentemente, tem sido interesse da comunidade científica a determinação dos fatores pessoais e ambientais que influenciam a resposta destes biomarcadores ao exercício. Uma questão específica de interesse tem sido a importância do treino (Legaz-Arrese et al., 2015) e, neste âmbito, um estudo feito em 2016 observou que os atletas apresentaram uma menor alteração nos níveis de biomarcadores de lesão do miocárdio após o exercício exaustivo do que os não-atletas (Mohamed, Lamya, & Hamda, 2016).

O exercício aeróbio como a corrida envolve contração rítmica de um grande volume de massa muscular, realizado por períodos prolongados (por exemplo, 30-60 minutos) e que depende do fornecimento de oxigénio aos músculos ativos facilitando o retorno venoso e aumentando o volume diastólico final (sobrecarga de volume ou pré-carga aumentada) (Morganroth, Maron, Henry, & Epstein, 1975). Alguns autores têm vindo a sugerir que o exercício prolongado e extenuante pode induzir dano cardíaco, tendo sido recentemente introduzido o termo “*cardiac overuse injury*” (ou *over exercise*) para agrupar todas as possíveis consequências cardíacas deletérias da exposição repetida a exercício prolongado e extenuante (Sanchis-Gomar et al., 2016). Especialmente nos corredores recreacionais, com menos treino, o risco de disfunção cardíaca parecer estar aumentado após terminar uma maratona (Lucia, 1999; Neilan, 2006; Karlstedt, 2012).

A presença de valores elevados de vários biomarcadores inflamatórios e representativos do sistema cardiovascular associados à patologia e disfunção cardíaca, tem vindo a ser descrita em atletas de resistência treinados (La Gerche & Prior, 2007), no entanto, parece não terem sido observadas diferenças entre estes e indivíduos saudáveis não treinados (Scharhag et al., 2004).

São cada vez mais estudados os biomarcadores inflamatórios e representativos do sistema cardiovascular, por forma a compreender cada vez mais e melhor a resposta induzida pelo exercício que envolve a ativação de vários tipos de células sanguíneas (Scherr, et al., 2011), aumento de marcadores inflamatórios como a proteína C-reativa (CPR), de citocinas pró-inflamatórias como a interleucina 6 (IL-6) (Nieman, et al., 2007), e metaloproteínases de matriz (Saenz et al., 2006) incluindo MMP-2 e MMP-9. Outros biomarcadores como o VEGF (fator de crescimento endotelial vascular) aparecem associados a estudos feitos envolvendo exercício físico intenso (Lloyd et al., 2003), onde se salientam as seguintes funções: estimular a proliferação de células endoteliais, mobilizar células endoteliais progenitoras, reparar o endotélio e promover a formação de novos vasos sanguíneos (Roudier et al., 2010; Wagner, 2011), favorecendo assim a adaptação funcional incluindo o aumento da eficácia muscular (Andrzejewski et al., 2015). Associada ao exercício aparece também referido na literatura o biomarcador Grelina (Grh) ligado ao suprimento da necessidade de comer, e a alterações de péptidos circulantes (Broom et al., 2009).

Os estudos referidos anteriormente parecem fazer uma associação entre a resposta inflamatória aguda ao exercício, a alteração nos níveis dos biomarcadores e stress cardiovascular, baseando-se nas muitas semelhanças com a condição patológica (Lucia, 1999; Neilan, 2006; Karlstedt, 2012). Existem ainda poucos estudos que reportem as alterações nos biomarcadores e os padrões de alteração que resultam de provas de longa duração (Niemela et al., 2016),

nomeadamente em corredores recreacionais de curtas distâncias que cada vez mais compõem as grandes massas das provas organizadas. Desta forma, o significado clínico do aumento dos biomarcadores cardíacos parece ainda pouco claro e necessita de mais investigação (Hottenrott, 2016).

O crescente número de participantes nos eventos de corrida aumenta a necessidade do estudo dos marcadores bioquímicos que ajudem a determinar o stress cardiovascular e inflamatório durante o exercício prolongado a intensidade submáxima (Aagaard, 2011). A popularidade do exercício de resistência tem sido uma preocupação nas últimas três décadas, mais ainda quando completar uma maratona, ou provas de resistência semelhantes, são muitas vezes uma vitória pessoal pretendida por muitos indivíduos (Eijsvogels, 2016) e não existe nenhum órgão que verifique se para tal houve treino prévio adequado.

2 Métodos

Este estudo observacional, analítico e transversal foi realizado com o objetivo de comparar o impacto imediato e 24 horas após, de uma prova de 10 km de corrida em biomarcadores inflamatórios e representativos do sistema cardiovascular, entre atletas recreacionais com e sem treino específico.

2.1 Amostra

Foram convidados para participar no estudo 40 indivíduos, habitantes no distrito do Porto, através de convite pessoal e via *Facebook*, pertencentes a uma equipa que treina de forma regular e específica para provas de corrida de longas distâncias (equipa HSM.RT) e atletas recreacionais que realizam provas de corrida, mas não treinam de forma regular ou específica para longas distâncias (avaliado através do questionário).

Dos 40 indivíduos que foram convidados, 18 com idades entre 24 e 53 anos, aceitaram participar no estudo e constituíram dois grupos: Grupo Treinados (T) (n=9) e Grupo Não Treinados (NT) (n=9) (Figura 1). Foram considerados para o estudo indivíduos normotensos com idade entre os 18 e os 65 anos, do sexo masculino e feminino, sem contra-indicação médica para a prática de exercício físico. Para integrar o grupo T, os indivíduos tinham que treinar regularmente (≥ 3 vezes semana há mais de 6 meses) (Haskell et al., 2007; Organization, 2010) para provas de corrida de 10 km ou mais.

O critério de inclusão para o grupo NT foi realizar treinos pontuais (1 a 2 treinos semanais em média nos últimos seis meses) (Haskell et al., 2007; Organization, 2010).

Foram excluídos indivíduos: a tomar medicação; com patologia ortopédica, renal, neurológica e/ou cardíaca; hipertensão/ hipotensão; diabetes (Kim, et al., 2013); impossibilidade / recusa de colheita de sangue; e que nunca correram (Kim, et al., 2013). Foi também critério de exclusão da análise estatística não conseguir terminar a prova ou demorar mais de 2 horas a finalizar.

Os participantes foram avaliados em três momentos: 48 horas antes da prova, no imediato pós prova e 24 horas depois do término da prova. Todos os procedimentos de avaliação, que incluíram avaliação da pressão arterial, composição corporal e recolha de sangue periférico foram realizados no Serviço Médico de Atendimento Permanente do Hospital de Santa Maria no Porto, após os participantes darem o seu consentimento informado por escrito.

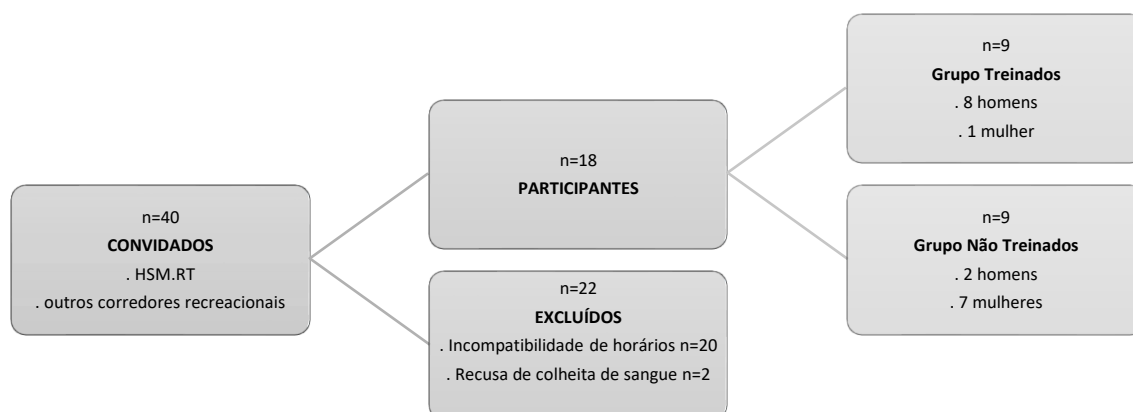


Figura 1. Diagrama de seleção da amostra.

2.2 Caracterização da Amostra e da Prova

A caracterização da amostra foi feita através de um questionário pré-prova. Este questionário incluía questões relacionados com os critérios de inclusão e exclusão tais como se existe algum impedimento médico à prática de exercício físico; se sente ou já sentiu dor no peito durante a prática de exercício físico; e se tem problemas músculo-esqueléticos, entre outros, tendo como base o *Parq-Q and You* (Physiology, 2016). Foram também recolhidos dados relacionados como idade, sexo, profissão, hobbies, data de início da prática de corrida, número de provas realizadas no último ano, se pratica outra modalidade desportiva, se utiliza cardiofrequencímetro, o historial médico (doença cardíaca, renal, ortopédica, neurológica, diabetes, hipertensão arterial), se já realizou electrocardiograma, ecocardiograma, prova de esforço cardio-respiratória, hemograma, e quais as alterações notadas, medicação habitual, toma de suplementos alimentares ou outros, e historial de treino, nomeadamente frequência, volume, padrão, como prepararam a prova, e quantos quilómetros correm por semana. No final da prova os participantes preencheram outro questionário com questões relacionadas com a prova, tais como: se completou a prova, o tempo de prova, quais os alimentos ingeridos antes e depois da prova (incluindo suplementação, água, café e bebidas energéticas), medicação, e se houve alguma intercorrência relevante durante a realização da mesma ou durante o dia da prova (tonturas, perda de consciência ou dor).

2.3 Avaliação do peso e altura

O peso (kg) dos sujeitos foi medido com uma balança de características mecânicas (*Rudolf Riester GmbH*, Jungingen, Germany), e a altura (m) foi avaliada com fita métrica padronizada fixa na parede. O índice de massa corporal (IMC) foi calculado dividindo o peso (kg) pela altura ao quadrado (m²).

2.4 Avaliação da pressão arterial

A pressão arterial sistólica e diastólica foram medidas com um esfigmomanómetro de mercúrio (*Rudolf Riester GmbH*, Jungingen, Germany), na artéria braquial no membro superior direito, com o indivíduo sentado e a braçadeira colocada ao nível do coração, tendo-se registado o valor médio de duas medições (O'Brien et al., 2003; Saúde, 2013). As medições foram realizadas com um intervalo de 2 minutos (O'Brien et al., 2003; Saúde, 2013).

2.5 Avaliação dos biomarcadores

Os biomarcadores foram analisados através do método de imunoblot e incluíram a CRP, VEGF, IL6, Grh, MMP-2 e MMP-9. Quarenta e oito horas antes da prova, imediatamente após e 24 horas após a prova foram recolhidos 4mL de sangue venoso para tubos EDTA. Os tubos foram centrifugados a 2000 xg, a 5° C durante 15 min. De seguida, o plasma foi pipetado para eppendorfs e armazenado a -80° C para posterior análise dos parâmetros em estudo.

2.5.1 Ensaio de imuno-transferência

Para realizar o slot-blot, as amostras de soro foram diluídas 20x com 1x PBS. O mesmo volume de amostra (100 µL) foi aplicado na membrana. As membranas foram incubadas em 10% de metanol para ativação, lavadas em água e posteriormente em 1x TBS. Em seguida, cada amostra foi aplicada na membrana e slot-blotted em vácuo (BioRad Portugal, Sintra, Portugal) durante alguns segundos até que toda a amostra fosse transferida para a membrana de nitrocelulose. A coloração de Ponceau foi realizada para confirmar a presença de proteína em cada amostra (bandas de proteína em todas as membranas incubadas com amostras) e também para ser usado como controlo. Para preparação de Ponceau, dissolveram-se 0,1 g de Ponceau S em 5 mL de ácido acético e encheu-se até 100 mL de água ultra-pura estéril. Após a transferência, a membrana foi lavada em 1x TBS-T e depois incubada com Ponceau num agitador durante 5 minutos. A membrana foi então lavada com água destilada até que as bandas de proteína se tornassem bem definidas. Para remover a coloração da membrana, esta foi lavagem repetida em água destilada. As membranas de nitrocelulose foram mantidas durante 1 hora em 1x TBS-T/5% de leite com baixo teor de gordura à temperatura ambiente com agitação lenta. Em seguida, adicionou-se o anticorpo primário apropriado e incubou-se durante 1 hora (CRP, IL-6, MMP-2, MMP-9, Grh). Todos os anticorpos foram diluídos 1:1000 em 1x TBS-T/5% de leite com baixo teor de gordura. Em seguida, as membranas foram lavadas três vezes com 1x TBS-T durante 15 minutos cada. A membrana foi então incubada com o anticorpo secundário anti-coelho (1:5000, LI-COR Biosciences UK Ltd, Cambridge, Reino Unido) durante 1 hora no escuro. Seguidamente, as membranas foram lavadas duas vezes, uma com 1x TBS-T durante 15 minutos e a outra com 1x TBS durante 15 minutos. A deteção foi realizada no Odyssey Infrared Imaging System (LI-COR Biosciences UK Ltd).

2.6 Ética

Esta investigação foi aprovada pela comissão de ética da Faculdade de Desporto da Universidade do Porto (ref. CEFADE 22/2016). Todos os participantes deram o seu consentimento informado por escrito e todos os procedimentos foram realizados segundo a declaração de Helsínquia.

2.7 Estatística

A análise estatística foi realizada através do *software IBM SPSS Statistics®* versão 23.0. Foi testada a normalidade da distribuição dos dados recolhidos através da análise de histogramas e do teste de Shapiro-wilk. Como estatística descritiva foi utilizada a média (\bar{X}) e o desvio padrão (DP) para a caracterização da amostra. As variáveis categóricas são expressas pela frequência absoluta (F_i) de indivíduos. As características dos grupos foram comparadas com recurso ao teste t-independente. Foi utilizada a ANOVA de medidas repetidas para efetuar comparações múltiplas dentro e entre grupos, de determinação dos efeitos principais do grupo, do tempo e da interação grupo*tempo, com a correção de Bonferroni. A significância estatística foi assumida para um valor de $p \leq 0,05$.

3 Resultados

As características gerais da amostra (idade, peso, altura e IMC), número de treinos realizados por semana, o número de provas realizadas no último ano, o tempo de prova e os anos de corrida para os dois grupos estão descritas na Tabela 1. A amostra do estudo foi constituída por 18 participantes, divididos em dois grupos de 9 indivíduos (T: 8 homens, 1 mulher; NT: 2 homens, 7 mulheres), em que todos completaram uma prova de 10 km.

As variáveis peso e altura apresentaram diferenças intergrupais: o grupo T apresentou maior peso ($p=0,017$) e altura ($p=0,033$). Para a variável IMC não existiram diferenças significativas. Nos 6 meses antecedentes à recolha das amostras, os participantes que integraram o grupo T reportaram um número significativamente maior de treinos realizados por semana ($3,5 \pm 1,0$ versus $1,2 \pm 0,4$, $p<0,001$) e de provas efetuadas no último ano. No que diz respeito ao tempo de realização da prova, os indivíduos do grupo T realizaram a prova em menos tempo ($50,3 \pm 13,0$, $p=0,003$) do que os NT ($66,8 \pm 5,6$, $p=0,003$).

Tabela 1. Caracterização da amostra (os valores são a média \pm desvio padrão).

	Grupo Treinado	Grupo não Treinado	Valor de prova
Idade (anos)	35,1 \pm 6,9	35,1 \pm 9,7	1,000
Peso (kg)	74,1 \pm 9,1	62,9 \pm 8,8	0,017
Altura (m)	1,8 \pm 0,1	1,7 \pm 0,1	0,033
IMC (kg/m ²)	23,8 \pm 2,8	22,8 \pm 3,8	0,533
Anos de Corrida	3,4 \pm 2,1	3,4 \pm 4,9	1,000
Tempo de Prova (h)	50,3 \pm 13,0	66,8 \pm 5,6	0,003
Nº de provas (último ano)	7,8 \pm 4,2	3,0 \pm 1,7	0,006
Nº de treinos (p/semana)	3,5 \pm 1,0	1,2 \pm 0,4	<0,001

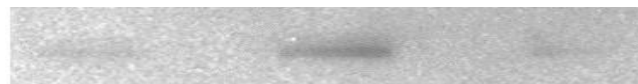
Legenda: IMC, índice de massa corporal; Nº, número.

Impacto de uma prova de 10 km de corrida em biomarcadores inflamatórios e representativos do sistema cardiovascular: comparação entre atletas recreacionais com e sem treino específico.

A análise do impacto da prova de 10 km nos níveis circulatórios de CRP revela que não existiu interação grupo X tempo ($F=0,525$, $p=0,600$), mas apenas um efeito do tempo ($F=10,291$, $p=0,001$). Observou-se um aumento significativo da CRP após a prova nos dois grupos, sendo que estes valores regressaram para valores similares aos de repouso às 24 horas (Tabela 2).

Tabela 2. Efeito de uma corrida de 10 km nos níveis circulantes de CRP (unidades arbitrárias), imagem representativa da mesma, no grupo de indivíduos treinados e não treinados.

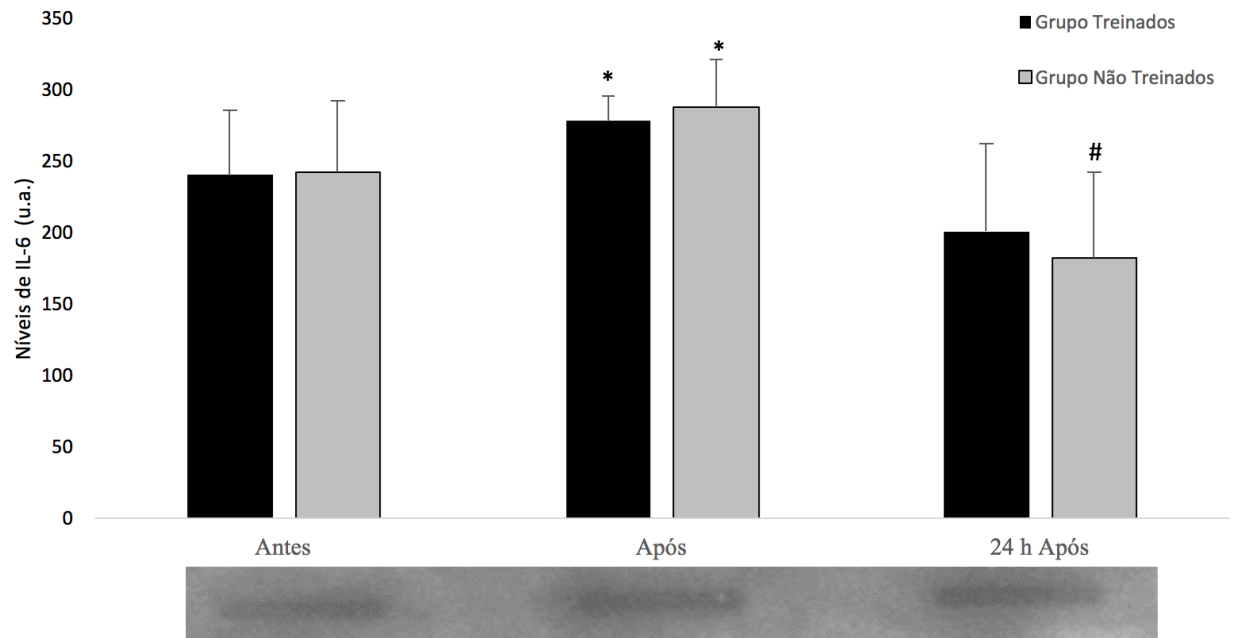
	CRP Antes	CRP Após	CRP 24h Após
Grupo Treinados	164,6 ± 55,3	189,4 ± 45,3*	150,4 ± 70,2
Grupo Não Treinados	167,6 ± 51,0	213,8 ± 15,5*	162,0 ± 60,1



*significativamente diferente de antes da prova, $p \leq 0,005$

Após análise dos valores da IL-6 constatou-se que não existiu uma interação grupo X tempo ($F=0,335$, $p=0,721$), mas apenas um efeito do tempo ($F=17,822$, $p < 0,001$). Observou-se também um aumento significativo da IL-6 após a prova nos dois grupos, sendo que esses valores regressaram para valores idênticos aos de repouso às 24 horas após, no grupo NT (Figura 2).

Impacto de uma prova de 10 km de corrida em biomarcadores inflamatórios e representativos do sistema cardiovascular: comparação entre atletas recreacionais com e sem treino específico.



* significativamente diferente de antes, $p < 0,001$; # significativamente diferente de após, $p = 0,014$

Figura 2. Representação gráfica das médias e respetivos desvios padrão dos níveis circulantes de IL6 numa prova de corrida de 10 km, no grupo de indivíduos treinados e não treinados.

Relativamente aos valores da Grh foi possível observar que não existiu uma interação grupo X tempo ($F=0,097$, $p=0,909$). Contudo, foi observada uma alteração dos mesmos no tempo ($F=10,535$, $p=0,002$); em ambos os grupos existiu um aumento significativo dos níveis da Grh de repouso para pós-prova (T: $8672,7 \pm 3567,3$ para $12193,0 \pm 3858,8$, $p < 0,001$; NT: $7039,5 \pm 3041,5$ para $11296,9 \pm 5289,7$, $p < 0,001$), sendo que estes valores voltam para níveis semelhantes aos de repouso às 24 horas (T: $9862,2 \pm 8088,0$; NT, $8806,5 \pm 5814,7$) (Figura 3).

Impacto de uma prova de 10 km de corrida em biomarcadores inflamatórios e representativos do sistema cardiovascular: comparação entre atletas recreacionais com e sem treino específico.

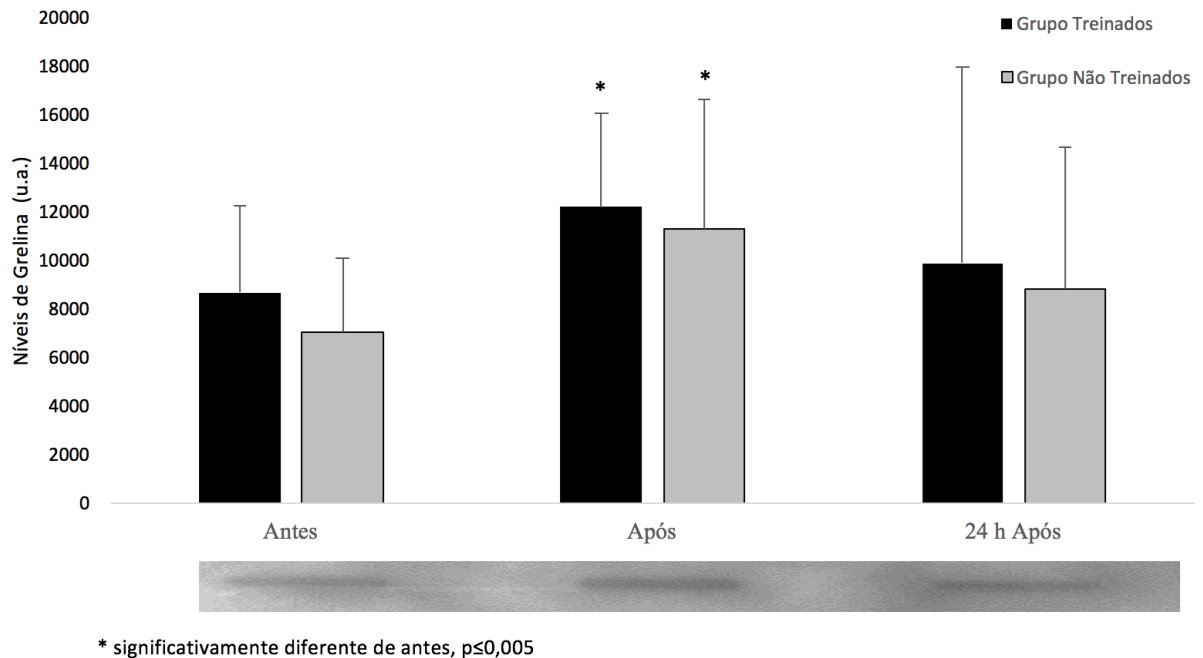


Figura 3. Representação gráfica das médias e respetivos desvios padrão dos níveis circulantes de Grelina numa prova de corrida de 10 km, no grupo de indivíduos treinados e não treinados.

Relativamente aos valores do VEGF foi possível observar que não existiu uma interação grupo X tempo ($F=0,176$, $p=0,838$). No entanto, observou-se uma alteração de ambos os grupos no tempo ($F=6,820$, $p=0,009$). Dos resultados obtidos, foi também possível verificar um aumento significativo dos níveis do VEGF de repouso para pós-prova, sendo que esses valores voltaram para níveis aproximados aos de repouso 24 horas após (Figura 4).

Impacto de uma prova de 10 km de corrida em biomarcadores inflamatórios e representativos do sistema cardiovascular: comparação entre atletas recreacionais com e sem treino específico.

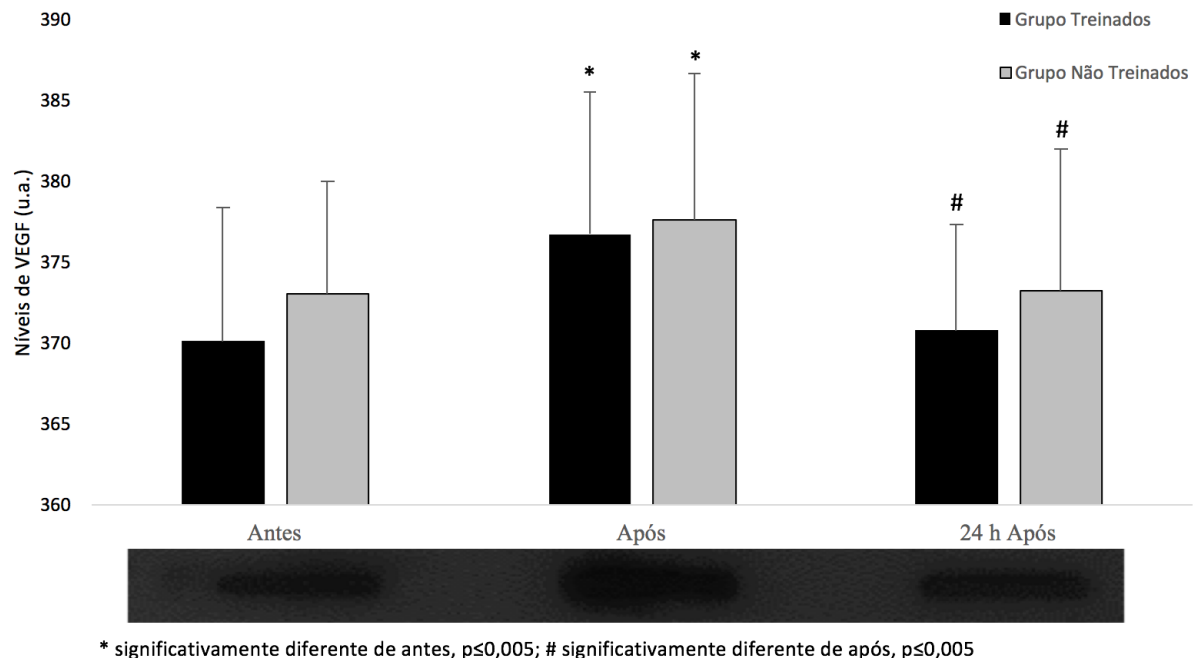


Figura 4. Representação gráfica das médias e respetivos desvios padrão dos níveis circulantes de VEGF numa prova de corrida de 10 km, no grupo de indivíduos treinados e não treinados.

Analisando os valores do biomarcador MMP2, foi possível observar que não houve uma interação grupo X tempo ($F=2,453$, $p=0,156$), embora tenha ocorrido uma alteração no tempo ($F=9,437$, $p=0,010$); apenas no grupo NT houve um aumento significativo nos níveis da MMP2 de repouso para pós-prova (NT: $604,7 \pm 121,2$ para $652,3 \pm 59,1$, $p \leq 0,005$), sendo que estes valores voltaram para níveis idênticos aos de repouso às 24 horas ($575,6336 \pm 284,2$, $p > 0,05$) (Figura 5). Não foram observadas diferenças significativas no grupo T nos 3 momentos avaliados.

Impacto de uma prova de 10 km de corrida em biomarcadores inflamatórios e representativos do sistema cardiovascular: comparação entre atletas recreacionais com e sem treino específico.

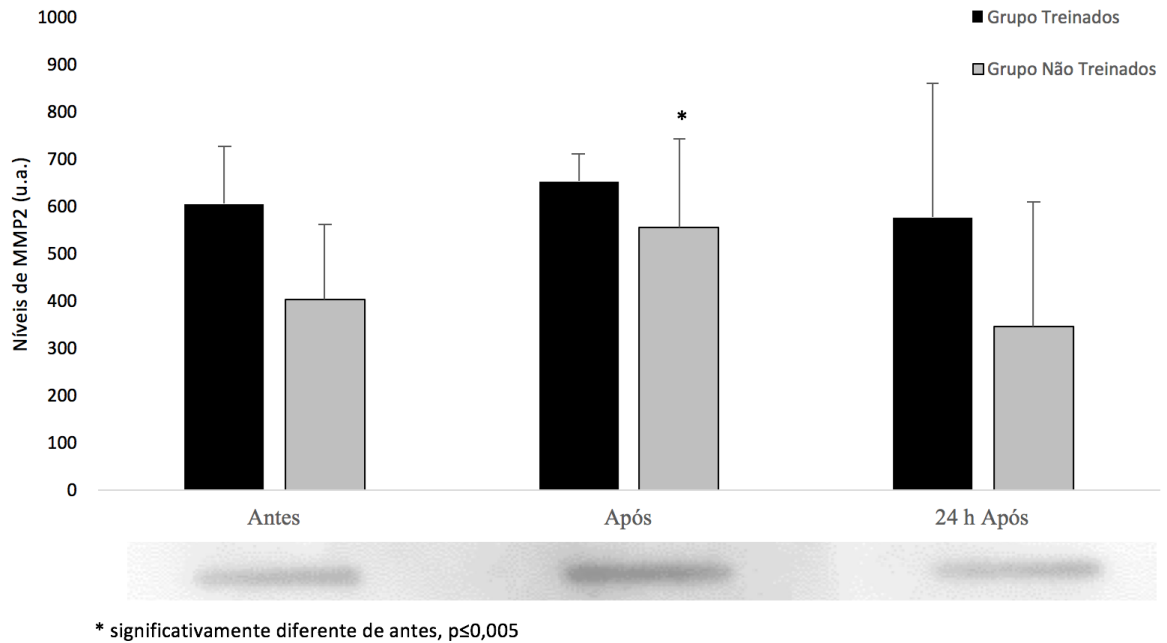


Figura 5. Representação gráfica das médias e respetivos desvios padrão dos níveis circulantes de MMP2 numa prova de corrida de 10 km, no grupo de indivíduos treinados e não treinados.

Comparativamente aos valores do biomarcador MMP9 verificou-se que não existiu uma interação grupo X tempo ($F=0,090$, $p=0,914$), mas sim uma alteração dos mesmos no tempo ($F=41,403$, $p=0,001$); também se observou um aumento significativo nos níveis da MMP9 de repouso para pós-prova nos dois grupos (T: $23552,7 \pm 8687,8$ para $43545,7 \pm 16617,2$, $p < 0,001$; NT: $23908,7 \pm 14382,9$ para $45493,9 \pm 15871,6$, $p=0,003$), sendo que estes valores voltaram para os níveis semelhantes aos de repouso às 24 horas (T: $22198,0 \pm 9761,3$; NT, $24169,6 \pm 6972,7$) (Figura 6).

Impacto de uma prova de 10 km de corrida em biomarcadores inflamatórios e representativos do sistema cardiovascular: comparação entre atletas recreacionais com e sem treino específico.

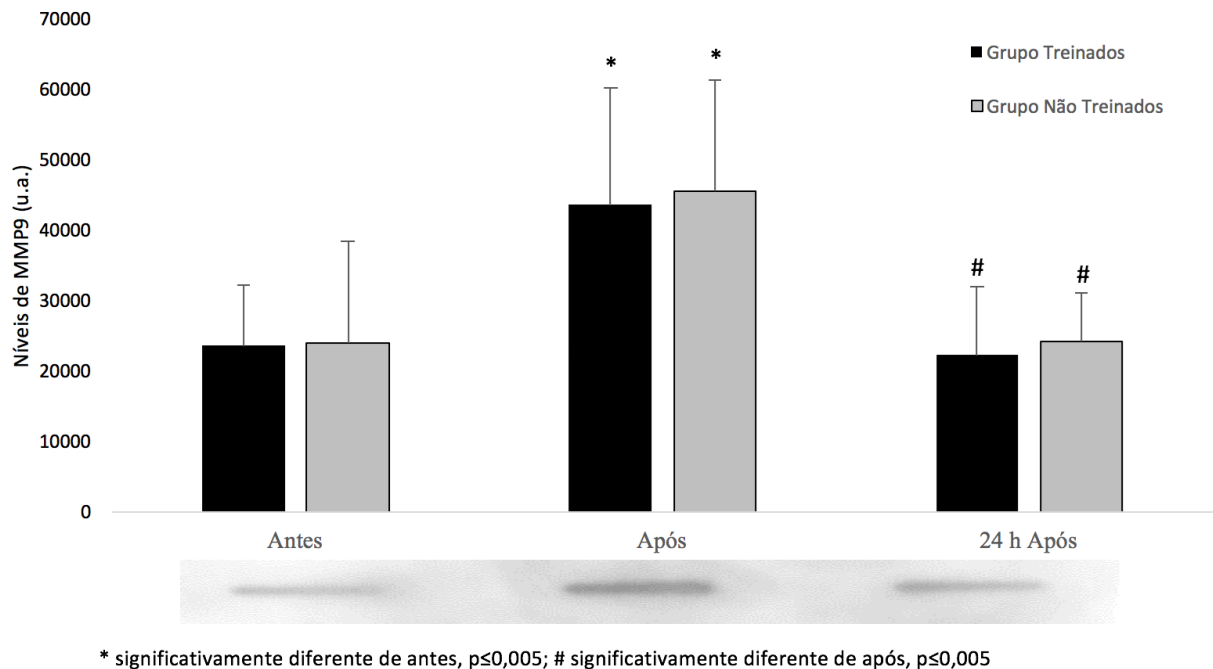


Figura 6. Representação gráfica das médias e respetivos desvios padrão dos níveis circulantes de MMP9 numa prova de corrida de 10 km, no grupo de indivíduos treinados e não treinados.

4 Discussão

O objetivo deste estudo foi comparar o impacto imediato e após 24 horas de uma prova de 10 km de corrida em biomarcadores inflamatórios e representativos do sistema cardiovascular, entre atletas recreacionais com e sem treino específico. Os resultados obtidos indicam que a resposta aguda dos biomarcadores analisados é semelhante nos dois grupos; e que o aumento observado na generalidade dos biomarcadores normaliza às 24 horas após o término da prova.

Foi observado um aumento significativo da CRP pós prova nos dois grupos, e um retorno aos valores idênticos ao repouso após 24h (Tabela 2).

O aumento da CRP após corrida de longa distância já havia sido verificado noutros estudos (Gill et al., 2015; Niemela et al., 2016) que observaram que este marcador se encontra aumentado pós-prova em atletas (meios maratonistas, maratonistas e ultramaratonistas) treinados. Atendendo à curta distância desta prova (10 km) os resultados obtidos concordam também com os achados anteriores que concluíram que a resposta aguda para um aumento de CRP é visível nos atletas mais jovens (0-25km), contudo, nas 24h de recuperação, os atletas mais idosos possuem uma maior concentração de CRP no sangue (0-100km) (Jastrzębski et al. 2015).

Os resultados obtidos para a IL-6 demonstraram um significativo aumento nos dois grupos pós prova, entrando em concordância com os achados de estudos anteriores realizados em provas de longas distâncias (Gill et al., 2015) tal como Reihmane et al. (2013) que obtiveram um aumento da IL-6 no soro em maratonistas (42km), e não em meios maratonistas (21Km): este estudo concluiu em resposta ao exercício, que os níveis circulantes de IL-6 aumentaram até 100 vezes, quando o exercício de longa duração e alta intensidade (maratona), se realizou. O retorno aos valores aproximados dos valores basais às 24h apenas se verificou no grupo NT, o que parece indicar que, provavelmente, a intensidade relativa da prova no grupo T foi superior; este grupo completou a prova em menor tempo do que grupo NT. Os marcadores de lesão muscular e/ou inflamatórios, tal com a IL-6, aumentaram após a maratona (42km), e permaneceram elevados até 24h (Santos et al., 2016) / 72 h pós exercício (Jessica, Köhne, Michael, Ormsbee, & McKune, 2016), facto que concorda com os resultados obtidos neste estudo para a variação de IL-6 às 24h no grupo T (apesar de esta ser uma prova de 10 km). Estudos feitos em 2003 (MacDonald et al., 2003) e 2007 (Nieman et al., 2007) em ciclistas, concluíram que o aumento da IL-6 está relacionado com a duração do exercício, dado que 2h induziram um aumento significativamente maior do que 1h de exercício, apesar da intensidade média do mesmo ser semelhante. Desta forma, neste estudo, a ausência de diferenças entre grupos nos biomarcadores inflamatórios poderá estar relacionada com o facto da prova no grupo T ter sido realizada com uma maior intensidade, mas com menor duração. Assim, a reduzida duração média da prova pode estar a camuflar potenciais resultados mais díspares entre os dois grupos.

Foi verificado um aumento significativo, em ambos os grupos, dos níveis de VEGF de repouso para pós-prova, sendo que estes valores voltaram para níveis semelhantes aos de repouso às 24 h, de acordo com a resposta observada ao exercício intenso tal como já foi descrito no passado (Lloyd et al., 2003). Apesar de ser possível encontrar literatura que não reconheça a sua resposta aguda ao exercício (Roudier et al., 2010), existem estudos que não deixam dúvidas sobre o papel do VEGF como um importante mediador da resposta angiogénica induzida pelo exercício físico (Prior, Yang, & Terjung, 2004; Fernandes, et al., 2012). Outros artigos reconhecem a este biomarcador a função de ativação de vários mecanismos para induzir a vasodilatação (Stahmann, et al., 2010). Deste modo, justificam-se os valores circulantes aumentados no pós-prova imediato, obtidos neste estudo, pela que parece ser a necessidade de um maior aporte sanguíneo aos músculos, durante a corrida, e, por isso, a sua diminuição no período de recuperação (às 24h).

Os dois grupos aumentaram significativamente os níveis da MMP-9 de repouso para pós-prova (T: $23552,7 \pm 8687,8$ para $43545,7 \pm 16617,2$, $p < 0,001$; NT: $23908,7 \pm 14382,9 \pm 45493,9 \pm 15871,6$, $p = 0,003$), sendo que estes valores voltaram para níveis semelhantes aos de repouso às 24 h (T: $22198,0 \pm 9761,3$; NT, $24169,6 \pm 6972,7$). Estes resultados concordam com Reihmane et al. (2013), que estudaram o efeito da duração do exercício nas concentrações de alguns biomarcadores, entre os quais a MMP-9, utilizando como amostra 22 meios maratonistas e 18 maratonistas, recreacionais, recolhendo as amostras de sangue 48h antes, 15 min e 28h após o final de prova concluindo que 15 min após, os valores de MMP-9 estavam aumentados, e às 28h após, todos os valores haviam voltado aos valores de repouso. Outros estudos também observaram o aumento da concentração de MMP-9 após uma maratona (Saenz et al., 2006) e a diminuição deste biomarcador no sangue para valores normais 28h pós prova (Rullman et al., 2007), concordando com os resultados obtidos.

Apenas no grupo NT foi observado um aumento significativo dos níveis de MMP-2 de repouso para pós-prova (T: $604,7 \pm 121,2$ para $652,3 \pm 59,1$, $p \leq 0,005$, sendo que estes valores voltaram para níveis aproximados aos de repouso às 24 h ($575,6336 \pm 284,2$, $p > 0,05$). Em 2013 (Hafstad, et al., 2013) efetuaram uma investigação na qual foram utilizados ratos treinados.

Estes autores concluíram que um treino moderado a intenso está associado à melhoria da capacidade mitocondrial, com redução do stress oxidativo, fibrose e diminuição da concentração de MMP-2. Igualmente em ratos, um estudo realizado em 2015 por Pósa et al. (2015) demonstrou que são necessárias 6 semanas de exercício regular para diminuir a atividade das MMP-2 e melhorar os efeitos protetivos, concordando com os resultados obtidos no nosso estudo para o grupo NT no imediato pós prova.

Foi também verificado um aumento significativo dos níveis de Grh de repouso para pós-prova (T: $8672,7 \pm 3567,3$ para $12193,0 \pm 3858,8$, $p < 0,001$; NT: $7039,5 \pm 3041,5 \pm 11296,9 \pm 5289,7$, $p < 0,001$), sendo que estes valores voltaram para níveis idênticos aos de repouso às 24 horas (T: $9862,2 \pm 8088,0$; NT: $8806,5 \pm 5814,7$). Vários estudos indicam que uma única sessão de exercício aeróbio não tem influência nas concentrações de Grh (Burns et al., 2007; Juřima et al., 2007), embora Vestergaard et al. (2007) tenham relatado que os níveis séricos deste biomarcador são suprimidos até uma hora após a cessação de exercício. Outros autores verificaram, após analisarem o efeito de uma prova de 20 km, uma diminuição significativa na fome subjetiva, diminuição das concentrações plasmáticas de Grh e da ingestão absoluta de energia em corredores de longa distância treinados (Kojima, Ishibashi, Ebi, & Goto, 2016). Neste caso, os resultados obtidos parecem estar de acordo com a literatura, onde referem a Grh como reguladora da sensação de fome/apetite (Broom et al., 2009). Aqui parece-nos importante ter em conta que os atletas terminaram a prova tendo feito a última refeição, ainda que ligeira, há mais de 3h antes do final da corrida.

Este estudo apresentou algumas limitações tais como: o tamanho da amostra (n=18) (a utilização de um grupo mais alargado de biomarcadores daria uma imagem mais representativa das alterações agudas sistémicas impostas pela prova de 10km e, desta forma, os resultados poderiam ser generalizados à população em causa) e o número de biomarcadores analisados (poderão não ser suficientes para poder fundamentar da melhor forma a conclusão deste estudo). Estas limitações podem ter condicionado os resultados obtidos.

Impacto de uma prova de 10 km de corrida em biomarcadores inflamatórios e representativos do sistema cardiovascular: comparação entre atletas recreacionais com e sem treino específico.

Estudos futuros parecem ser necessários envolvendo uma amostra maior representativa de corredores recreacionais, e a utilização de mais biomarcadores inflamatórios, e representativos de outros sistemas tais como o sistema imunológico e o sistema muscular.

5 Conclusão

Comparando o efeito imediato e após 24 horas, o impacto de uma prova de 10 km de corrida parece ser semelhante em atletas recreacionais com e sem treino específico, considerando biomarcadores inflamatórios e representativos do sistema cardiovascular.

6 Agradecimentos

Um sincero agradecimento a todos aqueles que contribuíram para a realização deste estudo: Hospital de Santa Maria-Porto, Escola Superior de Saúde de Santa Maria (Prof. José Manuel Silva e Prof. Carla Fernandes), Enf. Verónica Nunes, Enf. Maria Ribeiro, FT Sandra Palma, Mestre Ricardo Paredes, Prof. João Paulo Venâncio, Mestre Marisol Gouveia, e todos os atletas que participaram neste estudo (HSMRT).

7 Referências bibliográficas

- Aagaard, P. S. (2011). Performance trends and associations with biomarkers in a 30 km cross-country race. *Med Sci Sport Exerc* 44, 849-894.
- Agarwal, S. K. (2012). Cardiovascular benefits of exercise. *International Journal of General Medicine*, vol.5, 541-545.
- Andrzejewski, W., Kassolik, K., Kobierzycki, C., & Jedrzej, G. (2015). Increased skeletal muscle expression of VEGF induced by massage and exercise. *Via Médica. FOLIA HISTOCHEMICA ET CYTOBIOLOGICA*, 145-151.
- Broom, D. R., Batterham, R. L., King, J. A., & Stensel, D. J. (2009). Influence of resistance and aerobic exercise on hunger, circulating levels of acylated ghrelin, and peptide YY in healthy males. *American Journal of Physiology*, 29-35.

- Impacto de uma prova de 10 km de corrida em biomarcadores inflamatórios e representativos do sistema cardiovascular: comparação entre atletas recreacionais com e sem treino específico.
- Burns, S. F., Broom, D. R., Miyashita, M., Mundy, C., & Stensel, D. J. (2007). A single session of treadmill running has no effect on plasma total ghrelin concentrations. *Journal of Sports Sciences*, 635-642.
- Eijssvogels, T. M. (2016). Are there deleterious cardiac effects of acute and chronic endurance exercise? *Physiol Rev* 96, pp. 99-125.
- Farahmand, B. Y., Ahlbom, A., O, E., & al., e. (2003). Mortality amongst participants in Vasaloppet: a classicallong-distance ski race in Sweden. *Journal of Internal Medicine*, 276–283.
- Fernandes, T., Nakamuta, J. S., Magalhães, F. C., Roque, F. R., Lavini-Ramos, C., Schettert, I. T., Oliveira, E. M. (2012). Exercise training restores the endothelial progenitor cells number and function in hypertension. *J Hypertens* 30, 2133–2143.
- Gill, S. K., Teixeira, A., Rama, L., Rosado, F., Hankey, J., Scheer, V., . . . al., e. (2015). circulatory endotoxin concentration and cytokine profile in response to exertional-heat stress during a multi-stage ultra-marathon competition. *EIR* 21.
- Gomez-Cabrera, M. C., Domenech, E., & Viña, J. (2008). Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radic Biol Med* 44, 126–131.
- Hafstad, A. D., Lund, J., Hadler-Olsen, H., oper, E. A., Larsen, T. S., & Aasum, E. (2013). High-Andmoderate-Intensitytraining normalizes ventricular function and mechanoenergetics in mice with diet-Induced obesity. *Diabetes*, vol. 62, 2287–2294.
- Haskell, W. L. (2007). Physical Activity and Public Health: Updated Recommendation for Adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 1423-34.
- Hottenrott, K. L. (2016). Does a run/walk strategy decrease cardiac stress during a marathon in non-elite runners? *Journal of Science and Medicine in Sport* 19, 64-68.
- Jastrzębski, Z., Żychowska, M., Radziwiński, L., Konieczna, A., & Kortas, J. (2015). Damage to Liver and Skeletal Muscles in Marathon Runners During a 100 km Run With Regard to Age and Running Speed. *Journal of Human Kinetics*.
- Jessica, L., Köhne, Michael, J., Ormsbee, & McKune, A. J. (2016). The effects of a multi-ingredient supplement on markers of muscle damage and inflammation following downhill running in females. *Journal of the international society of sports nutrition*, 13-44.
- Ju`rima`, J., Hofmann, P., Ju`rima`, T., Palm, R., Ma`, J., Purge, P., Duvillard, S. P. (2007). Plasma ghrelin responses to acute sculling exercises in elite male rowers. *Eur J Appl Physiol*, 467–474.
- Karlstedt, E. C. (2012). The impact of repeated marathon running on cardiovascular function in the aging population. *J Cardiovasc Magn Reson*, 1-7.
- Kojima, C., Ishibashi, A., Ebi, K., & Goto, K. (2016). The Effect of a 20 km Run on Appetite Regulation in Long Distance Runners. *Nutrients*.
- La Gerche, A., & Prior, D. L. (2007). Exercise--is it possible to have too much of a good thing? *Heart Lung Circ*.
- Lavie, C. J., Lee, D. C., Sui, X., Arena, R., O'Keefe, J. H., Church, T. S., & al., e. (2015). Effects of Running on Chronic Diseases and Cardiovascular and All-Cause Mortality. *Mayo Clin Proc*.
- Legaz-Arrese, A., López-Laval, I., George, K., & al., e. (2015). Impact of an endurance training program on exercise-induced cardiac biomarker release. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*.

- Impacto de uma prova de 10 km de corrida em biomarcadores inflamatórios e representativos do sistema cardiovascular: comparação entre atletas recreacionais com e sem treino específico.
- Lloyd, P. G., Prior, B. M., Yang, H. T., & Terjung, R. L. (2003). Angiogenic growth factor expression in rat skeletal muscle in response to exercise training. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*.
- Lucia, A. S. (1999). Shortterm effects of marathon running: no evidence of cardiac dysfunction. *Med Sci Sport Exerc*, pp. 1414-1421.
- MacDonald, C., Wojtaszewski, J. F., Pedersen, B. K., Kiens, B., & Richter, E. A. (2003). Interleukin-6 release from human skeletal muscle during exercise: relation to AMPK activity. *J Appl Physiol* 95, 2273–2277.
- Mann, N., & Rosenzweig, A. (2012). Can exercise teach us how to treat heart disease. *Circulation* 126, 2625–2635.
- Mohamed, S., Lamy, N., & Hamda, M. (2016). Peroxidation, Antioxidant Activity and Muscle-Damage Biomarkers in Long-Distance and Middle-Distance Runners . *Asian J Sports Med*.
- Morganroth, J., Maron, B. J., Henry, W. L., & Epstein, S. E. (1975). Comparative left ventricular dimensions in trained athletes. *Ann Intern Med* 82, 521–524.
- Neilan, T. G.-L. (2006). Myocardial injury and ventricular dysfunction related to training levels among nonelite participants in the Boston marathon. *Circulation* , pp. 2325-2333.
- Nieman, D., Henson, D., Gojanovich, G., J.M., D., Dumke, C., Utter, A., McAnulty, L. (2007). Immune changes: 2 h of continuous vs. intermittent cycling. *Int J Sports Med* 28, 625–630.
- Niemela, M., Kangastupa, P., Niemela, O., Bloigu, R., & Juvonen, T. (2016). Individual responses in biomarkers oh health after marathon and half-marathon running: is a age a factor in troponin changes? *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 575-580.
- O'Brien, E., Asmar, R., Beilin, L., Imai, Y., Mallion, J. M., Mancia, G., Stergiou, G. (2003). European Society of Hypertension Working Group on Blood Pressure M. European Society of Hypertension recommendations for conventional, ambulatory and home blood pressure measurement. *J Hypertens*, 821-848.
- Organization, W. H. (2010). Global Recommendations on Physical Activity for Health. *WHO Library Cataloguing-in-Publication Data*.
- Pal, S., Radavelli-Bagatini, S., & Ho, S. (2013). Potential benefits of exercise on blood pressure and vascular function. *J Am Soc Hypertens* 7, 494–506.
- Physiology, C. S. (2016). *American Council on Exercise 2014*. Obtido de PAr-Q AnD YoU 2002: <https://www.acefitness.org/healthcoachresources/pdfs/Par-QandYou.pdf>
- Pósa, A., Szabó, R., Kupai, K., Baráth, Z., Szalai, Z., Csonka, A., Varga, C. (2015). Cardioprotective effects of voluntary exercise in a Rat model: role of MMP2. *Hindawi Publishing Corporation Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-9.
- Prior, B. M., Yang, H. T., & Terjung, R. L. (2004). What makes vessels grow with exercise training. *J Appl Physiol* 97, 1119–1128.
- Reihmane, D., Jurka, A., Tretjakovs, P., & Dela, F. (2013). Increase in IL-6, TNF-a, and MMP-9, but not sICAM-1, concentrations depends on exercise duration . *Eur J Appl Physiol*, 851–858.
- Roudier, E., Gineste, C. H., & Wazna, A. e. (2010). Angio-adaptation in unloaded skeletal muscle: new insights into an early and muscle type-specific dynamic process. *J Physiol.*, 4579–4591.
- Rullman, E., Rundqvist, H., Wagsater, D., Fischer, H., Eriksson, P., Sundberg, C. J., Gustafsson, T. (2007). A single bout of exercise activates matrix metalloproteinase in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 102, 2346–2351.

Impacto de uma prova de 10 km de corrida em biomarcadores inflamatórios e representativos do sistema cardiovascular: comparação entre atletas recreacionais com e sem treino específico.

Saenz, A. J.-L., Wood, M. J., Neilan, T. G., Siegel, A. J., & Januzzi, J. L. (2006). Measurement of a plasma stroke biomarker panel and cardiac troponin T in marathon runners before and after the 2005 Boston marathon. *Am J Clin Pathol* 126, 185–1.

Sanchis-Gomar, F., Perez, L. M., Lollgen, H., & Lucia, A. (2016). Endurance exercise and the Heart: Friend or Foe? *Sports Med.*, 459-66.

Saúde, D. G. (2013). Norma nº 020 /2011 de 28/09/2011, atualizada a 19/03/2013. *Norma da Direção Geral da Saúde.*

Scharhag, J., Urhausen, A., Kindermann, W., & al, e. (2004). No difference in N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) concentrations between endurance athletes with athlete's heart and healthy untrained controls. *Heart.*

Stahmann, N., Woods, A., Spengler, K., Heslegrave, A., Bauer, R., Krause, S., Heller, R. J. (2010). Activation of AMP-activated protein kinase by vascular endothelial growth factor mediates endothelial angiogenesis independently of nitric-oxide synthase. *J Biol Chem* 285, 10638-10682.

Vestergaard, E. T., Dall, R., Lange, K. H., Kjaer, M., Christiansen, J. S., & Jorgensen, J. O. (2007). The ghrelin response to exercise before and after growth hormone administration. *J Clin Endocrinol Metab*, 297–303.

Wagner, P. D. (2011). The critical role of VEGF in skeletal muscle angiogenesis and blood flow. *Biochem Soc Trans*, 1556–1559.