

---

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA MOTRICIDADE**

---

**RESPOSTAS INFLAMATÓRIA, HEMATOLÓGICA, DE ESTRESSE  
OXIDATIVO, PREJUÍZO MUSCULAR E COMPOSIÇÃO CORPORAL EM  
ULTRAMARATONA DE 217 KM**

**TAISA BELLI**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências da Motricidade (Biodinâmica da Motricidade Humana).

**Rio Claro**

**2012**

**TAISA BELLI**

**RESPOSTAS INFLAMATÓRIA, HEMATOLÓGICA, DE ESTRESSE  
OXIDATIVO, PREJUÍZO MUSCULAR E COMPOSIÇÃO CORPORAL EM  
ULTRAMARATONA DE 217 KM**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências da Motricidade (Biodinâmica da Motricidade Humana).

**ORIENTADOR: PROF DR CLAUDIO ALEXANDRE GOBATTO**

**Rio Claro**

**2012**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS – RIO CLARO



**TAISA BELLI**

**RESPOSTAS INFLAMATÓRIA, HEMATOLÓGICA, DE ESTRESSE  
OXIDATIVO, PREJUÍZO MUSCULAR E COMPOSIÇÃO CORPORAL EM  
ULTRAMARATONA DE 217 KM**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências da Motricidade (Biodinâmica da Motricidade Humana).

Comissão Examinadora

Prof Dr Claudio Alexandre Gobatto  
Prof Dr Vilmar Baldissera  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Denise Vaz de Macedo  
Prof Dr Marco Túlio de Mello  
Prof Dr Marcelo Papoti

Rio Claro, 11 de dezembro de 2012

## **AGRADECIMENTOS**

A minha família de hoje. Ao Marco, meu marido e companheiro de vida, que esteve presente tanto na elaboração desse trabalho como, principalmente, dia-a-dia em minha vida. Obrigado pelo amor, paciência e apoio ao longo dessa fase e pela força fundamental em momentos cruciais.

A minha família de sempre. Pai, mãe, irmãos, cunhados, sobrinhos. Obrigado pelo amor compartilhado ao longo de toda minha vida e particularmente pelo incentivo permanente em minha formação acadêmica.

A família do meu companheiro. Meus sogros, cunhados, sobrinho. Obrigado pelo amor que compartilhamos desde que minha vida cruzou o caminho do Marco e pela paciência e respeito durante essa fase do doutorado.

Ao meu orientador. Agradeço inicialmente pela oportunidade concedida, foi realmente um grande privilégio. Claudio, obrigado pela amizade alicerçada nesse período, pela paciência, pelas palavras certas nos momentos certos e por mediar meu crescimento acadêmico com sabedoria.

A todos meus amigos de vida. Obrigado pela amizade renovada em cada reencontro, por trocarem experiências tão valiosas que me agregam demais enquanto ser humano. Agradeço em particular a Mônica, pela valiosa contribuição na coleta de dados. A Lígia, pelo apoio fundamental no início do doutorado enquanto trabalhávamos na prefeitura e pela força em cada momento turbulento. Ao Cleber, pelo cuidado, pela força e pelo apoio imprescindíveis na minha vida e em momentos decisivos durante o doutorado.

Aos amigos do Laboratório de Fisiologia Aplicada ao Esporte (LAFAE)/UNICAMP. Conviver com pessoas como vocês em um ambiente acadêmico é realmente um privilégio. Agradeço em particular ao Gustavo, ao Ivan, ao Pedro e ao Claudio que muito contribuíram para a coleta de dados desta tese.

A todos os integrantes do Laboratório de Bioquímica do Exercício (LABEX)/UNICAMP. Obrigado Prof<sup>a</sup> Denise por contribuir tão valiosamente com esse projeto de pesquisa, por ter sido nossa parceira desde a coleta até a análise dos dados com tamanha competência e carinho. Obrigado Fernanda e Lázaro, que muito contribuíram para as análises sanguíneas. Obrigado Prof René pela valiosa contribuição na análise dos dados.

Aos professores do Programa de Pós Graduação em Ciências da Motricidade da UNESP/Rio Claro. Obrigado pelo conhecimento compartilhado.

A Seção de Pós Graduação do IB/UNESP/Rio Claro pelo profissionalismo e pela simpatia com que sempre nos atendem.

A todos os amigos de pós-graduação e particularmente ao Autran por ter me apresentado a '*Brazil 135 Ultramarathon*'. Obrigado.

A '*Brazil 135 Ultramarathon*'. Ao diretor da prova, Mario, e a sua companheira e organizadora da prova, Eliana, que mais do que consentirem com o estudo na prova nos apoiaram plenamente desde a divulgação motivadora para o recrutamento dos voluntários até o suporte para que tudo acontecesse adequadamente durante a coleta de dados. A D Natalina (Serra dos Lima) e a D Zezé (Estiva) que nos receberam tão carinhosamente para realizarmos as avaliações dos atletas durante a prova. A todos os voluntários pela disponibilidade, envolvimento e paciência durante as avaliações. A toda a equipe da prova. Obrigado '*Brazil 135 Ultramarathon*'.

Aos enfermeiros que nos acompanharam na coleta de dados - Viviane, Tatiane e Ederson.

Aos colegas de trabalho, das Faculdades Integradas Einstein de Limeira (FIEL), pelo apoio e experiências compartilhadas durante todo esse período.

Aos amigos peregrinos que conheci ao longo do período de doutorado. Obrigado por cada passo dado lado a lado, por cada experiência vivida, pelo esforço recompensado ao presenciarmos juntos lindos espetáculos da natureza como o sol nascente e poente nas montanhas, pássaros em serenata, ipês floridos, uma deliciosa brisa em momentos de muito calor. Agradeço em particular a Virgínia, pela convivência que foi além das peregrinações e proporcionou aprendizados valiosos em minha vida.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram de alguma maneira neste período do doutorado.

E finalmente agradeço a Deus. Aquele que preenche minha vida ou como diria Rubem Alves parafraseando Fernando Pessoa “ *...Por mais rosas e lírios que me dê, sempre faltará alguma coisa...*’ Essa coisa que falta, eu lhe dou o nome de Deus.”

*"Em tudo o que se escreve  
há sempre um desejo  
de se conseguir con/spiradores:  
uns poucos que respirem o mesmo ar"*

(Rubem Alves)

## RESUMO

A presente tese de doutorado teve por objetivo analisar as respostas inflamatória, hematológica, de estresse oxidativo, prejuízo muscular e composição corporal e suas possíveis relações com a *performance* em participantes de ultramaratona de 217 km. Para tanto, 11 atletas (42,6±6,2 anos; 170,4±1,9 cm de estatura; 70,7±3,1 kg de massa corporal; 16±3 anos de treinamento de corrida; 122±18km/semana de volume de treinamento) determinaram a velocidade crítica (CV) uma semana antes da prova e foram submetidos à coletas de sangue, avaliações antropométricas e relataram sua dor antes, durante e após a '*Brazil 135 Ultramarathon*'. Os voluntários completaram a prova em 46,6±3,1h, com uma velocidade média de 4,9±0,3km/h (34,5±1,9% da CV) e com 3,7±0,9h de tempo de pausa. Em relação às respostas inflamatórias e hematológicas, os valores de leucócitos, neutrófilos, monócitos, proteína C reativa, hemoglobina corpuscular média, concentração de hemoglobina corpuscular média e plaquetas aumentaram e de basófilos reduziram pré versus pós-prova (P<0,05). Além disso, os valores pós-prova de leucócitos e neutrófilos foram correlacionados (P<0,05) com velocidade média (R=0,70; 0,76, respectivamente), velocidade relativa à CV (%CV) (R=0,92; 0,96, respectivamente) e tempo de pausa (R=-0,66; -0,69, respectivamente). Já em relação às respostas de prejuízo muscular e estresse oxidativo, as concentrações de creatina quinase, lactato desidrogenase, aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase e albumina bem como a dor muscular reportada pelos atletas aumentaram (P<0,05) enquanto a atividade da catalase, glutathione redutase (GR) e teores de urato permaneceram estáveis (P>0,05) durante a corrida. As concentrações circulantes de enzimas de dano muscular pós-prova foram correlacionados (P<0,05) com velocidade média (R=0,68 a 0,83) e tempo de pausa (R=-0,63 a -0,74) e a dor muscular reportada aos 177 km correlacionou-se (P<0,05) com a velocidade realizada pelos atletas nos últimos 40 km de prova, tanto expressa em valores absolutos como em %CV (R = -0,92 a - 0,95). Além disso, os valores pré-prova de GR foram relacionados (P<0,05) com volume de corrida semanal (R=0,70) e com tempo de pausa durante a corrida (R=-0,68). Por fim, em relação a resposta de composição corporal, os ultracorredores apresentaram um somatotipo mesomorfo-endomórfico e as medidas de massa corporal, índice de massa corporal, massa magra e circunferências peitoral e de braço reduziram durante a prova (P<0,05). Correlações (P<0,05) foram observadas entre a dobra cutânea de coxa (R=0,79), a massa gorda (R=0,65) e a circunferência de cintura (R=0,64) avaliadas antes da prova e o tempo de prova. Os dados apresentados denotam respostas inflamatória, hemostática, antioxidante não-enzimática e de prejuízo muscular elevadas bem como de massa corporal e massa magra reduzidas em participantes de ultramaratona de 217 km. Adicionado a isso, maiores valores pós-prova de células brancas e de enzimas de dano muscular foram relacionados com uma maior *performance* na prova, elevadas concentrações de enzima antioxidante foram relacionados com um maior volume de treino semanal e reduzidos tempos de pausa na corrida enquanto a dor muscular imediata bem como maiores depósitos de gordura corporal foram associados com menores índices de *performance* durante a '*Brazil 135 Ultramarathon*'.

**Palavras-chave:** hemograma, análises bioquímicas, antropometria, *performance*, ultramaratona.

## ABSTRACT

The aim of this study was analyzed inflammation, hematological parameters, oxidative stress, muscle damage and body composition in participants of 217-km ultramarathon. Furthermore, we hypothesized that these responses would be correlated to exercise performance during this race. Thus, 11 athletes ( $42.6 \pm 6.2$  years;  $170.4 \pm 1.9$  cm height;  $70.7 \pm 3.1$  kg body weight;  $16 \pm 3$  years of race training;  $122 \pm 18$  km/week of training volume) individually determined the critical velocity (CV) one week before the competition. Moreover, blood samples, anthropometric measurements and reported muscle soreness were obtained before, during and after 'Brazil 135 Ultramarathon'. The volunteers completed the race in  $46.6 \pm 3.1$  h, velocity average of  $4.9 \pm 0.3$  km/h ( $34.5 \pm 1.9\%$  of CV) and took  $3.7 \pm 0.9$  h of pause time. Regarding inflammation and hematological responses, leukocytes, neutrophils, monocytes, C-reactive protein, mean corpuscular hemoglobin, mean corpuscular hemoglobin concentration and platelets increased whereas basophils decreased pre versus post-race ( $P < 0.05$ ). Moreover, post-race levels of leukocytes and neutrophils were correlated ( $P < 0.05$ ) to absolute running velocity ( $R = 0.70$ ;  $0.76$ , respectively), running velocity relative to CV (%CV) ( $R = 0.92$ ;  $0.96$ , respectively) and pause time ( $R = -0.66$ ;  $-0.69$ , respectively). Concerning muscle damage and oxidative stress responses, creatine kinase, lactate dehydrogenase, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and albumin levels as well as muscle soreness increased ( $P < 0.05$ ) while catalase, glutathione reductase (GR) activities and urate levels did not change ( $P > 0.05$ ) throughout the race. Muscle damage enzymes at 217-km were correlated ( $P < 0.05$ ) to running velocity ( $R = 0.68$  to  $0.83$ ) and pause time ( $R = -0.63$  to  $-0.74$ ) and muscle soreness at 177-km correlated ( $P < 0.05$ ) to velocities performed between 177 and 217-km, expressed such absolute as expressed at % CV ( $R = -0.92$  to  $-0.95$ ). Furthermore, relationships ( $P < 0.05$ ) were observed among GR at baseline and both kilometers running per week ( $R = 0.70$ ) and pause time during the race ( $R = -0.68$ ). Finally, respecting body composition response, ultrarunners showed a mesomorpha-endomorphic somatotype and body mass, body mass index, fat free mass and chest and arm circumferences decreased during the race ( $P < 0.05$ ). Moreover, skinfold thigh ( $R = 0.79$ ), fat mass ( $R = 0.65$ ) and waist circumference ( $R = 0.64$ ) pre-race measures were correlated to race time ( $P < 0.05$ ). The data presented denote elevated responses of inflammation, hemostasis, nonenzymatic antioxidant capacity and muscle damage as well as decreased in body mass and fat free mass in participants of 217-km ultramarathon. Furthermore, higher post-race levels of white cell count and muscle damage enzymes were related to better performance, elevated antioxidant enzyme activity were related to high training volume and lower pause time during the race while immediate muscle soreness as well as higher fat body deposit were associated to lower levels of performance during 'Brazil 135 Ultramarathon'.

**Key words:** blood count, biochemical analysis, anthropometry, performance, ultramarathon.



## LISTA DE ABREVIATURAS

%BF - porcentagem de gordura corporal

10-LS - escala de Likert de 10 pontos

ADP - adenosina difosfato

ALT- alanina aminotransferase

ANOVA - análise de variância

AST – aspartato aminotransferase

BM – massa corporal

BMI - índice de massa corporal

CAT – catalase

CK – creatina quinase

CO<sub>2</sub> – dióxido de carbono

CP- fosfocreatina

Cr - custo energético de locomoção

CRP- proteína C reativa

CV – velocidade crítica

DNA – ácido desoxirribonucleico

DOMS – dor muscular de início tardio

F- fração de VO<sub>2</sub>max

FFM – massa magra

FM – massa gorda

FPS- R - escala de dor de faces- revisada

FRAP- potencial antioxidante reduzido férrico

G<sub>6</sub>PD - glicose-6-fosfato desidrogenase

GET- limiar de trocas gasosas

GPx – glutathiona peroxidase

GR - glutathiona redutase

GSH – glutationa reduzida  
GSSG – glutationa oxidada  
 $\text{H}_2\text{CO}_3$  – ácido carbônico  
 $\text{HCO}_3^-$  - íon bicarbonato  
IGF - fator de crescimento similar a insulina  
IL-1 – interleucina 1  
IL-6 – interleucina 6  
LDH - lactato desidrogenase  
MCH – hemoglobina corpuscular média  
MCHC – concentração hemoglobínica corpuscular média  
MCV – volume corpuscular médio  
MDA – malondialdeído  
NADH- nicotinamida adenina dinucleotídeo  
NADPH – nicotinamina adenina dinucleotídeo fosfato  
 $\text{O}_2$  – oxigênio  
 $\text{PLA}_2$  – fosfolipase  $A_2$   
RDW - amplitude de distribuição dos eritrócitos  
ROS - espécies reativas de oxigênio  
SAA – amilóide sérico A  
SEM - erro padrão da média  
SOD – superóxido desmutase  
TAC - capacidade antioxidante total  
TNB - 5,5'-Tiobis ácido 2-nitrobenzóico  
 $\text{VO}_2\text{max}$  – consumo máximo de oxigênio  
WSER – '*Western States Endurance Run*'

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	13
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	16
2.1 Provas de ultramaratona de 160 a 350 km.....	16
2.2 Resposta inflamatória em provas de ultramaratona .....	18
2.3 Respostas hematológicas em provas de ultramaratona.....	23
2.4 Respostas de estresse oxidativo em provas de ultramaratona .....	27
2.5 Respostas de prejuízo muscular em provas de ultramaratona.....	30
2.6 Respostas de composição corporal em provas de ultramaratona.....	34
2.7 <i>Performance</i> em ultramaratona: Relação com respostas inflamatória, hematológica, de estresse oxidativo, prejuízo muscular e composição corporal .....	37
3. JUSTIFICATIVA .....	40
4. OBJETIVOS .....	41
4.1 Objetivos Gerais .....	41
4.2 Objetivos Específicos .....	41
5. MATERIAL E MÉTODOS .....	43
5.1 Voluntários .....	43
5.2 Descrição da corrida .....	43
5.3 Desenho experimental.....	44
5.4 Velocidade crítica .....	45
5.5 Análises sanguíneas .....	46
5.5.1 Fase pré-analítica .....	46
5.5.2 Fase analítica .....	47
5.6 Avaliação antropométrica .....	48
5.7 Avaliação da dor .....	50
5.8 Análise estatística .....	50
6.RESULTADOS .....	52
6.1 Estudo 1. Inflamação, parâmetros hematológicos e <i>performance</i> em ultramaratona de 217 km.....	53

6.2 Estudo 2. Muscle damage, antioxidant responses and performance during 217-km mountain foot race...	70
6.3 Estudo 3. Constituição física, composição corporal e <i>performance</i> em ultramaratona de 217 km.....	90
7. DISCUSSÃO .....	105
7.1 Respostas inflamatória, hematológica, de estresse oxidativo, prejuízo muscular e composição corporal na ' <i>Brazil 135 Ultramarathon</i> ' .....	105
7.2 <i>Performance</i> na ' <i>Brazil 135 Ultramarathon</i> ': Relação com respostas inflamatória, hematológica, de estresse oxidativo, prejuízo muscular e composição corporal ....	108
8. CONCLUSÕES .....	112
9. REFERÊNCIAS.....	114
10. ANEXOS .....	121
10.1 Anexo 1. Documento de aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética e Pesquisa em Humanos. ....	121
10.2 Anexo 2. Termo de consentimento livre e esclarecido. ....	122

## 1. INTRODUÇÃO

Desde o século XIX eventos desportivos exclusivos, envolvendo corrida, caminhada e ciclismo, desafiam os limites da capacidade humana. Em 1880 teve início o *'Six-Day Professional Pedestrians Races'* em Londres e Nova Iorque, corrida na qual o atleta deveria percorrer a maior distância em seis dias consecutivos. Uma década mais tarde surgiu o *'Six Day Professional Cycling Races'*, precursor imediato do primeiro *'Tour de France Cyclist'* (1903), volta ciclística em torno do perímetro da França com percurso atual de cerca de 3.500 km. Já em 1928 e 1929 merece destaque a prova ciclística *'US Transcontinental Bunion Derbies'* com percurso de 4.960 km entre Los Angeles e Nova York, ou seja, em toda a amplitude dos Estados Unidos da América (EUA) (NOAKES, 2006).

Interessantemente, a maior *performance* de *endurance* humana registrada ocorreu durante expedições à Antártica lideradas por Robert Scott em 1911 e 1912 e Ernest Shackleton em 1914 e 1916. Estes homens caminharam 10 horas por dia por 160 dias consecutivos e tiveram dispêndio energético de cerca de 1.000.000 kcal durante cada expedição (NOAKES, 2006).

Especificamente em termos de corrida, qualquer prova com percurso superior ao de uma maratona é denominada ultramaratona. Nesse contexto, existem desde provas curtas como a clássica *'Comrades Marathon'* com 89 km, que acontece anualmente desde 1921 na África do Sul (COMRADES MARATHON, 2012), até provas longas como a ultramaratona de Nanango na Austrália com 1.600 km (1.000 milhas) a serem percorridos em 16 dias (FALLON et al., 1999).

No mundo, dois grandes circuitos de ultramaratona merecem destaque. Neste sentido, o circuito *'4 Deserts'* engloba quatro corridas de 250 km a serem percorridas em 7 dias cada uma, em quatro dos mais famosos desertos do mundo:

a *'Atacama Crossing'* no Chile, a *'Gobi March'* na China, a *'Sahara Race'* no Egito e *'The Last Desert'* na Antártica (4 DESERTS, 2012). Já a copa do mundo *'BAD135 World Cup'* é composta por três provas de 135 milhas (217 km) a serem percorridas em 48 horas em ambientes extremos: a Corrida do Deserto ou *'Badwater Ultramarathon'* na Califórnia/EUA, a Corrida do Gelo ou *'Arrow Head Ultramarathon'* em Minesota/EUA e a Corrida das Montanhas ou *'Brazil 135 Ultramarathon'* em Minas Gerais/Brasil (BADWATER ULTRAMARATHON, 2012).

A *'Brazil 135 Ultramarathon'* marcou decisivamente um início de provas de ultramaratona no Brasil. Criada pelo ultramaratonista Mario Lacerda em 2006, a prova apresenta edições anuais e atualmente conta com a participação de 50 atletas pré-selecionados de 13 países. Além de ser uma etapa da Copa do Mundo de corridas de 135 milhas, esta corrida é classificatória para ultramaratonas de renome no mundo (BRAZIL 135 ULTRAMARATHON, 2012).

Além disso, a partir desta prova pioneira foram sendo instituídas várias ultramaratonas no país, tanto que no momento começa a despontar um movimento de implementação do primeiro circuito de ultramaratona nacional. A *'Copa Brasil Ultramaratona'* reunirá provas de tempo, distância e *multi day* como a *'Campinas Run - Ultramaratona de 12 e 24h'* em Campinas/SP, a *'Ultramaratona dos Anjos'* com 235 km em Passa Quatro/MG e a *'PR-100: Ultramaratona Internacional Caminhos Históricos da Serra'* com 161 km realizados em 3 dias em Quatro Barras/PR (COPA BRASIL ULTRA, 2012).

Esse cenário crescente de corridas de ultramaratona vem despertando o interesse da comunidade acadêmica no mundo, tanto que podemos observar na última década um crescimento da produção científica envolvendo esta modalidade esportiva. Metade dos 173 estudos científicos encontrados por meio de uma busca

na literatura com o termo '*ultramarathon*' foram publicados de 2002 a 2012 (PUBMED, 2012). Contudo, tendo características diferentes daquelas extensivamente estudadas em corrida de maratona, como sendo uma prova bem mais prolongada realizada numa baixa intensidade de esforço por vezes em terrenos muito irregulares, na qual minimizar o desgaste ósseo-articular e muscular, um equilíbrio psicológico-motivacional e estratégias táticas são decisivos (MILLET et al., 2012), o universo para ser pesquisado em ultramaratona é bem amplo e possivelmente envolverá mais décadas de estudos científicos.

Neste sentido, uma linha de estudos tem observado uma grande perturbação nas respostas inflamatória, hematológica, de estresse oxidativo, prejuízo muscular e composição corporal em provas com distância similar a '*Brazil 135 Ultramarathon*' (i.e., 160-350 km) (NIEMAN et al., 2003; WU et al., 2004; NIEMAN et al., 2005; MARGELI et al., 2005; NIEMAN et al., 2006; SKENDERI et al., 2006; NIEMAN et al., 2007; PAPASSOTIRIOU et al., 2008; YUSOF et al., 2007; DUMKE et al., 2007; SKENDERI et al., 2008; ZOUHAL et al., 2009, KNECHTLE et al., 2009, KNECHTLE et al., 2010; WAŚKIEWICZ et al., 2012; ROBACH et al., 2012).

E, interessante, tem sido proposto que estas respostas podem estar dentre os fatores fisiológicos determinantes da *performance* em ultramaratona (MILLET et al., 2012) ao lado de fatores físicos, ambientais, psicológicos, motivacionais e táticos (HOFFMAN, 2010; WEGELIN, HOFFMAN, 2011; MILLET et al., 2012).

Assim, a presente tese de doutorado versará sobre as respostas inflamatória, hematológica, de estresse oxidativo, prejuízo muscular e composição corporal e suas possíveis relações com a *performance* em participantes da '*Brazil 135 Ultramarathon*'.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Provas de ultramaratona de 160 a 350 km

Dentro de um cenário crescente de investigações científicas envolvendo corridas de ultramaratona na última década, uma linha de pesquisa tem estudado as respostas inflamatória, hematológica, de estresse oxidativo, prejuízo muscular e composição corporal em provas com distância similar a '*Brazil 135 Ultramarathon*'. Neste sentido, podemos destacar estudos envolvendo corridas como a '*Western States Endurance Run*' (NIEMAN et al., 2003; NIEMAN et al., 2005; NIEMAN et al., 2006; NIEMAN et al., 2007; DUMKE et al., 2007; HOFFMAN, 2008; HOFFMAN, 2010; HOFFMAN et al., 2010; HOFFMAN et al., 2012); '*North-Face Ultra-Trail du Mont-Blanc*' (ROBACH et al., 2012); '*Jeju Ultramarathon*' (KIM et al., 2007); '*Badwater Ultramarathon*' (YUSOF et al., 2007; ROTH et al., 2007); '*Marathon Des Sables*' (RYDER et al., 2004; ZOUHAL et al., 2009); '*Spartathlon Ultramarathon*' (MARGELI et al., 2005; SKENDERI et al., 2006; SCHULPIS et al., 2007; PAPASSOTIRIOU et al., 2008; SKENDERI et al., 2008), '*Isar Run*' (KNECHTLE et al., 2009), '*Swiss Jura Marathon*' (KNECHTLE et al., 2010) bem como ultramaratonas de 24 horas (WU et al., 2004; KAO et al., 2008; WAŚKIEWICZ et al., 2012).

Além da distância oscilar de 160 a 350 km, cada uma dessas provas tem características particulares. A '*Western States Endurance Run*' (WSER) tem percurso de Squaw Valley a Auburn no norte da Califórnia/EUA, totalizando 160 km (100 milhas), com tempo limite de 30 horas, ganho acumulado de altitude de 5.500 m e perda de 6.700 m, com variações de temperatura de 9 a 30°C e umidade relativa do ar de 34 a 76% (WESTERN STATES ENDURANCE RUN, 2012).



A '*North-Face Ultra-Trail du Mont-Blanc*' consiste num *tour* completo pelo *Massif du Mont Blanc* passando por três países – França, Itália e Suíça. A largada acontece na pequena cidade de Chamonix na França e o atleta deve percorrer um total de 168 km em um tempo limite de 46 horas com 9.600m de elevação positiva e negativa acumulados (NORTH-FACE ULTRA-TRAIL DU MONT-BLANC, 2012).

Já a '*Jeju Ultramarathon*' tem percurso de 200 km na Ilha de Jeju/ Coréia do Sul, tempo limite de 36 horas, temperatura oscilando de -1 a 5 °C e umidade relativa do ar de 59 a 78% (KIM et al., 2007).

A '*Badwater Ultramarathon*' tem percurso de Badwater em Death Valley a Mt. Whitney na Califórnia/EUA, totalizando 217 km (135 milhas), com tempo limite de 48 horas, variações de altitude de 85,5 m abaixo do nível do mar até 2.533 m acima do nível do mar e temperatura média de 55°C (BADWATER ULTRAMARATHON, 2012).

O percurso da '*Marathon Des Sables*' atravessa o Deserto do Sahara no Marrocos/África, totalizando 243 km (151 milhas), realizados por etapas durante 6 dias em temperatura alcançando os 49 °C (MARATHON DES SABLES, 2012).

Na '*Spartathlon Ultramarathon*' o atleta percorre 246 km de Atenas a Esparta na Grécia, com tempo limite de 36 horas, variações de altitude do nível do mar até 1.200 m, temperatura oscilando entre 5 a 36°C e umidade relativa do ar de 60 a 85% (SPARTATHLON ULTRAMARATHON, 2012).

A '*Isar Run*' tem percurso do delta do rio Isar na Alemanha até a sua fonte na Áustria, totalizando 338 km, percorridos por etapas durante 5 dias. O ganho acumulado de altitude é de 2.265 m e a perda é de 1.615 m, com variações de temperatura de 19 a 22°C (KNECHTLE et al., 2009).

A '*Swiss Jura Marathon*' tem seu percurso de Genebra a Basiléia na Suíça, totalizando 350 km, percorridos em estágios durante 7 dias. O ganho acumulado de altitude é de 11.160 m e a perda é de 11.260 m, com variações de temperatura de 8 a 27°C (KNECHTLE et al., 2010).

Já as provas de ultramaratona de 24 horas acontecem em pistas de atletismo de 400m ou em um circuito oval com maior distância, com mudança de direção em períodos predeterminados e o objetivo dos participantes é completar a maior distância possível, oscilando em média entre 160 e 200 km (WU et al., 2004; KAO et al., 2008; WAŚKIEWICZ et al., 2012).

## **2.2 Resposta inflamatória em provas de ultramaratona**

A resposta inflamatória local desencadeada pelo dano tecidual decorrente do exercício físico é uma condição complexa em que as células inflamatórias promovem tanto lesão como regeneração do tecido através de uma ação combinada com as espécies reativas de oxigênio (ROS), antioxidantes, fatores de crescimento, hormônios e citocinas, mantendo um balanço entre as atividades pró e antioxidantes e pró e anti-inflamatórias (SILVA, MACEDO, 2011).

Neste sentido, o dano no sarcolema inicialmente favorece a liberação de eicosanóides, os quais regulam a vasodilatação, a atividade quimiotática e o aumento da permeabilidade endotelial e permitem o influxo de células brancas para o sítio lesado. Assim, os neutrófilos constituem a primeira subpopulação de leucócitos a infiltrar no sítio inflamatório, com um concomitante aumento no transporte destes da medula óssea para a corrente sanguínea. Sua principal função é a remoção, por fagocitose, de elementos indesejados relacionados à lesão tecidual. No entanto, os neutrófilos também formam ROS pela ação da enzima

nicotinamina adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) oxidase. Dessa forma, sua resposta deve ser aguda e bem regulada a fim de preservar a integridade dos tecidos ao redor da inflamação e evitar a exacerbação da lesão por aumento das ROS (SILVA, MACEDO, 2011).

Os monócitos formam a segunda subpopulação de leucócitos a aparecer no tecido lesado, e quando eles deixam a circulação e infiltram no tecido eles são chamados de macrófagos. Estes tem um papel importante no crescimento e reparo do tecido lesado, provavelmente por secretarem moléculas pró-regenerativas, como o fator de crescimento similar a insulina (IGF) e citocinas reguladoras do crescimento celular. Além disso, os macrófagos também secretam quimiocinas, prostaglandinas e ROS (SILVA, MACEDO, 2011).

Os linfócitos também são importantes no processo de regeneração do tecido e aumentam durante e imediatamente após o exercício físico. No entanto, na sequência sua concentração diminui e pode se manter reduzida por várias horas, induzindo a perda de sua capacidade funcional e podendo acarretar no desenvolvimento de uma imunossupressão transiente (PEDERSEN, HOFFMAN-GOETZ, 2000; COSTA ROSA, VAISBERG, 2002; SILVA, MACEDO, 2011).

Eosinófilos e basófilos constituem uma pequena porcentagem dos leucócitos totais presentes no sangue e o papel destes não tem sido evidenciado durante a resposta inflamatória local em decorrência do exercício físico (PEDERSEN, HOFFMAN-GOETZ, 2000; COSTA ROSA, VAISBERG, 2002; SILVA, MACEDO, 2011). Pela literatura clássica sabe-se que os eosinófilos ficam aumentados em pessoas com infecção por parasitas e em pacientes com alergia, já os basófilos são responsáveis principalmente pela liberação de grandes quantidades de histamina durante alguns tipos de reações alérgicas (GUYTON; HALL, 2006).

A resposta inflamatória local é acompanhada por uma resposta inflamatória sistêmica, conhecida como resposta de fase aguda, cujo objetivo é ajustar a homeostasia para a reparação tecidual. Esta resposta inclui a produção de proteínas hepáticas como a proteína C reativa (CRP), amilóide sérico A (SAA),  $\alpha$ 2-macroglobulina, transferrina, entre outras, cada uma tendo função específica no contexto inflamatório (PEDERSEN, HOFFMAN-GOETZ, 2000; SILVA, MACEDO, 2011).

Neste sentido, a CRP é considerada uma proteína de fase aguda clássica sendo que sua síntese e consequente secreção é fundamentalmente estimulada pelas citocinas interleucina 6 (IL-6) e interleucina 1 (IL-1) e pelos corticosteróides. A CRP é sintetizada muito rapidamente e teores muito altos aparecem na corrente sanguínea quando a resposta inflamatória alcança seu pico. Classicamente, uma das atividades mais importantes da CRP é a ativação do sistema complemento. Além disso, ela pode interagir com células do sistema imune e também é capaz de regular a inflamação durante a resposta de fase aguda (MORTENSEN, 2001; DU CLOS, MOUD, 2004).

Investigações científicas envolvendo ultramaratonas de 160 a 246 km têm observado aumento significativo nos valores plasmáticos de células brancas (NIEMAN et al., 2003; NIEMAN et al., 2005; NIEMAN et al., 2006; SKENDERI et al., 2006; YUSOF et al., 2007; WAŚKIEWICZ et al., 2012; ROBACH et al., 2012); de citocinas (NIEMAN et al., 2003; NIEMAN et al., 2005; NIEMAN et al., 2006; NIEMAN et al., 2007; KIM et al., 2007; MARGELI et al., 2005; PAPASSOTIRIOU et al., 2008; WAŚKIEWICZ et al., 2012) e de proteínas de fase aguda (NIEMAN et al., 2006; KIM et al., 2007; MARGELI et al., 2005; PAPASSOTIRIOU et al., 2008; WAŚKIEWICZ et

al., 2012; ROBACH et al., 2012) denotando resposta inflamatória pronunciada em função destas provas.

Neste sentido, aumento significativo de leucócitos foi observado por Skenderi et al. (2006) em 39 voluntários (41 anos de idade em média e tempo de conclusão de prova de 33,3h) após a '*Spartathlon Ultramarathon*', por Yusof et al. (2007) em 6 corredores (53,8 anos de idade média e tempo médio de conclusão de prova de 48,3h) ao final da '*Badwater Ultramarathon*' e por Robach et al. (2012) em 22 voluntários (40 anos de idade em média e tempo médio de conclusão de prova de 37,6h) após a '*North-Face Ultra-Trail du Mont-Blanc*'.

Ainda, estudos envolvendo edições sucessivas da *WSER* (NIEMAN et al., 2003; NIEMAN et al., 2005; NIEMAN et al., 2006) observaram em homens e mulheres (n= 25 a 60; idade média de 45,3 a 46,8 anos de idade e tempo médio de prova de 25,8 a 27,0h) que além do aumento significativo das células brancas totais, as subpopulações de neutrófilos e monócitos estavam elevadas enquanto a de eosinófilos estava reduzida ao final da prova. Resposta semelhante foi encontrada por Waśkiewicz et al. (2012) em 14 voluntários (43 anos em média e 168km de distância média percorrida) durante e após ultramaratona de 24h.

Já em pesquisa de Wu et al. (2004) foi observado em 11 atletas (45 anos em média e 158km percorridos em média) que os teores de leucócitos permaneceram acima dos valores pré-prova por até 9 dias após a corrida, enquanto os valores elevados de neutrófilos e reduzidos de linfócitos, eosinófilos e basófilos pós-prova retornaram aos valores pré-prova em 2 dias após ultramaratona de 24h.

Em termos de citocinas e proteínas de fase aguda, pesquisas envolvendo a *WSER* (NIEMAN et al., 2003; NIEMAN et al., 2005; NIEMAN et al., 2006; NIEMAN et al., 2007) observaram em homens e mulheres (n= 21 a 60

voluntários; idade média de 45,3 a 46,8 anos de idade e tempo médio de prova de 25,8 a 27,5h) um aumento significativo nas concentrações circulantes das interleucinas 10, 1ra, 6 e 8 após a prova.

Ainda, os teores de fator de estimulação colônico do granulócito, proteína 1 quimiotática do monócito, proteína 1  $\beta$  inflamatória do macrófago (NIEMAN et al., 2005, NIEMAN et al., 2006; NIEMAN et al., 2007) e de CRP (NIEMAN et al., 2006) também encontraram-se aumentados ao final da corrida. Aumentos significativos na CRP também foram observados por Robach et al. (2012) ao final da '*North-Face Ultra-Trail du Mont-Blanc*'.

Estudos conduzidos por Kim et al. (2007) (n=54, 45,7 anos, tempo de prova: 24 a 35h) na '*Jeju Ultramarathon*' e por Waśkiewicz et al. (2012) durante ultramaratona de 24h observaram ainda que tanto a IL-6 como a CRP já aumentaram significativamente no meio dessas provas, no entanto, aumentos adicionais foram encontrados apenas na CRP ao término destas corridas.

E em investigações realizadas nas edições de 2002 e 2006 da '*Spartathlon Ultramarathon*', Margeli et al. (2005) e Papassotiriou et al. (2008) observaram em 15 voluntários saudáveis (média de 40 a 43 anos de idade e tempo de prova médio de 32 horas) aumento significante nas concentrações de CRP (90 a 152 vezes) e SAA (108 a 150 vezes) imediatamente e 48 h após a prova.

Além disso, foi observado que os valores de IL-6 foram significativamente maiores imediatamente após (8.000 a 10.000 vezes), mas voltaram a concentrações normais 48 horas após a prova. A resposta diferente 48h após a prova da IL-6 comparada a SAA e CRP pode ser explicada provavelmente em função de meia vida menor da IL-6 (10 a 20 minutos) comparada a SAA e CRP (10 e 20 horas, respectivamente).

### 2.3 Respostas hematológicas em provas de ultramaratona

O exercício físico exaustivo pode promover hemólise, condição conhecida como *footstrike hemolysis*, na qual a taxa de destruição das células vermelhas sanguíneas é aumentada em função do estresse mecânico especialmente associado à marcha e à corrida (SHASKEY; GREEN, 2000).

Pode induzir também alterações na hemostasia, mecanismo complexo para prevenção de perda significativa de sangue após algum dano vascular, aumentando tanto as respostas coagulantes como as fibrinolíticas e elevando as concentrações de plaquetas circulantes possivelmente em decorrência de um aumento nos valores de catecolaminas circulantes bem como de prejuízo endotelial causado pelo *shear stress* (SMITH et al., 2003; EL SAYED et al., 2004; RIBEIRO, OLIVEIRA, 2005).

O exercício físico extenuante pode causar ainda alterações no volume plasmático, ocasionando inicialmente a diminuição nesses valores como consequência da perda de fluídos e na sequência promovendo uma expansão do mesmo, provavelmente como resultado de mecanismos envolvendo a renina, aldosterona, vasopressina bem como um aumento da síntese de albumina pelo fígado (SHASKEY; GREEN, 2000).

A principal função das células vermelhas, também denominadas hemácias ou eritrócitos, é transportar a hemoglobina, proteína responsável pelo transporte do oxigênio ( $O_2$ ) no sangue. Além disso, elas contêm grandes quantidades de anidrase carbônica, enzima que catalisa a reação reversível entre dióxido de carbono ( $CO_2$ ) e água para formar ácido carbônico ( $H_2CO_3$ ), facilitando o transporte sanguíneo de grandes quantidades de  $CO_2$  em forma de íon bicarbonato ( $HCO_3^-$ ) (GUYTON; HALL, 2006).

A percentagem do volume de sangue composta por eritrócitos é definida como hematócrito, o tamanho médio dos eritrócitos é denominado volume corpuscular médio (MCV) e a variabilidade dos tamanhos individuais dos eritrócitos pode ser verificada pela amplitude de distribuição dos eritrócitos (RDW). Já a hemoglobina corpuscular média (MCH) é um índice que representa o conteúdo (peso) hemoglobínico dos eritrócitos e a concentração hemoglobínica corpuscular média (MCHC) constitui a concentração de hemoglobina dentro das hemácias (BAIN, 1998).

As células vermelhas em conjunto com as células brancas e plaquetas constituem a porção celular sanguínea representando em torno de 45% do volume total de sangue. Os eritrócitos representam a maior parte desse percentual celular sendo que leucócitos e plaquetas, apesar de extremamente importantes, compõem menos de 0,1% do volume total de sangue (MANZONE et al., 2007).

As plaquetas, também chamadas de trombócitos, desempenham papéis importantes na hemostasia. Segundos após a ruptura do revestimento endotelial vascular algumas plaquetas aderem nessa região e secretam o conteúdo de seus grânulos no sangue ao redor, atraindo a agregação de outras plaquetas para aquelas aderentes e aumentando a formação de trombina. Além destes eventos pró-coagulantes que formam um tampão hemostático, as plaquetas também participam da posterior retração do coágulo no processo de reparo do dano vascular (GUYTON; HALL, 2006).

Já o plasma compõe a porção aquosa sanguínea representando cerca de 55% do volume total de sangue. Ele é constituído por aproximadamente 91% de água, 7% de proteínas sanguíneas (i.e, albumina, fibrinogênio, globulina) e 2% de nutrientes (i.e, açúcares, aminoácidos e lipídeos), hormônios (i.e., insulina,



eritropoetina, etc.) e eletrólitos (i.e., sódio, potássio, cálcio, fosfato, etc.) (MANZONE et al., 2007).

A estimativa de mudanças no volume plasmático decorrente do exercício físico bem como possíveis correções nos valores de solutos séricos determinados a partir deste plasma diminuído ou aumentado podem ser realizadas a partir dos valores de hematócrito, hemoglobina (DILL; COSTILL, 1974) e de proteínas séricas totais (OHIRA et al., 1977).

Estudos em provas de ultramaratonas de 160 a 246 km têm observado hemólise (YUSOF et al., 2007; ROTH et al., 2007; ROBACH et al., 2012) bem como manutenção ou mudanças nos valores de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, MCV, RDW, MCH, MCHC, plaquetas (WU et al., 2004; SKENDERI et al., 2006; YUSOF et al., 2007; ROTH et al., 2007; ROBACH et al., 2012; WAŚKIEWICZ et al., 2012) e de volume plasmático (NIEMAN et al., 2003; NIEMAN et al., 2005; NIEMAN et al., 2006, NIEMAN et al., 2007; DUMKE et al., 2007; KIM et al., 2007; YUSOF et al., 2007; ROBACH et al., 2012) em função destas provas.

Dessa forma, investigações conduzidas na '*Badwater Ultramarathon*' por Roth et al. (2007) (n=6; 52 anos em média e tempo médio de prova de 44,5h) e por Yusof et al. (2007) e na '*North-Face Ultra-Trail du Mont-Blanc*' por Robach et al. (2012) observaram hemólise durante estas provas.

Entretanto, redução nos eritrócitos pós-prova foi observado apenas por Skenderi et al.(2006) na '*Spartathlon Ultramarathon*' enquanto manutenção nas células vermelhas sanguíneas é evidenciada tanto pelas investigações supracitadas (YUSOF et al., 2007; ROTH et al., 2007; ROBACH et al., 2012) como por Wu et al. (2004) e por Waśkiewicz et al. (2012) em provas de 24h.

A síntese de novos eritrócitos (i.e, eritropoiese) (YUSOF et al., 2007) ou mesmo novos eritrócitos circulantes provenientes do esvaziamento esplênico (ROBACH et al., 2012) estão entre os prováveis mecanismos envolvidos para compensar as células vermelhas destruídas e, assim, possibilitar a manutenção nas concentrações de hemácias circulantes observadas pré versus pós provas.

A maioria dos estudos encontrou ainda que os valores de hemoglobina, hematócrito, MCV e RDW foram mantidos (WU et al., 2004; YUSOF et al. 2007; ROTH et al. 2007; WAŚKIEWICZ et al., 2012), porém, Robach et al. (2012) observaram redução e Skenderi et al. (2006) aumento desses valores em função dessas corridas.

Já os valores de MCH (WU et al., 2004; YUSOF et al., 2007) e MCHC (WU et al., 2004; SKENDERI et al. 2006) não foram alterados em alguns estudos ou tanto MCH (SKENDERI et al., 2006; ROBACH et al., 2012) como MCHC (YUSOF et al., 2007; ROBACH et al., 2012) mostraram-se elevados ao final dessas provas.

Quanto às concentrações de plaquetas circulantes, foi observado aumento (WU et al., 2004), manutenção (WAŚKIEWICZ et al., 2012) ou mesmo redução (SKENDERI et al., 2006; ROBACH et al., 2006) nesses valores em função das provas estudadas.

E em relação ao volume plasmático, a maioria dos estudos observou manutenção (NIEMAN et al., 2003; NIEMAN et al., 2005; NIEMAN et al., 2006, NIEMAN et al., 2007; DUMKE et al., 2007), entretanto, Kim et al. (2007) encontraram redução enquanto Yusof et al. (2007) e Robach et al. (2012) observaram elevação nesses valores ao final das ultramaratonas avaliadas.

## 2.4 Respostas de estresse oxidativo em provas de ultramaratona

O exercício físico prolongado é associado com aumento da taxa de utilização de oxigênio e consequente formação de ROS, como ânion superóxido e peróxido de hidrogênio. As principais fontes de ROS durante o exercício são o transporte de elétrons na cadeia respiratória mitocondrial e as enzimas xantina oxidase, NADPH oxidase e fosfolipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>). A formação de ROS pode induzir tanto fadiga muscular como oxidação lipídica, protéica e de ácido desoxirribonucleico (DNA), estas últimas podendo desencadear alterações na membrana celular, desnaturação protéica e inativar transportadores de membrana, afetando a viabilidade celular (FINAUD et al., 2006; POWERS, JACKSON, 2008).

Da mesma forma que o metabolismo aeróbio gera ROS, a capacidade antioxidante é também ativada durante o exercício para proteger contra o prejuízo oxidativo. O mecanismo de defesa antioxidante é um sistema complexo composto tanto por diferentes enzimas como pelos antioxidantes não enzimáticos e é baseado na interceptação de ROS para formação de compostos menos reativos, na minimização da disponibilidade de pró-antioxidantes, na participação na “limpeza” de ROS ou na inibição da oxidação lipídica, protéica e de DNA (FINAUD et al., 2006; POWERS, JACKSON, 2008).

As principais enzimas antioxidantes incluem a superóxido desmutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutathiona peroxidase (GPx). A SOD é considerada a primeira linha de defesa contra o estresse oxidativo e representa um grupo de enzimas que catalisa a desmutação do ânion superóxido e consequente formação de peróxido de hidrogênio. Já a CAT e a GPx agem no peróxido de hidrogênio, sendo que a CAT é mais eficiente em baixas concentrações de substrato ao passo que a GPx age em altas concentrações de substrato (FINAUD et al., 2006).

A CAT converte o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. Já a GPx transforma o peróxido de hidrogênio na presença de glutathiona reduzida (GSH) em água e glutathiona oxidada (GSSG). Uma vez que a GSH é oxidada pela GPx e forma GSSG, as células possuem uma via capaz de regenerar a GSH. Para tanto, a redução da GSSG a GSH é catalisada pela enzima glutathiona redutase (GR) tendo como co-fator o NADPH. E para que este ciclo redox se mantenha, o NADPH é regenerado a partir da redução do NADP sob ação da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G<sub>6</sub>PD) (POWERS, JACKSON, 2008).

Existem ainda numerosos antioxidantes não enzimáticos presentes nas células, como as vitaminas C, A e E, a cisteína e a coenzima Q<sub>10</sub>, bem como encontrados no plasma, como a glutathiona, ferritina, bilirrubina, ácido úrico e albumina (FINAUD et al., 2006).

O ácido úrico é o produto final do metabolismo das purinas em humanos e, em pH fisiológico, é quase todo convertido em urato. É um dos mais importantes antioxidantes plasmáticos de baixo peso molecular com efeitos diretos em algumas ROS como o oxigênio singlete, o radical peroxil e o ozônio. É capaz de proteger contra o prejuízo oxidativo por agir como um doador de elétrons e ainda tem a capacidade de quelar íons metálicos como o ferro e o cobre prevenindo suas interações com o peróxido de hidrogênio, as quais levariam a formação do radical hidroxil via reação Fenton (POWERS, JACKSON, 2008).

Já a albumina é uma proteína sérica com diversas funções fisiológicas, dentre as quais é considerada um dos principais e mais predominantes antioxidantes plasmáticos participando da “limpeza” de ROS, como o radical hidroxil e o ácido hipocloroso. Uma vez que representa uma proteína ligante não específica, pode se ligar ao cobre e ao ferro e diminuir suas suscetibilidades de participar da reação

Fenton. Além disso, a albumina transportando a bilirrubina age como um inibidor de peroxidação lipídica e ligada à homocisteína previne oxidação lipoproteica (ROCHE et al., 2008).

Estudos envolvendo provas de 158 a 246 km têm observado alteração tanto nos índices de oxidação lipídica como em integrantes do mecanismo de defesa antioxidante (NIEMAN et al., 2003; WU et al., 2004; SCHULPIS et al., 2007; DUMKE et al., 2007; SKENDERI et al., 2008).

Neste sentido, Nieman et al. (2003) observaram em 31 corredores (idade média de 46 anos e tempo médio de prova de 27h) aumento tanto de lipídio hidroperóxido e  $F_2$ -isoprostano séricos, marcadores de peroxidação lipídica, como também dos valores plasmáticos de potencial antioxidante reduzido férrico (FRAP) após a *WSER*.

O estresse oxidativo também foi alvo de estudo em voluntários (n=15 a 18; 36,5 a 42,8 anos de idade em média e tempo médio de prova de 32 a 33,3h) durante edições da '*Spartathlon Ultramarathon*' (SCHULPIS et al., 2007; SKENDERI et al., 2008). Em relação a marcadores de peroxidação lipídica, foi observado que apesar dos valores plasmáticos de malondialdeído (MDA) permanecerem inalterados (SCHULPIS et al., 2007; SKENDERI et al., 2008), o nível sérico de 8-isoprostagladina  $F_{2\alpha}$  foi significativamente elevado após a prova (SKENDERI et al., 2008).

Já em relação à capacidade antioxidante, foi observado um prejuízo no sistema glutaciona nos eritrócitos com aumento significativo na relação GSSG/GSH (SCHULPIS et al., 2007; SKENDERI et al., 2008) e atividade significativamente reduzida da  $G_6PD$  (SCHULPIS et al., 2007).

Por outro lado, estas investigações verificaram aumentos significativos nos antioxidantes plasmáticos de baixo peso molecular ao final da prova, representados pela capacidade antioxidante total (TAC), ácido úrico e bilirrubina (SCHULPIS et al., 2007; SKENDERI et al., 2008).

Valores elevados de ácido úrico e bilirrubina também foram observados por Dumke et al. (2007) em 25 voluntários (46,8 anos de idade em média e 25,6h de tempo médio de prova) ao final da *WSER*. Ainda neste sentido, Wu et al. (2004) também verificaram concentrações significativamente elevadas de bilirrubina após prova de 24h. No entanto, os teores séricos de albumina permaneceram estáveis (WU et al., 2004) ou mesmo reduziram (DUMKE et al., 2007) após tais provas.

## **2.5 Respostas de prejuízo muscular em provas de ultramaratona**

O exercício físico extenuante pode resultar em prejuízo muscular, o qual é caracterizado por microtraumas em nível de sarcômero e sarcolema desencadeado possivelmente por estresse mecânico, resposta inflamatória e estresse oxidativo (CLARKSON, SAYERS, 1999; BANFI et al., 2012).

Estes microtraumas representam danos na integridade da membrana e no acoplamento excitação-contração do músculo esquelético e podem ser evidenciados por um aumento sérico de proteínas musculares, como a creatina quinase (CK), a lactato desidrogenase (LDH), as aminotransferases e a mioglobina bem como pela dor muscular tardia e perda de força (BANFI et al., 2012).

A CK é uma enzima que catalisa a troca reversível de ligações fosfato de alta energia entre a fosfocreatina (CP) e a adenosina difosfato (ADP) e existem pelo menos cinco isoformas de CK, as quais oferecem informações específicas do tecido lesado graças a sua distribuição tecidual. Assim, a CK-MM é um marcador de

dano muscular, a CK-MB de infarto agudo do miocárdio, a CK-BB de danos cerebrais e duas isoformas de CK mitocondrial apresentam-se como marcadores de miopatias mitocondriais (BRANCACCIO et al., 2007).

Os valores séricos de CK total tanto em repouso como após o esforço físico provêm principalmente da CK-MM. Uma vez que esta isoenzima está especificamente ligada à linha-M miofibrilar localizada no sarcômero, altas concentrações séricas de CK refletem tanto dano no sarcômero como no sarcolema do músculo esquelético (BRANCACCIO et al., 2007).

Já a LDH está presente em todas as células do corpo sob forma de cinco isoenzimas (LDH1, LDH2, LDH3, LDH4, LDH5) e catalisa a reação reversível entre piruvato e lactato, tendo a nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH) como co-fator. Por um lado, a LDH1 favorece a oxidação aeróbia do piruvato, catalisando a reação lactato a piruvato, sendo mais prevalente na musculatura de atletas de *endurance*. Por outro, a LDH5 privilegia a via anaeróbia, catalisando a conversão de piruvato a lactato e é mais encontrada em músculos de atletas de força. Nesse contexto, LDH2, LDH3 e LDH4 são intermediárias (BRANCACCIO et al., 2008).

Os teores séricos de LDH total em repouso provêm principalmente de LDH1 e aumentam significativamente após exercício físico. Ainda, valores alterados de LDH e de suas isoformas no plasma, no sêmen e no líquido ascítico podem auxiliar no diagnóstico de diversas patologias como miopatias, neoplasmas malignos, doença pulmonar, anomalia acrossômica e ascite maligna (BRANCACCIO et al., 2008).

As aminotransferases são enzimas comumente analisadas no soro para verificar e monitorar dano hepático e possível infecção viral hepática, mas

também são liberadas dos músculos ativos e suas concentrações plasmáticas podem estar aumentadas após exercício físico (BANFI et al., 2012).

A alanina aminotransferase (ALT) é encontrada principalmente no fígado, mas também em pequenas quantidades nos rins, coração, pâncreas e músculo esquelético. Já a aspartato aminotransferase (AST) está presente no fígado, mas também em quantidades consideráveis em outros tecidos, incluindo o músculo esquelético (BANFI et al., 2012).

A ALT atua na reação em que a L-alanina e o  $\alpha$ -cetogluturato são transformados em piruvato e L-glutamato. Já a AST catalisa a reação em que o L-aspartato e o  $\alpha$ -cetogluturato se convertem em oxaloacetato e L-glutamato (HUANG et al., 2006).

Vale destacar ainda que em exercícios extremos de *ultraendurance* o prejuízo muscular tende a ser excessivo. Nesse contexto, uma vez que as concentrações séricas de mioglobina estão muito elevadas, esta não é capaz de ser completamente reabsorvida pelos túbulos renais podendo precipitar nestes túbulos e resultar em insuficiência renal aguda. Neste sentido, a concentração sérica de creatinina é amplamente utilizada como medida de função renal (BANFI et al., 2012).

No que diz respeito à dor muscular, esta é caracterizada por uma condição de dor, rigidez e sensibilidade muscular à palpação ou ao movimento. E a dor muscular imediata difere da dor tardia apenas quanto à cronologia de aparecimento, com a primeira percebida pelo atleta durante ou imediatamente após a realização do exercício físico e a última cerca de 24h após o atleta ter concluído o exercício, apresentando um pico em 72h e uma melhora lenta dos sintomas entre 5 a 7 dias (LEWIS et al., 2012).



Embora a dor muscular esteja associada ao prejuízo muscular, não há um mecanismo único em seu desenvolvimento, mas um consenso de que ela seja desencadeada por uma combinação de diferentes mecanismos previamente propostos na literatura. Neste sentido, o processo se inicia com um dano no sarcômero do músculo e em seguida dos tecidos conjuntivos das adjacências. Este microtrauma é seguido por um processo inflamatório e difusão de componentes intracelulares, marcadores de dano muscular e conjuntivo, para o plasma. E por meio da progressão destes eventos há uma ativação de nociceptores e terminações nervosas desencadeando a sensação de dor muscular (CHEUNG et al., 2003, LEWIS et al., 2012).

Investigações científicas conduzidas em ultramaratonas de 158 a 246 km têm encontrado aumento exacerbado nos teores séricos das enzimas marcadoras de prejuízo muscular (WU et al., 2004, NIEMAN et al., 2005, NIEMAN et al., 2006, SKENDERI et al. 2006, NIEMAN et al., 2007; DUMKE et al., 2007, KIM et al. 2007, ROTH et al., 2007, WAŚKIEWICZ et al., 2012), concentração plasmática de creatinina elevada (DUMKE et al., 2007) e maior dor reportada pelos atletas (NIEMAN et al., 2005, NIEMAN et al., 2006) em decorrência dessas provas.

Valores elevados de CK, LDH, AST e ALT no plasma foram observados em voluntários após a participação na *WSER* (NIEMAN et al., 2005, NIEMAN et al., 2006, NIEMAN et al., 2007; DUMKE et al., 2007) e na '*Spartathlon Ultramarathon*' (SKENDERI et al., 2006).

Além disso, Roth et al. (2007) observaram que os valores de CK aumentaram significativamente até os 84 km e depois foram mantidos até os 217km em atletas participantes da '*Badwater Ultramarathon*'. No entanto, nos estudos de Kim et al. (2007) durante a '*Jeju Ultramarathon*' e de Waśkiewicz et al. (2012)

durante ultramaratona de 24h, foi observado que as concentrações séricas de CK, ALT e AST estavam elevados na primeira metade e tiveram aumentos adicionais na segunda metade destas corridas.

Ainda, os teores plasmáticos das enzimas marcadoras de prejuízo muscular permaneceram elevados de 2 (AST) a 9 dias (LDH e ALT) em atletas avaliados após prova de 24h (WU et al., 2004).

Quanto aos valores séricos de creatinina, Dumke et al. (2007) observaram elevação em atletas após a *WSER*. Contudo, estes conteúdos não excederam sua faixa normal de concentração plasmática (0,7 a 1,5mg/dL).

Já em relação à dor muscular, os maiores índices foram reportados pelos atletas um dia após a prova, em dois estudos conduzidos na *WSER* (NIEMAN et al., 2005; NIEMAN et al., 2006). Estes índices foram reduzindo diariamente até o sétimo dia pós-prova, momento em que os atletas reportaram em média a ausência da dor muscular. Ainda, de maneira interessante, maiores índices de dor reportada correlacionaram-se positivamente com concentrações elevadas de CK em função da prova (NIEMAN et al., 2005).

## **2.6 Respostas de composição corporal em provas de ultramaratona**

A influência que as características de composição corporal exercem sobre o desempenho esportivo é dependente do tipo de desporto praticado bem como da distância percorrida em determinados desportos. Enquanto para um maratonista de elite possuir coxas volumosas aumenta drasticamente o trabalho interno, para ultracorredores que se exercitam a velocidades bem mais baixas de corrida essa característica antropométrica seria menos prejudicial e poderia inclusive ser vantajosa em termos de resistência ao dano muscular (MILLET et al., 2012).

Ainda, tem sido suposto que maiores estoques de gordura podem fornecer um importante reservatório energético bem como uma maior massa muscular pode ser valiosa para se movimentar em terrenos e superfícies irregulares em provas de ultramaratona (HOFFMAN, 2008). No entanto, apesar dessas suposições serem pertinentes, apenas um estudo de caso verificou que a constituição física de um ultracorredor participante da '*Marathon Des Sables*' (42 anos de idade, tempo de prova de 29h21min) foi caracterizada por um somatotipo mesomorfo dominante (RYDER et al., 2004).

O somatotipo é um parâmetro que expressa a constituição física do indivíduo em termos de forma e composição corporal. É constituído por três valores numerais representativos dos componentes físicos: endomorfia, mesomorfia e ectomorfia. A endomorfia apresenta como principal característica o arredondamento das curvas corporais e um exemplo de endomorfia plena seria um indivíduo obeso. Já a mesomorfia tem como principal característica o grande relevo muscular aparente bem como uma estrutura óssea mais maciça com baixa presença de gordura corporal, frequentemente observada em atletas. Por fim, a ectomorfia é identificada por uma linearidade corporal, com pequeno volume muscular e de tecido adiposo, característico de magros (MARINS; GIANNICHI, 2003).

Cada componente do somatotipo pode ser calculado a partir de medidas de estatura, massa corporal (BM), dobras cutâneas, diâmetros e perímetros corporais e apresentados numa escala de 1 a 7. Como dificilmente um indivíduo apresenta uma classificação única, mas com maior ou menor tendência para cada um dos componentes, pode-se estabelecer uma classificação somatotipológica de acordo com os índices encontrados para cada componente. Por exemplo, um indivíduo que apresente o componente mesomorfo dominante (~5,5) e o

componente endomorfo maior (~4,0) que o ectomorfo (~2,0) pode ser classificado como mesomorfo endomórfico (MARINS; GIANNICHI, 2003; ROCHA, 2004).

Além disso, no que diz respeito ao monitoramento de medidas antropométricas ao longo de provas de ultramaratona de 160 a 246 km, alguns estudos observaram manutenção na BM em ultracorredores durante a *WSER* (NIEMAN et al., 2003; NIEMAN et al., 2005 e NIEMAN et al., 2006) enquanto outros encontraram redução nesses valores em participantes da '*Spartathlon Ultramarathon*' (SKENDERI et al., 2006), de ultramaratona de 24h (n= 23; 45,7 anos de idade em média e 199,4 km de distância média percorrida) (KAO et al., 2008) e da '*Marathon Des Sables*' (n= 16, 40,3 anos de idade em média e ~29h de tempo de prova) (ZOUHAL et al., 2009).

Classicamente a avaliação de mudanças na BM fornece um dos índices mais simples e precisos de estado de hidratação durante exercício físico (ARMSTRONG, 2007). Neste sentido, para prevenir a desidratação, é estabelecido que a redução de BM durante o exercício físico deve ser menor que 2% (ACSM, 1996) bem como, que o exercício físico deve ser descontinuado caso tais reduções alcancem 7% (ADOLPH et al., 1947).

No entanto, particularmente no estudo de Zouhal et al., (2009) foi verificado ainda diminuição nos valores de massa magra (FFM) e massa gorda (FM), denotando que quando uma diminuição na BM é observada em provas dessa natureza possivelmente esta não ocorra apenas devido à desidratação, mas também devido à diminuição de FFM e FM (KNECHTLE et al., 2012).

A FFM é constituída em sua maior parte pelos tecidos muscular e esquelético enquanto a FM é constituída pelo tecido adiposo e, dentre as várias técnicas existentes para avaliar a composição corporal, as dobras cutâneas

representam a medida antropométrica mais comumente utilizada na estimativa desses parâmetros (ACKLAND, 2012).

## **2.7 Performance em ultramaratona: Relação com respostas inflamatória, hematológica, de estresse oxidativo, prejuízo muscular e composição corporal.**

Em conjunto com características físicas, ambientais (HOFFMAN, 2010; WEGELIN, HOFFMAN, 2011), psicológicas e táticas, fatores fisiológicos cruciais como um alto consumo máximo de oxigênio ( $VO_2max$ ), elevada fração de  $VO_2max$  (F) que pode ser sustentada ao longo da prova e baixo custo energético de locomoção (Cr) determinam altos índices de *performance* em corridas de longa distância (LAZZER et al., 2012; MILLET et al., 2012).

Particularmente em provas de ultramaratona, estudos recentes têm apontado que F tem papel principal na determinação da *performance* seguido pelo  $VO_2max$  e pelo Cr (LAZZER et al., 2012; MILLET et al., 2012).

Interessantemente, Millet et al. (2012) propõem que os fatores determinantes de F para os ultramaratonistas são diferentes daqueles encontrados em provas até a distância de uma maratona. Neste sentido, limiar de lactato, controle termoregulatório e capacidade de oxidar lipídeos teriam pequena significância devido à baixa intensidade de exercício físico, enquanto minimizar o dano muscular estaria entre os principais determinantes de F para ultramaratona.

Assim, fatores envolvidos no desencadeamento do dano muscular, como as respostas inflamatória e de estresse oxidativo, bem como determinadas características antropométricas que poderiam ser vantajosas em termos de resistência ao dano muscular, como coxas volumosas, podem influenciar a *performance* em ultramaratonas (MILLET et al., 2012).

Contudo, investigações acerca da possível associação entre as respostas inflamatória, hematológica, de estresse oxidativo, prejuízo muscular e composição corporal e a *performance* em provas de ultramaratona de 160 a 350 km são escassas e contraditórias.

Neste sentido, Waśkiewicz et al. (2012) observaram relações positivas entre os valores de CRP, IL-6, leucócitos, neutrófilos, monócitos, CK, AST e ALT e a distância percorrida em ultramaratona de 24h. Entretanto, estudos de Hoffman et al. (2012) (n=216; 42,6 anos de idade em média; tempo médio de prova de 25,4h) e de Nieman et al. (2005) na *WSER* e de Skenderi et al. (2006) na '*Spartathlon Ultramarathon*' observaram que mudanças na CK não foram correlacionadas com tempo de prova.

Já em relação à composição corporal, embora um estudo não tenha observado qualquer relação entre essas variáveis e a *performance* em atletas avaliados durante a '*Swiss Jura Marathon*' (n= 25; 44,5 anos de idade em média; tempo médio de prova ~ 46h) (KNECHTLE et al., 2010), a maioria dos trabalhos encontraram que a BM, índice de massa corporal (BMI), porcentagem de gordura corporal (%BF) e circunferência de braço estiveram correlacionados positivamente com tempo de prova ou negativamente com velocidade de prova em participantes da *WSER* (n=35 a 216; 18 a 60 anos de idade em média; tempo médio de prova de 16,1 a 30h) (HOFFMAN, 2008, HOFFMAN et al., 2010), '*Marathon Des Sables*' (ZOUHAL et al., 2009) e '*Isar Run*' (n= 17; 41,2 anos de idade em média; tempo médio de prova de 33,4h) (KNECHTLE et al., 2009).

Podemos observar ainda que a distância percorrida, tempo de prova e velocidade de prova foram utilizados como índices relacionados à *performance* nas ultramaratonas avaliadas. Entretanto, diferentes atletas se exercitando a uma

mesma velocidade de corrida podem estar sendo submetidos a exigências metabólicas distintas, dada a capacidade aeróbia de cada um.

Neste sentido, a velocidade crítica (CV) representa um importante índice de capacidade aeróbia, sendo a mais alta intensidade de exercício físico que pode ser sustentada pelo metabolismo oxidativo sem um aumento progressivo da contribuição de energia provinda do metabolismo anaeróbio, ou ainda, sem uma progressiva perda da homeostasia, ou seja, sem que haja um declínio contínuo nos valores musculares de creatina fosfato e pH bem como nos valores sanguíneos de bicarbonato e pH e sem que ocorra um aumento contínuo nas concentrações de lactato sanguíneo bem como no consumo de oxigênio e ventilação (JONES et al., 2010).

A determinação da CV é baseada em medidas de *performance* (i.e., tempos de exaustão em uma série de corridas exaustivas em diferentes distâncias), diferente de outros índices determinados por meio de medidas de parâmetros fisiológicos (i.e., lactato sanguíneo e consumo de oxigênio). No entanto, mais do que uma alternativa prática para avaliação de limiares submáximos de esforço, a CV constitui um parâmetro confiável e distinto de intensidade de exercício que ocorre entre o limiar de trocas gasosas (GET) e o  $VO_2\text{max}$ , ou ainda, delimitando os domínios de intensidade pesado e severo (JONES et al., 2010; FUKUDA et al., 2012).

### 3. JUSTIFICATIVA

Muitas das investigações científicas apresentadas previamente na revisão de literatura tiveram o propósito de estudar os mecanismos e interações envolvidos nas respostas inflamatórias, hematológicas, de estresse oxidativo e prejuízo muscular e, para tanto, utilizaram provas com distância similar a '*Brazil 135 Ultramarathon*' como modelo de estresse fisiológico (NIEMAN et al., 2003; NIEMAN et al., 2005; NIEMAN et al., 2006; NIEMAN et al., 2007; SCHULPIS et al., 2007; YUSOF et al., 2007; ROTH et al., 2007; PAPASSOTIRIOU et al., 2008; ROBACH et al., 2012).

No entanto, recentemente tem sido proposto que essas respostas bem como características de composição corporal podem estar entre os fatores fisiológicos determinantes da *performance* em provas de ultramaratona (MILLET et al., 2012).

Entretanto, apesar dessa premissa ser coerente com o contexto dessa modalidade esportiva, ela ainda necessita de um maior embasamento científico uma vez que resultados acerca de uma possível associação entre essas respostas e a *performance* em provas de 160 a 350 km ainda são escassos e por vezes contraditórios (NIEMAN et al., 2005; SKENDERI et al., 2006; HOFFMAN, 2008; KNECHTLE et al., 2009; ZOUHAL et al., 2009; KNECHTLE et al., 2010; HOFFMAN et al., 2010; WAŚKIEWICZ et al., 2012; HOFFMAN et al., 2012).

Dessa maneira, a presente tese visa monitorar as respostas inflamatórias, hematológicas, de estresse oxidativo, prejuízo muscular e composição corporal ao longo da prova e analisar as possíveis relações dessas respostas com a *performance* em atletas participantes da '*Brazil 135 Ultramarathon*'.



## 4. OBJETIVOS

### 3.1 Objetivos Gerais

- Verificar as respostas inflamatória, hematológica, de estresse oxidativo, prejuízo muscular e composição corporal em atletas ao longo da '*Brazil 135 Ultramarathon*' de 217 km.

- Verificar se as respostas inflamatória, hematológica, de estresse oxidativo, prejuízo muscular e composição corporal observadas durante a referida prova estão relacionadas com a *performance* e histórico de treinamento do atleta.

### 3.2 Objetivos específicos

- Verificar as concentrações circulantes de células brancas e de proteína C reativa como marcadores inflamatórios bem como de células vermelhas e de plaquetas como parâmetros hematológicos antes e ao final da prova.

- Verificar a atividade das enzimas catalase e glutathione redutase no eritrócito como marcadores de capacidade antioxidante e os teores plasmáticos de ácido úrico e albumina como marcadores antioxidantes não enzimáticos antes, durante e após a prova.

- Verificar as concentrações plasmáticas de creatina quinase, lactato desidrogenase, aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase como marcadores de prejuízo muscular antes, durante e após a prova.

- Verificar a dor reportada pelos atletas, como índice associado ao prejuízo muscular, através de duas escalas distintas antes, durante e após a prova. Verificar a possibilidade de utilização da escala de faces em provas dessa natureza.

- Verificar o somatotipo dos atletas antes da prova como índice associado à constituição física. Verificar a massa corporal, índice de massa corporal,

massa magra, massa gorda, dobras cutâneas e perímetros corporais como medidas de composição corporal antes, durante e após a prova.

- Verificar se as concentrações circulantes desses biomarcadores inflamatório, hematológicos, de estresse oxidativo, prejuízo muscular e composição corporal antes, durante e após a prova poderiam estar correlacionadas com a velocidade de corrida, porcentagem da velocidade crítica que o atleta percorreu a prova, o tempo de prova, o tempo de pausa ao longo da prova e o volume de treino semanal dos atletas.

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 Voluntários

Após aprovação pelo Comitê de Ética e Pesquisa em Humanos da UNESP (CEP nº 37/2008) (ANEXO I), 16 atletas (14 homens e 2 mulheres) foram recrutados como voluntários para esta investigação, dentre os 59 participantes da prova estudada. Os atletas participantes da pesquisa assinaram termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO II). Cinco destes voluntários não foram capazes de concluir a prova, uma vez que apresentaram condições clínicas de hematúria (n=1), hipoglicemia e hipotensão (n=1), alucinações (n=1) e fortes dores musculares (n=2). Dessa forma, nossa amostra final foi constituída de 11 participantes (10 homens e 1 mulher; 9 brasileiros e 2 americanos) ( $42,6 \pm 6,2$  anos;  $70,7 \pm 3,1$  kg de massa corporal;  $170,4 \pm 1,9$  cm de estatura;  $13,3 \pm 0,6$  km/h de velocidade crítica,  $16 \pm 3$  anos de treino de corrida;  $122 \pm 18$  km/semana de volume de treinamento), dentre os 42 finalistas da corrida.

### 5.2 Descrição da corrida

A '*Brazil 135 Ultramarathon*' ocorre na Serra da Mantiqueira ao sul do estado de Minas Gerais e é considerada a Corrida das Montanhas na '*BAD 135 World Cup*'. Esta corrida consiste de 217 km (135 milhas) a serem percorridos em estradas de terra no segmento mais pesado da trilha de peregrinação brasileira denominada 'Caminho da Fé'. O total de subida e descida acumulado durante a corrida tem sido estimado em 9,6 km e 10 km, respectivamente (Figura 1). Dessa forma, esta é considerada uma das mais difíceis prova de *ultraendurance* do Brasil. Na edição estudada (2009), a largada ocorreu em Poços de Caldas (1304m de altitude) às 08:00h e os finalistas deveriam alcançar a linha de chegada, em

Paraisópolis (927m de altitude), dentro de 60 horas. Ainda, a prova contou com três pontos de checagem (*check points*): Serra dos Limas (km 84); Inconfidentes (km 121) e Estiva (km 177), nos quais foram oferecidos suporte médico, alimentação, massagistas, fisioterapeutas, enfermeiros, dormitórios e banho. A temperatura ambiente oscilou entre 08 e 30° C.

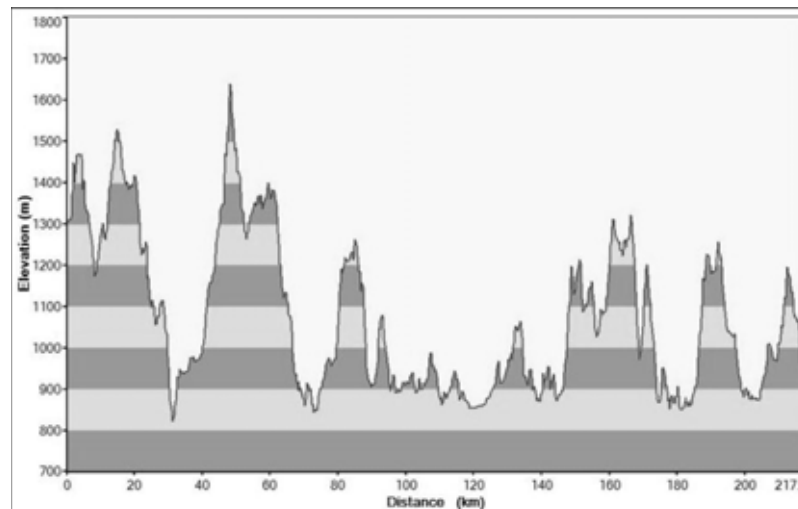


Figura 1: Altimetria ao longo do percurso da 'Brazil 135 Ultramarathon'

### 5.3 Desenho experimental

Inicialmente, uma semana antes da competição, os atletas foram adequadamente instruídos pelo pesquisador responsável e realizaram testes físicos em suas rotinas de treinamento para determinação da velocidade crítica.

Após a reunião de apresentação dos atletas, no dia anterior da largada da prova, os voluntários encontravam-se na condição cinco horas pós-prandial e foram submetidos à coleta de sangue, avaliações antropométricas, relataram sua dor e preencheram um questionário demográfico (i.e. idade e gênero) e de histórico de treinamento (i.e. experiência em anos com a corrida, frequência e volume semanal de treino). Posteriormente, amostras de sangue e relatos de dor foram obtidos dentro de 10 minutos após o atleta ter completado 84, 177 e 217 km (Figura

2). Já as re-avaliações antropométricas ocorreram aos 84 e 217 km, a fim de garantir que um único pesquisador experiente fosse responsável pelas mesmas. O tempo de prova e de pausa dos atletas foi obtido pelos relatórios oficiais da prova. Os voluntários puderam ingerir alimentos e bebidas *ad libitum* durante a corrida.

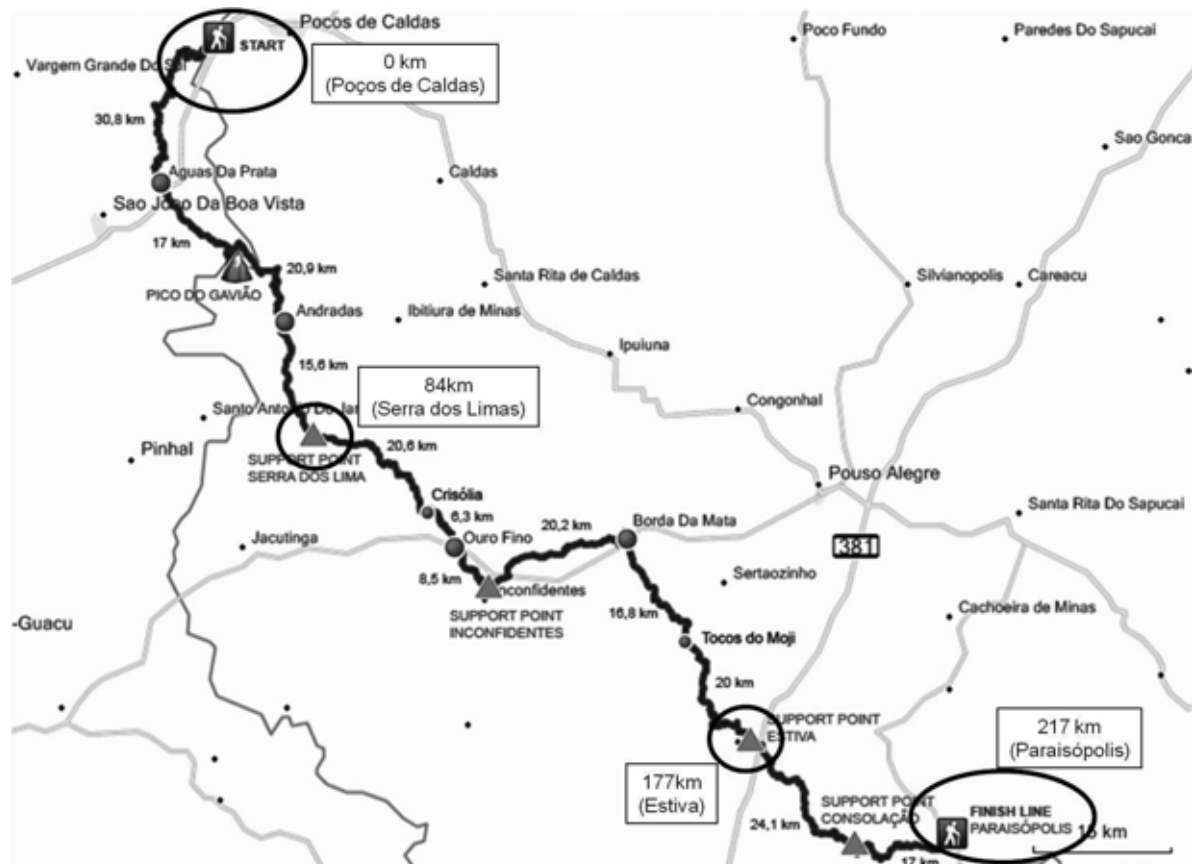


Figura 2: Momentos de avaliações antes (0 km), durante (84 e 177 km) e ao final (217 km) da prova.

#### 5.4 Velocidade crítica

Após um aquecimento, os voluntários realizaram individualmente 4 esforços máximos de corrida em ordem aleatória nas distâncias de 800, 1200, 1600 e 2000m, com um intervalo de 24h entre cada esforço. Os tiros foram realizados em

pista de atletismo de 400m, os respectivos tempos registrados e na seqüência o atleta realizava sua sessão de treinamento normalmente. Dessa forma, a velocidade crítica foi determinada pelo coeficiente angular da relação linear da distância versus o tempo de corrida (Figura 3) (KRANENBURG, SMITH, 1996).

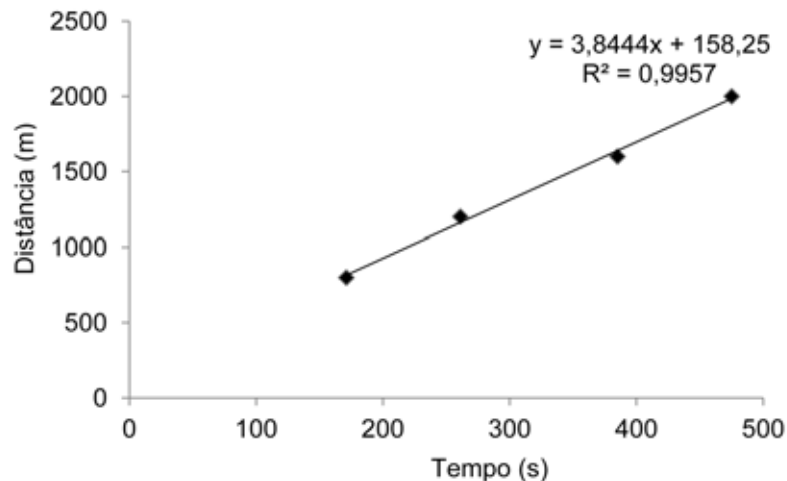


Figura 3: Determinação representativa da velocidade crítica em 3,8444 m/s (i.e., 13,8 km/h) de um atleta.

## 5.5 Análises sanguíneas

### 5.5.1 Fase pré-analítica

Todas as etapas pré-analíticas aconteceram em condição de campo. Para tanto, contamos com equipamentos e materiais adequados bem como com uma equipe de enfermeiros e pesquisadores experientes em coleta de sangue, centrifugação, aliquotagem e armazenamento das amostras de sangue.

Todas as coletas de sangue foram realizadas por enfermeiros através de material descartável. Em todos os momentos foram obtidos 4mL de sangue em tubo com heparina e 8mL de sangue em tubo para soro com gel separador e acelerador de coágulo (Vacuette, Greiner Bio-One®).

Inicialmente as amostras de 4 mL de sangue foram centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos e o plasma removido. Na seqüência, os eritrócitos foram lavados com solução gelada de tampão fosfato 5mM com NaCl 0,9%, pH 7,4 e centrifugadas a 3000 rpm, desprezando-se, em seguida, o sobrenadante. Esse processo foi repetido três vezes. Alíquotas de 500µl foram retiradas, hemolisadas com água deionizada na proporção 1:1 (v/v) (ANDERSEN et al., 1997) e distribuídas em 4 alíquotas de 100µl em tubos criogênicos de 1,2 mL, com armazenamento inicial em nitrogênio líquido e subsequente em biofreezer a -80°C.

Já as amostras de 8 mL foram centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos, cerca de 15 minutos após terem sido obtidas. Duas alíquotas de 1 mL de soro foram pipetadas em tubos criogênicos de 1,2 mL, estocados inicialmente em nitrogênio líquido e transferidos para biofreezer a -80°C.

Além disso, amostra adicional de 4 mL de sangue em tubo com EDTA (Vacuette, Greiner Bio-One®) foi obtida e armazenada a 4°C apenas antes e após a prova, a fim de garantir a determinação do hemograma completo dentro de um período máximo de 24h (DALANHOL et al., 2010).

### *5.5.2 Fase analítica*

A partir das alíquotas de 100µl foram conduzidas as análises no eritrócito de catalase e glutathione redutase. Os ensaios para dosagem da atividade da catalase foram conduzidos adicionando-se as amostras (1 µl de hemolisado 1:20) a tampão fosfato 50 mM e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 mM (AEBI, 1984). A queda nos valores de absorbância foi seguida em 240 nm (espectrofotômetro DU-640 Beckmann UV-VIS). Já os ensaios para dosagem da glutathione redutase foram conduzidos de acordo com Smith et al. (1988). As amostras (3 µl de hemolisado diluído 1:20) foram

adicionadas a um meio de incubação contendo 500µl de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,2 M, EDTA 1mM em pH 7,4; 50 µl NADPH 2mM e 250 µl de DTNB 3 mM. Um volume de 50 µl de GSSG 20 mM foi adicionado para iniciar a reação. A formação de 5,5'-Tiobis ácido 2-nitrobenzóico (TNB) foi acompanhada a 412 nm (espectrofotômetro DU-640 Beckmann UV-VIS). A concentração de hemoglobina no hemolisado foi mensurada pelo método de Drabkin (BEUTLER, 1975).

Já a partir das alíquotas de 1 mL de soro foram conduzidas as análises de proteína C reativa (Método turbidimétrico - Biotécnica®), creatina quinase, lactato desidrogenase, aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, ácido úrico, albumina, creatinina e proteínas totais (kits Wiener®) em aparelho automático (Autolab 18 – Boehringer Mannheim®).

E as amostras de 4mL de sangue com EDTA foram encaminhadas para laboratório de análises clínicas certificado para determinação do hemograma completo por analisador automatizado (KX-21N Sysmex®).

## **5.6 Avaliação antropométrica**

Durante a avaliação inicial, estando os voluntários sem tênis e vestindo roupas leves, foram avaliadas a massa corporal (kg) e estatura (cm), por meio de balança de plataforma (Welmy®), com precisão de 0,1kg e 0,5cm, respectivamente. Medidas das dobras cutâneas (mm) (peitoral, abdominal, coxa, supra-ílica, subescapular, tríceps e panturrilha) foram realizadas por meio de compasso (Sanny®) com precisão de 1mm e o valor anotado foi a média de três medidas consecutivas. Já, medidas de circunferências (cm) (peito, braço relaxado, cintura umbilical, coxa e panturrilha) foram realizadas com fita metálica flexível, inextensível, com precisão de 0,1cm (Sanny ®) e, os diâmetros ósseos (mm) (biepicôndilo umeral



e bicôndilo femoral) foram aferidos com a articulação do cotovelo e do joelho flexionados a 90° e as hastes do paquímetro (Sanny®) a 45° em relação às mesmas.

Durante as avaliações aos 84 e 217 km foram reavaliados a massa corporal, dobras cutâneas (peitoral, abdominal e coxa) e circunferências (peito, braço relaxado, cintura umbilical e coxa).

Um único avaliador experiente realizou todas as mensurações antropométricas, do lado direito do corpo e de acordo com técnicas convencionais (POLLOCK et al., 1986).

O índice de massa corporal ( $\text{kg} \cdot \text{m}^{-2}$ ) foi calculado como a massa corporal dividida pela estatura elevada ao quadrado. A densidade corporal foi calculada pela equação de três dobras cutâneas para homens =  $1,10938 - 0,0008267 (X) + 0,0000016 (X^2) - 0,0002574 (\text{idade})$  onde X = soma das dobras cutâneas peitoral, abdominal e de coxa (JACKSON; POLLOCK, 1978). Subsequentemente a porcentagem de gordura foi calculada pela equação =  $(495/\text{densidade corporal}) - 450$  (SIRI, 1961). A massa gorda foi então calculada a partir da massa corporal e da porcentagem de gordura e a massa magra foi calculada pela subtração da massa gorda da massa corporal.

Os componentes do somatotipo foram calculados a partir dos dados da avaliação inicial. Dessa forma, a endomorfia foi calculada pela equação =  $-0,7182 + 0,1451 (X) - 0,00068 (X^2) + 0,0000014 (X^3)$  onde X = soma das dobras cutâneas supra-ilíaca, subescapular e tríceps multiplicadas por  $(170,18/\text{estatura})$ . Já a mesomorfia foi calculada pela equação =  $0,858 (\text{diâmetro umeral}) + 0,601 (\text{diâmetro femoral}) + 0,188 (\text{circunferência de braço corrigida}) + 0,161 (\text{circunferência panturrilha corrigida}) - 0,131 (\text{estatura}) + 4,5$  onde circunferência de braço corrigida =  $\text{circunferência de braço} - (\text{dobra cutânea tríceps}/10)$  e circunferência de panturrilha

corrigida = circunferência de panturrilha – (dobra cutânea de panturrilha/10). Por fim, para o cálculo da ectomorfia inicialmente foi calculado o índice ponderal pela equação = estatura/raiz cúbica da massa corporal. Para os casos em que o índice ponderal encontrado foi maior que 40,75 a ectomorfia foi calculada pela equação = (índice ponderal x 0,732) – 28,58, já para os casos em que o índice ponderal encontrado esteve entre 38,25 e 40,75 a ectomorfia foi calculada pela equação = (IP x 0,463) – 17,63 (HEATH; CARTER, 1967).

### 5.7 Avaliação de dor

Foi solicitado aos voluntários que relatassem sua dor usando a escala de Likert de 10 pontos (10-LS): 1 (sem dor); 2,5 (dor vaga); 4 (dolorido); 5,5 (mais que dolorido); 7 (dor); 8,5 (muita dor); 10 (dor insuportável) (SMITH et al., 1993) bem como através da escala de dor de faces- revisada (FPS-R) (Figura 4) (HICKS et al., 2001).

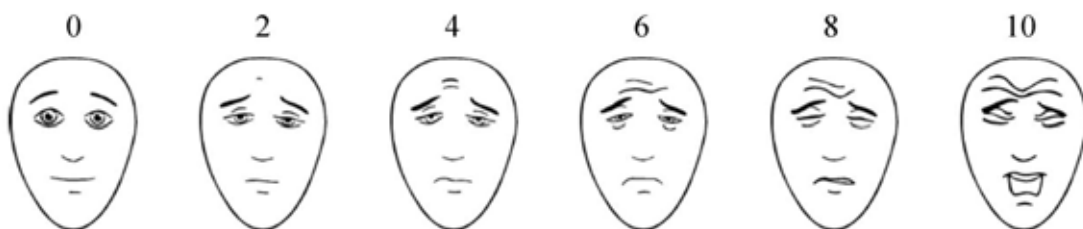


Figura 4: Escala de dor de faces – revisada (HICKS et al., 2001)

### 5.8 Análise estatística

A análise estatística foi realizada no programa *Statistic 7.0* (Statsoft, Tulsa, USA®). Média e erro padrão da média (SEM) foram calculados para todas as variáveis estudadas. Distribuição normal e homogeneidade dos dados foram verificadas pelos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Transformação logarítmica foi utilizada para alcançar distribuição normal das variáveis quando

apropriado. Para comparações pré e pós-prova foi utilizado o teste *t* Student para amostras dependentes. Já para comparações pré, durante e pós-prova foi utilizado a análise de variância para medidas repetidas (ANOVA), sendo que a correção de Greenhouse-Geisser foi aplicada caso a violação de esfericidade tenha sido apontada pelo teste de Mauchly. Post hoc de *Scheffè* foi utilizado quando apropriado. Correlação de Pearson foi utilizada para testar a relação entre as variáveis. Para todas as análises foi estabelecido o nível de significância em  $P < 0,05$ .

## 6. RESULTADOS

Os resultados da presente tese de doutorado foram subdivididos em três estudos apresentados sob a forma de artigo científico, cada um contemplando um ou mais dos objetivos anteriormente apresentados.

Assim, os resultados apresentados no estudo 1, intitulado “Inflamação, parâmetros hematológicos e *performance* em ultramaratona de 217 km”, contemplam o primeiro objetivo específico.

Já no estudo 2, intitulado “*Muscle damage, antioxidant responses and performance during 217-km mountain foot race*”, são apresentados resultados pertinentes ao segundo, terceiro e quarto objetivos específicos.

E os resultados do estudo 3, intitulado “Constituição física, composição corporal e *performance* em ultramaratona de 217 km”, são condizentes ao quinto objetivo específico.

Em conjunto, esses resultados pertinentes aos cinco primeiros objetivos específicos contemplam o primeiro objetivo geral do presente estudo e nos mostra o comportamento das respostas inflamatórias, hematológicas, de estresse oxidativo, prejuízo muscular e composição corporal durante a prova de 217 km estudada.

Por fim, as correlações apresentadas nos estudos 1, 2 e 3 em conjunto contemplam o sexto objetivo específico, ou ainda, o segundo objetivo geral da presente tese de doutorado e nos apresenta possíveis associações entre as respostas supracitadas com a *performance* de participantes da ‘*Brazil 135 Ultramarathon*’.

## 6.1 Estudo 1

BELLI, T.; MACEDO, D.V.; ARAÚJO, G.G.; REIS, I.G.M.; ACKERMANN, M.A.; NUNES, L.A.S.; LAZARIM, F.L.; BREZIKOFER, R.; GOBATTO, C.A. Inflamação, parâmetros hematológicos e *performance* em ultramaratona de 217 km.

### RESUMO

**Objetivos:** Analisar as respostas inflamatórias e hematológicas bem como verificar se essas respostas podem estar correlacionadas com a *performance* de atletas durante ultramaratona de 217-km.

**Métodos:** Onze atletas ( $42,6 \pm 6,2$  anos;  $170,4 \pm 1,9$  cm de estatura;  $70,7 \pm 3,1$  kg de massa corporal;  $16 \pm 3$  anos de treino de corrida;  $122 \pm 18$  km/semana de volume de treinamento) participantes da '*Brazil 135 Ultramarathon*' foram voluntários neste estudo. Uma semana antes da competição os atletas determinaram individualmente a velocidade crítica (CV) a partir de quatro esforços máximos de corrida correspondentes a 800, 1200, 1600 e 2000m. Então, a CV foi determinada pelo coeficiente angular da relação linear da distância versus o tempo corrida. Tempos de corrida e de pausa foram obtidos por registros oficiais da prova. Amostras de sangue foram coletadas pré e pós-prova para determinação de hemograma completo e de proteína C reativa (CRP).

**Resultados:** Os voluntários completaram a prova em  $46,6 \pm 3,1$ h, com uma velocidade média de  $4,9 \pm 0,3$  km/h correspondendo a  $34,5 \pm 1,9$  % da CV e com  $3,7 \pm 0,9$  h de tempo de pausa. Leucócitos, neutrófilos, monócitos, CRP, hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (MCHC) e plaquetas aumentaram e basófilos reduziram significativamente ( $P < 0,05$ ) pré versus pós-prova. Já os valores de linfócitos, eosinófilos, eritrócitos, hematócrito, volume corpuscular médio (MCV) e amplitude de distribuição do tamanho dos eritrócitos (RDW) permanecerem estáveis ( $P > 0,05$ ) ao final da prova. Leucócitos e neutrófilos foram correlacionados ( $P < 0,05$ ) com velocidade média ( $R=0,70$ ;  $0,76$ , respectivamente), % de CV ( $R= 0,92$ ;  $0,96$ , respectivamente) e tempo de pausa ( $R= -0,66$ ;  $-0,69$ , respectivamente).

**Conclusões:** Esses dados fortalecem estudos prévios em que a inflamação local e sistêmica é exacerbada e as células vermelhas são mantidas pós-prova bem como eles denotam que maiores valores de células brancas apresentaram-se relacionados com uma maior *performance* em ultramaratona de 217 km.

**Palavras-chave:** inflamação, hemograma, *performance*, ultramaratona

## INTRODUÇÃO

A '*BAD135 World Cup*' está dentre os principais circuitos de ultramaratona no mundo sendo composto por três provas de 135 milhas (217 km) a serem percorridas em 48 horas em ambientes extremos: a '*Corrida do Deserto*' ou '*Badwater Ultramarathon*' na Califórnia/EUA, a '*Corrida do Gelo*' ou '*Arrow Head Ultramarathon*' em Minesota/EUA e a '*Corrida das Montanhas*' ou '*Brazil 135 Ultramarathon*' em Minas Gerais/Brasil (BADWATER ULTRAMARATHON, 2012).

A '*Brazil 135 Ultramarathon*' marcou decisivamente um início de provas de ultramaratona em território brasileiro e a partir dela foram sendo instituídas várias corridas desta natureza no país, tanto que atualmente começa a despontar um movimento de implementação do primeiro circuito de ultramaratona nacional, a '*Copa Brasil Ultramaratona*', reunindo provas de tempo, distância e *multi day* (BRAZIL 135 ULTRAMARATHON, 2012; COPA BRASIL ULTRA, 2012).

Com um cenário crescente de provas de ultramaratona, as investigações científicas também têm crescido nesta modalidade esportiva e uma linha de estudos tem observado um aumento significativo nas concentrações sanguíneas de células brancas, citocinas e proteínas de fase aguda denotando resposta inflamatória exacerbada em provas com distância similar a '*Brazil 135 Ultramarathon*' (i.e., de 160 a 246 km) (NIEMAN et al., 2003; NIEMAN et al., 2005; MARGELI et al., 2005; NIEMAN et al., 2006; SKENDERI et al., 2006; NIEMAN et al., 2007; KIM et al., 2007; YUSOF et al., 2007; PAPASSOTIRIOU et al., 2008; WAŚKIEWICZ et al., 2012; ROBACH et al., 2012).

Investigações científicas têm encontrado ainda taxa de destruição das células vermelhas aumentada (i.e, hemólise) (YUSOF et al., 2007; ROTH et al., 2007; ROBACH et al., 2012) com manutenção ou mudanças nos valores de

eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, índices hematimétricos e plaquetas (WU et al., 2004; SKENDERI et al., 2006; YUSOF et al., 2007; ROTH et al., 2007; ROBACH et al., 2012; WAŚKIEWICZ et al., 2012) em função destas provas.

Interessantemente, tem sido proposto recentemente que os fatores determinantes da *performance* em ultramaratona podem ser diferentes daqueles observados em provas até a distância de uma maratona dada as características particulares desta modalidade esportiva, sendo uma prova muito mais prolongada realizada numa baixa intensidade de esforço e por vezes percorrida em terrenos muito irregulares (MILLET et al., 2012).

Neste sentido, tem sido sugerido que enquanto estratégias para minimizar o custo energético de locomoção sejam fundamentais para eventos de corrida até a distância de uma maratona, minimizar o prejuízo no tecido dos membros inferiores é um dos fatores cruciais de *performance* para ultramaratona (MILLET et al., 2012) ao lado de fatores físicos, ambientais, psicológicos, motivacionais e táticos (HOFFMAN, 2010; WEGELIN, HOFFMAN, 2011; MILLET et al., 2012).

Entretanto, apesar dessa premissa ser coerente com o contexto dessa modalidade esportiva, ela ainda necessita de um maior embasamento científico uma vez que tem sido escassamente estudado se o prejuízo tecidual e respostas correlatas como a inflamação estão possivelmente associados com a *performance* em provas de ultramaratona (NIEMAN et al., 2005; SKENDERI et al., 2006; HOFFMAN et al., 2012; WAŚKIEWICZ et al., 2012).

Assim, o objetivo deste estudo foi analisar as respostas inflamatórias e hematológicas bem como verificar se essas respostas poderiam estar correlacionados com a *performance* de atletas durante a '*Brazil 135 Ultramarathon*'.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Voluntários e descrição da corrida

Dentre os 42 finalistas da ‘Brazil 135 Ultramarathon’ – 2009, 11 foram voluntários neste estudo (10 homens e 1 mulher). As características dos voluntários são apresentadas na Tabela 1. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Estadual Paulista (UNESP) (nº 037/2008) e termo de consentimento livre e esclarecido foi assinado por cada atleta antes de sua participação no estudo.

Tabela 1: Características dos voluntários (n=11)

Idade (anos)	42,6 ± 6,2
Estatura (cm)	170,4 ± 1,9
Massa corporal (kg)	70,7 ± 3,1
Índice de massa corporal (kg(m <sup>2</sup> ) <sup>-1</sup> )	24,2 ± 0,7
Histórico de corrida (anos)	16 ± 3
Volume de corrida (km/semana)	122 ± 18
Ultramaratonas realizadas (n)	12 ± 5
Velocidade crítica (km/h)	13,3 ± 0,6

A ‘Brazil 135 Ultramarathon’ ocorre na Serra da Mantiqueira ao sul do estado de Minas Gerais e é considerada a Corrida das Montanhas na ‘BAD135 World Cup’. Esta corrida consiste de 217 km (135 milhas) a serem percorridos em estradas de terra no segmento mais pesado da trilha de peregrinação brasileira denominada ‘Caminho da Fé’. O total de subida e descida acumulado durante a corrida tem sido estimado em 9,6 km e 10 km, respectivamente. Dessa forma, esta é considerada uma das mais difíceis prova de *ultraendurance* do Brasil. Na referida edição, a largada ocorreu em Poços de Caldas (1304m de altitude) às 08:00h e os finalistas alcançaram a linha de chegada, em Paraisópolis (927m de altitude), dentro de 60 horas. A temperatura ambiente oscilou entre 08 e 30° C.



## **Desenho experimental**

A velocidade crítica (CV) dos atletas foi determinada uma semana antes da competição. No dia anterior da largada da prova, na condição cinco horas pós prandial, os voluntários foram submetidos à avaliações antropométricas, coletas de sangue e preenchimento de um questionário demográfico e de histórico de treinamento. Posteriormente, amostras de sangue foram obtidas dentro de 10 minutos do atleta ter concluído a prova (217 km). O tempo de prova e de pausa dos atletas foi obtido pelos relatórios oficiais da prova. Os voluntários puderam ingerir alimentos e bebidas *ad libitum* durante a corrida.

## **Velocidade crítica**

Uma semana antes da competição e nos dias subseqüentes, os atletas realizaram individualmente 4 tiros máximos de corrida em diferentes distâncias (800, 1200, 1600, 2000m) em pista de atletismo, realizados em ordem aleatória. Dessa forma, a velocidade crítica foi determinada pelo coeficiente angular da relação linear da distância versus o tempo de corrida (KRANENBURG, SMITH, 1996).

## **Avaliação antropométrica**

Durante a avaliação inicial, estando os voluntários sem tênis e vestindo roupas leves, foram avaliadas a massa corporal (kg) e estatura (cm), por meio de balança de plataforma (Welmy®), com precisão de 0,1kg e 0,5cm, respectivamente. Índice de massa corporal foi calculado pela massa corporal dividida pela estatura elevada ao quadrado.

### **Análises hematológicas e bioquímicas**

Coletas de sangue foram realizadas por enfermeiro antes e após a prova. Análises hematológicas, ou seja, contagem total (leucócitos) e diferencial (neutrófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos, basófilos) de células brancas, de células vermelhas e plaquetas, foram realizadas por analisador automatizado (KX-21N Sysmex®) a partir de sangue coletado em tubos com EDTA (Vacuette, Greiner Bio-One®) estocado a 4°C. Amostra de sangue adicional foi coletada em tubo para soro com gel separador e acelerador de coágulo (Vacuette, Greiner Bio-One®) e imediatamente centrifugado (3000 x g; 10 min). Amostras de soro foram aliquotadas e estocadas em nitrogênio líquido para posterior análise. Análises de Proteína C Reativa (CRP) (Biotécnica kit®) e proteína sérica total (Wiener ® kit) foram realizadas em equipamento automatizado (Autolab 18 – Boehringer Mannheim®).

### **Análise estatística**

A análise estatística foi realizada no programa *Statistic 7.0* (Statsoft, Tulsa, USA®). Média e erro padrão da média (SEM) foram calculados para todas as variáveis estudadas. Distribuição normal e homogeneidade dos dados foram verificadas pelos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Distribuição normal das variáveis eosinófilos e basófilos foi alcançada por transformação logarítmica. Teste *t* Student para amostras dependentes foi utilizado para as comparações e correlação de Pearson foi utilizada para análises de relação. Para todas as análises foi estabelecido um nível de significância de  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS

Os voluntários completaram a prova em  $46,6 \pm 3,1$ h, com uma velocidade média de  $4,9 \pm 0,3$  km/h correspondendo a  $34,5 \pm 1,9$  % da CV e com  $3,7 \pm 0,9$  h de tempo de pausa.

Os valores de células brancas sanguíneas antes e após prova são apresentadas na tabela 2. Leucócitos, neutrófilos e monócitos aumentaram enquanto basófilos reduziram significativamente ( $P < 0,05$ ) após a prova. Entretanto, linfócitos e eosinófilos não mudaram significativamente ao longo da corrida ( $P > 0,05$ ).

Além disso, os valores de CRP tiveram um aumento pronunciado ( $35.467 \pm 18.376\%$ ) e significativo ( $P=0,0001$ ) ao final da corrida (antes:  $0,96 \pm 0,24$  mg/L; após a prova:  $51,15 \pm 8,28$  mg/L). Os valores de CRP após a prova foram corrigidos por mudança no volume plasmático, estimado a partir dos valores de proteína sérica total (antes:  $66,8 \pm 0,9$  g/L; após a prova:  $72,5 \pm 2,9$  g/L;  $P = 0.007$ ) (Ohira et al., 1977).

Tabela 2: Concentrações de células brancas antes e após a corrida (n=11)

	Pré-prova	Pós-prova	Valor de P
Leucócitos ( $\times 10^9/L$ )	$7,77 \pm 0,67$	$16,78 \pm 1,42$	0,00005
Neutrófilos ( $\times 10^9/L$ )	$4,95 \pm 0,47$	$12,87 \pm 1,27$	0,00004
Linfócitos ( $\times 10^9/L$ )	$1,89 \pm 0,14$	$2,23 \pm 0,12$	0,07
Monócitos ( $\times 10^9/L$ )	$0,67 \pm 0,07$	$1,40 \pm 0,11$	0,000005
Eosinófilos ( $\times 10^9/L$ )	$0,24 \pm 0,11$	$0,19 \pm 0,03$	0,47
Basófilos ( $\times 10^9/L$ )	$0,03 \pm 0,01$	$0,02 \pm 0,01$	0,008

Em relação às células vermelhas e plaquetas, apesar de eritrócitos, hematócrito, volume corpuscular médio (MCV) e amplitude de distribuição do tamanho dos eritrócitos (RDW) permanecerem estáveis ( $P > 0,05$ ), foram encontrados aumentos significantes ( $P < 0,05$ ) na hemoglobina corpuscular média (MCH) e na concentração da hemoglobina corpuscular média (MCHC) bem como nas plaquetas após a prova (Tabela 3).

Tabela 3: Células vermelhas e plaquetas antes e após a corrida (n=11)

	Pré-prova	Pós-prova	Valor de P
Eritrócito ( $\times 10^{12}/L$ )	5,05 $\pm$ 0,15	5,06 $\pm$ 0,14	0,93
Hematócrito (%)	43,5 $\pm$ 0,8	43,5 $\pm$ 0,9	0,96
Hemoglobina (g/L)	146,5 $\pm$ 2,8	149,1 $\pm$ 2,8	0,44
MCV (fL)	86,5 $\pm$ 1,41	86,3 $\pm$ 1,58	0,66
MCH (pg)	29,2 $\pm$ 0,60	29,6 $\pm$ 0,64	0,0008
MCHC (g/L)	336,9 $\pm$ 2,2	343,2 $\pm$ 2,3	0,01
RDW (%)	13,6 $\pm$ 0,2	13,6 $\pm$ 0,2	0,93
Plaquetas ( $\times 10^9/L$ )	238 $\pm$ 17	275 $\pm$ 22	0,008

MCH: hemoglobina corpuscular média; MCHC: concentração da hemoglobina corpuscular média;

MCV: volume corpuscular médio, RDW: amplitude de distribuição do tamanho dos eritrócitos

Os valores de leucócitos (Figura 1) e neutrófilos (Figura 2) ao final da corrida foram positivamente correlacionados ( $P < 0,05$ ) com a velocidade média de corrida bem como negativamente correlacionados ( $P < 0,05$ ) com o tempo de pausa. Além disso, correlações foram observadas entre os valores de leucócitos ( $R=0,92$ ;  $R^2=0,85$ ;  $P=0,008$ ) e neutrófilos ( $R=0,96$ ;  $R^2=0,93$ ;  $P=0,01$ ) e a porcentagem da velocidade crítica (%CV) em que os atletas percorreram a prova.

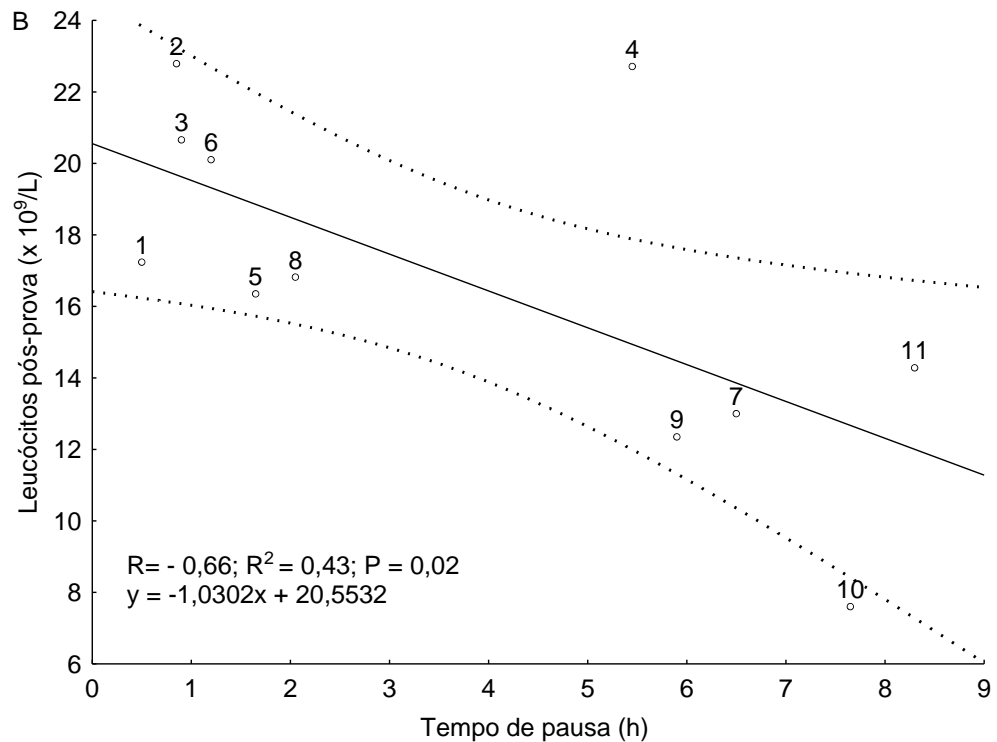
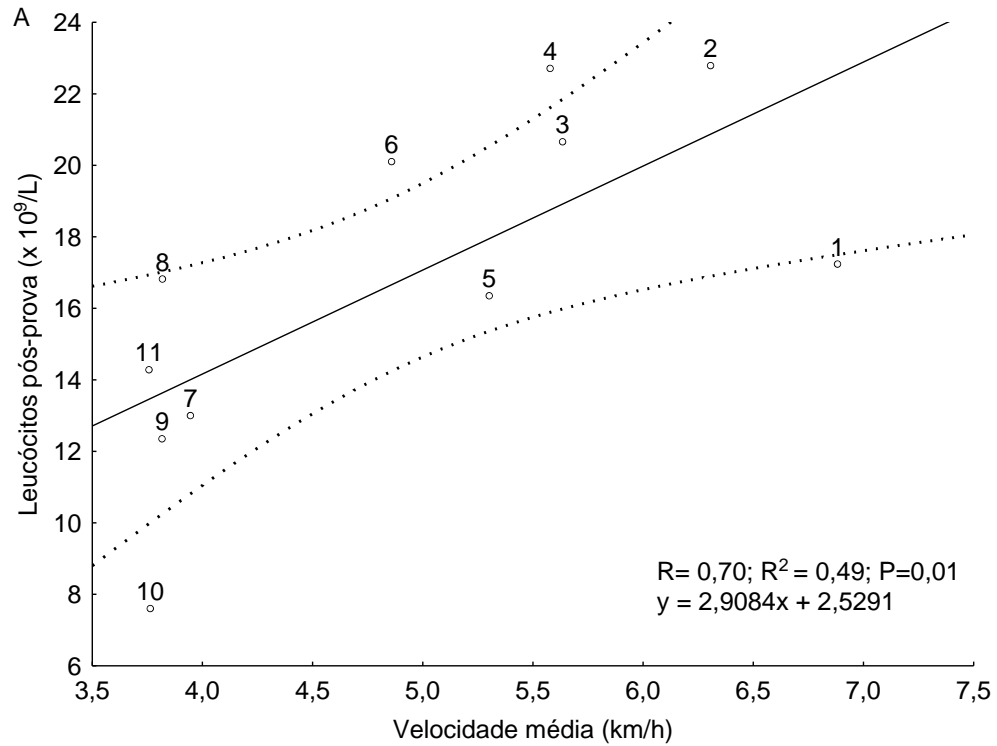


Figura 1: Correlação entre leucócitos pós-prova e velocidade média (A) e tempo de pausa (B). Relação linear (linha sólida) e 95% do intervalo de confiança (linha tracejada). Números apontam a ordem de chegada dos voluntários na prova.

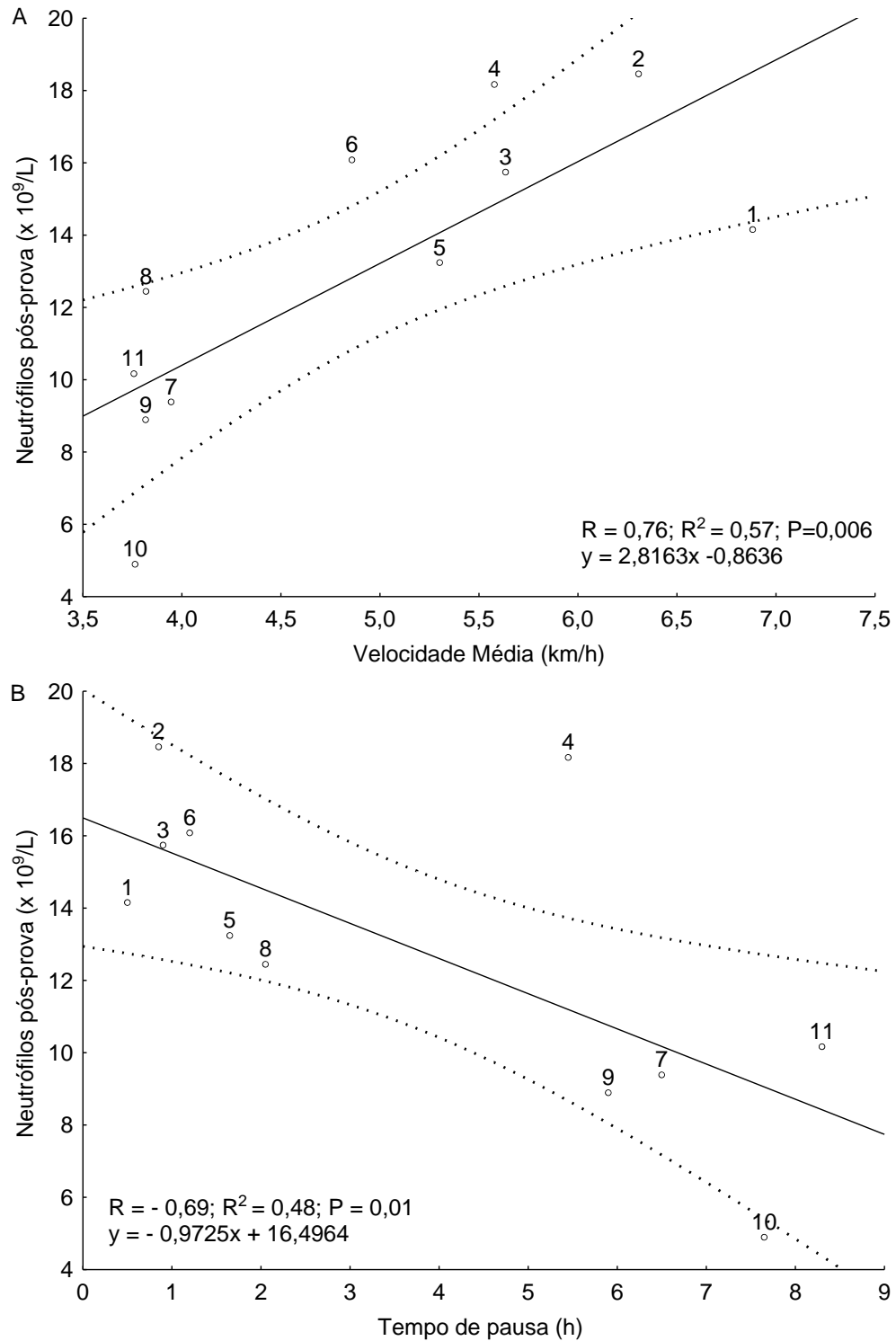


Figura 2: Correlação entre neutrófilos pós-prova e velocidade média (A) e tempo de pausa (B). Relação linear (linha sólida) e 95% do intervalo de confiança (linha tracejada). Números apontam a ordem de chegada dos voluntários na prova.

## DISCUSSÃO

Os principais encontrados deste estudo foram que os atletas concluíram a '*Brazil 135 Ultramarathon*' com valores significativamente elevados de leucócitos, neutrófilos, monócitos e proteína C reativa, significativamente reduzidos de basófilos e que apesar dos valores de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, MCV e RDW terem permanecido mantidos, as concentrações de MCH, MCHC e de plaquetas aumentaram após a prova. Além disso, maiores valores de leucócitos e neutrófilos ao final da corrida estiveram relacionados com maior velocidade média e porcentagem de velocidade crítica em que os atletas percorreram a prova bem como com menor tempo de pausa dos atletas.

Em relação às células brancas, aumento significativo de leucócitos foi previamente observado por Skenderi et al. (2006) em 39 voluntários (41 anos de idade em média e tempo de conclusão de prova de 33,3h) após a '*Spartathlon Ultramarathon*', por Yusof et al. (2007) em 6 corredores (53,8 anos de idade média e tempo médio de conclusão de prova de 48,3h) ao final da '*Badwater Ultramarathon*' e por Robach et al. (2012) em 22 voluntários (40 anos de idade em média e tempo médio de conclusão de prova de 37,6h) após a '*North-Face Ultra-Trail du Mont-Blanc*'.

Ainda, nossos resultados corroboram também com estudos envolvendo edições sucessivas da '*Western States Endurance Run*' (WSER) (NIEMAN et al., 2003; NIEMAN et al., 2005; NIEMAN et al., 2006) nos quais foi observado em homens e mulheres (n= 25 a 60; idade média de 45,3 a 46,8 anos de idade e tempo médio de prova de 25,8 a 27,0h) que além do aumento significativo das células brancas totais, as subpopulações de neutrófilos e monócitos estavam elevadas ao final da prova.

Resposta semelhante foi também encontrada por Waśkiewicz et al. (2012) em 14 voluntários (43 anos em média e 168km de distância média percorrida) e por Wu et al. (2004) em 11 atletas (45 anos em média e 158km percorridos em média) após provas de ultramaratona de 24h, sendo que este último estudo observou ainda reduzidos valores de basófilos pós-prova e valores de leucócitos acima dos valores pré-prova por até 9 dias após a corrida.

Em termos de proteínas de fase aguda, os resultados da presente investigação são similares aos encontrados em estudos prévios. Neste sentido, valores aumentados de CRP foram observados ao final da '*Spartathlon Ultramarathon*' (n=15; 40 a 43 anos de idade e tempo de prova médio de 32 horas) (MARGELI et al., 2005; PAPASSOTIRIOU et al., 2008), da *WSER* (NIEMAN et al., 2006), da '*Jeju Ultramarathon*' (KIM et al., 2007) (n=54, 45,7 anos, tempo de prova: 24 a 35h), da '*North-Face Ultra-Trail du Mont-Blanc*' (ROBACH et al., 2012) e de ultramaratona de 24h (WAŚKIEWICZ et al., 2012).

Particularmente os estudos de Kim et al. (2007) e de Waśkiewicz et al. (2012) observaram também que valores de CRP já se apresentaram aumentados no meio do percurso com aumentos adicionais observados ao término das respectivas corridas e Margeli et al. (2005) e Papassotiriou et al. (2008) verificaram ainda que os valores de CRP permaneceram elevados até 48 h após a prova.

A resposta inflamatória local desencadeada em provas dessa natureza pode ser decorrente do dano tecidual e é caracterizada como uma condição complexa em que as células inflamatórias promovem tanto lesão como regeneração do tecido. Neste sentido, os neutrófilos ao infiltrar no sítio inflamatório têm como principal função a fagocitose de elementos indesejados relacionados à lesão tecidual, já os monócitos tem um papel importante no crescimento e reparo do tecido



lesado. No entanto, principalmente os neutrófilos estimulam a síntese de espécies reativas de oxigênio (ROS) e sua resposta deve ser aguda e bem regulada a fim de preservar a integridade dos tecidos e evitar a exacerbação da lesão (SILVA, MACEDO, 2011).

Ainda, pudemos observar também que a resposta inflamatória local foi acompanhada por uma resposta inflamatória sistêmica, conhecida como resposta de fase aguda, dado as concentrações elevadas de CRP (PEDERSEN, HOFFMAN-GOETZ, 2000; SILVA, MACEDO, 2011). Neste sentido, a CRP é considerada uma proteína de fase aguda clássica alcançando concentrações plasmáticas muito elevadas no pico de inflamação e seu papel principal é ativar o sistema complemento, podendo também interagir com células do sistema imune e regular a inflamação (MORTENSEN, 2001; DU CLOS, MOUD, 2004).

Em relação às células vermelhas sanguíneas, nossos encontrados corroboram com a maioria dos estudos anteriores que haviam observado manutenção dos valores de eritrócito (WU et al., 2004; YUSOF et al., 2007; ROTH et al., 2007; WAŚKIEWICZ et al., 2012; ROBACH et al., 2012), dos valores de hemoglobina, hematócrito, MCV e RDW (WU et al., 2004; YUSOF et al. 2007; ROTH et al. 2007; WAŚKIEWICZ et al., 2012) bem como elevação de MCH (SKENDERI et al., 2006; ROBACH et al., 2012) e de MCHC (YUSOF et al., 2007; ROBACH et al., 2012) ao final de provas de ultramaratona.

A manutenção nos valores de eritrócitos em provas cuja taxa de destruição das células vermelhas sanguíneas é aumentada pelo estresse mecânico associado à corrida (i.e., *footstrike hemolysis*) (YUSOF et al., 2007; ROTH et al., 2007; ROBACH et al., 2012) pode estar relacionada tanto a síntese de novos eritrócitos (YUSOF et al., 2007), possivelmente evidenciada em nosso estudo pelos

valores elevados de MCH após a prova (indicativo de presença de células vermelhas mais jovens na circulação), como pelo esvaziamento esplênico e consequente oferta de novos eritrócitos para circulação sanguínea (ROBACH et al., 2012).

Valores elevados de plaquetas circulantes foram observados previamente por Wu et al. (2004), contudo, manutenção (WAŚKIEWICZ et al., 2012) ou mesmo redução (SKENDERI et al., 2006; ROBACH et al., 2006) nessas concentrações também foram verificadas em provas de ultramaratona. Apesar das diferentes respostas apresentadas na literatura, a elevação da contagem de plaquetas (i.e., trombocitose) observada em nosso estudo é classicamente observada após exercícios extenuantes e está associada possivelmente a aumentos nas concentrações de catecolaminas circulantes e no prejuízo endotelial causado pelo *shear stress* (SMITH et al., 2003; EL SAYED et al., 2004; RIBEIRO, OLIVEIRA, 2005).

Estendendo os observados recentes de Waśkiewicz et al. (2012) nos quais os valores de leucócitos, neutrófilos, monócitos, CRP e interleucina-6 estiveram positivamente correlacionados com a distância percorrida em ultramaratona de 24h, nós encontramos que os valores pós-prova de leucócitos e neutrófilos foram positivamente correlacionados com velocidade média e % CV em que os atletas percorreram a prova bem como negativamente correlacionados com o tempo de pausa dos atletas.

A maior parte das investigações científicas discutidas aqui teve o propósito de estudar os mecanismos envolvidos nas respostas inflamatórias e hematológicas e, muitas vezes, suas possíveis interações com o prejuízo muscular e o estresse oxidativo e, para tanto, utilizaram as provas de ultramaratonas com distância similar à '*Brazil 135 Ultramarathon*' como modelo de estresse fisiológico.

Interessantemente, baseados na premissa de que essas respostas podem estar entre os fatores fisiológicos determinantes da *performance* em ultramaratona (MILLET et al, 2012), nossos dados mostram que os atletas com maiores valores de células inflamatórias estiveram entre os que apresentaram uma melhor *performance* na 'Brazil 135 Ultramarathon', sugerindo que possivelmente tais atletas estejam sendo capazes de tolerar uma condição inflamatória mais exacerbada.

Em conclusão, nossos resultados fortalecem que a inflamação local e sistêmica é exacerbada e as células vermelhas são mantidas pós-prova bem como eles denotam que maiores valores de células brancas apresentaram-se relacionados com uma maior *performance* em ultramaratona de 217 km.

**Apoio financeiro:** CAPES, CNPq (305650/2009-2), FAPESP (2009/08535-5).

## REFERÊNCIAS

BADWATER ULTRAMARATHON. Disponível em <http://www.badwater.com>. Acesso em abril, 2012.

BRAZIL 135 ULTRAMARATHON. Disponível em <http://www.brazil135.com.br>. Acesso em abril, 2012.

COPA BRASIL ULTRA. Disponível em <http://www.brasilultramaratona.com.br>. Acesso em abril, 2012.

DU CLOS, T.W.; MOLD, C. C-reactive protein: an activator of innate immunity and a modulator of adaptive immunity. **Immunol Res**, v.30, n.3, p.261-277, 2004.

EL-SAYED, M.S.; EL-SAYED ALI, Z.; AHMADIZAD, S. Exercise and training effects on blood haemostasis in health and disease: an update. **Sports Med**, v. 34, n. 3, p.181-200, 2004.

HOFFMAN, M.D. Performance trends in 161-km ultramarathons. **Int J Sports Med**, v.31, n.1, p.31-37, 2010.

HOFFMAN, M.D.; INGWERSON, J.L.; ROGERS, I.R.; HEW-BUTLER, T.; STUEMPFLE, K.J. Increasing creatine kinase concentrations at the 161-km

Western States Endurance Run. **Wilderness Environ Med.** v. 23, n.1, p.56-60, 2012.

KIM, H.J.; LEE, Y.L.; KIM, C.K. Biomarkers of muscle and cartilage damage and inflammation during a 200 km run. **Eur J Appl Physiol**, v. 99, n.4, p.443–447, 2007.

KRANENBURG, K.J., SMITH, D.J. Comparison of critical speed determined from track running and treadmill tests in elite runners. **Med Sci Sports Exerc**, v. 28, p.614–618, 1996.

MARGELI, A.; SKENDERI, K.; TSIRONI, M.; HANTZI, E.; MATALAS, A-L.; VRETTOU, C.; KANAVAKIS, E.; CHROUSOS, G.; PAPASSOTIRIOU, I. Dramatic Elevations of Interleukin-6 and Acute-Phase Reactants in Athletes Participating in the Ultradistance Foot Race Spartathlon: Severe Systemic Inflammation and Lipid and Lipoprotein Changes in Protracted Exercise. **J Clin Endocrinol Metab**, v.90: p. 3914–3918, 2005.

MILLET, G.Y.; HOFFMAN, M.D.; MORIN, J.B. Sacrificing economy to improve running performance—a reality in the ultramarathon? **J Appl Physiol**, Article in press, 2012. doi:10.1152/jappphysiol.00016.2012.

MORTENSEN, R.F. C-reactive protein, inflammation, and innate immunity. **Immunol Res**, v. 24, n. 2, p.163-176, 2001.

NIEMAN, D.C.; DUMKE, C.I.; HENSON, D.A.; MCANULTY, S.R.; MCANULTY, L.S.; LIND, R.H.; MORROW, J.D. Immune and oxidative changes during and following the Western States Endurance Run. **Int J Sports Med**, v. 24, n.7, p. 541-547, 2003.

NIEMAN, D.C.; DUMKE, C.L.; HENSON, D.A.; MCANULTY, S.R.; GROSS, S.J.; LIND, R.H. Muscle damage is linked to cytokine changes following a 160 km running race. **Brain Behav Immun**, v.19, n. 5, p. 398-403, 2005.

NIEMAN, D.C.; HENSON, D.A.; DUMKE, C.L.; OLEY, K.; MCANULTY, S.R.; DAVIS, J.M.; MURPHY, E.A.; UTTER, A.C.; LIND, R.H.; MCANULTY, L.S.; MORROW, J.D. Ibuprofen use, endotoxemia, inflammation, and plasma cytokines during ultramarathon competition. **Brain Behav Immun**, v. 20, n.6, p.578-584, 2006.

NIEMAN, D.C.; HENSON, D.A.; DAVIS, J.M.; DUMKE, C.L.; GROSS, S.J.; JENKINS, D.P.; MURPHY, E.A.; CARMICHAEL, M.D.; QUINDRY, J.C.; MCANULTY, S.R.; MCANULTY, L.S.; UTTER, A.C.; MAYER E.P. Quercetin Ingestion Does Not Alter Cytokine Changes in Athletes Competing in the Western States Endurance Run. **J Interferon Cytokine Res.**, v. 27, n.12, p.1003-1012, 2007.

OHIRA, Y.; ITO, A.; IKAWA, S. Correction of water content and solute concentration in blood during hemoconcentration. **J Appl Physiol**, v.42, n.5, p.739-743, 1977.

PAPASSOTIRIOU, I.; ALEXIOU, V.G.; TSIRONI, M.; SKENDERI, K.; SPANOS, A.; FALAGAS, M.E. Severe aseptic inflammation caused by long distance running (246 km) does not increase procalcitonin. **Eur J Clin Invest**, v. 38, n.4, p. 276–279, 2008.

PEDERSEN, B.K.; HOFFMAN-GOETZ, L. Exercise and the immune system: regulation, integration, and adaptation. **Physiol Rev**, v. 80, n. 3, p.1055-1081, 2000.

RIBEIRO, J.R.; OLIVEIRA, A.R. Efeitos do exercício e do treinamento físico na hemostasia. **Rev Bras Hematol Hemoter**, v.27, n.3, p.213-220, 2005.

ROBACH, P.; BOISSON, R.C.; VINCENT, L.; LUNDBY, C.; MOUTEREAU, S.; GERGELÉ, L.; MICHEL, N.; DUTHIL, E.; FÉASSON, L.; MILLET, G.Y. Hemolysis induced by an extreme mountain ultra-marathon is not associated with a decrease in total red blood cell volume. **Scand J Med Sci Sports** Article in press, doi: 10.1111/j.1600-0838.2012.01481.x., 2012.

ROTH, H.J.; LEITHÄUSER, R.M.; DOPPELMAYR, H.; DOPPELMAYR, M.; FINKERNAGEL, H.; VON DUVILLARD, S.P.; KORFF, S.; KATUS, H.A.; GIANNITSIS, E.; BENEKE, R. Cardiospecificity of the 3rd generation cardiac troponin T assay during and after a 216 km ultra-endurance marathon run in Death Valley. **Clin Res Cardiol**, v. 96, n.6, p. 359–364, 2007.

SKENDERI, K.P.; KAVOURAS, S.A.; ANASTASIOU, C.A.; YIANNAKOURIS N.; MATALAS, A.. Exertional rhabdomyolysis during a 246-km continuous running race. **Med Sci Sports Exerc**, v. 38, n.6, p.1054-1057, 2006.

SMITH, J.E. Effects of strenuous exercise on haemostasis. **Br J Sports Med**, v.37, n.5, p.433-5, 2003.

SILVA, F.O.C.; MACEDO, D.V. Physical exercise, inflammatory process and adaptive condition: an overview. **Rev. Bras. Cineantropom. Desempenho Hum.** v.13, n. 4, p. 320-328, 2011.

YUSOF, A.; LEITHAUSER, R.M.; ROTH H.J., FINKERNAGEL H, WILSON MT, BENEKE R. Exercise-induced hemolysis is caused by protein modification and most evident during the early phase of an ultraendurance race. **J Appl Physiol**; v.102, n.2, p. 582–586, 2007.

WAŚKIEWICZ, Z.; KŁAPCIŃSKA, B.; SADOWSKA-KRĘPA, E.; CZUBA, M.; KEMPA, K.; KIMSA, E.; GERASIMUK, D. Acute metabolic responses to a 24-h ultra-marathon race in male amateur runners. **Eur J Appl Physiol**, v.112, n.5, p.1679-1688, 2012.

WEGELIN, J.A.; HOFFMAN, M.D. Variables associated with odds of finishing and finish time in a 161-km ultramarathon. **Eur J Appl Physiol**, v.111, p.145–153, 2011.

WU, H.J.; CHEN, K.T.; SHEE, B.W.; CHANG, H.C.; HUANG, Y.J.; YANG, R.S. Effects of 24 h ultra-marathon on biochemical and hematological parameters. **World J Gastroenterol**, v.10, n.18, p.2711-2714, 2004.

## 6.2 Estudo 2

BELLI, T.; MACEDO, D.V.; ARAÚJO, G.G.; REIS, I.G.M.; ACKERMANN, M.A.; NUNES, L.A.S.; LAZARIM, F.L.; BREZIKOFER, R.; GOBATTO, C.A. Muscle damage, antioxidant responses and performance during 217-km mountain foot race.

### ABSTRACT

**Objective:** The aim of this study was analyzed muscle damage and antioxidant biomarkers in athletes during 217-km ultramarathon. Moreover, we hypothesized that these biomarkers would be correlated to exercise performance and training status during this mountain foot race.

**Methods:** Eleven athletes (42.6±6.2 years; 170.4±1.9 cm height; 70.7±3.1 kg body weight; 16±3 years of race training; 122±18km/week of training volume) individually determined the critical velocity (CV) one week before the competition and had blood samples collected as well as they reported muscle soreness at baseline, 84, 177 and 217-km of the race. Race and pause time were obtained by official race reports.

**Results:** The volunteers completed the race in 46.6±3.1h, 4.9±0.3km/h corresponding to 34.5±1.9% of CV and took 3.7±0.9h of pause time. Creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and albumin increased significantly ( $P<0.05$ ) during the race compared to baseline. Additional increases ( $P<0.05$ ) in CK, LDH and AST were observed at 177 and 217-km compared to 84-km. Catalase (CAT), glutathione reductase (GR) and urate did not change ( $P>0.05$ ) throughout the race. Muscular soreness increases during the race compared to baseline ( $P<0.05$ ). CK, LDH, AST and ALT at 217-km were positively correlated with running velocity ( $R=0.68$  to  $0.83$ ,  $P<0.05$ ) and inversely correlated with pause time ( $R=-0.63$  to  $-0.74$ ;  $P<0.05$ ). Muscle soreness at 177-km correlated to velocities performed between 177 and 217-km, expressed such absolute as expressed at % CV ( $R=-0.92$  to  $-0.95$ ,  $R^2=0.84$  to  $0.93$ ,  $P<0.05$ ). Furthermore, relationships were observed between GR at baseline and both kilometers running per week ( $R=0.70$ ,  $P<0.05$ ) and pause time during the race ( $R=-0.68$ ,  $P<0.05$ ).

**Conclusions:** This investigation suggests that participants of 217-km mountain foot race had highest increases in muscle damage enzymes in the last 40-km of competition and presented elevated albumin level during the race, a serum non-enzymatic antioxidant. Interestingly, higher muscle damage enzymes were related to better performance, higher muscle soreness could be able to impair the performance and elevated antioxidant enzyme activity were found in subjects that performed high training volume and lower pause time during 217-km mountain foot race.

**Key words:** ultramarathon, muscle damage, antioxidants, performance

## INTRODUCTION

Strenuous exercise can result in skeletal muscle damage, characterized by microtraumas at the level of sarcomere and sarcolemma, possibly triggered by mechanical stress, inflammatory response and oxidative stress. These microtraumas can be evidenced by elevated blood levels of muscle proteins (i.e., creatine kinase, lactate dehydrogenase, aminotransferases and myoglobin) and muscle soreness as well as they can trigger acute renal failure during extreme exercise (CLARKSON, SAYERS, 1999; CHEUNG et al., 2003; BANFI et al., 2012; LEWIS et al., 2012).

Furthermore, prolonged exercise is associated to increases in oxygen consumption and consequent generation of reactive oxygen species (ROS). ROS can induce oxidation on lipids, proteins and DNA, resulting possibly in degeneration of membrane structure and loss of membrane protein function. However, at the same time as aerobic metabolism produces ROS, antioxidant defense mechanisms are also activated during exercise. Antioxidant capacity is characterized by a complex system composed by several antioxidant enzymes (i.e, superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase) as well as by nonenzymatic antioxidants (i.e., uric acid, bilirubin, albumin, etc) (FINAUD et al., 2006; POWERS, JACKSON, 2008).

Therefore, researchers have found increase in serum levels of muscle damage enzymes (WU et al., 2004, NIEMAN et al., 2005, NIEMAN et al., 2006, SKENDERI et al. 2006, NIEMAN et al., 2007; DUMKE et al., 2007, KIM et al. 2007, ROTH et al., 2007, WAŚKIEWICZ et al., 2012), in plasmatic creatinine concentration (a biomarker of renal function) (DUMKE et al., 2007) and in muscle soreness (NIEMAN et al., 2005, NIEMAN et al., 2006) as well as changes in lipid oxidation and in constituents of antioxidant defense mechanism (NIEMAN et al., 2003; WU et al.,

2004; SCHULPIS et al., 2007; DUMKE et al., 2007; SKENDERI et al., 2008) after ultramarathon races from 160 to 246-km.

Muscle damage induces decreased joint range of motion, muscle shortening velocity, altered fatigability and prolonged strength loss (WARREN et al., 2001), while, antioxidant defense may control oxidative stress and consequently to prevent peroxidative damages (SKENDERI et al., 2008), thus, both could be triggering impact on very prolonged exercise performance. Furthermore, Millet et al. (2012) proposed recently that minimizing tissue damage can be crucial to performance in ultramarathon races.

However, in spite of to be known that muscle damage (ARMSTRONG, 1986; BRANCACCIO et al., 2007) and antioxidant capacity (AGUILÓ et al., 2007) are associated to exercise intensity and training status in endurance and cycling ultraendurance competitions, these relationships were slightly studied in ultraendurance foot races (NIEMAN et al., 2005; SKENDERI et al., 2006; HOFFMAN et al., 2012; WAŚKIEWICZ et al. 2012).

Thus, in addition to verify muscle damage and antioxidant biomarkers, we hypothesized that these indicators would be correlated to exercise performance and training status in ultramarathon athletes during a 217-km mountain foot race.

## **METHODS**

### **Subjects and race description**

First, from 59 participants in the 'Brazil 135 Ultramarathon', 16 volunteered for this study. However, 11 volunteers (10 men and 1 woman) were able to conclude the race, among 42 finishers in this competition, and were considered subjects in this research. Subject's characteristics at baseline are presented on Table



1. This study was approved by the São Paulo State University Ethics Committee for Research (n° 037/2008) and written informed consent was obtained from each athlete prior to study participation.

The 'Brazil 135 Ultramarathon' is the Mountain Race of the 'BAD 135 World Cup', which takes place in the Mantiqueira Mountains of southern Minas Gerais-Brazil. This foot race consists of 217-km (135 miles) on dirt roads on the hardest segment of the Way of Faith Pilgrimage Route. The total altitude gain and loss during the race has been estimated at 9.6km and 10km, respectively (Figure 1). Thus, it is considered as one of the most difficult ultra endurance races in Brazil. The 2009 race started at Poços de Caldas (1304m altitude) at 08:00 am, and runners must reach the finish line, in Paraisópolis (927m altitude), within 60 hours to be considered an official finisher. Ambient temperatures range from 8 to 30°C.

Table 1: Subjects characteristics (n=11)

Age (years)	42.6 ± 6.2
Height (cm)	170.4 ± 1.9
Body mass (kg)	70.7 ± 3.1
Body mass index (kg(m <sup>2</sup> ) <sup>-1</sup> )	24.2 ± 0.7
Running history (years)	16 ± 3
Running distance (km/week)	122 ± 18
Ultramarathons raced (number)	12 ± 5
Critical velocity (km/h)	13.3 ± 0.6

## Research design

One week before the competition the athletes had determined the critical velocity (CV). The afternoon before starts the race, five hours post prandial, the subjects were submitted to anthropometrics evaluations, soreness assessment, provided blood samples and filled in a questionnaire on basic demographic and

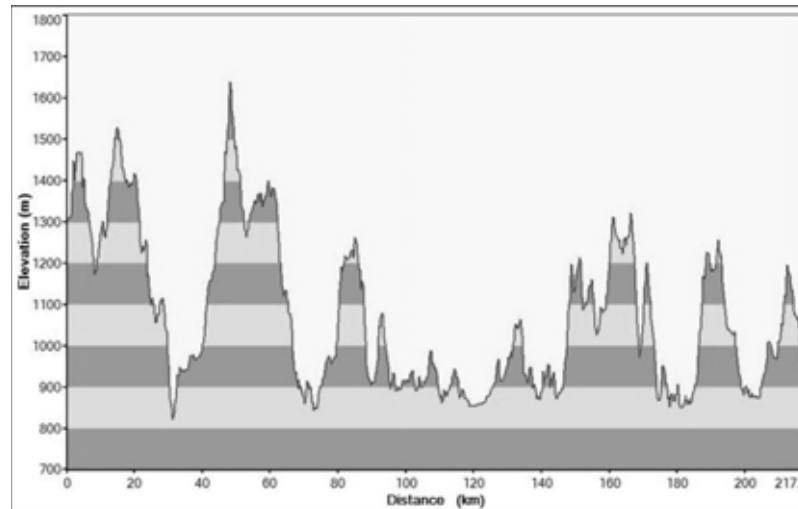


Figure 1: Elevation profile throughout the 'Brazil 135 Ultramarathon' route.

training history. On race days, blood samples to posterior biochemical analysis as well as soreness assessment were obtained within 10 minutes of the athlete to have reached 84, 177 and 217-km. Race and pause time were took by official race reports. Voluntaries could eat and drink *ad libitum* during the race.

#### Critical velocity

One week before the competition and in subsequent days, the athletes individually determined the CV from 4 maximal running of 800, 1200, 1600, 2000m performed randomly. So, the CV was determined by the angular coefficient of the linear fit of distance versus running time. (KRANENBURG, SMITH, 1996).

#### Anthropometric assessment

Being subject's without shoes and using light clothes, body mass was assessed by weighing-machine (Welmy®), while height was accessed using a calibrated stadiometer (Filizzola®, Brazil). Body mass index was calculated as body mass divided by height squared.

## Biochemical analysis

Venipuncture was performed by a certified nurse before and during the race. Eight milliliters blood samples for biochemical assay were collected into tubes with coagulation enhancer and splitting gel (Vacurette, Greiner Bio-One®) and immediately centrifuged (3000xg; 10 min). Blood serum was aliquoted and stored in liquid nitrogen for later analysis. Biochemical analyses were performed in an automatic device (Autolab 18 – Boehringer Mannheim®) for creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), urate, creatinine, total proteins and albumin (Wiener kits®). Additional 4 mL blood samples were taken in tubes containing heparin, centrifuged (3000xg; 10 min) and plasma removed. Thereafter, erythrocytes were washed three times in 0.9%NaCl by centrifugation at 1000g for 7min. Washed erythrocytes were lysed 1:1 (v/v) with double distilled water and stored in liquid nitrogen until the determination of catalase (CAT) and glutathione reductase (GR) activities. The hemolysate was diluted 1:20 in 0.2M phosphate buffer, pH 7.4 before assaying. All enzyme assays were performed in triplicate, according to the following methods. CAT (EC 1.11.1.6) activity was measured in 50mM phosphate buffer (pH 7.0) by monitoring the decrease in absorbance at 240nm for 30 s after the addition of 10mM hydrogen peroxide (DU-640 Beckmann UV-VIS®). One unit of CAT activity is the amount of enzyme that decomposes 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> per min at 25°C (AEBI, 1984). GR (EC 1.6.4.2) activity was measured in a 0.2M phosphate buffer (pH 7.4) containing 1mM EDTA, 2mM NADPH and 3mM DTNB. To start the reaction 20mM oxidized glutathione (GSSG) was added into the cuvette and the absorbance was followed at 412nm for 3 min (DU-640 Beckmann UV-VIS®) (SMITH et al., 1988). The

haemoglobin concentration in the hemolysate was measured by Drabkin method (BEUTLER, 1975).

#### Soreness assessment

Runners were asked to supply a number that best described any general feeling of painful, sore, aching muscles using a 10-point Likert scale (10-LS) (SMITH et al., 1993) [23]: 1(no soreness), 2.5 (dull, vague ache), 4 (slight soreness), 5.5 (more than slight soreness), 7 (sore), 8.5 (very sore), and 10 (unbearably sore) as well as through the Faces Pain Scale – Revised (FPS-R) (Figure 2) (HICKS et al., 2001).

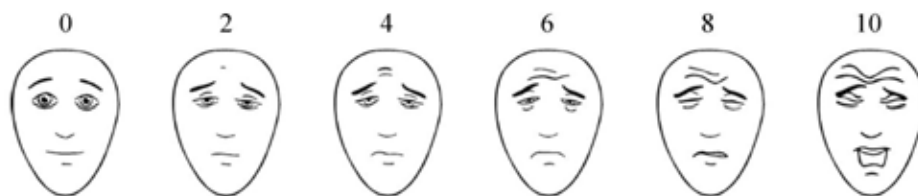


Figure 2: The Faces Pain Scale –Revised (HICKS et al., 2001)

#### Statistical analysis

Statistical analysis was carried out using a statistical software package (Statistic 7.0, Statsoft, Tulsa, USA). Mean and standard error of mean (SEM) were calculated for all studied variables. Normal distribution and homogeneity of the data were verified by the Shapiro-Wilk and Levene's tests, respectively, and before using parametric analysis CK, LDH, AST and ALT were log transformed. Repeated measures analysis of variances (ANOVA) was used to investigate data comparisons, being Greenhouse-Geisser correction applied if violation of sphericity was pointed by Mauchly's test. Soreness data were analysed using a 2 x 4 ANOVA (scale x distance). Scheffè *post hoc* test was performed when appropriate. Pearson's correlation coefficient was used for analyzing relationships. Statistical significance was set at  $P < 0.05$  in all cases.

## RESULTS

The subjects completed the race in  $46.6 \pm 3.1$ h, an average at  $4.9 \pm 0.3$  km/h corresponding to  $34.5 \pm 1.9$  % of CV and took  $3.7 \pm 0.9$  h of pause time. Significant ( $P < 0.05$ ) highest velocities, such absolute as expressed at % CV, were performed from 0 to 84-km while pause times were similar over the race (Table 2). Concerning determination of CV, the maximal running efforts were performed between 2 and 10 min of duration and the model provided an excellent fit to the data ( $R^2 = 0.97- 0.99$ ).

Table 2: Intensity and pause during the race (n=11)

	0-84-km	84-177-km	177-217-km	ANOVA
Velocity (km/h)	$6.2 \pm 0.5$	$4.2 \pm 0.3^a$	$4.8 \pm 0.4^a$	$F_{(2, 20)}=37.762, P<0.0001$
Velocity (% CV)	$44.7 \pm 2.8$	$29.9 \pm 1.9^b$	$31.1 \pm 2.2^b$	$F_{(2, 20)}=24.695, P=0.0001$
Pause time (h)	$1.5 \pm 0.4$	$1.0 \pm 0.4$	$1.2 \pm 0.4$	$F_{(1,24,12,34)}=0.5739, P=0.49^*$

*Post-hoc test:* a:  $P < 0.0001$ , b:  $P < 0.001$  compared to 0-84-km

\* Greenhouse-Geisser correction applied since violation of sphericity was pointed by Mauchly's test  
CV= critical velocity

In addition to baseline, all volunteers had assessments at finish line, while six males of these were evaluated in all proposed moments at race. All blood serum analysis results were corrected for changes in plasma volume estimated using the total serum protein based on the method described by Ohira et al. (1977).

In spite of CAT, GR activities and urate level did not change ( $P > 0.05$ ) throughout the race, significant ( $P < 0.05$ ) higher levels were observed for CK, LDH, AST and creatinine in every evaluation at race as well as for ALT and albumin at 177 and 217-km compared to baseline. Furthermore, additional increases ( $P < 0.05$ ) in CK, LDH and AST were observed at 177 and 217-km compared to 84-km (Table 3).

A significant distance effect ( $P = 0.004$ ) was observed for muscular soreness, with post hoc showing higher levels after all assessments throughout the

Table 3: Serum and erythrocyte biochemical analysis at baseline and during the race (n=6)

	Baseline	84km	177km	217km	ANOVA
Creatine kinase (U/L)	132 ± 18	3,988 ± 1004 <sup>a</sup>	18,667 ± 10,664 <sup>a,e</sup>	19,157 ± 12,369 <sup>a,e</sup>	F <sub>(3, 15)</sub> =105.55, P<0.0001
Lactate dehydrogenase (U/L)	372 ± 66	677 ± 80 <sup>c</sup>	2,026 ± 671 <sup>a,d</sup>	1,986 ± 686 <sup>a,d</sup>	F <sub>(3, 15)</sub> =27.062, P<0.0001
Aspartate aminotransferase (U/L)	28 ± 3	109 ± 13 <sup>b</sup>	676 ± 405 <sup>a,e</sup>	668 ± 406 <sup>a,e</sup>	F <sub>(1,09, 5,48)</sub> =26.977, P=0.002*
Alanine aminotransferase (U/L)	34 ± 6	53 ± 7	148 ± 49 <sup>b</sup>	169 ± 72 <sup>b</sup>	F <sub>(1,07, 5,33)</sub> =10.409, P=0.02*
Catalase(k/gHb/s)	0.42 ± 0.04	0.43 ± 0.04	0.43 ± 0.03	0.37 ± 0.03	F <sub>(3, 15)</sub> =0.86107, P=0.48
Glutathione Reductase (U/gHb/min)	5.7 ± 0.4	7.6 ± 1.2	7.4 ± 0.8	5.8 ± 0.4	F <sub>(3, 15)</sub> =2.3349, P=0.11
Urate (mg/dL)	4.63 ± 0.36	5.63 ± 0.47	5.16 ± 0.55	5.42 ± 0.58	F <sub>(3, 15)</sub> =1.0854, P=0.38
Albumin (g/dL)	3.95 ± 0.09	4.23 ± 0.06	4.54 ± 0.07 <sup>b</sup>	4.43 ± 0.09 <sup>c</sup>	F <sub>(3, 15)</sub> =8.6126, P=0.001
Creatinine (mg/dL)	0.99 ± 0.03	1.34 ± 0.10 <sup>c</sup>	1.27 ± 0.07 <sup>c</sup>	1.32 ± 0.07 <sup>c</sup>	F <sub>(3, 15)</sub> =7.0693, P=0.003
Total protein (g/dL)	6.68 ± 0.09	7.22 ± 0.14	6.98 ± 0.11	7.25 ± 0.29	F <sub>(3, 15)</sub> =2.8861, P=0.07

Post-hoc test: a:P<0.0001, b: P<0.01, c: P<0.05 compared to baseline; d: P<0.01, e:P<0.05 compared to 84km

\* Greenhouse-Geisser correction applied since violation of sphericity was pointed by Mauchly's test

race (average: 10-LS =  $5.3 \pm 0.5$ ; FPS-R =  $3.9 \pm 0.5$ ) compared to baseline (“no soreness”). Moreover, no significant scale effect ( $P=0.14$ ) or scale x distance interaction ( $P=0.81$ ) were observed, while high significant relationship ( $R=0.86$ ,  $R^2=0.74$ ,  $P<0.0001$ ) were found between scales.

Post race tissue damage enzymes were positively correlated with running velocity over the race (Figure 3) and inversely correlated with pause time over the race (Figure 4). Muscle soreness at 177-km (10-LS =  $6.1 \pm 0.8$ , FPS-R =  $4.9 \pm 1.0$ ) correlated to velocities performed between 177 and 217-km, expressed such absolute as expressed at % CV ( $R = -0.92$  to  $-0.95$ ,  $R^2=0.84$  to  $0.93$ ,  $P<0.05$ ). Furthermore, relationships were observed between GR at baseline and both kilometers running per week ( $R = 0.70$ ,  $R^2=0.50$ ,  $P=0.01$ ) and pause time during the race ( $R= -0.68$ ,  $R^2=0.47$ ,  $P=0.02$ ).

## **DISCUSSION**

The main findings of present study were that participants of 217-km mountain foot race had highest increases in muscle damage enzymes in the last 40-km of competition and presented elevated muscle soreness and creatinine levels during the race. Furthermore, while antioxidant enzymes activities and urate levels were maintained, albumin level was elevated throughout the race. Regarding relationships hypothesized, post race muscle damage enzymes were positively related to running velocity and negatively related to pause time whereas muscle soreness at 177-km correlated negatively to velocities performed between 177 and 217-km. In addition, GR at baseline were positively correlated to training volume and negatively related to pause time during the race.

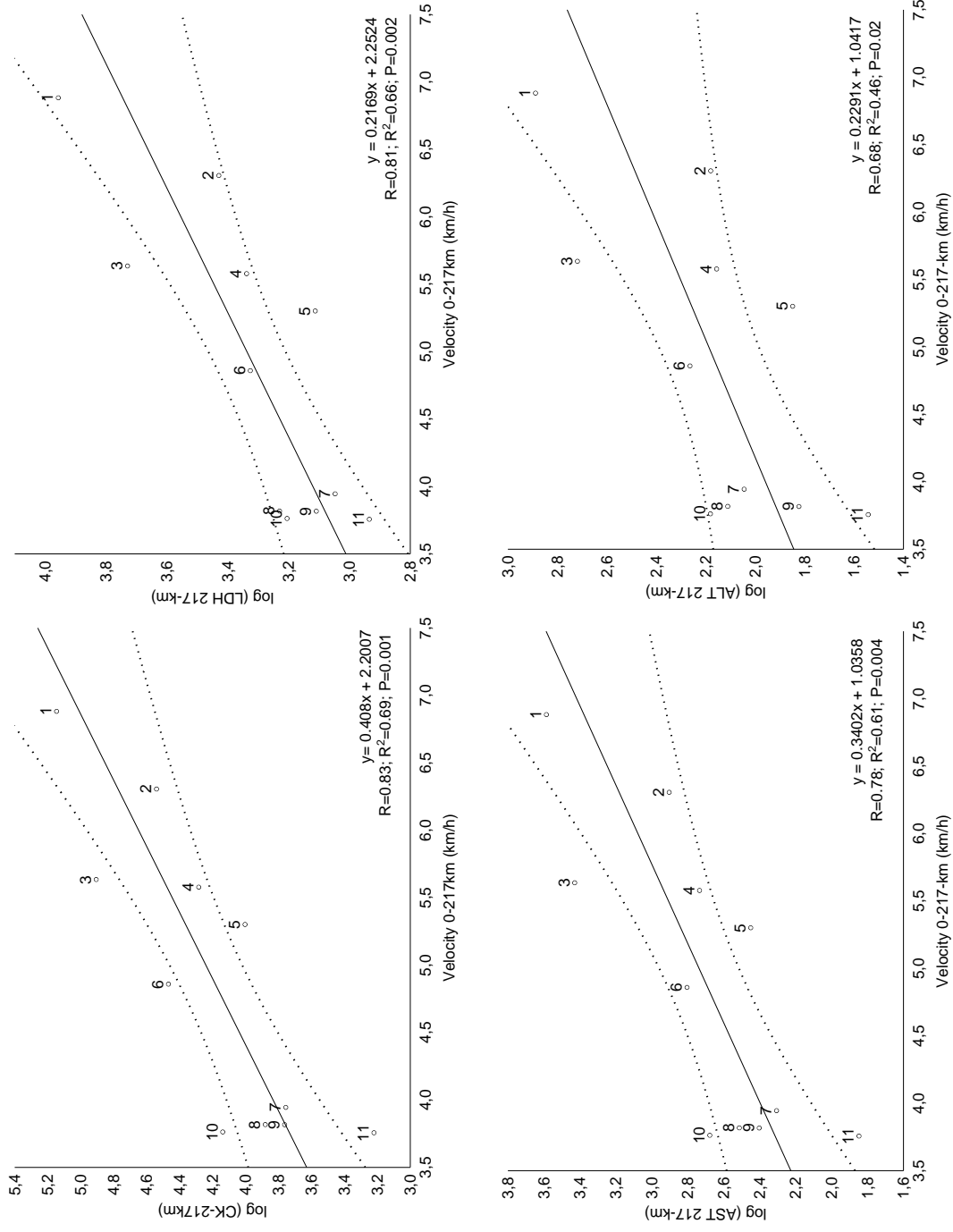


Figure 3: Relationship between tissue damage (CK, LDH, AST, ALT) at 217km and velocity 0-217-km. Fit linear (solid line) and 95% confidence interval (dashed line). Numbers denote the arrivals sequence of volunteers at 217km. n=11.



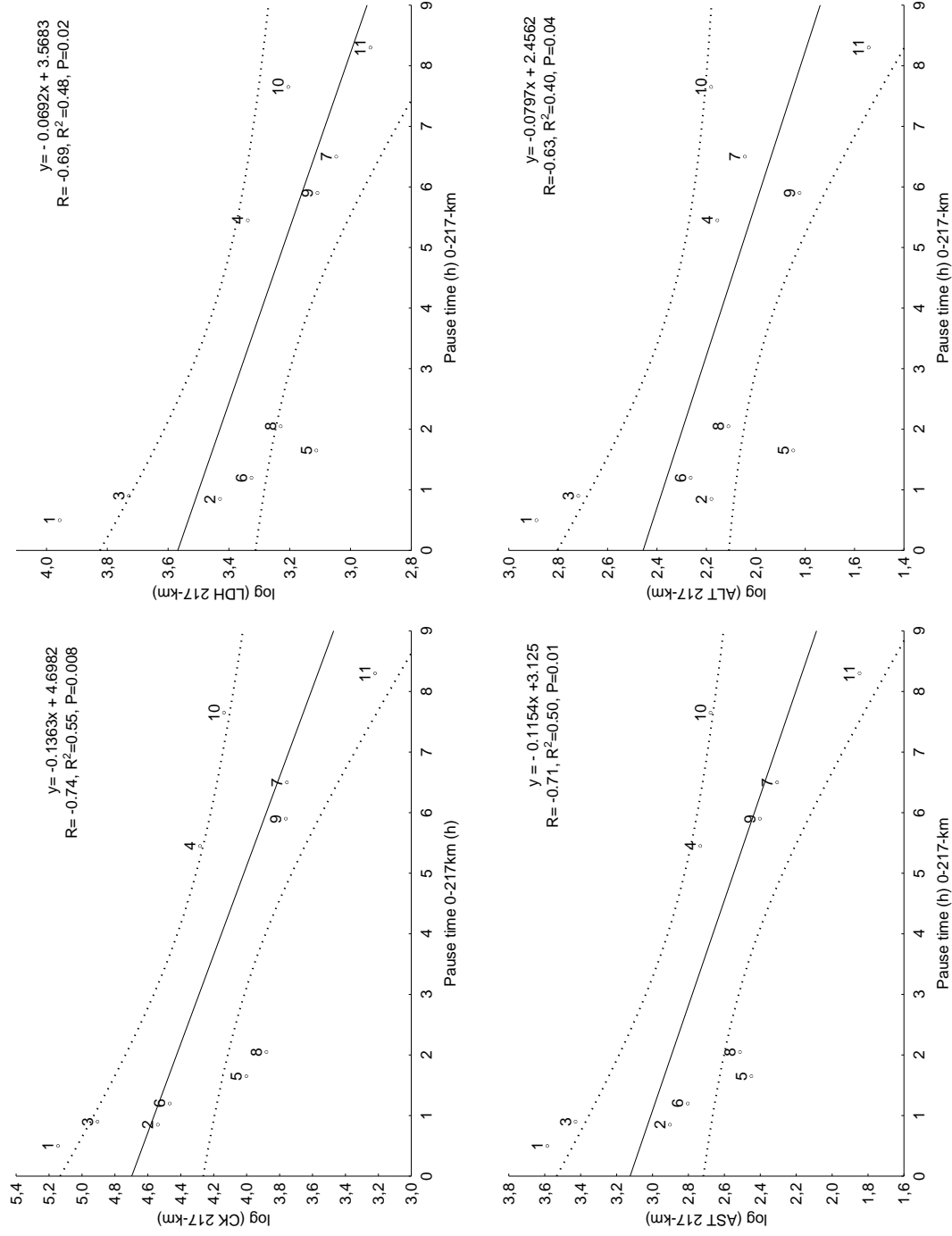


Figure 4: Relationship between tissue damage (CK, LDH, AST, ALT) at 217km and pause time 0-217-km. Fit linear (solid line) and 95% confidence interval (dashed line). Numbers denote the arrivals sequence of volunteers at 217km. n=11.

In spite of unfavorable environment at field research which could constitute a limitation of this study, proper pre-analytical condition for blood samples was ensured by moving laboratories adequately equipped. Therefore, two moments of evaluations were performed during the race, which allowed monitoring the kinetic of the variables studied.

Consequently, we observed that muscle damage enzymes rose in the initial 84-km and showed further increases in the 177-km, which was maintained up to 217-km. Although this kinetic had been little investigated in previous studies, our results agree with Kim et al. (2007) and Waśkiewicz et al. (2012) that found the greatest increase in these enzymes in the second half of the 200-km and 24h races, respectively. However, diverge to Roth et al. (2007) that observed the highest rise in CK since 84-km during 217-km race. Moreover, we observed percentages of increases post-race (14,412%; 433% and 2,285% for CK, LDH and AST, respectively) superior those found in the most of prior studies (WU et al., 2004, NIEMAN et al., 2005, NIEMAN et al., 2006, NIEMAN et al., 2007, KIM et al. 2007, DUMKE et al., 2007, ROTH et al., 2007).

We could argue that further increases during the race as well as high levels post-race may be partially explained by superior amount of cumulative downhill (ESTON et al., 1995; BRANCACCIO, et al., 2007) at present study compared to aforementioned (9,600m vs. 0 to 6,700m). Nevertheless, diversity of air temperatures (-1 to 54oC), altitudes (sea level to 2,688m), exercise intensities (4.9 to 7.4km/h), exercise duration (24 to 46h) as well as races (Asiatic, Germany, etc.) and age of the athletes (41 to 52 years old) involved in these studies can also lead to divergent increases in these enzymes (NOAKES, 1987; BRANCACCIO et al., 2007).

Corroborating previous studies (KIM et al. 2007, WU et al., 2004, NIEMAN et al., 2006, SKENDERI et al., 2006, NIEMAN et al., 2007), increases at ALT post race (397%) was less dramatic compared to the others enzymes, thus indicating greater damage in skeletal muscle than in liver, since it is a more specific marker for hepatic injury. Moreover, similar to Dumke et al. (2007) we found high serum levels of creatinine at the race without exceeding its normal range (0.7-1.5mg/dl). Given that acute renal failure was not observed in athletes involved at present investigation, the increase observed can be attributed to elevated production of creatinine, since it is the end product of muscle creatine catabolism.

Delayed onset muscular soreness (DOMS), which can be induced by muscle damage and lead to significant alterations in exercise performance, peaks between 24 and 72h post-exercise (CHEUNG et al., 2003). Accordingly, the highest levels of DOMS were reported by athletes one day after 160-km race (NIEMAN et al., 2005; NIEMAN et al., 2006). Nevertheless, we observed muscular soreness already elevated during present competition possibly due the very long duration as well as large stretches of downhill involved at this race. In addition, although the Faces Pain Scale has been proposed to children (BIERI et al., 1990), it showed an useful tool to muscle pain assessment in adults, given specific conditions they were submitted at this race like sleep deprivation and extreme tiredness.

Erythrocyte antioxidants enzymes activities did not change over the race at present study. While the lack of studies at similar ultramarathon races involving these specific markers, we suppose that our results may be partially explained by reduction of erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase (G<sub>6</sub>PD) activity, priory reported post 246-km foot race (SCHULPIS et al., 2007), since it is the

main intracellular source of NADPH, which is required to GR mechanisms related to hydrogen peroxide scavenged (POWERS, JACKSON, 2008).

Regarding serum non-enzymatic antioxidants, corroborating prior study involving longer foot race performed at close intensity (FALLON et al., 1999), ours results showed that albumin rose while urate unchanged over the race. However, no change or decreases in albumin and increases in urate have been found post similar distance races performed at superior intensities (WU et al., 2004, DUMKE et al., 2007, SCHULPIS et al., 2007, SKENDERI et al., 2008). Thus, these divergences may be partially due to exercise intensity since it may influence albumin excretion (KRAMER et al., 1988) as well as it is a critical factor mediating rise in urate, whose production may increases from the purine nucleotide degradation during conditions of higher energy utilization (GREEN et al., 1988).

Albumin increases during the last 40-km of the present race is an important response since it is a multifunctional protein involved in several important physiological functions like transport of fatty acids, regulation of osmotic pressure and represents a major and predominant antioxidant in plasma through its multiple-binding sites and free radical-trapping properties (ROCHE et al., 2008).

Interestingly, we observed muscle damage and antioxidant defenses related to exercise parameters at present study. Thus, we found that greater levels of muscle damage enzymes post-race were correlated to higher running intensities and lower pause times. We also could highlight that the better classified athlete participant of this research, running at the highest mean velocity (6.9km/h) and the lowest recovery time (0.5h), obtained dramatically high serum levels of muscle damage enzymes (139,908U/L; 9,058U/L; 3,853U/L and 773 U/L for CK, LDH, AST and ALT, respectively).

A recent research found positive relationships between CK, AST and ALT levels and distance covered during 24 h ultramarathon (WAŚKIEWICZ et al., 2012). However, the most of prior studies did not observe relationships between CK and race time in 160-km (NIEMAN et al., 2005; HOFFMAN et al., 2012) or 246-km (SKENDERI et al., 2006) foot races. We suppose that relationships were reached here due to the longer time limit to finish present race (60h vs 30-36h) and an ample range of performance levels of our volunteers leading to larger heterogeneous sample, which is supported by our wider range of race time (31.5 to 57.7h) compared to aforementioned races (19.1 to 30.4h and 25 to 36h).

In addition, soreness at 177-km was correlated inversely to running velocity from 177 to 217-km. This denotes that muscular pain already elevated during the race can be able to impair the performance during the last 40-km of the race, which is normally observed in DOMS occurring hours to some days after exercise (CHEUNG et al., 2003). On the other hand, extending findings of Evelo et al. (1992) that observed that running training induced increases in GR activity, we found that volunteers that run a higher training volume per week experienced elevated levels of GR pre-race, which were associated to lower pause times during the race.

Moreover, Gomez-Cabrera et al. (2008) and Finaud et al. (2006) reported that physical training constitutes a stimulus to induce upregulation of antioxidants enzymes, whereas, exercise practiced strenuously causes oxidative stress resulting in cell damage. Expanding this comprehension, taken relationships presented here together, the better antioxidant capacity was reached for high training volume and it allowed the athlete to run at inferior recovery periods during the race, however, this reduced pause time and intense exercise were involved at remarkable increases in muscle damage after 217-km foot race.

In summary, our data suggests that participants of 217-km ultramarathon had highest increases in muscle damage enzymes in the last 40-km of competition and presented elevated albumin level during the race, a serum non-enzymatic antioxidant. In addition, higher muscle damage enzymes were related to better performance, higher muscle soreness could be able to impair the performance and elevated antioxidant enzyme activity were found in subjects that performed high training volume and lower pause time during 217-km mountain foot race.

**FUNDING:** CAPES, CNPq (305650/2009-2), FAPESP (2009/08535-5).

## REFERENCES

AEBI, H. Catalase. In: PACKER, L., ed. **Methods in enzymology**. Orlando: Academic, p. 121-126, 1984.

AGUILÓ, A.; TAULER, P.; GUIX, M.P.; VILLA, G.; CÓRDOVA, A.; TUR, J.A.; PONS, A. Effect of exercise intensity and training on antioxidants and cholesterol profile in cyclists. **J Nutr Biochem**, v. 14, n.6, p. 319–325, 2003.

ARMSTRONG, R.B. Muscle damage and endurance events. **Sports Med**, v.3, n.5, p. 370-381, 1986.

BANFI, G.; COLOMBINI, A.; LOMBARDI, G.; LUBKOWSKA, A. Metabolic markers in sports medicine. **Adv Clin Chem**, v. 56, p.1-54, 2012.

BEUTLER, E. **Red cell metabolism: a manual of biochemical methods**. 2nd ed. London: Grune & Stratton, 1975.

BIERI, D.; REEVE, R.A.; CHAMPION, G.D.; ADDICOAT, L.; ZIEGLER, J.B. The Faces Pain Scale for the self-assessment of the severity of pain experienced children: Development, initial validation, and preliminary investigation for ratio scale properties. **Pain**, v. 41, n.2, p.139-150, 1990.

BRANCACCIO, P.; MAFFULLI, N.; LIMONGELLI, F.M. Creatine kinase monitoring in sport medicine. **Br Med Bull**; v. 81 and 82, n.1, p.209–230, 2007.

CHEUNG, K.; HUME, P.A.; MAXWELL, L. Delayed onset muscle soreness. Treatment strategies and performance factors. **Sports Med**, v. 33, n.2, p.145-164, 2003.

CLARKSON, P.M.; SAYERS, S.P. Etiology of exercise-induced muscle damage. **Can J Appl Physiol**, v.24, n.3, p.234-248, 1999.

DUMKE, C.L.; NIEMAN, D.C.; OLEY, K.; LIND, R.H. Ibuprofen does not affect serum electrolyte concentrations following an ultradistance run. **Br J Sports Med**, v. 41, n.8, p. 492-496, 2007.

ESTON, R.G.; MICKLEBOROUGH, J.; BALZOPoulos, V. Eccentric activation and muscle damage: biomechanical and physiological considerations during downhill running. **Br J Sports Med**, v.29, n.2, p.89-94, 1995.

EVELO, C.T.A.; PALMEN, N.G.M.; ARTUR, Y., JANSSEN, G.M. Changes in blood glutathione concentrations, and in erythrocyte glutathione reductase and glutathione S-transferase activity after running training and after participation in contests. **Eur J Appl Physiol**, v. 64, n.4, p. 354-358, 1992.

FALLON, K.E.; SIVYER, G.; SIVYER, K.; DARE, A. The biochemistry of runners in a 1600 km ultramarathon. **Br J Sports Med**, v. 33, n.4, p.264-269, 1999.

FINAUD, J.; LAC, G.; FILAIRE, E. Oxidative stress. Relationship with exercise and training. **Sports Med**, v. 36, n.4, p.327-358, 2006.

GOMEZ-CABRERA, M.C.; DOMENECH, E.; VIÑA, J. Moderate exercise is an antioxidant: Upregulation of antioxidant genes by training. **Free Radic Biol Med**, v. 44, n.2, p.126-131, 2008.

GREEN, H.J.; FRASER, I.G. Differential effects of exercise intensity on serum uric acid concentration. **Med Sci Sports Exerc**, v.20, n.1, p.55-59, 1988.

HICKS C.L.; VON BAEYER, C.L.; SPAFFORD, P.; VAN KORLAAR, I.; GOODENOUGH, B. The Faces Pain Scale – Revised: Toward a common metric in pediatric pain measurement. **Pain**, v. 93, p.173-183, 2001.

HOFFMAN, M.D.; INGWERSON, J.L.; ROGERS, I.R.; HEW-BUTLER, T.; STUEMPFLE, K.J. Increasing creatine kinase concentrations at the 161-km Western States Endurance Run. **Wilderness Environ Med**. v. 23, n.1, p.56-60, 2012.

KIM, H.J.; LEE, Y.L.; KIM, C.K. Biomarkers of muscle and cartilage damage and inflammation during a 200 km run. **Eur J Appl Physiol**, v. 99, n.4, p.443–447, 2007.

KRAMER, B.K.; KERNZ, M.; RESS, K.M.; PFOHL, M.; MULLER, G.A.; SCHMULLING, R.M.; RISLER, T. Influence of strenuous exercise on albumin excretion. **Clin Chem**, v.34, p.2516-2518, 1988.

KRANENBURG, K.J., SMITH, D.J. Comparison of critical speed determined from track running and treadmill tests in elite runners. **Med Sci Sports Exerc**, v. 28, p.614–618, 1996.

LEWIS, P.B.; RUBY, D.; BUSH-JOSEPH, C.A. Muscle soreness and delayed-onset muscle soreness. **Clin Sports Med**, v.31, p. 255–262, 2012.

MILLET, G.Y.; HOFFMAN, M.D.; MORIN, J.B. Sacrificing economy to improve running performance—a reality in the ultramarathon? **J Appl Physiol**, Article in press, 2012. doi:10.1152/jappphysiol.00016.2012.

NIEMAN, D.C.; DUMKE, C.I.; HENSON, D.A.; MCANULTY, S.R.; MCANULTY, L.S.; LIND, R.H.; MORROW, J.D. Immune and oxidative changes during and following the Western States Endurance Run. **Int J Sports Med**, v. 24, n.7, p. 541-547, 2003.

NIEMAN, D.C.; DUMKE, C.L.; HENSON, D.A.; MCANULTY, S.R.; GROSS, S.J.; LIND, R.H. Muscle damage is linked to cytokine changes following a 160 km running race. **Brain Behav Immun**, v.19, n. 5, p. 398-403, 2005.

NIEMAN, D.C.; HENSON, D.A.; DAVIS, J.M.; DUMKE, C.L.; GROSS, S.J.; JENKINS, D.P.; MURPHY, E.A.; CARMICHAEL, M.D.; QUINDRY, J.C.; MCANULTY, S.R.; MCANULTY, L.S.; UTTER, A.C.; MAYER, E.P. Quercetin Ingestion Does Not Alter Cytokine Changes in Athletes Competing in the Western States Endurance Run. **J Interferon Cytokine Res.**, v. 27, n.12, p.1003-1012, 2007.

NIEMAN, D.C.; HENSON, D.A.; DUMKE, C.L.; OLEY, K.; MCANULTY, S.R.; DAVIS, J.M.; MURPHY, E.A.; UTTER, A.C.; LIND, R.H.; MCANULTY, L.S.; MORROW, J.D. Ibuprofen use, endotoxemia, inflammation, and plasma cytokines during ultramarathon competition. **Brain Behav Immun**, v. 20, n.6, p.578-584, 2006.

NOAKES TD. Effect of exercise on serum enzyme activities in humans. **Sports Med**, v.4, n.4, p.245–267, 1987.

OHIRA, Y.; ITO, A.; IKAWA, S. Correction of water content and solute concentration in blood during hemoconcentration. **J Appl Physiol**, v.42, n.5, p.739-743, 1977.

POWERS, S.K.; JACKSON, M.J. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. **Physiol Rev**, v. 88, p.1243–1276, 2008.

ROCHE, M.; RONDEAU P, SINGH N R, TARNUS, E. BOURDON, E. The antioxidant properties of serum albumin. **FEBS Lett**, v. 582, n.13, p.1783-1787, 2008.

ROTH, H.J.; LEITHÄUSER, R.M.; DOPPELMAYR, H.; DOPPELMAYR, M.; FINKERNAGEL, H.; VON DUVILLARD, S.P.; KORFF, S.; KATUS, H.A.; GIANNITSIS, E.; BENEKE, R. Cardiospecificity of the 3rd generation cardiac troponin T assay during and after a 216 km ultra-endurance marathon run in Death Valley. **Clin Res Cardiol**, v. 96, n.6, p. 359–364, 2007.

SCHULPIS, K. H.; TSIRONI, M.; SKENDERI, K.; LAZAROPOULOU, C.; PARTHIMOS, N.; RECLOS, G.; GOUSSETIS, E.; TSAKIRIS, S.; PAPASSOTIRIOU, I. Dramatic reduction of erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in athletes participating in the ultradistance foot race "Spartathlon", **Scand J Clin Lab Invest**, v.68, n.3, p. 1-5, 2007.

SKENDERI, K.P.; KAVOURAS, S.A.; ANASTASIOU, C.A.; YIANNAKOURIS N.; MATALAS, A.. Exertional rhabdomyolysis during a 246-km continuous running race. **Med Sci Sports Exerc**, v. 38, n.6, p.1054-1057, 2006.



SKENDERI, K.P.; TSIRONI, M.; LAZAROPOULOU, C.; ANASTASIOU, C.A.; MATALAS, A-L.; KANAVAKI, I.; THALMANN, M.; GOUSSETIS, E.; PAPASSOTIRIOU I.; CHROUSOS, G.P. Changes in free radical generation and antioxidant capacity during ultramarathon foot race. **Eur J Clin Invest**, v.38, n.3, p.159–165, 2008.

SMITH IK, VIERHELLER TL, THORNE CA. Assay of glutathione reductase in crude tissue homogenates using 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid). **Anal Biochem**, v. 175, n.2, p.408-413, 1988.

SMITH, L.L.; BRUNETZ, M.H.; CHENIER, T.C.; McCAMMON, M.R.; HOUMARD, J.A.; FRANKLIN, M.E.; ISRAEL, R.G. The effects of static and ballistic stretching on delayed onset muscle soreness and creatine kinase. **Res Q Exerc Sport**, v.64, n.1, p.103-107, 1993.

WAŚKIEWICZ, Z.; KŁAPCIŃSKA, B.; SADOWSKA-KRĘPA, E.; CZUBA, M.; KEMPA, K.; KIMSA, E.; GERASIMUK, D. Acute metabolic responses to a 24-h ultra-marathon race in male amateur runners. **Eur J Appl Physiol**, v.112, n.5, p.1679-1688, 2012.

WARREN, G.L.; INGALLS, C.P.; LOWE,D.A.; ARMSTRONG, R.B. Excitation-contraction uncoupling: major role in contraction-induced muscle injury. **Exerc. Sports Sci. Rev.**, v.29, n.2, p.82-87, 2001.

WU, H.J.; CHEN, K.T.; SHEE, B.W.; CHANG, H.C.; HUANG, Y.J.; YANG, R.S. Effects of 24 h ultra-marathon on biochemical and hematological parameters. **World J Gastroenterol**, v.10, n.18, p.2711-2714, 2004.

### 6.3 Estudo 3

BELLI, T.; MEIRELES, C.L.S.; SCARIOT, P.P. M.; COSTA, M.O.; ACKERMANN, M.A.; GOBATTO, C.A. Constituição física, composição corporal e *performance* em ultramaratona de 217 km.

#### RESUMO

**Objetivo:** Caracterizar o somatotipo, analisar o comportamento da composição corporal durante a prova e verificar as possíveis relações entre estas medidas e a *performance* dos atletas em uma ultramaratona de 217 km.

**Métodos:** Dez homens (42,8±3,5 anos; 171,4±1,9 cm de estatura; 70,7±3,1 kg de massa corporal; 15±3 anos de treino de corrida; 118±20km/semana de volume de treinamento) determinaram a velocidade crítica (CV) uma semana antes da competição e foram submetidos à avaliações antropométricas antes, aos 84km e ao final da prova. O tempo de prova dos atletas foi obtido pelos relatórios oficiais da prova.

**Resultados:** Os voluntários completaram a prova em 46,8 ± 3,4h, com velocidade média de 4,9 ± 0,4 km/h (33,4 ± 1,8 % CV). Os valores de somatotipo corresponderam a 3,4 ± 0,4 para endomorfia, 4,9 ± 0,3 para mesomorfia e 1,7 ± 0,3 para ectomorfia. Massa corporal (BM), índice de massa corporal (BMI), massa magra (FFM) e circunferência peitoral reduziram (P < 0,05) aos 84 e 217 km comparados aos valores iniciais, enquanto a circunferência de braço reduziu (P < 0,05) ao final da prova comparada aos valores pré-prova e aos 84-km. Porcentagem de gordura corporal (%BF), massa gorda (FM), circunferências de cintura e coxa, e as dobras cutâneas peitoral, abdominal e de coxa não foram significativamente alterados (P> 0,05) ao longo da prova. Correlações significativas (P < 0,05) foram observadas entre a dobra cutânea de coxa (R= 0,79), a FM (R= 0,65) e a circunferência de cintura (R=0.64) avaliadas antes da prova e o tempo total de prova.

**Conclusões:** Os dados apresentados denotam que ultracorretores apresentaram somatotipo médio mesomorfo-endomórfico e reduções de BM, BMI, FFM, perímetro de peito e circunferência de braço após a prova. Além disso, sugerem que maiores valores pré prova de dobra cutânea de coxa, FM e circunferência de cintura estiveram relacionados à maior tempo de prova em ultramaratona nas montanhas de 217 km.

**Palavras-chave:** somatotipo, antropometria, ultramaratona, *performance*.

## INTRODUÇÃO

A constituição física ideal para um atleta depende do tipo de desporto praticado bem como da distância envolvida em determinados desportos. Dessa forma, tem sido suposto que maiores estoques de gordura podem fornecer um importante reservatório energético bem como uma maior massa muscular pode ser valiosa para se movimentar em terrenos e superfícies irregulares em provas de ultramaratona, características que não são necessárias e poderiam inclusive ter um impacto negativo em corridas envolvendo distâncias menores (HOFFMAN, 2008).

No entanto, apesar dessa suposição ser pertinente, apenas um estudo de caso verificou que a constituição física de um ultracoronador participante da *'Marathon Des Sables'* foi caracterizada por um somatotipo mesomorfo dominante (RYDER et al., 2004). O somatotipo é um parâmetro que expressa a constituição física do indivíduo em termos de forma e composição corporal. É constituído por três valores numerais representativos dos componentes físicos: endomorfia ou adiposidade, mesomorfia ou robustez osteomusculares, e ectomorfia ou linearidade (CARTER et al., 2005).

Além disso, um panorama inicial tem sido elucidado acerca do comportamento da composição corporal ao longo de provas de ultramaratona de 160 a 246 km. Neste sentido, enquanto alguns estudos observaram manutenção na massa corporal (BM) em ultracoronadores (NIEMAN et al., 2003; NIEMAN et al., 2005 e NIEMAN et al., 2006) outros encontraram redução nesses valores (SKENDERI et al., 2006, KAO et al., 2008, ZOUHAL et al., 2009) acompanhados de diminuição de massa magra (FFM) e massa gorda (FM) (ZOUHAL et al., 2009).

Classicamente a avaliação de mudanças na BM fornece um dos índices mais simples e precisos de estado de hidratação durante exercício físico

(ARMSTRONG, 2007), no entanto, parece que quando uma diminuição na BM é observada em provas dessa natureza possivelmente esta não ocorra apenas devido à desidratação, mas também devido à diminuição de FFM e FM (KNECHTLE et al., 2012).

Recentemente tem sido proposto que enquanto estratégias para minimizar o custo energético de locomoção sejam fundamentais para eventos de corrida até a distância de uma maratona, minimizar o prejuízo no tecido dos membros inferiores é um dos fatores cruciais de *performance* para ultramaratona (MILLET et al., 2012) ao lado de fatores físicos, ambientais, psicológicos, motivacionais e táticos (HOFFMAN, 2010; WEGELIN, HOFFMAN, 2011; MILLET et al., 2012).

Neste sentido, enquanto para um maratonista de elite possuir coxas volumosas aumenta drasticamente o trabalho interno, para ultracorredores que se exercitam a velocidades bem mais baixas de corrida essa característica antropométrica seria menos prejudicial e poderia inclusive ser vantajosa em termos de resistência ao dano muscular (MILLET et al., 2012).

No entanto, os resultados encontrados na literatura científica atual ainda são escassos e por vezes conflitantes para embasar a premissa de que determinada composição corporal de um ultracorredor possa estar associada com sua *performance* em provas de ultramaratona de 160 a 350km (HOFFMAN, 2008, HOFFMAN et al., 2010, ZOUHAL et al., 2009, KNECHTLE et al., 2009, KNECHTLE et al., 2010).

Assim, o objetivo desse estudo foi caracterizar o somatotipo, analisar o comportamento da composição corporal durante a prova e verificar se tais medidas poderiam estar relacionadas com a *performance* em ultramaratona de 217 km.

## MATERIAS E MÉTODOS

### Voluntários e descrição da corrida

Dentre os 42 finalistas da *'Brazil 135 Ultramarathon'* – 2009, dez homens foram voluntários neste estudo. As características dos voluntários são apresentadas na Tabela 1. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Estadual Paulista (UNESP) (nº 037/2008) e termo de consentimento livre e esclarecido foi assinado por cada atleta antes de sua participação no estudo.

Tabela 1: Características dos voluntários (n=10)

Idade (anos)	42,8 ± 3,5
Estatura (cm)	171,4 ± 1,9
Histórico de corrida (anos)	15 ± 3
Volume de corrida (km/semana)	118 ± 20
Ultramaratonas realizadas (n)	12 ± 6
Velocidade crítica (km/h)	13,5 ± 0,7

A *'Brazil 135 Ultramarathon'* ocorre na Serra da Mantiqueira ao sul do estado de Minas Gerais e é considerada a Corrida das Montanhas na *'Copa do Mundo BAD135'*. Esta corrida consiste de 217 km (135 milhas) a serem percorridos em estradas de terra no segmento mais pesado da trilha de peregrinação brasileira denominada *'Caminho da Fé'*. O total de subida e descida acumulado durante a corrida tem sido estimado em 9,6 km e 10 km, respectivamente. Dessa forma, esta é considerada uma das mais difíceis prova de ultraendurance do Brasil. Na referida edição, a largada ocorreu em Poços de Caldas (1304m de altitude) às 08:00h e os finalistas alcançaram a linha de chegada, em Paraisópolis (927m de altitude), dentro de 60 horas. A temperatura ambiente oscilou entre 08 e 30° C.

## **Desenho experimental**

A velocidade crítica (CV) dos atletas foi determinada uma semana antes da competição. No dia anterior da largada da prova, na condição cinco horas pós prandial, os voluntários foram submetidos à avaliação inicial que consistiu de avaliações antropométricas e do preenchimento de um questionário demográfico e de histórico de treinamento. Durante a corrida, avaliações antropométricas foram realizadas na avaliação intermediária, no ponto de apoio de Serra dos Limas (84 km), e na avaliação final, na linha de chegada (217 km). O tempo de prova dos atletas foi obtido pelos relatórios oficiais da prova. Os voluntários puderam ingerir alimentos e bebidas *ad libitum* durante a corrida.

## **Velocidade crítica**

Uma semana antes da competição e nos dias subsequentes, os atletas realizaram individualmente 4 tiros máximos de corrida em diferentes distâncias (800, 1200, 1600, 2000m) em pista de atletismo, realizados em ordem aleatória. Dessa forma, a velocidade crítica foi determinada pelo coeficiente angular da relação linear da distância versus o tempo de corrida (KRANENBURG, SMITH, 1996).

## **Avaliação antropométrica**

Durante a avaliação inicial, estando os voluntários sem tênis e vestindo roupas leves, foram avaliadas a massa corporal (kg) e estatura (cm), por meio de balança de plataforma (Welmy®), com precisão de 0,1kg e 0,5cm, respectivamente. Medidas das dobras cutâneas (FFM) (peitoral, abdominal, coxa, supra-ílica, subescapular, tríceps e panturrilha) foram realizadas por meio de compasso (Sanny®) com precisão de 1mm e o valor anotado foi a média de três medidas consecutivas. Já, medidas de circunferências (cm) (peito, braço relaxado, cintura

umbilical, coxa e panturrilha) foram realizadas com fita metálica flexível, inextensível, com precisão de 0,1cm (Sanny ®) e, os diâmetros ósseos (mm) (biepicôndilo umeral e bicôndilo femoral) foram aferidos com a articulação do cotovelo e do joelho flexionados a 90° e as hastes do paquímetro (Sanny®) a 45° em relação às mesmas.

Durante as avaliações intermediária (84 km) e final (217 km) foram reavaliados a massa corporal, dobras cutâneas (peitoral, abdominal e coxa) e circunferências (peito, braço relaxado, cintura umbilical e coxa).

Um único avaliador experiente realizou todas as mensurações antropométricas, do lado direito do corpo e de acordo com técnicas convencionais (POLLOCK et al., 1986).

O índice de massa corporal ( $\text{kg} \cdot (\text{m}^2)^{-1}$ ) (BMI) foi calculado como a massa corporal dividida pela estatura elevada ao quadrado. A densidade corporal foi calculada pela equação de três dobras cutâneas (peitoral, abdominal e coxa) para homens (JACKSON; POLLOCK, 1978) e subseqüentemente a porcentagem de gordura foi calculada (SIRI, 1961). A massa gorda foi então calculada a partir da massa corporal e da porcentagem de gordura corporal (%BF) e a massa magra foi calculada pela subtração da massa gorda da massa corporal. Somatotipo foi calculado a partir dos dados da avaliação inicial de massa corporal, estatura, dobras cutâneas (supra-ílica, subescapular, tríceps e panturrilha), circunferências (peito, braço relaxado e panturrilha) e diâmetros (biepicôndilo umeral e bicôndilo femoral) (HEATH; CARTER, 1967) e a somatocarta foi plotada a partir do programa Somatotype 1.1 (Sweat Technologies® Australia).

### **Análise estatística**

Para os parâmetros estudados foi considerado o valor médio e o erro padrão da média. Foram realizados os testes de Shapiro Wilk e de Levene para

análise de distribuição e de homogeneidade das variáveis. Análise de variância para medidas repetidas (ANOVA) foi utilizada para comparação entre os momentos de avaliação, sendo que a correção de Greenhouse-Geisser foi aplicada caso a violação de esfericidade tenha sido apontada pelo teste de Mauchly. Post hoc de *Scheffè* foi utilizado quando apropriado. Correlação de Pearson foi utilizada para testar a relação entre as variáveis. Para todas as análises foi estabelecido o nível de significância em  $P < 0.05$  e foi utilizado o programa Statistic 7.0 (Statsoft, Tulsa, USA).

## RESULTADOS

O tempo de prova dos voluntários correspondeu a  $14,4 \pm 1,2$ h e  $46,8 \pm 3,4$ h e a velocidade média a  $6,2 \pm 0,5$  km/h ( $43,2 \pm 3,0$  % CV) e  $4,9 \pm 0,4$  km/h ( $33,4 \pm 1,8$  % CV) em 84 e 217 km, respectivamente.

Os valores dos três componentes do somatotipo corresponderam a  $3,4 \pm 0,4$  para endomorfia,  $4,9 \pm 0,3$  para mesomorfia e  $1,7 \pm 0,3$  para ectomorfia e sua representação gráfica, a somatocarta, é apresentada na Figura 1.

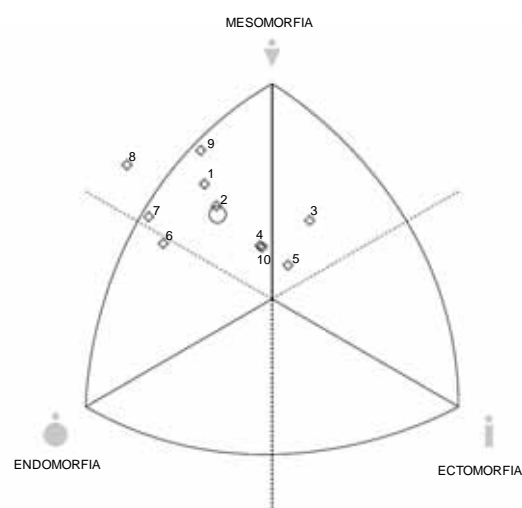


Figura 1: Representação gráfica do somatotipo (somatocarta). A seqüência numérica dos pontos (losangos) denota a ordem de chegada dos voluntários. O círculo corresponde à média dos valores.



As medidas antropométricas nas avaliações inicial, intermediária e final são apresentadas na Tabela 2. Diferenças significativas (ANOVA,  $P < 0,05$ ) foram encontradas para BM, BMI, FFM e circunferência peitoral, com *post hoc* denotando reduções significativas ( $P < 0,05$ ) durante e ao final da corrida comparado aos valores iniciais. Além disso, diminuição significativa ( $P < 0,05$ ) na medida de circunferência de braço foi observada na chegada da prova comparada a valores das avaliações inicial e intermediária. Os valores de %BF, FM, circunferências de cintura e coxa, bem como, as dobras cutâneas peitoral, abdominal e de coxa não foram alterados significativamente ao longo da prova.

A dobra cutânea de coxa, a FM e a circunferência de cintura avaliadas antes da prova foram positivamente correlacionadas com o tempo de prova em 217 km ( $P < 0,05$ ) (Figura 2).

Tabela 2: Medidas antropométricas nas avaliações inicial, intermediária e final(n=10)

	0 km	84 km	217 km	ANOVA
Massa Corporal (kg)	72,3 ± 3,1	69,8 ± 3,1 <sup>a</sup>	69,5 ± 3,0 <sup>a</sup>	$F_{(2, 18)} = 48,391, P < 0,0001$
BMI ( $\text{kg}(\text{m}^2)^{-1}$ )	24,5 ± 0,7	23,7 ± 0,7 <sup>a</sup>	23,6 ± 0,7 <sup>a</sup>	$F_{(2, 18)} = 48,171, P < 0,0001$
Gordura corporal (%)	13,8 ± 1,6	13,8 ± 1,6	13,3 ± 1,4	$F_{(2, 18)} = 0,8547, P = 0,44$
Massa Gorda (kg)	10,2 ± 1,4	9,9 ± 1,5	9,5 ± 1,3	$F_{(2, 18)} = 2,5184, P = 0,11$
Massa Magra (kg)	62,1 ± 2,3	59,9 ± 2,2 <sup>b</sup>	59,9 ± 2,1 <sup>b</sup>	$F_{(2, 18)} = 10,838, P = 0,0008$
Circunferências (cm)				
Peitoral	97,7 ± 1,8	95,7 ± 1,8 <sup>c</sup>	95,3 ± 1,7 <sup>b</sup>	$F_{(2, 18)} = 9,9044, P = 0,001$
Braço	29,9 ± 1,2	29,7 ± 1,4	28,9 ± 1,2 <sup>b,d</sup>	$F_{(2, 18)} = 12,056, P = 0,0006$
Cintura	86,0 ± 2,5	83,6 ± 2,2	84,2 ± 2,7	$F_{(1,253, 11,279)} = 2,4045, P = 0,12^*$
Coxa	53,5 ± 1,0	52,6 ± 1,2	52,5 ± 0,9	$F_{(2, 18)} = 1,1975, P = 0,32$
Dobras cutâneas (mm)				
Peitoral	9,4 ± 1,3	10,4 ± 1,3	9,4 ± 1,0	$F_{(2, 18)} = 2,0714, P = 0,15$
Abdominal	19,1 ± 2,7	17,7 ± 2,4	17,3 ± 2,3	$F_{(2, 18)} = 2,5585, P = 0,10$
Coxa	12,8 ± 1,3	12,9 ± 1,9	12,7 ± 1,7	$F_{(2, 18)} = 0,03203, P = 0,96$

Post hoc: a:  $P < 0,00001$ , b:  $P < 0,005$ , c:  $P < 0,01$  comparado a 0 km; d:  $P < 0,005$  comparado a 84 km  
\*correção de Greenhouse-Geisser aplicada caso a violação da esfericidade foi apontada pelo teste de Mauchly.  
BMI= Índice de Massa Corporal

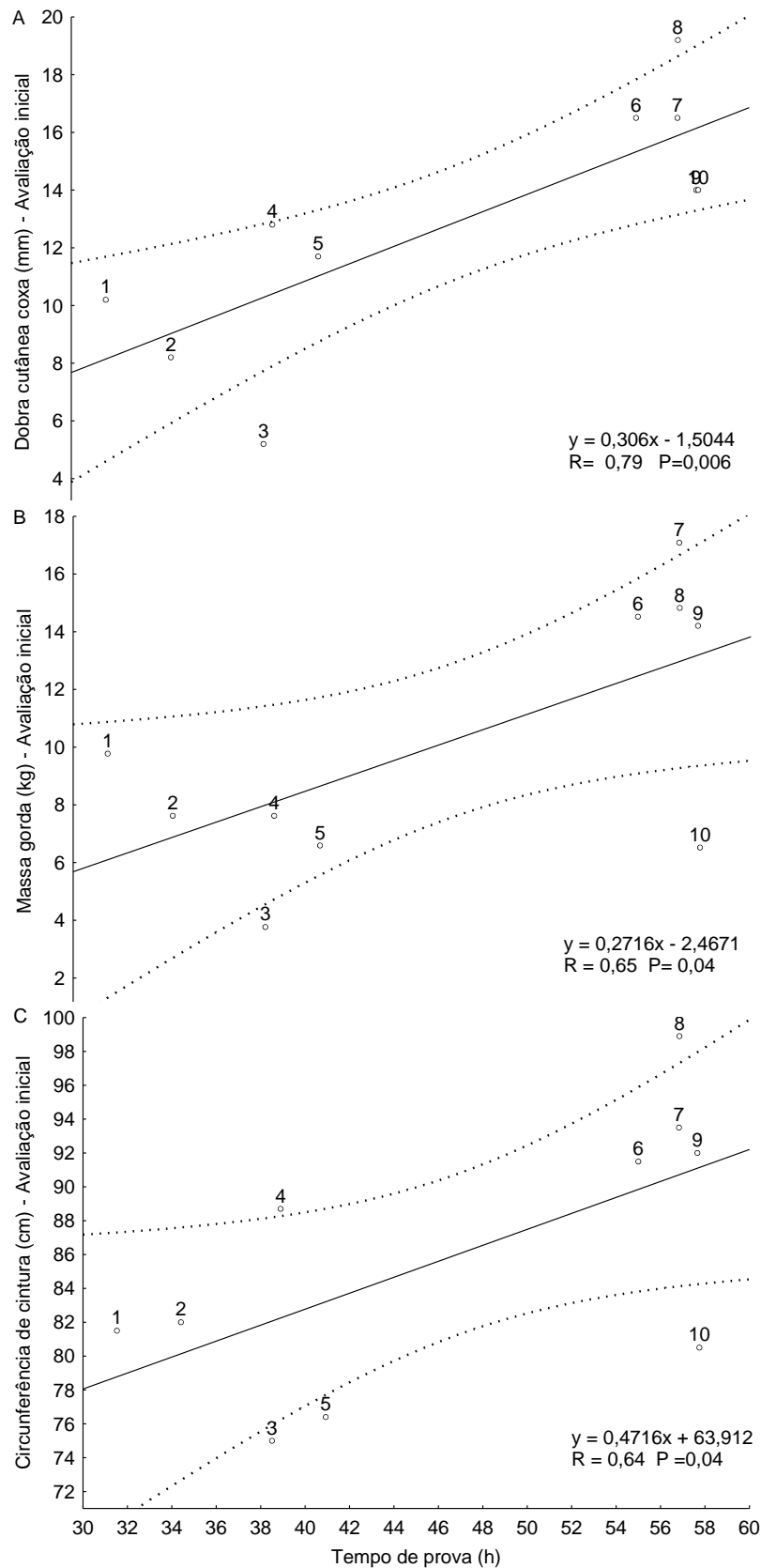


Figura 2: Correlação entre tempo de prova e A) dobra cutânea de coxa; B) massa gorda e C) circunferência de cintura. Ajuste linear (linha sólida) e 95% do intervalo de confiança (linha tracejada). A sequência numérica dos pontos denota a ordem de chegada dos voluntários.

## DISCUSSÃO

Os principais encontrados deste estudo foram que os atletas possuem em média um somatotipo classificado como mesomorfo endomórfico e que os valores de massa corporal, índice de massa corporal, massa magra e perímetros de peito e de braço foram reduzidos em função da prova. Além disso, as medidas de dobra cutânea de coxa, massa gorda e circunferência de cintura pré-prova correlacionaram-se positivamente com tempo total de prova.

Para nosso conhecimento este é o primeiro trabalho que avaliou o somatotipo em uma amostra de ultramaratonistas e nossos encontrados de mesomorfia dominante corroboram com resultados prévios observados em um ultramaratonista participante de prova de 229 km (RYDER et al., 2004) e em triatletas (LEAKE; CARTER, 1991, ANJOS et al., 2003).

Além de um componente osteomuscular dominante, observamos também a adiposidade maior que a linearidade nesses atletas dado que o componente endomórfico foi maior que o ectomórfico. Estes resultados em conjunto sugerem que a constituição física de ultramaratonistas pode ser diferente daquela observada em maratonistas e que estas características podem ser valiosas para os ultracorredores se locomoverem em terrenos irregulares, como as estradas de terra na prova estudada, bem como para fornecer um importante substrato energético em provas mais prolongadas (HOFFMAN, 2008).

Em relação à composição corporal avaliada ao longo da prova, nós observamos que reduções significativas em BM, BMI, FFM e perímetro de peito ocorreram nos primeiros 84 km da prova e foram mantidas até os 217 km enquanto a diminuição no perímetro de braço foi verificada apenas ao final da corrida.

Adicionado a isso, apesar de não ter alcançado significância, encontramos valores reduzidos de FM aos 84 km (- 4,0%) e ao final (- 6,8%) da corrida.

Redução significativa nos valores de BM foi verificada previamente em atletas após a '*Spartathlon*' (SKENDERI et al., 2006), ultramaratona de 24h (~199km de distância média percorrida) (KAO et al., 2008) e a '*Marathon Des Sables*' (ZOUHAL et al., 2009), no entanto, manutenção nesses valores foi encontrada em participantes da '*Western States Endurance Run*' (WSER) avaliados aos 90 e 160 km (NIEMAN et al. 2003, NIEMAN et al., 2005, NIEMAN et al., 2006).

Estabelecer as possíveis razões para estas divergências de respostas da BM é inviável até o presente momento uma vez que diversos fatores podem influenciar os resultados obtidos, como voluntários com diferentes de faixas etárias ( $40,3 \pm 1,7$  a  $46,8 \pm 2,1$  anos), BM inicial ( $60,1 \pm 8,3$  a  $72,3 \pm 3,1$  kg), gêneros (apenas homens ou ambos), além de diferentes durações (24 a  $46,8 \pm 3,4$  h), intensidades ( $4,9 \pm 0,4$  a  $8,3 \pm 0,3$  km/h) e formas de hidratação (restrita ou não restrita) nestas diversas provas.

Nossos resultados corroboram ainda com os encontrados de Zouhal et al. (2009) em que a redução de BM foi acompanhada de diminuição de FFM e FM aos 93 km e ao final da '*Marathon Des Sables*' reforçando que quando uma diminuição na BM é observada em provas dessa natureza possivelmente esta não ocorra apenas devido à desidratação (KNECHTLE et al., 2012).

Neste sentido, observamos também que as alterações percentuais na BM representaram em média -3,5% (-1,5 a -6,4%) nos 84 km e -3,9% (-2,0 a -6,4%) nos 217 km, sendo que o voluntário com maior redução foi o terceiro mais rápido entre os avaliados e classificou-se entre os 10 primeiros colocados na prova.

Redução média de 6,1% nos valores de BM foi verificada após a ‘*Marathon Des Sables*’, sendo que o voluntário que apresentou maiores alterações (-9,0%) foi o mais rápido a concluir a prova (6º lugar) (ZOUHAL et al., 2009), e relação positiva entre redução de BM (-5,1 ± 2,6%) e *performance* foi observada em ultramaratona de 24 horas (KAO et al., 2008). Além disso, triatletas que exibiram diminuição de BM mais dramática (-10,7 a + 3,7%) durante o ‘*South African Ironman*’ (224 km) estiveram entre os mais rápidos a terminar a prova e tal redução não esteve associada com aumento de complicações médicas e temperatura retal (SHARWOOD et al., 2004).

Dessa forma, reforçando esse conjunto de resultados prévios, nossos encontrados também sugerem que os pressupostos clássicos para prevenir desidratação durante o exercício físico baseados em reduções de BM (i.e., para prevenir desidratação as reduções na BM devem ser menores que 2% e descontinuar o exercício físico em caso de reduções maiores de 7% na BM) (ADOLPH et al., 1947; ACSM, 1996) precisam ser adequadamente reavaliados em provas de *ultraendurance* (ZOUHAL et al., 2009, SHARWOOD et al., 2004).

As correlações observadas no presente estudo sugerem que maiores depósitos de gordura corporal total bem como concentrados nos membros inferiores e na região abdominal, predita pela circunferência de cintura (POULIOT et al., 1994), podem ter um impacto negativo na *performance* em ultramaratona.

Interessantemente, apesar de Ketchle et al. (2010) não terem observado relação entre medidas antropométricas e o tempo de prova de atletas participantes da ‘*Swiss Jura Marathon*’, nossos encontrados acrescentam àqueles observados na maioria dos estudos prévios em que a BM, BMI, %BF e circunferência de braço estiveram relacionados positivamente com tempo ou

negativamente com velocidade de provas como a *WSER* (HOFFMAN, 2008; HOFFMAN et al., 2010), '*Marathon Des Sables*' (ZOUHAL et al., 2009) e '*Isar Run*' (KNECHTLE et al., 2009).

Em conclusão, além do somatotipo médio dos ultracorredores ter sido mesomorfo-endomórfico e das reduções de BM, BMI, FFM e perímetro de peito terem sido observadas já nos primeiros 84 km de prova, nós verificamos que características de composição corporal como maiores valores de dobra cutânea de coxa, FM e circunferência de cintura relacionaram-se com uma menor *performance* em ultramaratona nas montanhas de 217 km.

**Apoio financeiro:** CAPES, CNPq (305650/2009-2), FAPESP (2009/08535-5).

## REFERÊNCIAS

ADOLPH, E.F.; BROWN, A.H.; GODDARD, D.R. Physiology of man in the desert. New York: **Interscience**, p. 16–33, 226–241, 326–42, 1947.

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE (ACSM). Position Stand on Exercise and Fluid Replacement. **Med Sci Sports Exerc**, v. 28, n. 1, pp. i–vii, 1996.

ANJOS, M.A.B.; FERNANDES FILHO, J.; NOVAES, J.S. Características somatotípicas, dermatoglíficas e fisiológicas do atleta de triatlo. **Fitness Perform J**, v. 2, n. 1, p. 49-57, 2003.

ARMSTRONG, L.E. Assessing Hydration Status: The Elusive Gold Standard. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 26, n. 5, p. 575S–584S, 2007.

CARTER, J. E.; ACKLAND, T. R.; KERR, D. A.; STAPFF, A. B. Somatotype and size of elite female basketball players. **J Sports Sci** v. 23, n.10, p. 1057-1063, 2005.

HEATH, B.H.; CARTER, J.E.L. A modified somatotype method. **Am J Phys Anthropol**, v. 27, n. 1, p.57-74,1967.

HOFFMAN, M.D. Anthropometric characteristics of ultramarathoners. **Int J Sports Med**, v. 29, n.10, p.808–811, 2008.

HOFFMAN, M.D.; LEBUS D.K.; GANONG, A.C.; CASAZZA G.A.; VAN LOAN, M. Body composition of 161-km ultramarathoners. **Int J Sports Med**, v. 31, n.2, p.106-109, 2010.

HOFFMAN, M.D. Performance trends in 161-km ultramarathons. **Int J Sports Med**, v.31, n.1, p.31-37, 2010.

JACKSON, A.S.; POLLOCK M.L. Generalized equations for predicting body density of men. **Br J Nutr**, v. 40, n. 3, p.497-504, 1978.

KAO, W.F.; SHYU, C.L.; YANG, X.W.; HSU, T.F.; CHEN, J.J.; KAO, W.C.; POLUN-CHANG; HUANG, Y.J.; KUO, F.C.; HUANG, C.I.; LEE, C.H. Athletic performance and serial weight changes during 12- and 24-hour ultra-marathons. **Clin J Sport Med**, v. 18, n. 2, p. 155-158, 2008.

KNECHTLE, B.; DUFF, B.; WELZEL, U.; KOHLER, G. Body mass and circumference of upper arm are associated with race performance in ultraendurance runners in a multistage race--the Isarrun 2006. **Res Q Exerc Sport**, v. 80, n. 2, p.262-268, 2009.

KNECHTLE, B.; KNECHTLE, P.; ROSEMAN, T. Race performance in male mountain ultra-marathoners: anthropometry or training? **Percept Mot Skills**, v. 110, n.3, p.721-735, 2010.

KNECHTLE, B., KNECHTLE, P., WIRTH, A., RÜST, C. A., ROSEMAN, T. A faster running speed is associated with a greater body weight loss in 100-km ultra-marathoners. **Journal of Sports Sciences**, v.30, n. 11, p.1131–1140, 2012.

KRANENBURG, K.J., SMITH, D.J. Comparison of critical speed determined from track running and treadmill tests in elite runners. **Med Sci Sports Exerc**, v. 28, p.614–618, 1996.

LEAKE, C.N.; CARTER, J. E. Comparison of body composition and somatotype of trained female triathletes. **J Sports Sci**, v. 9, n.2, p.125-35, 1991.

MILLET, G.Y.; HOFFMAN, M.D.; MORIN, J.B. Sacrificing economy to improve running performance—a reality in the ultramarathon? **J Appl Physiol**, Article in press, 2012. doi:10.1152/jappphysiol.00016.2012.

NIEMAN, D.C.; DUMKE C.L.; HENSON, D.A.; MCANULTY, S.R.; GROSS, S.J.; LIND, R.H. Muscle damage is linked to cytokine changes following a 160 km running race. **Brain, Behavior and Immunity**, v. 19, n. 5, p. 398-403, 2005.

NIEMAN, D.C.; DUMKE, C.I.; HENSON, D.A.; MCANULTY, S.R.; MCANULTY, L.S.; LIND, R.H.; MORROW, J.D. Immune and oxidative changes during and following the Western States Endurance Run. **Int J Sports Med**, v. 24, n.7, p. 541-547, 2003.

NIEMAN, D.C.; HENSON, D.A.; DUMKE, C.L.; OLEY, K.; MCANULTY, S.R.; DAVIS, J.M.; MURPHY, E.A.; UTTER, A.C.; LIND, R.H.; MCANULTY, L.S.; MORROW, J.D. Ibuprofen use, endotoxemia, inflammation, and plasma cytokines during ultramarathon competition. **Brain, Behavior, and Immunity**, v.20, n.6, p.578-584, 2006.

POLLOCK, M.L.; WILMORE, J.H., FOX III S.M. **Exercícios na saúde e na doença – Avaliação e prescrição para prevenção e reabilitação**. Rio de Janeiro, RJ: Editora MEDSI; p. 229-40, 1986.

POULIOT, M.C.; DESPRÉS, J.P.; LEMIEUX, S.; MOORJANI, S.; BOUCHARD, C.; TREMBLAY, A.; NADEAU, A.; LUPIEN, P.J. Waist circumference and abdominal sagittal diameter: best simple anthropometric indexes of abdominal visceral adipose tissue accumulation and related cardiovascular risk in men and women. **Am J Cardiol**, v. 73, n.7, p.460-468, 1994.

RYDER J. J.; GRANTHAM N. J.; KELLETT D. W.; MCNAUGHTON L.; LOVELL R.; JONES G. E. Marathon Des Sables: A Scientific Case Study. **Research in Sports Medicine**, v. 12, n.1, p. 33–44, 2004.

SHARWOOD, K.A.; COLLINS, M.; GOEDECKE, J.H.; WILSON, G.; NOAKES, T.D. Weight changes, medical complications, and performance during an Ironman triathlon. **Br J Sports Med**, v. 38, n. 6, p. 718-724, 2004.

SIRI, W.E. **Body composition from fluid spaces and density**. In: Brozek J, Henschel A, editors. Techniques for measuring body composition. Washington DC:National Academy of Science, 223-4, 1961.

SKENDERI, K. P.; KAVOURAS, S. A.; ANASTASIOU, C. A.; YIANNAKOURIS N.; MATALAS, A. Exertional rhabdomyolysis during a 246-km continuous running race. **Med Sci Sports Exerc**, v. 38, n. 6, p. 1054-1057, 2006.

WEGELIN, J.A.; HOFFMAN, M.D. Variables associated with odds of finishing and finish time in a 161-km ultramarathon. **Eur J Appl Physiol**, v.111, p.145–153, 2011.

ZOUHAL, H.; GROUSSARD, C.; VINCENT, S.; JACOB, C.; ABDERRAHMAN, A.B.; DELAMARCHE P.; GRATAS-DELAMARCHE, A. Athletic Performance and Weight Changes during the “ Marathon of Sands ” in Athletes Well-trained in Endurance. **Int J Sports Med**, v.30, n.7, p. 1439-3964, 2009.



## 7. DISCUSSÃO

### 7.1 Respostas inflamatória, hematológica, de estresse oxidativo, prejuízo muscular e composição corporal durante a '*Brazil 135 Ultramarathon*'

Dentre os principais encontrados deste estudo observamos que as concentrações sanguíneas de células brancas, proteína C reativa, plaquetas, albumina e enzimas de dano muscular bem como a dor muscular foram significativamente elevados e os valores de células vermelhas e enzimas antioxidantes foram mantidos em função da prova denotando respostas inflamatória, hemostática, antioxidante não-enzimática e de prejuízo muscular elevadas em participantes da '*Brazil 135 Ultramarathon*'.

Fortalecendo estudos prévios envolvendo provas de 160 a 246 km, que haviam reportado aumento significativo nas concentrações sanguíneas de células brancas (NIEMAN et al., 2003; NIEMAN et al., 2005; NIEMAN et al., 2006; SKENDERI et al., 2006; YUSOF et al., 2007; WAŚKIEWICZ et al., 2012; ROBACH et al., 2012) e de proteínas de fase aguda (NIEMAN et al., 2006; KIM et al., 2007; MARGELI et al., 2005; PAPASSOTIRIOU et al., 2008; WAŚKIEWICZ et al., 2012; ROBACH et al., 2012), pudemos observar que tanto a resposta inflamatória local como a sistêmica foram exacerbadas após a prova.

A resposta inflamatória local provavelmente esteja sendo desencadeada pelo prejuízo muscular observado durante a prova e caracteriza-se por uma condição complexa em que os mediadores liberados podem tanto exacerbar a lesão no músculo como participar da regeneração deste tecido (SILVA, MACEDO, 2011). Já a resposta sistêmica, ou de fase aguda, tem por finalidade

ajustar a homeostasia para a reparação tecidual (PEDERSEN, HOFFMAN-GOETZ, 2000; SILVA, MACEDO, 2011).

Nossos encontrados corroboram ainda com a maioria dos estudos anteriores que haviam reportado manutenção nos valores de células vermelhas sanguíneas pré versus pós-provas (WU et al., 2004; YUSOF et al., 2007; ROTH et al., 2007; WAŚKIEWICZ et al., 2012; ROBACH et al., 2012) sugerindo, como previamente proposto, que os valores aumentados de hemólise (i.e., *footstrike hemolysis*) observada em provas de ultramaratona de 168 a 217 km possivelmente estejam sendo compensados pela oferta de novos eritrócitos para circulação sanguínea (YUSOF et al., 2007, ROBACH et al., 2012).

Além disso, embora algumas pesquisas envolvendo ultramaratonas de 160 a 246 km tenham observado manutenção (WAŚKIEWICZ et al., 2012) ou redução na contagem de plaquetas (SKENDERI et al., 2006; ROBACH et al., 2012), nosso resultado de elevação nesses valores está de acordo com estudo em prova de 24h (WU et al., 2004) e possivelmente seja induzido por uma atividade sinérgica entre concentração de catecolaminas e estresse de cisalhamento (*shear stress*) desencadeada em exercícios extenuantes (SMITH et al., 2003; EL SAYED et al., 2004; RIBEIRO, OLIVEIRA, 2005).

Para o nosso conhecimento este é o primeiro estudo a verificar a atividade de enzimas antioxidantes em provas de ultramaratona e a manutenção encontrada na atividade dessas enzimas pode ser parcialmente explicada por redução na atividade da G<sub>6</sub>PD observada após prova de 246 km (SCHULPIS et al., 2007), visto que tal diminuição podem comprometer a regeneração do NADPH, co-fator da enzima antioxidante GR (POWERS, JACKSON, 2008).

Em relação à albumina, apesar das concentrações séricas dessa proteína terem permanecido estáveis (WU et al., 2004) ou mesmo reduzidas (DUMKE et al., 2007) ao final de provas de ~ 160 km, nosso encontrado de aumento nesses valores é uma resposta relevante dado que esta é uma proteína sérica envolvida em várias funções fisiológicas importantes como transporte de ácidos graxos, regulação de pressão osmótica e representa um dos principais antioxidantes plasmáticos (ROCHE et al., 2008).

Reforçando os resultados de Kim et al. (2007) e de Waśkiewicz et al. (2012) envolvendo provas de ~160 a 200 km, encontramos ainda que as concentrações séricas de enzimas de prejuízo muscular estiveram elevadas nos primeiros 84 km da prova e tiveram aumentos adicionais aos 177 e 217 km.

Verificamos ainda que os aumentos percentuais dessas enzimas pós-prova foram superiores àqueles observados na maioria dos trabalhos envolvendo provas de 160 a 217 km (WU et al., 2004, NIEMAN et al., 2005, NIEMAN et al., 2006, NIEMAN et al., 2007, KIM et al. 2007, DUMKE et al., 2007, ROTH et al., 2007) possivelmente devido a maior quantidade acumulada de descida (i.e., *downhill*) na presente prova comparado às anteriormente avaliadas (BRANCACCIO, et al., 2007).

Nesse sentido, corridas realizadas em trechos de descida podem desencadear um maior dano muscular devido ao menor recrutamento de unidades motoras, acarretando numa menor área seccional de músculo ativada durante contrações excêntricas para suportar a mesma carga que seria suportada por contrações concêntricas (CLARKSON, SAYERS, 1999).

Além disso, estendendo os observados de NIEMAN et al. (2005) e NIEMAN et al. (2006) em que a dor muscular tardia foi reportada dias após a *WSER*,

observamos que os atletas já reportaram dor muscular durante e imediatamente após a '*Brazil 135 Ultramarathon*'.

Observamos também como principais resultados da presente investigação que os voluntários apresentaram em média um somatotipo mesomorfo endomórfico e os valores de massa corporal, índice de massa corporal, massa magra e perímetros de peito e de braço foram reduzidos em função da prova, evidenciando alterações na composição corporal destes atletas participantes da '*Brazil 135 Ultramarathon*'.

As reduções de massa corporal (-3,9% em média) corroboram com as observadas previamente (-2,8 a -6,1% em média) em estudos envolvendo provas de ~199 a 246 km (SKENDERI et al., 2006, KAO et al., 2008, ZOUHAL et al., 2009). Além disso, nossos dados reforçam os encontrados de Zouhal et al. (2009) em que reduções de massa corporal também foram acompanhadas de diminuições em massa magra.

## **7.2 Performance na '*Brazil 135 Ultramarathon*': Relação com respostas inflamatória, hematológica, de estresse oxidativo, prejuízo muscular e composição corporal**

Interessantemente, encontramos ainda como principais resultados deste trabalho que maiores valores pós-prova de células brancas e de enzimas de dano muscular foram relacionadas com maior velocidade de corrida e menor tempo de pausa ao longo da prova. Além disso, maior atividade da enzima GR pré-prova foi associada a um maior volume de corrida semanal bem como com um menor tempo de pausa realizado pelos atletas durante a '*Brazil 135 Ultramarathon*'.

Apesar de estudos envolvendo provas de 160 a 246 km (NIEMAN et al., 2005; SKENDERI et al., 2006; HOFFMAN et al., 2012) terem observado que mudanças na CK não foram correlacionadas com tempo de prova, nossos resultados acrescentam aos observados de Waśkiewicz et al. (2012) em que as células brancas e enzimas de dano muscular estiveram positivamente relacionadas com a distância percorrida em ultramaratona de 24h e sugerem que possivelmente os ultracorredores com melhor *performance* estejam sendo aqueles capazes de tolerar condições inflamatórias e de prejuízo muscular mais exacerbadas.

Já em relação à correlação positiva observada entre atividade da GR pré-prova e o volume de corrida semanal reportado pelos ultracorredores, é bem estabelecido na literatura que o treinamento físico é um estímulo capaz de induzir *upregulation* de enzimas antioxidantes (EVELO et al. 1992; FINAUD et al., 2006; GOMEZ-CABRERA et al., 2008). No entanto, para nosso conhecimento este é o primeiro trabalho a apontar que maior atividade da GR antes da prova possivelmente esteja associada a um menor tempo de pausa realizado por atletas percorrendo uma prova de ultramaratona.

Por outro lado, uma maior dor muscular reportada aos 177 km relacionou-se com uma menor velocidade de corrida nos últimos 40 km de prova e maiores valores pré-prova de gordura corporal total bem como concentrada na região abdominal e de coxas correlacionaram-se com maior tempo de prova nos atletas participantes da '*Brazil 135 Ultramarathon*'.

Neste sentido, é bem estabelecido na literatura que a dor muscular tardia pode afetar a *performance* do atleta durante sua vigência (i.e, ao longo de 5 a 7 dias após o exercício físico) ao provocar redução da amplitude articular de movimento bem como do pico de torque (CHEUNG et al., 2003; LEWIS et al.,

2012). Interessantemente, pudemos observar que a dor muscular imediata, reportada durante uma prova de ultramaratona de 217 km, já pode ter um impacto negativo na *performance* dos atletas nos últimos 40 km da prova.

Já em relação à composição corporal, nossos encontrados acrescentam a maioria dos trabalhos que observaram que BM, BMI, %BF e circunferência de braço estiveram correlacionados positivamente com tempo ou negativamente com velocidade de provas de 160 a 338 km (HOFFMAN, 2008; KNECHTLE et al., 2009; ZOUHAL et al., 2009; HOFFMAN et al., 2010) e sugerem que maiores depósitos de gordura corporal total bem como concentrados nos membros inferiores e na região abdominal podem ter um impacto negativo na *performance* em ultramaratona.

Podemos destacar ainda que o nível de células brancas pós-prova relacionou-se positivamente e a dor reportada aos 177 km relacionou-se negativamente com a velocidade de corrida desempenhada pelo atleta tanto expressa em valores absolutos como relativa à CV, ou seja, relativa à capacidade aeróbia de cada atleta. Neste sentido, este estudo é pioneiro em abordar a relação de respostas inflamatórias bem como de indicadores de prejuízo muscular com índices de *performance* individualizados durante uma prova de ultramaratona.

Recentemente tem sido sugerido que minimizar o prejuízo no tecido dos membros inferiores constitui um dos fatores cruciais de *performance* para ultramaratona, bem como respostas envolvidas na diminuição desse dano como reduzir condições inflamatórias e de estresse oxidativo e possuir determinadas características de composição corporal como coxas volumosas (MILLET et al., 2012).

No entanto, apesar de pertinente com o contexto dessa modalidade esportiva, esta é uma proposta geral dentro do vasto universo de provas de ultramaratona, envolvendo distâncias de 50 km até 1.600 km percorridos nos mais variados terrenos e condições climáticas, e ainda pouco embasada pela literatura científica.

Dessa maneira, envolvendo uma ampla faixa de *performance* de ultracorredores (voluntários classificados desde o 2º até o 38º lugar na prova dentre 42 finalistas) numa ultramaratona acontecendo nas montanhas com temperaturas oscilando de 08 a 30º C e distância de 217 km, pudemos verificar no presente estudo que possivelmente os atletas capazes de tolerar condições inflamatórias e de prejuízo muscular mais exacerbadas apresentaram uma melhor *performance*.

Além disso, encontramos que elevados valores pré-prova de enzima antioxidante estavam presentes em atletas que realizam um maior volume de treino semanal e que apresentaram reduzidos tempos de pausa na corrida. E ainda, observamos que a dor muscular imediata bem como maiores depósitos de gordura corporal total bem como concentrados em região abdominal e de coxas foram associados com menores índices de *performance*.

## 8. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados da presente tese de doutorado é possível concluir que em atletas participantes da '*Brazil 135 Ultramarathon*' de 217 km:

- As concentrações circulantes de leucócitos, neutrófilos, monócitos e de proteína C reativa aumentaram enquanto os de basófilos reduziram significativamente pós-corrida.

- Apesar dos valores de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio, amplitude de distribuição do tamanho dos eritrócitos terem permanecido mantidos, os valores de hemoglobina corpuscular média, de concentração de hemoglobina corpuscular média e a contagem de plaquetas aumentaram significativamente após a prova.

- Enquanto a atividade das enzimas catalase e glutatona redutase no eritrócito e os teores plasmáticos de ácido úrico foram mantidos ao longo da prova, as concentrações séricas de albumina aumentaram significativamente nos últimos 40 km de prova comparado aos valores pré-prova.

- As concentrações plasmáticas de creatina quinase, lactato desidrogenase, aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase aumentaram significativamente durante e após a prova.

- A dor reportada pelos atletas aumentou de maneira significativa ao longo da prova. A dor reportada pela escala de faces foi similar e correlacionada com a da escala de pontos, constituindo uma alternativa interessante para avaliação de dor em adultos em provas desgastantes.

- Os atletas possuem em média um somatotipo mesomorfo endomórfico e os valores de massa corporal, índice de massa corporal, massa



magra e perímetros de peito e braço foram significativamente reduzidos ao longo da prova.

- Maiores valores de leucócitos e neutrófilos pós-prova foram relacionados significativamente com maiores velocidade de corrida e porcentagem da velocidade crítica em que o atleta percorreu a prova e com menores tempos de pausa.

- Maior atividade da glutatona redutase antes da prova foi significativamente associada com o maior volume semanal de treinamento dos atletas bem como com menor tempo de pausa durante a corrida.

- Maiores valores de creatina quinase, lactato desidrogenase, aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase pós-prova foram relacionados de maneira significante com maior velocidade de corrida e menor tempo de pausa do atleta durante a prova.

- Maior dor muscular reportada aos 177 km foi associada de maneira significante a menor velocidade de corrida, tanto absoluta como relativa à velocidade crítica, desempenhada pelos atletas entre os 177-km e 217-km.

- Maiores valores de dobra cutânea de coxa, massa gorda e circunferência de cintura pré-prova foram significativamente relacionados à maior tempo de prova.

## 9. REFERÊNCIAS

ACKLAND, T.R.; LOHMAN, T.G.; SUNDGOT-BORGEN, J.; MAUGHAN, R.J.; MEYER, N.L.; STEWART, A.D.; MÜLLER, W. Current status of body composition assessment in sport: review and position statement on behalf of the ad hoc research working group on body composition health and performance, under the auspices of the I.O.C. Medical Commission. **Sports Med**, v.42, n.3, p.227-49, 2012.

ADOLPH, E.F.; BROWN, A.H.; GODDARD, D.R. Physiology of man in the desert. New York: **Interscience**, p. 16–33, 226–241, 326–42, 1947.

AEBI, H. Catalase. In: PACKER, L., ed. **Methods in enzymology**. Orlando: Academic, p. 121-126, 1984.

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE (ACSM). Position Stand on Exercise and Fluid Replacement. **Med Sci Sports Exerc**, v. 28, n. 1, pp. i–vii, 1996.

ANDERSEN, H.R.; NIELSEN, J.B.; NIELSEN, F.; GRANDJEAN, P. Antioxidative enzyme activities in human erythrocytes. **Clinical Chemistry**, v.43, p.562-68, 1997.

ARMSTRONG, L.E. Assessing Hydration Status: The Elusive Gold Standard. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 26, n. 5, p. 575S–584S, 2007.

BADWATER ULTRAMARATHON. Disponível em <http://www.badwater.com>. Acesso em abril, 2012.

BANFI, G.; COLOMBINI, A.; LOMBARDI, G.; LUBKOWSKA, A. Metabolic markers in sports medicine. **Adv Clin Chem**, v. 56, p.1-54, 2012.

BAIN, B.J. **Células sanguíneas: consulta rápida**. Porto Alegre: Artmed, 118p., 1998.

BEUTLER, E. **Red cell metabolism: a manual of biochemical methods**. 2nd ed. London: Grune & Stratton, 1975.

BRANCACCIO, P.; MAFFULLI, N.; LIMONGELLI, F.M. Creatine kinase monitoring in sport medicine. **Br Med Bull**; v. 81 and 82, n.1, p.209–230, 2007.

BRANCACCIO, P.; MAFFULLI, N.; BUONAURO, R.; LIMONGELLI, F.M. Serum enzyme monitoring in sports medicine. **Clin Sports Med**, v. 27, n. 1, p.1-18, 2008.

BRAZIL 135 ULTRAMARATHON. Disponível em <http://www.brazil135.com.br>. Acesso em abril, 2012.

CHEUNG, K.; HUME, P.A.; MAXWELL, L. Delayed onset muscle soreness. Treatment strategies and performance factors. **Sports Med**, v. 33, n.2, p.145-164, 2003.

CLARKSON, P.M.; SAYERS, S.P. Etiology of exercise-induced muscle damage. **Can J Appl Physiol**, v.24, n.3, p.234-248, 1999.

COMRADES MARATHON. Disponível em <http://www.comrades.com>. Acesso em abril, 2012.

COPA BRASIL ULTRA. Disponível em <http://www.brasilultramaratona.com.br>. Acesso em abril, 2012.

COSTA ROSA, L.F.P.B; VAISBERG, M.W. Influências do exercício na resposta imune. **Rev Bras Med Esporte**, v.8, n. 4, p.167-172, 2002.

DALANHOL, M.; BARROS, M.; MAZUCHELLI, J.; SILVA, P.H.; HASHIMOTO, Y.; LARGURA, A. Efeitos quantitativos da estocagem de sangue periférico nas determinações do hemograma automatizado. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.32, n.1, p. 16-22, 2010.

DILL, D.B., COSTILL, D.L., Calculation of percentage changes in volumes of blood, plasma, and red cells in dehydration. **J Appl Physiol** 37: 247-248, 1974.

DU CLOS, T.W.; MOLD, C. C-reactive protein: an activator of innate immunity and a modulator of adaptive immunity. **Immunol Res**, v.30, n.3, p.261-277, 2004.

DUMKE, C.L.; NIEMAN, D.C.; OLEY, K.; LIND, R.H. Ibuprofen does not affect serum electrolyte concentrations following an ultradistance run. **Br J Sports Med**, v. 41, n.8, p. 492-496, 2007.

EL-SAYED, M.S.; EL-SAYED ALI, Z.; AHMADIZAD, S. Exercise and training effects on blood haemostasis in health and disease: an update. **Sports Med**, v. 34, n. 3, p.181-200, 2004.

EVELO, C.T.A.; PALMEN, N.G.M.;, ARTUR, Y., JANSSEN, G.M. Changes in blood glutathione concentrations, and in erythrocyte glutathione reductase and glutathione S-transferase activity after running training and after participation in contests. **Eur J Appl Physiol**, v. 64, n.4, p. 354-358, 1992.

FALLON, K.E., SIVYER, G., SIVYER, K., DARE, A. The biochemistry of runners in a 1600 km ultramarathon. **Br. J. Sports Med.**;33;264-269, 1999.

FINAUD, J.; LAC, G.; FILAIRE, E. Oxidative stress. Relationship with exercise and training. **Sports Med**, v. 36, n.4, p.327-358, 2006.

4 DESERTS. Disponível em <http://www.4deserts.com>. Acesso em abril, 2012

FUKUDA, D.H.; SMITH, A.E.; KENDALL, K.L.; HETRICK, R.P.; HAMES, R.L.; CRAMER, J.T.; STOUT, J.R. The reliability of the intermittent critical velocity test and assessment of critical rest interval in men and women. **Eur J Appl Physiol**. v.112, n.4, p.1197-1205, 2012.

GOMEZ-CABRERA, M.C.; DOMENECH, E.; VIÑA, J. Moderate exercise is an antioxidant: Upregulation of antioxidant genes by training. **Free Radic Biol Med**, v. 44, n.2, p.126-131, 2008.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de Fisiologia Médica**. Elsevier Brasil. 11ª edição. 1264p., 2006.

HEATH, B.H.; CARTER, J.E.L. A modified somatotype method. **Am J Phys Anthropol**, v. 27, n. 1, p.57-74,1967.

HICKS C.L.; VON BAEYER, C.L.; SPAFFORD, P.; VAN KORLAAR, I.; GOODENOUGH, B. The Faces Pain Scale – Revised: Toward a common metric in pediatric pain measurement. **Pain**, v. 93, p.173-183, 2001.

HOFFMAN, M.D. Anthropometric characteristics of ultramarathoners. **Int J Sports Med**, v. 29, n.10, p.808–811, 2008.

HOFFMAN, M.D.; LEBUS D.K.; GANONG, A.C.; CASAZZA G.A.; VAN LOAN, M. Body composition of 161-km ultramarathoners. **Int J Sports Med**, v. 31, n.2, p.106-109, 2010.

HOFFMAN, M.D. Performance trends in 161-km ultramarathons. **Int J Sports Med**, v.31, n.1, p.31-37, 2010.

HOFFMAN, M.D.; INGWERSON, J.L.; ROGERS, I.R.; HEW-BUTLER, T.; STUEMPFLE, K.J. Increasing creatine kinase concentrations at the 161-km Western States Endurance Run. **Wilderness Environ Med**. v. 23, n.1, p.56-60, 2012.

HUANG, X-J.; CHOI, Y-K.; IM, H-S.; YARIMAGA, O.; YOON, E.; KIM, H-S. Aspartate Aminotransferase (AST/GOT) and Alanine Aminotransferase (ALT/GPT) Detection Techniques. **Sensors**, v.6, n.7, p.756-782, 2006.

JACKSON, A.S.; POLLOCK M.L. Generalized equations for predicting body density of men. **Br J Nutr**, v. 40, n. 3, p.497-504, 1978.

JONES, A.M.; VANHATALO, A.; BURNLEY, M.; MORTON, R.H.; POOLE, D.C. Critical power: implications for determination of  $VO_2$ max and exercise tolerance. **Med Sci Sports Exerc**, v. 42, p.1876–1890, 2010.

KAO, W.F.; SHYU, C.L.; YANG, X.W.; HSU, T.F.; CHEN, J.J.; KAO, W.C.; POLUN-CHANG; HUANG, Y.J.; KUO, F.C.; HUANG, C.I.; LEE, C.H. Athletic performance and serial weight changes during 12- and 24-hour ultra-marathons. **Clin J Sport Med**, v. 18, n. 2, p. 155-158, 2008.

KIM, H.J.; LEE, Y.L.; KIM, C.K. Biomarkers of muscle and cartilage damage and inflammation during a 200 km run. **Eur J Appl Physiol**, v. 99, n.4, p.443–447, 2007.

KNECHTLE, B.; DUFF, B.; WELZEL, U.; KOHLER, G. Body mass and circumference of upper arm are associated with race performance in ultraendurance runners in a multistage race--the Isarrun 2006. **Res Q Exerc Sport**, v. 80, n. 2, p.262-268, 2009.

KNECHTLE, B.; KNECHTLE, P.; ROSEMANN, T. Race performance in male mountain ultra-marathoners: anthropometry or training? **Percept Mot Skills**, v. 110, n.3, p.721-735, 2010.

KNECHTLE, B., KNECHTLE, P., WIRTH, A., RÜST, C. A., ROSEMANN, T. A faster running speed is associated with a greater body weight loss in 100-km ultramarathoners. **Journal of Sports Sciences**, v.30, n. 11, p.1131–1140, 2012.

KRANENBURG, K.J., SMITH, D.J. Comparison of critical speed determined from track running and treadmill tests in elite runners. **Med Sci Sports Exerc**, v. 28, p.614–618, 1996.

LAZZER, S.; SALVADEGO, D.; REJC, E.; BUGLIONE, A.; ANTONUTTO, G.; DI PRAMPERO, P.E. The energetics of ultra-endurance running. **Eur J Appl Physiol**, v.112, n.5, p.:1709-1715, 2012.

LEWIS, P.B.; RUBY, D.; BUSH-JOSEPH, C.A. Muscle soreness and delayed-onset muscle soreness. **Clin Sports Med**, v.31, p. 255–262, 2012.

MANZONE, T.A.; DAM, H.Q.; SOLTIS, D.; SAGAR, V.V. Blood volume analysis: a new technique and new clinical interest reinvigorate a classic study. **J Nucl Med Technol**, v. 35, n.2, p.55-63, 2007.

MARATHON DES SABLES. Disponível em <http://www.saharamarathon.co.uk>. Acesso em abril, 2012

MARGELI, A.; SKENDERI, K.; TSIRONI, M.; HANTZI, E.; MATALAS, A-L.; VRETTOU, C.; KANAVAKIS, E.; CHROUSOS, G.; PAPASSOTIRIOU, I. Dramatic elevations of interleukin-6 and acute-phase reactants in athletes participating in the ultradistance foot race Spartathlon: severe systemic inflammation and lipid and lipoprotein changes in protracted exercise. **J Clin Endocrinol Metab**, v.90: p. 3914–3918, 2005.

MARINS, J.C.B.; GIANNICHI, R.S. **Avaliação e prescrição de atividade física: guia prático**. Rio de Janeiro: Shape, 3ª edição, 341p., 2003.

MILLET, G.Y.; HOFFMAN, M.D.; MORIN, J.B. Sacrificing economy to improve running performance—a reality in the ultramarathon? **J Appl Physiol**, Article in press, 2012. doi:10.1152/jappphysiol.00016.2012.

MORTENSEN, R.F. C-reactive protein, inflammation, and innate immunity. **Immunol Res**, v. 24, n. 2, p.163-176, 2001.

NIEMAN, D.C.; DUMKE, C.I.; HENSON, D.A.; MCANULTY, S.R.; MCANULTY, L.S.; LIND, R.H.; MORROW, J.D. Immune and oxidative changes during and following the Western States Endurance Run. **Int J Sports Med**, v. 24, n.7, p. 541-547, 2003.

NIEMAN, D.C.; DUMKE, C.L.; HENSON, D.A.; MCANULTY, S.R.; GROSS, S.J.; LIND, R.H. Muscle damage is linked to cytokine changes following a 160 km running race. **Brain Behav Immun**, v.19, n. 5, p. 398-403, 2005.

NIEMAN, D.C.; HENSON, D.A.; DUMKE, C.L.; OLEY, K.; MCANULTY, S.R.; DAVIS, J.M.; MURPHY, E.A.; UTTER, A.C.; LIND, R.H.; MCANULTY, L.S.; MORROW, J.D. Ibuprofen use, endotoxemia, inflammation, and plasma cytokines during ultramarathon competition. **Brain Behav Immun**, v. 20, n.6, p.578-584, 2006.

NIEMAN, D.C.; HENSON, D.A.; DAVIS, J.M.; DUMKE, C.L.; GROSS, S.J.; JENKINS, D.P.; MURPHY, E.A.; CARMICHAEL, M.D.; QUINDRY, J.C.; MCANULTY, S.R.; MCANULTY, L.S.; UTTER, A.C.; MAYER, E.P. Quercetin Ingestion Does Not Alter Cytokine Changes in Athletes Competing in the Western States Endurance Run. **J Interferon Cytokine Res.**, v. 27, n.12, p.1003-1012, 2007.

NOAKES, T.D. The limits of endurance exercise. **Basic Res Cardiol.** v.101, p.408-417, 2006.

NORTH-FACE ULTRA-TRAIL DU MONT-BLANC, Disponível em <http://www.ultratrailmb.com>. Acesso em agosto de 2012.

OHIRA, Y.; ITO, A.; IKAWA, S. Correction of water content and solute concentration in blood during hemoconcentration. **J Appl Physiol**, v.42, n.5, p.739-743, 1977.

PAPASSOTIRIOU, I.; ALEXIOU, V.G.; TSIRONI, M.; SKENDERI, K.; SPANOS, A.; FALAGAS, M.E. Severe aseptic inflammation caused by long distance running (246 km) does not increase procalcitonin. **Eur J Clin Invest**, v. 38, n.4, p. 276–279, 2008.

PEDERSEN, B.K.; HOFFMAN-GOETZ, L. Exercise and the immune system: regulation, integration, and adaptation. **Physiol Rev**, v. 80, n. 3, p.1055-1081, 2000.

POLLOCK, M.L.; WILMORE, J.H., FOX III S.M. **Exercícios na saúde e na doença – Avaliação e prescrição para prevenção e reabilitação**. Rio de Janeiro, RJ: Editora MEDSI; p. 229-40, 1986.

POWERS, S.K.; JACKSON, M.J. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. **Physiol Rev**, v. 88, p.1243–1276, 2008.

PUBMED. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>. Acesso em setembro, 2012.

RIBEIRO, J.R.; OLIVEIRA, A.R. Efeitos do exercício e do treinamento físico na homeostasia. **Rev Bras Hematol Hemoter**, v.27, n.3, p.213-220, 2005.

ROBACH, P.; BOISSON, R.C.; VINCENT, L.; LUNDBY, C.; MOUTEREAU, S.; GERGELÉ, L.; MICHEL, N.; DUTHIL, E.; FÉASSON, L.; MILLET, G.Y. Hemolysis induced by an extreme mountain ultra-marathon is not associated with a decrease in total red blood cell volume. **Scand J Med Sci Sports** Article in press, doi: 10.1111/j.1600-0838.2012.01481.x., 2012.

ROCHA, P.E.C.P., **Medidas e avaliação em ciências do esporte**. Rio de Janeiro: Sprint, 6ª edição, 173p., 2004.

ROCHE, M.; RONDEAU P, SINGH N R, TARNUS, E. BOURDON, E. The antioxidant properties of serum albumin. **FEBS Lett**, v. 582, n.13, p.1783-1787, 2008.

ROTH, H.J.; LEITHÄUSER, R.M.; DOPPELMAYR, H.; DOPPELMAYR, M.; FINKERNAGEL, H.; VON DUVILLARD, S.P.; KORFF, S.; KATUS, H.A.; GIANNITSIS, E.; BENEKE, R. Cardiospecificity of the 3rd generation cardiac troponin T assay during and after a 216 km ultra-endurance marathon run in Death Valley. **Clin Res Cardiol**, v. 96, n.6, p. 359–364, 2007.

RYDER J. J.; GRANTHAM N. J.; KELLETT D. W.; MCNAUGHTON L.; LOVELL R.; JONES G. E. Marathon Des Sables: A Scientific Case Study. **Research in Sports Medicine**, v. 12, n.1, p. 33–44, 2004.

SCHULPIS, K. H.; TSIRONI, M.; SKENDERI, K.; LAZAROPOULOU, C.; PARTHIMOS, N.; RECLOS, G.; GOUSSETIS, E.; TSAKIRIS, S.; PAPASSOTIRIOU, I. Dramatic reduction of erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in athletes participating in the ultradistance foot race "Spartathlon", **Scand J Clin Lab Invest**, v.68, n.3, p. 1-5, 2007.

SHASKEY, D.J.; GREEN, G.A. Sports haematology. **Sports Med**, v.29, n.1, p.27-38, 2000.

SILVA, F.O.C.; MACEDO, D.V. Physical exercise, inflammatory process and adaptive condition: an overview. **Rev. Bras. Cineantropom. Desempenho Hum.** v.13, n. 4, p. 320-328, 2011.

SIRI, W.E. **Body composition from fluid spaces and density**. In: Brozek J, Henschel A, editors. Techniques for measuring body composition. Washington DC:National Academy of Science, 223-4, 1961.

SKENDERI, K.P.; KAVOURAS, S.A.; ANASTASIOU, C.A.; YIANNAKOURIS N.; MATALAS, A.. Exertional rhabdomyolysis during a 246-km continuous running race. **Med Sci Sports Exerc**, v. 38, n.6, p.1054-1057, 2006.

SKENDERI, K.P.; TSIRONI, M.; LAZAROPOULOU, C.; ANASTASIOU, C.A.; MATALAS, A-L.; KANAVAKI, I.; THALMANN, M.; GOUSSETIS, E.; PAPASSOTIRIOU I.; CHROUSOS, G.P. Changes in free radical generation and antioxidant capacity during ultramarathon foot race. **Eur J Clin Invest**, v.38, n.3, p.159–165, 2008.

SMITH, I.K.; VIERHELLER, T.L.; THORNE, C.A. Assay of glutathione reductase in crude tissue homogenates using 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid). **Anal Biochem**, v. 175, n.2, p.408-413, 1988.

SMITH, J.E. Effects of strenuous exercise on haemostasis. **Br J Sports Med**, v.37, n.5, p.433-5, 2003.

SMITH, L.L.; BRUNETZ, M.H.; CHENIER, T.C.; McCAMMON, M.R.; HOUMARD, J.A.; FRANKLIN, M.E.; ISRAEL, R.G. The effects of static and ballistic stretching on delayed onset muscle soreness and creatine kinase. **Res Q Exerc Sport**, v.64, n.1, p.103-107, 1993.

SPARTATHLON ULTRAMARATHON. Disponível em <http://www.spartathlon.gr>. Acesso em abril, 2012.

YUSOF, A.; LEITHAUSER, R.M.; ROTH H.J., FINKERNAGEL H, WILSON MT, BENEKE R. Exercise-induced hemolysis is caused by protein modification and most evident during the early phase of an ultraendurance race. **J Appl Physiol**; v.102, n.2, p. 582–586, 2007.

WAŚKIEWICZ, Z.; KŁAPCIŃSKA, B.; SADOWSKA-KRĘPA, E.; CZUBA, M.; KEMPA, K.; KIMSA, E.; GERASIMUK, D. Acute metabolic responses to a 24-h ultra-marathon race in male amateur runners. **Eur J Appl Physiol**, v.112, n.5, p.1679-1688, 2012.

WEGELIN, J.A.; HOFFMAN, M.D. Variables associated with odds of finishing and finish time in a 161-km ultramarathon. **Eur J Appl Physiol**, v.111, p.145–153, 2011.

WESTERN STATES ENDURANCE RUN. Disponível em <http://www.ws100.com/>. Acesso em abril, 2012.

WU, H.J.; CHEN, K.T.; SHEE, B.W.; CHANG, H.C.; HUANG, Y.J.; YANG, R.S. Effects of 24 h ultra-marathon on biochemical and hematological parameters. **World J Gastroenterol**, v.10, n.18, p.2711-2714, 2004.

ZOUHAL, H.; GROUSSARD, C.; VINCENT, S.; JACOB, C.; ABDERRAHMAN, A.B.; DELAMARCHE P.; GRATAS-DELAMARCHE, A. Athletic Performance and Weight Changes during the “ Marathon of Sands ” in Athletes Well-trained in Endurance. **Int J Sports Med**, v.30, n.7, p. 1439-3964, 2009.



## 10. ANEXOS

## 10.1 Anexo 1. Documento de aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética e Pesquisa em Humanos



## DECISÃO CEP N° 37/2008

Instituição: <b>UNESP – IB – CRC</b>	Departamento: Educação Física
Protocolo nº: 6096	Data: 01.10.08
Projeto de Pesquisa: "Respostas inflamatória, hematológica, de estresse oxidativo, prejuízo muscular, composição corporal e perfil lipídico em ultramaratona de 216 Km"	

Pesquisa Individual	Pesquisador Responsável:
---------------------	--------------------------

Pesquisa Alunos de Graduação	Pesquisador Responsável:
	Orientando(a):

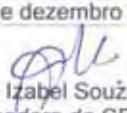
Pesquisa Alunos de Pós-Graduação	Pesquisador Responsável: Taisa Belli
	Orientador(a): Claudio Alexandre Gobatto

Objetivo Acadêmico:	<input type="checkbox"/> TCC
	<input type="checkbox"/> Mestrado
	<input checked="" type="checkbox"/> Doutorado
	<input type="checkbox"/> Outros (especificar) - <i>Pesquisa</i>

O Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Biociências da UNESP – Campus de Rio Claro, em sua 32ª reunião ordinária, realizada em 02/12/2008,

<input checked="" type="checkbox"/>	<b>Aprovou</b> o Projeto de Pesquisa acima citado, ratificando o parecer emitido pelo relator.
<input type="checkbox"/>	<b>Referendou</b> o Projeto de Pesquisa acima citado, ratificando o parecer emitido pelo relator.
<input type="checkbox"/>	Aprovou <b>retornar</b> ao interessado para atendimento das <b>pendências</b> encontradas (prazo máximo de 60 dias):
<input type="checkbox"/>	<b>Não</b> Aprovou.
<input type="checkbox"/>	<b>Retirou</b> , devido à permanência das pendências.
<input type="checkbox"/>	Aprovou o Projeto de Pesquisa acima citado e o <b>encaminha</b> , com o devido parecer, para apreciação da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa- <b>CONEP/MS</b> , por se tratar de um dos casos previstos no capítulo VIII, item 4 c.

Rio Claro, 03 de dezembro de 2008.

  
 Profa. Dra. Maria Izabel Souza Camargo  
 Coordenadora do CEP

## 10.2 Anexo 2. Termo de consentimento livre e esclarecido

Convidamos você para participar do nosso projeto de pesquisa, cujo título é **“Respostas inflamatória, hematológica, de estresse oxidativo, prejuízo muscular, composição corporal e perfil lipídico em ultramaratona de 216 km”**.

### **1) A justificativa, objetivos e os procedimentos que serão utilizados na pesquisa:**

Tal pesquisa traz como benefício aos atletas e treinadores embasamento de como encontra-se o funcionamento do corpo do atleta antes e durante a ultramaratona em termos de respostas

- hematológicas (análise de glóbulos vermelhos e glóbulos brancos no sangue),
- inflamatória (verificar se há processo inflamatório desencadeado pela corrida e em que grau),
- estresse oxidativo (Consumo de oxigênio aumentado durante a prova gera os chamados “radicais livres” os quais são deletérios ao organismo. Resposta adequada esperada do corpo é o funcionamento do sistema de defesa antioxidante.),
- biomarcadores musculares (verificar qual o grau de prejuízo muscular em tal prova),
- perfil lipídico (análise do comportamento de triglicérides, colesterol total e frações: HDL e LDL),
- composição corporal (verificar alterações de massa corporal e porcentagem de gordura corporal ao longo da corrida).

Tal embasamento fornece subsídios para adequada preparação para prova de ultramaratona tanto em termos de prescrição de treinamento como de recuperação após a prova.

Na reunião pré corrida, realizado no dia anterior a largada, nos check points de Serra dos Limas (km 84) e Estiva (km176) e até 15 minutos após a chegada serão realizadas as avaliações durante a prova na segunda quinzena de janeiro de 2009 e 2010. Nestes momentos serão coletadas amostras de sangue da veia antecubital, e mensurações de massa corporal e de dobras cutâneas dos voluntários.

### **2. Dos desconfortos e riscos possíveis (e como serão resolvidos os riscos) e os benefícios esperados:**

Riscos: Os riscos são aqueles pertinentes a qualquer coleta de sangue. Estes podem ser esclarecidos a qualquer momento pelo responsável, e tendem a ser minimizados com as coletas sendo realizadas por enfermeiro e através de uso de material descartável e higiene adequada do local.

Benefícios: Tal estudo traz como benefício aos atletas e treinadores um embasamento para adequada preparação para a prova tanto em termos de treinamento como de recuperação após a prova.

**3. Da garantia de esclarecimentos, antes e durante o curso da pesquisa:** Toda pessoa submetida às avaliações terá acesso a seus dados, bem como resultados finais.

**4. Da liberdade do sujeito em recusar a participar ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma:** Todo participante terá o direito de abandonar qualquer avaliação a qualquer momento sem penalização alguma.

**5. Da garantia do sigilo que assegure a privacidade dos sujeitos, quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa:** Será garantido o anonimato e guardado sigilo de dados confidenciais.

Pelo presente Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, eu, \_\_\_\_\_, RG \_\_\_\_\_ ou Passaporte \_\_\_\_\_, data de nascimento \_\_\_\_\_, telefone para contato \_\_\_\_\_, em pleno exercício dos meus direitos me disponho a participar da pesquisa **“Respostas inflamatória, hematológica, de estresse oxidativo, prejuízo muscular, composição corporal e perfil lipídico em ultramaratona de 216 km”**, sob a responsabilidade do(a) pesquisador(a) **Taisa Belli**. O meu consentimento em participar da pesquisa se deu após ter sido convenientemente informando(a) pelo(a) pesquisador(a) e ter entendido o que me foi explicado.

Data \_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

X \_\_\_\_\_

Assinatura

**Título do Projeto:** “Respostas inflamatória, hematológica, de estresse oxidativo, prejuízo muscular, composição corporal e perfil lipídico em ultramaratona de 216 km”.

**Pesquisador Responsável:** Taisa Belli

**Cargo/função:** Aluno de Pós-Graduação (Doutorado)

**Instituição:** UNESP-IB- Rio Claro

**Endereço:** Rua José Romanelo, 132, Mogi Mirim/SP

**Dados para Contato:** fone (19) 96868786      **e-mail:** taisa.belli@gmail.com

**Orientador:** Profº Dr. Cláudio Alexandre Gobatto

**Instituição:** Universidade Estadual Paulista – Unesp – Instituto de Biociências

**Endereço:** Av.24-A, 1515 – Bela Vista – Rio Claro SP 13506-900

**Dados para Contato:** fone 19 3526-4330      **e-mail:** cgobatto@uol.com.br