



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE MEDICINA

Grace Fernanda Severino Nunes

**O dano ou adaptação no exercício excêntrico?
Impacto do nível da atividade física sobre sobrevivência
em hipertensos e diabéticos no interior de São Paulo**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Fisiopatologia em Clínica Médica.

Orientador: Prof. Dr Luis Cuadrado Martin

Orientador estrangeiro: Prof. Dr. José Alberto Ramos Duarte

Coorientador: Prof.Dr. Roberto Jorge da Silva Franco

Botucatu
2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA

Grace Fernanda Severino Nunes

O dano ou adaptação no exercício excêntrico?
Impacto do nível da atividade física sobre sobrevivência
em hipertensos e diabéticos no interior de São Paulo

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Fisiopatologia em Clínica Médica.

Orientador: Prof. Dr Luis Cuadrado Martin

Orientador estrangeiro: Prof. Dr. José Alberto Ramos Duarte

Coorientador: Prof.Dr. Roberto Jorge da Silva Franco

Botucatu
2021

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Nunes, Grace Fernanda Severino.

O dano ou adaptação no exercício excêntrico? Qual o impacto do nível da atividade física sobre sobrevivência em hipertensos e diabéticos no interior de São Paulo / Grace Fernanda Severino Nunes. - Botucatu, 2020

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Luis Cuadrado Martin

Coorientador: José Alberto Ramos Duarte

Coorientador: Roberto Jorge da Silva Franco

Capes: 40602001

1. Diabetes mellitus. 2. Hipertensão arterial. 3. Atividade física. 4. Exercícios físicos.

Palavras-chave: Atividade física; Dano; Diabetes mellitus; Exercício excêntrico; Hipertensão arterial.

Este trabalho é dedicado:

Ao meu esposo Anderson Nunes e meus filhos Miguel e Raphael, eles fazem com que o amor seja tocável.

Agradecimento especial

Ao meu orientador Dr Luis Cuadrado Martin, um mestre, um doutor tão pleno em humanidade e humildade, que nenhum poema ou frase caberiam para agradecer pela sua bondade, ensinamento, disponibilidade, cumplicidade e credibilidade a mim concedida.

Ao meu orientador estrangeiro Dr José Alberto Ramos Duarte, que transfere seu conhecimento de maneira exímia com tamanha propriedade que transcende para nossa busca pessoal como gratidão e amor pela ciência. “Sorte ou azar?” Sorte a minha pela oportunidade da vossa orientação!

Acredito que nem sejam gente, sejam anjos!

Agradecimientos

À Capes, que potencializou esse estudo com o doutoramento sanduiche, tornando tal experiência inesquecível e ampliadora, modificando-me no aspecto pessoal e profissional;

À Dona Celeste, a técnica coordenadora, a mãe que acolhe, o braço que se estende, e o coração que não lhe cabe. Agradeço pelos ensinamentos da perfeição com a técnica e pelos dias e alegria ao compartilhar.

Aos amigos do biotério!!! Ah, essa malta!!! Nossos dias foram superados porque vencemos juntos a nós mesmos. Agradeço todo o incentivo, risadas e cumplicidade nessa caminhada. Um carinho especial a Edyla Camelo, uma pesquisadora parceira que completou sua carreira e nos deixou a saudade.

Aos funcionários técnicos e administrativos da UNESP, principalmente Ana Maria Mengue, que foi fundamental para todo o processo.

À Prefeitura Municipal de Agudos, pela dinâmica no acreditar na pesquisa e permitir o conhecimento para o cuidado aos pacientes.

Aos pacientes nossa gratidão pelo tempo e confiança. Vocês foram os agentes principais desse estudo.

Minha família, que entenderam e suportaram a distância, mesmo quando estava perto, para que pudesse me dedicar à pesquisa. Amo vocês, me tornam melhor.

Figura 1. Sobrevivência acumulada para os diferentes níveis de atividade física em pacientes hipertensos e diabéticos.....	39
Figura 2. Caracterização do conteúdo de colágeno entre os grupos no exercício excêntrico.....	64
Figura 3. Caracterização entre os grupos em área de secção transversa no exercício excêntrico.....	65
Figura 4. Caracterização entre os grupos de polarização de macrófagos M1 no exercício excêntrico.....	66
Figura 5. Caracterização entre os grupos de polarização de macrófagos M2 no exercício excêntrico.....	67
Figura 6. Caracterização entre os grupos de polarização de NF-kB no exercício excêntrico.....	68
Figura 7. Caracterização entre os grupos de reparação tecidual pelo Ki-67no exercício excêntrico.....	69

Tabela 1. Exames físicos de amostra da população do Hiperdia no município de Agudos relacionados ao nível de atividade física..... 37

Tabela 2. Exames laboratoriais de amostra da população do Hiperdia no município de Agudos relacionados ao nível de atividade física..... 38

Tabela 3. Associação dos diferentes níveis de atividade física e mortalidade em pacientes hipertensos e/ou diabéticos 40

Tabela 4. Representação do dano celular entre os diferentes níveis de treino . 63

Abreviaturas

AF	Atividade física
AVE	Acidente vascular encefálico
DCNT	Doenças crônicas não transmissíveis
DM	Diabetes mellitus
FC	Frequência cardíaca
HA	Hipertensão arterial
HDL	Lipoproteína de alta densidade
ICC	Insuficiência cardíaca congestiva
IMC	Índice de massa corporal
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
PAD	Pressão arterial diastólica
PAS	Pressão arterial sistólica
TR	Treinados
TR1	Treino semana 1
TR3	Treino semana 3
QV	Qualidade de vida
ECG	Eletrocardiograma
SUS	Sistema Único de Saúde
TFE	Treino físico exaustivo
SED	Sedentário
OMS	Organização Mundial de Saúde

Introdução geral	16
Doenças crônicas não transmissíveis	17
Hipertensão arterial e diabetes mellitus.....	17
Níveis de atividade física e mortalidade.....	18
Intensidade da atividade física.....	19
Adaptação e dano tecidual no exercício excêntrico	20
Introdução artigo 1.....	27
Objetivo.....	30
Material e Método	32
Resultados	35
Discussão	42
Conclusão	46
Introdução artigo 2.....	53
Material e método.....	57
Resultados	62
Conclusões	73
Referências.....	75
Apêndice	88

Doenças crônicas não transmissíveis

A Organização Mundial de Saúde (OMS) define como doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) as doenças cerebrovasculares, cardiovasculares, diabetes mellitus, doenças respiratórias obstrutivas, asma e neoplasias, que compartilham diversos fatores de risco e que apresentam longos períodos de latência e curso prolongado potencializando um desafio para a saúde pública (1).

No Estudo Global de Cargas de Doenças, Lesões e Fatores de Risco, os pesquisadores buscaram identificar todos os dados disponíveis sobre as causas de morte de 187 países, de 1990 a 2010 e as mortes por DCNT representam duas de cada três mortes em todo o mundo até 2010, totalizando 34,5 milhões de pessoas (2).

O exercício físico tem sido apontado como um principal agente não farmacológico, assumindo um papel benéfico e protetor no tratamento de DCNT.

Hipertensão arterial e diabetes mellitus

A associação entre a hipertensão arterial (HA) e a diabetes Mellitus (DM) é mediada pelo sistema adrenérgico e vários mecanismos patogênicos têm sido propostos. Um dos mecanismos incluem o controle mediado por incretina interagindo com o sistema renina-angiotensina-aldosterona(3). Outros sistemas, como a via de cálcio-calmodulina e as alterações no sistema cálcio-calmodulina resultam em níveis elevados de cálcio intracelular, que levam ao desenvolvimento de nefropatia diabética, aumento da rigidez das arteríolas e a expansão de fluido extracelular (4).

Em um estudo com 1.754 pacientes hipertensos não diabéticos e saudáveis, com uma média de 4 anos de acompanhamento, a pressão arterial não controlada foi associada a um risco duplo aumentado de diabetes incidente, independentemente da idade, índice de massa corporal (IMC), pressão arterial basal ou glicemia de jejum, apesar da terapia anti-hipertensiva (5).

Estudo transversal prévio realizado por nosso grupo com pacientes hipertensos e diabéticos, concluiu que sedentários apresentavam maiores índices de acidente vascular encefálico (AVE), infarto, internação hospitalar por insuficiência cardíaca, doença renal, diálise e maior frequência de história familiar

de HA. Por outro lado, o maior nível de atividade física(AF) associou-se a melhor qualidade de vida(QV), mesmo após excluírem-se os pacientes incapacitados por AVE, diálise ou insuficiência cardíaca(6).

Níveis de atividade física e mortalidade

A literatura sugere que a manutenção de um adequado nível de atividade física é um importante fator de promoção da saúde na população idosa e o estilo de vida tem um papel fundamental na prevenção e controle das DCNT, especialmente aquelas que constituem a principal causa de mortalidade (7).

Recentemente a OMS divulgou diretrizes gerais sobre o sedentarismo e AF e afirmou, com evidências de certeza alta a moderada, que a AF pode reduzir o risco de mortalidade ou progressão da doença, assim como melhorar a QV em adultos que vivem com condições crônicas (8). Em que pese que a associação entre AF laboral e proteção não seja assim tão clara (9).

Estudo recente sobre o efeito do nível de AF sobre a incidência de FA observou uma diferença entre os sexos com um efeito protetor apenas nas mulheres em toda a gama de níveis de atividade. No entanto, os homens mostraram proteção clara apenas com AF moderada e aumento de incidência de FA com AF intensa. Assim, o estudo afirmou que com exercícios regulares vigorosos, os homens tornaram-se mais propensos a FA (10).

Um dos primeiros estudos longitudinais com coorte prospectivo realizado em Londres relacionou AF e doença arterial coronariana, comparando carteiros e trabalhadores de escritório do serviço postal, bem como motoristas e cobradores dos ônibus de dois andares em Londres. Estes investigadores observaram que atividades ocupacionais com maior gasto energético estavam associadas com menores taxas de morte por doenças cardíacas coronarianas (11).

Sabemos que o nível de tal prática em idosos, é um fator relevante para se manter uma boa saúde(12) (13), assim como importante também na redução para o risco da mortalidade(14)(15)(16).

Referente ao nível de AF está documentado que os níveis mais altos na linha de base e as trajetórias crescentes ao longo do tempo foram protetores contra a mortalidade(17), que os níveis mais altos de atividade física no lazer foram associados a risco reduzido de eventos vasculares e mortalidade por todas

as causas de doença vascular (18). Encontramos na literatura que o baixo nível de AF dos pacientes com hipertensão, geralmente está associado a um nível que pode diminuir suas chances de sobrevivência (19). Outro estudo sugere ainda que a razão de risco para AF medida objetivamente e mortalidade por todas as causas é menor do que a estimativa anterior de estudos baseados em questionário, afirmando que as recomendações atuais de AF podem subestimar a verdadeira redução da mortalidade (20).

Pode-se assumir ainda, segundo pesquisa que analisou nove estudos de coorte prospectivos de quatro países onde 44.370 homens e mulheres foram acompanhados durante 4,0 a 14,5 anos, que os baixos níveis de AF e grandes períodos de sedentarismo estão associados a maiores riscos de morbidade e mortalidade além de que observaram maior risco de morte para maiores períodos de sedentarismo em todas as combinações com a AF total(21).

Estudo realizado no Reino Unido avaliou as associações combinadas e estratificadas de AF e medidas de adiposidade com mortalidade por todas as causas. A AF elevada foi associada a menor risco de mortalidade prematura em todos os estratos de adiposidade, exceto para aqueles com IMC ≥ 35 kg/m², concluindo assim que a baixa AF e adiposidade foram associadas a um maior risco de mortalidade prematura (22).

Um outro estudo prospectivo europeu avaliou a AF e mortalidade por todas as causas entre os níveis de adiposidade geral e abdominal. Concluiu que, nesses pacientes, até mesmo pequenos aumentos na AF em indivíduos inativos podem ser benéficos para a saúde (23).

Intensidade da atividade física

Está documentado que idosos poderão manter a atividade moderada com padrão já estabelecido como caminhada, e outros protocolos com até 45 minutos três vezes na semana (24). Entretanto outro estudo que analisou os efeitos da intensidade entre idade, evidenciou que a atividade vigorosa trouxe maior satisfação, enquanto a atividade moderada teve um efeito negativo com uma combinação de ambos relataram níveis de bem-estar significativamente mais altos em comparação com aqueles que não atendem às diretrizes(25).

A busca pelo protocolo ideal foi atribuída no estudo alemão (26), estabeleceu que a AF abaixo de 150 minutos por semana está associada a ganhos significativos de saúde e pode ser acumulada em sessões de pelo menos 10 minutos. Os autores afirmam que adultos e idosos devem realizar pelo menos 150 minutos por semana de intensidade moderada ou 75 minutos por semana de atividade aeróbica de alta intensidade para uma adaptação benéfica do músculo ao exercício.

Estudo recente afirma que o aumento da AF é benéfico, independentemente do nível de intensidade com o menor risco de mortalidade em comparação aos indivíduos na categoria mais baixa de AF (20).

Adaptação e dano tecidual no exercício excêntrico

O nível de atividade relacionado à intensidade associado a exposição repetitiva da prática do exercício na qual o músculo se submete gera um estresse que produz alterações estruturais e ultra-estruturais que são tangenciadas pelos tipos distintos de contração muscular(27).

Existe três tipos de contração muscular que podem ser utilizadas durante o exercício físico sendo o de ativação concêntrico, isométrico e excêntrico. O exercício excêntrico é caracterizado pelos efeitos desfavoráveis iniciais, como dano muscular, dor, excitabilidade reduzida das fibras e fraqueza muscular e quando comparado aos exercícios de contrações concêntricas e isométricas, produz maiores microlesões musculares e maior tensão mecânica, mas ele está relacionado ao que pode resultar em maiores adaptações musculares (28).

As adaptações excêntricas induzidas pelo exercício incluem hipertrofia muscular, aumento da atividade cortical e alterações no comportamento da unidade motora, as quais contribuem para melhorar a função e adaptação muscular (29).

Está bem estabelecido que as adaptações do músculo esquelético, o estresse celular e os sinais metabólicos resultantes para a biogênese mitocondrial dependem amplamente da intensidade do exercício (30), na qual se submeteu o músculo. Tal adaptação, tornam o músculo mais tolerante a um exercício na qual já foi submetido(27) (31).

Por outro lado, pouco se sabe sobre os aspectos moleculares da adaptação e a remodelação muscular. As contrações musculares associadas a maior tensão mecânica provavelmente causam maiores danos às proteínas contráteis, resultando em danos musculares mais graves (32).

Após a lesão muscular induzida pelo exercício mais intenso, a recuperação, ou seja, todo o processo inflamatório recorrente, dependerá da extensão do dano muscular inicial, que é influenciado pela intensidade e duração do exercício (33). O estresse metabólico e as alterações mecânicas contemplados ao dano muscular, estimulam vários tipos de células que compreendem o músculo esquelético para iniciar o processo das respostas inflamatórias (32).

Atualmente, o processo das respostas inflamatórias é geralmente aceito que, se bem reguladas são essenciais para o reparo e a regeneração muscular, embora a inflamação tenha sido historicamente vista como prejudicial para a recuperação do exercício.

Assim, mediante o exposto, essa tese é composta de dois estudos. O objetivo do primeiro estudo foi analisar como o nível de atividade física se relacionou à mortalidade para os pacientes hipertensos e diabéticos acompanhados há 12 anos em uma cidade do interior de São Paulo.

Para o segundo estudo, o objetivo foi analisar como a AF de alta intensidade no exercício excêntrico está relacionada ao tecido cardíaco no processo de dano ou adaptação tecidual.

Tais evidências auxiliarão no processo para lançar luz às lacunas no nosso conhecimento nesse cenário a fim de minimizar as consequências das DCNT e poder contribuir no planejamento de estratégias de intervenção para adoção e manutenção da AF, com ênfase para propostas de aderência aos exercícios físicos sobre a saúde pública promovendo assim as diretrizes globais da OMS 2020 a fim de limitar o comportamento sedentário em adultos que vivem com condições crônicas.

Impacto do nível da atividade física sobre sobrevivência em hipertensos e diabéticos no interior de São Paulo

Orientador: Dr Luis Cuadrado Martin

Coorientador: Dr. Roberto Jorge da Silva Franco

Botucatu

2021

As doenças crônicas não transmissíveis compõem um grupo de complicações que se caracterizam por apresentarem um período longo de latência, tempo de evolução prolongado e lesões irreversíveis que acarretam variedade de incapacidades e óbitos. Assim, o estudo visa avaliar de maneira prospectiva a associação entre nível de atividade física e mortalidade em pacientes hipertensos e diabéticos de uma cidade do Estado de São Paulo no Brasil. Foi realizado um estudo longitudinal com 200 pacientes, avaliados em 2012 e reavaliados em 2018 de forma padronizada. Esses pacientes hipertensos e diabéticos responderam a questionários específicos sobre o nível de atividade física e qualidade de vida. Os principais achados no presente estudo, foram a chance dos pacientes ativos em sobrevivência de 80% quando comparados aos sedentários. A atividade física se relacionou com a sobrevivência, ainda que de forma irregular com 65% de chances de sobrevivência com o paciente que não mantém essa prática. Concluímos que as pessoas ativas têm menores chances de mortalidade quando comparadas com a sedentária, assim como as irregularmente ativas maiores chances de óbito quando comparadas com o grupo ativo afirmando que o nível de atividade física está diretamente relacionado à mortalidade em pacientes hipertensos e diabéticos.

Palavra chave: Hipertensão; diabetes mellitus; atividade física; mortalidade; São Paulo

Abstract

Chronic non-communicable diseases comprise a group of complications that are characterized by having a long latency period, prolonged evolution time and irreversible lesions that cause a variety of disabilities and deaths. Thus, the study aims to prospectively assess the association between level of physical activity and mortality in hypertensive and diabetic patients in a city in the state of São Paulo in Brazil. A longitudinal study was carried out with 200 patients, evaluated in 2012 and reassessed in 2018 in a standardized way. These hypertensive and diabetic patients answered specific questionnaires about the level of physical activity, quality of life. The main findings in the present study are an 80% chance of active patients in areas when compared to sedentary ones. Physical activity was related to survival, albeit irregularly with a 65% chance of saving with the patient who does not maintain this practice. We conclude that active people have lower chances of mortality when compared to sedentary ones, as well as irregularly active ones, higher chances of death when compared to the active group, stating that the level of physical activity is directly related to mortality in hypertensive and diabetic patients.

Keywords: Hypertension ; diabetes mellitus; physical activity; mortality; São Paulo

As DCNT compõem um grupo de complicações que se caracterizam por apresentarem um período longo de latência, tempo de evolução prolongado e lesões irreversíveis que acarretam variedade de incapacidades e óbitos. Dentre as doenças, a HA e o DM, apresentam características comuns e são de fácil diagnóstico e responsáveis por mais de dois milhões de óbitos por ano no mundo (34)(35)(36)(37)(38).

Com toda essa demanda, o ministério da saúde brasileiro, através do Sistema Único de Saúde(SUS), lançou o programa Hiperdia que tem como proposta a prevenção de complicações decorrentes da não adesão ao tratamento anti-hipertensivo para tratamento hipertensivo e de diabetes.

Estudo transversal prévio realizado por nosso grupo e denominado “Caracterização dos portadores de hipertensão e diabetes atendidos nas unidades básicas de saúde da cidade de Agudos e avaliação da associação entre nível de atividade física e fatores de risco cardiovascular, qualidade de vida e comorbidades” (6) concluiu que sedentários apresentavam maiores índices de AVE, infarto, internação hospitalar por insuficiência cardíaca congestiva(ICC), doença renal, diálise e maior frequência de história familiar de hipertensão arterial. Por outro lado, o maior nível de atividade física associou-se a melhor qualidade de vida, mesmo após excluírem-se os pacientes incapacitados por AVE, diálise ou ICC.

A literatura sugere que a manutenção de um adequado nível de AF é um importante fator de promoção da saúde na população idosa e o estilo de vida tem um papel fundamental na prevenção e controle das DCNT, especialmente aquelas que se constituem na principal causa de mortalidade (39).

Por outro lado, muitos estudos experimentais randomizados têm demonstrado que programas de exercícios físicos melhoram não apenas a aptidão física, mas também os níveis de lipídios sanguíneos, pressão arterial, densidade óssea, composição corporal, sensibilidade à insulina e tolerância à glicose. Assim, parece razoável supor que a melhoria destas variáveis clínicas poderia levar à redução nas taxas de mortalidade e ao aumento no tempo de vida saudável das pessoas (39)(40).

No Brasil, observamos estudos de revisão sobre envelhecimento saudável(40), perfil histórico de morbi-mortalidade dos idosos (41), aspecto epidemiológico sobre envelhecimento(42) mas faltam na literatura estudos longitudinais para verificar a associação entre AF e mortalidade.

Os resultados destes estudos podem sugerir que as estratégias de intervenção na adoção e manutenção da AF, tenham ênfase para as propostas de aderência aos exercícios físicos considerando as marcantes características específicas de nossa população.

Devemos considerar ainda que os principais estudos nesta linha foram realizados no exterior(11)(43)(44)(39). Assim, torna-se necessário a realização de pesquisas na população brasileira para avaliar se os resultados obtidos em outros países são confirmados em nosso país. O presente estudo se justifica na medida em que contribui para o conhecimento do impacto da AF sobre a mortalidade em pacientes hipertensos e diabéticos.

Assim, o presente estudo, visou avaliar de maneira prospectiva a associação entre nível de atividade física e mortalidade em pacientes hipertensos e diabéticos.

Objetivo

Avaliar de maneira prospectiva a associação entre nível de atividade física e mortalidade em pacientes hipertensos e diabéticos.

Delineamento

Foi realizado um estudo longitudinal com 200 pacientes cadastrados no Programa Hiperdia da cidade de Agudos maiores de 18 anos, ambos os sexos que já haviam participado de estudo anterior intitulado de “Caracterização dos portadores de hipertensão e diabetes atendidos nas unidades básicas de saúde da cidade de Agudos e avaliação da associação entre nível de atividade física e fatores de risco cardiovascular, qualidade de vida e comorbidades”(6) nas Unidades de Saúde de Agudos em 2009, onde a quantidade de paciente foi determinada através da fórmula do cálculo amostral da média populacional do Hiperdia atingindo 200 pacientes.

Os mesmos pacientes foram avaliados entre maio a agosto de 2018 e os dados foram coletados em avaliação padronizada a partir de questionários. Os parâmetros antropométricos, biométricos e de pressão arterial medida de acordo com as recomendações da VII Diretrizes de Hipertensão Arterial (45).

Os exames laboratoriais foram obtidos junto a uma base de dados específica dos pacientes cadastrados no Hiperdia, sendo considerado o último exame solicitado pelo médico.

Em relação aos pacientes que foram a óbito, foi realizada uma pesquisa investigativa para verificação da causa da morte através da certidão de óbito. Os critérios de inclusão foram os participantes da pesquisa já realizada e que permaneciam inscritos no Programa Hiperdia, portadores de hipertensão arterial sistêmica e diabetes mellitus e o de exclusão, os incapazes de compreender e responder os questionários propostos por deficiência intelectual e menores de 18 anos. Todos os envolvidos consentiram com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido que foi aprovado sob Protocolo 1.642.169 de Botucatu.

Os instrumentos de avaliação foram o questionário genérico de qualidade de vida short-form 6 dimensions (SF-6D Brasil) (46), Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ)(47) ambos em sua versão traduzida, adaptada e validada para cultura brasileira.

Análise estatística

Foram descritos em variáveis quantitativas discretas ou contínuas e a variável independente o nível de AF. Os dados foram transcritos em planilha desenvolvida para coleta dos dados no software SPSS Statistic 25.

Analises univariadas para teste de significância das associações foram realizadas utilizando a análise de variância e o teste do Qui-quadrado para variáveis contínuas e discretas respectivamente. Todo teste de significância foi considerado num nível de $p < 0,05$. Os dados foram apresentados como média $\pm$ desvio padrão ou mediana (primeiro; terceiro quartil) quando apropriado.

A análise de sobrevivência foi realizado pelo modelo de regressão de COX permitindo a análise de dados provenientes de estudos de tempo de vida em que a resposta foi o tempo de início da avaliação em 2009 até a ocorrência de um evento óbito, ajustado pelas covariáveis.

A coorte foi composta por 200 pacientes, 152 eram do sexo feminino (76%), com uma média de idade de $65 \pm 12,8$ anos, houve predomínio da cor branca com 91 pacientes (45%) e média de $3,3 \pm 2,3$ anos de escolaridade, renda mensal média de 1,13 salários mínimos.

Ocorreram 22 óbitos no período de 2009 a 2018: 13 mulheres faleceram (7%) e 9 homens (5%). As causas são as que seguem: 01 paciente foi a óbito com causa de AVE isquêmico, insuficiência respiratória, 03 edema agudo pulmonar, 02 ICC, 01 câncer no pescoço, 01 choque séptico e pneumonia, 01 doença arterial obstrutiva crônica, 02 insuficiência respiratória aguda, 02 neoplasia de mama, 01 neoplasia pulmonar, parada respiratória, 01 neoplasia retal, carcinomatose peritoneal, 02 parada cardiorrespiratória, 01 parada cardíaca e por fim 04 óbitos domiciliares sem assistência médica.

Os pacientes foram categorizados de acordo com a classificação do nível de AF: pacientes classificados como sedentários, Insuficientemente Ativos e Ativos. Assim, a frequência de sedentarismo foi de 11% (22), de Insuficientemente Ativo de 68,5% (137), de Ativos de 20,5% (41).

Os dados clínicos e antropométricos divididos de acordo com a indicadores ocorrência do óbito estão expressos na tabela 1. Obtivemos uma média do índice de massa corporal de $30 \pm 5,3$ Kg/m². Não foi evidenciada diferença estatística entre os grupos, assim como não as encontramos no de pressões arteriais, frequência cardíaca, e circunferências de pescoço.

Tabela 1. Exames físicos de amostra da população do Hiperdia no município de Agudos relacionados ao nível de atividade física

Variáveis dependentes	ÓBITOS (n=22)	AMOSTRA (n=178)	p
PAS (mm Hg)	138±19,1	132±21,8	0,235
PAD (mm Hg)	87±10,8	84±16,2	0,482
FC (bpm)	69±11,2	70±10,1	0,606
IMC	30±5,6	30±6,7	0,992
Circ. pescoço (cm)	40±11,2	38±7,5	0,182

Os dados estão expressos em média $\pm$ desvio padrão, ou mediana (primeiro; terceiro quartil). Abreviações: PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; FC, frequência cardíaca; IMC, índice de massa corporal; Circ. Pescoço, circunferência de pescoço.

Os dados referentes a exames laboratoriais divididos de acordo com a ocorrência do desfecho estão expressos na tabela 2. Referentes aos exames laboratoriais foram encontrados diferenças entre a amostra e desfechos para os diferentes níveis de AF quanto a glicemia de jejum ($p=0,038$) e o LDL ($p=0,02$).

Tabela 2. Exames laboratoriais de amostra da população do Hipertensão no município de Agudos relacionados ao nível de atividade física

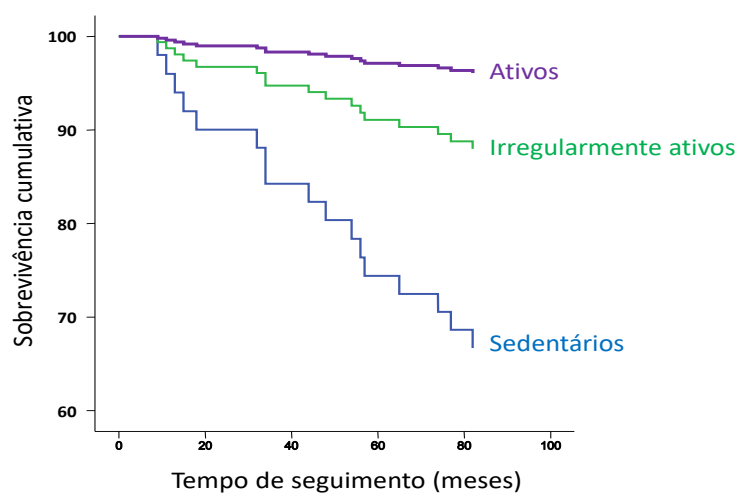
Variáveis	ÓBITOS (n=22)	AMOSTRA (n=178)	p
Glicemia jejum			
(mg/dL)	128±75,4	112±75,4	0,038
Colesterol total			
(mg/dL)	201±50,3	204±38,6	0,756
HDL			
(mg/dL)	49±21,5	44±10,6	0,060
LDL			
(mg/dL)	114±42,2	131±37,5	0,002

Os dados estão expressos em média $\pm$ desvio padrão, ou mediana (primeiro; terceiro quartil). Abreviações: HDL, lipoproteína de alta densidade; LDL, lipoproteína de baixa densidade.

Para a variável de ICC, o estudo demonstrou diferença entre os diferentes níveis de AF, denotando um $p=0,007$, assim como para pacientes que não foram tabagistas em qualquer momento de vida com um $p=0,014$. Para os pacientes que nunca ingeriram bebida alcoólica ou que pararam de ingerir, encontraram-se diferença entre os diferentes níveis de AF com um $p=0,038$.

Entre os desfechos de diferentes níveis de AF e mortalidade encontrou-se diferença estatística significativa com um $p=0,003$. A Figura 1, demonstra a sobrevida acumulada para os diferentes níveis de atividade física para os pacientes hipertensos e diabéticos.

Figura 1. Sobrevivência acumulada para os diferentes níveis de atividade física em pacientes hipertensos e diabéticos do Hiperdia em Agudos



O nível de AF associou-se à mortalidade, mesmo após o ajuste para as variáveis de confusão idade e internação por ICC. Tomando como referência os pacientes sedentários, o *hazard ratio* foi de 0,345 (IC 95%: 0,130-0,914) para os pacientes irregularmente ativos e de 0,193 (IC 95%: 0,038-0,980) para os ativos, conforme demonstrado na tabela 3.

Tabela 3. Associação dos diferentes níveis de atividade física e mortalidade em pacientes hipertensos e/ou diabéticos

		p	Hazard Ratio	95,0% IC Hazard Ratio	
				Inferior	Superior
Passo 1	Idade (anos)	0,136	1,023	0,993	1,054
	Sexo masculino	0,454	1,479	0,531	4,123
	Limitação por aspectos físicos	0,964	1,000	0,987	1,013
	Aspectos emocionais	0,211	0,993	0,981	1,004
	DM	0,133	1,983	0,811	4,846
	Internação pregressa por ICC	0,066	20,764	0,935	80,176
	Tabagismo pregresso ou atual	0,335	10,551	0,635	30,785
	IPAQ (sedentário)	0,264	Referência		
	IPAQ (irregularmente ativo)	0,265	0,520	0,165	10,640
	IPAQ (ativo)	0,114	0,246	0,043	10,403
Passo 2	Idade (anos)	0,136	10,023	0,993	10,054
	Sexo masculino	0,445	10,484	0,539	40,089
	Aspectos emocionais	0,152	0,993	0,983	10,003
	DM	0,133	10,979	0,812	40,820
	Internação pregressa por ICC	0,064	20,755	0,941	80,065
	Tabagismo pregresso ou atual	0,335	10,551	0,635	30,785
	IPAQ (sedentário)	0,233	Referência		
	IPAQ (irregularmente ativo)	0,258	0,523	0,170	10,609
	IPAQ (ativo)	0,099	0,249	0,048	10,300
Passo 3	Idade (anos)	0,108	10,024	0,995	10,054
	Aspectos emocionais	0,127	0,993	0,983	10,002
	DM	0,123	20,007	0,827	40,866
	Internação pregressa por ICC	0,054	20,855	0,984	80,287
	Tabagismo pregresso ou atual	0,239	10,676	0,709	30,964
	IPAQ (sedentário)	0,142	Referência		
	IPAQ (irregularmente ativo)	0,113	0,441	0,160	10,214
	IPAQ (ativo)	0,080	0,232	0,045	10,190
Passo 4	Idade (anos)	0,082	10,026	0,997	10,055
	Aspectos emocionais	0,142	0,993	0,983	10,002
	DM	0,165	10,855	0,775	40,437

	Internação pregressa por ICC	0,055	20,746	0,977	70,714
	IPAQ (sedentário)	0,123		Referência	
	IPAQ (irregularmente ativo)	0,079	0,414	0,155	10,106
	IPAQ (ativo)	0,087	0,241	0,047	10,230
Passo 5	Idade (anos)	0,101	10,024	0,995	10,053
	Aspectos emocionais	0,134	0,993	0,983	10,002
	Internação pregressa por ICC	0,098	20,329	0,856	60,338
	IPAQ (sedentário)	0,062		Referência	
	IPAQ (irregularmente ativo)	0,043	0,368	0,140	0,969
	IPAQ (ativo)	0,051	0,201	0,040	10,009
	Idade (anos)	0,087	10,026	0,996	10,058
Passo 6	Internação pregressa por ICC	0,042	20,788	10,036	70,498
	IPAQ (sedentário)	0,050		Referência	
	IPAQ (irregularmente ativo)	0,032	0,345	0,130	0,914
	IPAQ (ativo)	0,047	0,193	0,038	0,980

HR: hazard ratio, Aspectos físicos: limitação por aspectos físicos de acordo com o SF-36; Aspectos emocionais limitação por aspectos físicos de acordo com o SF-36; DM: presença de diabetes.

Os principais achados no presente estudo, foram a chance dos pacientes ativos em sobrevivência de 80% quando comparados aos sedentários. Os dados se mantiveram em todo o processo de análise. A AF se relacionou com a sobrevida, ainda que de forma irregular com 65% de chances de sobrevivência com o paciente que não mantém essa prática.

Na literatura, um estudo de amostra hispânica com 3298 participantes estudados durante 11 anos, descobriu que a AF em tempo livre protege contra a mortalidade por todas as causas, exceto na obesidade(48) .

Um estudo longitudinal da Grécia com 1918 pacientes, verificou a relação do nível de escolaridade com o nível de AF, observando que o alto nível de escolaridade esteve relacionado ao maior de tal prática(49) . Na correlação com a mortalidade, o menor nível de escolaridade obteve maior risco de morte para todas as causas, assim como a recorrência para doenças coronarianas.

Um estudo no Norte de Manhattan, multiétnicos, indivíduos residentes em cidades, e media de idade de 69 anos, associou a atividade física com menor risco de todas as causas de mortalidade. Esses achados, no entanto, só foram vistos, entre aqueles com um IMC inferior a 30 e não em aqueles com IMC 30 ou mais (50). No estudo, não foi encontrada associação entre mortalidade e AF de lazer.

Encontramos na literatura um estudo sobre o nível de AF e mortalidade em 13.485 homens com idade média de 57,5 anos, que o baixo nível não se relacionou a redução de taxa de mortalidade, já a AF moderada pareceu algo benéfico, porém somente as atividades vigorosas foram claramente associadas com as taxas de mortalidade reduzidas (51). No corrente estudo, envolvendo hipertensos e diabéticos, pacientes com níveis irregulares de AF já correlaciona estatisticamente a significância para a redução de taxa de mortalidade.

Estudo que acompanhou durante 7 anos, 12.138 homens de meia-idade demonstrou que a AF moderada de lazer se associou a apenas 63% das mortes e que os baixos níveis de AF de lazer com 70% das mortes por todas as causas e em comparação com as respectivas taxas de mortalidade detectadas(52).

Foi relatado em outro estudo envolvendo 1.405 mulheres suecas com idade entre 38 e 60 anos, que no grupo mais ativo o risco de morte foi apenas ligeiramente reduzido em comparação com o encontrado no moderadamente ativo e entre os moderadamente ativos em comparação com os menos ativos sem significância estatística(53).

Outro estudo demonstrou o efeito benéfico da AF porém permaneceu inalterado após o ajuste para outros preditores de mortalidade para os indivíduos moderadamente ativos no lazer e para os altamente ativos em relação às chances detectadas no sedentário homólogos (54).

Estudo realizado por Pekkanen *et al.* com 636 homens finlandeses saudáveis com idade entre 45 e 64 anos demonstrou que os indivíduos altamente ativos viveram 2,1 anos a mais do que os pouco ativos (55).

Encontramos dados estudados em 1.404 mulheres em Framingham com idade entre 50 a 74 anos monitoradas durante 16 anos com base em sua AF e foi descrito que dois grupos mais ativos tinham uma taxa de mortalidade global cerca de 30% menor em comparação com os dois grupos mais sedentários(56). Quando realizado o ajuste para fatores de risco cardíaco ou exclusão de todos os indivíduos que morreram durante os seis anos, não resultou em qualquer mudança, não existindo associação entre os níveis de AF e a morbidade ou mortalidade cardiovascular.

No corrente estudo não houve diferenças estatística entre os diferentes grupos de desfecho em relação às pressões arteriais, frequência cardíaca, índice de massa corporal circunferência abdominal e de pescoço. Encontramos dados em estudo que pressões arteriais: sistólica e diastólica estavam associados com o aumento da AF. Vários estudos (14)(57) indicaram que baixos níveis de AF associados a vários outros fatores de risco, como a elevação da pressão arterial, são fatores de risco independentes para a morbidade e mortalidade. Forest *et al.* relataram que, nos homens, a AF correlacionou-se inversamente pressão sanguínea (57).

Relacionado a glicemia de jejum, colesterol total, HDL, e glicose não encontramos significância estatística entre as variáveis, porém quando relacionados ao triglicérideo houve significância entre os grupos que sofreram o evento e os vivos. Ashton, Forest *et al.* (57) mantém a relação inversa da AF para insulina, colesterol total, colesterol LDL e diretamente correlacionados com o colesterol HDL, porém não as relaciona com o óbito.

Encontramos dados ainda que o mais importante na redução para o risco da mortalidade é o nível de AF, o que corrobora com o estudo corrente (14)(15).

Válido ressaltar que as grandes coortes os pacientes são avaliados de forma telefônica e de auto-relatos, o que no corrente estudo se sobrepõe aos resultados considerando a avaliação presencial.

Está bem documentado que tanto a aptidão física como a AF estão associadas à redução da mortalidade por todas as causas e da mortalidade nas doenças em grupo misto e definido como saudáveis, porém enquanto grupo de hipertensos e diabéticos avaliados sistematicamente e presencialmente não encontramos dados substancial o que denota uma produção agregadora para a literatura.

Conclusão

Evidenciamos que as pessoas ativas têm menores chances de mortalidade quando comparadas com a sedentária, assim como as irregularmente ativas maiores chances de óbito quando comparadas com o grupo ativo afirmando que o nível de atividade física está diretamente relacionado à mortalidade em pacientes hipertensos e diabéticos.

Os pacientes hipertensos e diabéticos que sofreram internação por insuficiência congestiva cardíaca tem maiores chances para a mortalidade assim como houve a relação direta com a idade entre os grupos.

**Repercussões estruturais cardíacas induzidas por um treino
físico exaustivo no modelo animal**

Orientador: José Alberto Ramos Duarte

Coorientador: Dr Luis Cuadrado Martin

PORTO

2020

Os níveis de atividade física assim como sua intensidade impactam o alcance da plenitude dos benefícios vindouros de tal prática. O treino físico exaustivo (TFE) pode estar associado à projeção de danos estruturais no músculo cardíaco. Assim, o objetivo do estudo experimental no modelo animal, foi analisar como o treino exigente está relacionado com as alterações estruturais no tecido cardiomiócitos. Amostra de 15 ratos machos da linhagem WISTAR com 04 semanas de idade foram distribuídos aleatoriamente em 02 grupos: Sedentário (SED n=5) e treinado (TR n=10) que foram subdivididos em treino de 01 semana (TR1 n=5) e de 03 semana (TR3 n=5). Os animais TR praticaram corrida em tapete rolante (-25°; 30m/minuto; 60 min cuja intensidade aumentou 1,25 metros/minuto em cada sessão de treinamento 6x/semana durante 03 semanas. Os animais do subgrupo TR foram sacrificados ao final da primeira semana (TR1 n=5) e ao final da terceira semana (TR3 n=5). Para a análise inferencial utilizou-se a ANOVA e os dados com distribuição não normal foram então analisados com Kruskal-Wallis com o nível de significância de 5%. Para o macrófago M2, houve a significância entre o SED e TR1 com $p=0,0096$, suposto de um processo danoso ao tecido cardíaco pela exposição excessiva. Tratando-se do macrófago M1, encontrou-se diferenças significativas em todo período de treino, significando um quadro de inflamação e interação com a imunidade adaptativa. O exercício excêntrico praticado durante as três primeiras semanas induziu no tecido cardíaco respostas celulares a estímulos de estresse, mantendo a interação da imunidade adaptativa. Assim, apesar dos potenciais benefícios do ponto de vista metabólico, os esforços de saúde pública também devem se concentrar na manutenção dos níveis de atividade física uma vez que nosso estudo evidenciou que a atividade física intensa apresentou efeitos nefastos a nível cardíaco.

Palavra-chave: Treino físico, dano, cardiomiócitos, ratos

Abstract

The levels of physical activity as well as their intensity impact the achievement of the full benefits to come of such practice. Exhaustive physical training (KET) may be associated with the projection of structural damage to the heart muscle. Thus, the objective of the experimental study in the animal model, was to analyze how demanding training is related to structural changes in cardiomyocyte tissue. Sample of 15 male WISTAR rats at 04 weeks of age were randomly assigned to 02 groups: Sedentary (SED n = 5) and trained (TR n = 10) who were subdivided into a 1 week training (TR1 n = 5) and week (TR3 n = 5). The TR animals practiced running on a treadmill (-25°; 30m / minute; 60 min whose intensity increased 1.25 meters / minute in each training session 6x / week for 03 weeks. The animals of the TR subgroup were sacrificed at the end of the first week (TR1 n = 5) and at the end of the third week (TR3 n = 5). For the inferential analysis, ANOVA was used and the data with non-normal distribution were then analyzed with Kruskal-Wallis with a significance level of 5 %. For macrophage M2, there was a significance between SED and TR1 with $p = 0.0096$, supposed to be a harmful process to the cardiac tissue due to excessive exposure. In the case of the M1 macrophage, significant differences were found in every period of training, meaning a picture of inflammation and interaction with adaptive immunity. The eccentric exercise practiced during the first three weeks induced cellular responses to stress stimuli in the cardiac tissue, maintaining the interaction of adaptive immunity. Potential benefits from the metabolic point of view, public health efforts should also focus on maintaining levels of physical activity since our study showed that intense physical activity had harmful effects at the cardiac level.

Keyword: Physical training, damage, cardiomyocytes, rats

Introdução artigo 2

A promoção do exercício físico tem sido muito incentivada por parte governamental, visto que a AF tem sido apontada como principal agente não farmacológico, assumindo um papel benéfico e protetor principalmente a nível físico psicológico e fisiológico (58)(18).

Os níveis da AF assim como sua intensidade estão diretamente relacionados no alcance da plenitude dos benefícios vindouros de tal prática. Sabe-se que o nível da prática de AF é um fator relevante para se manter uma boa saúde (59) e todo esse benefício é amplamente alcançado com a sua regularidade (37). Tal prática e regularidade poderá demandar uma exposição repetitiva ao músculo, atribuídos pelas contrações musculares associadas a maior tensão mecânica, resultando em danos musculares induzidos por exercícios mais graves, extenuantes e exaustivos(32).

O TFE pode estar associado à projeção de danos no sistema muscular aumentando o risco pelo uso excessivo das estruturas osteoarticulares, culminando em lesões de sobrecarga, fraturas e fadigas (60)(61). Para o sistema imunológico, toda a demanda poderá suprimir a imunidade e aumentar o risco de infecção(62) e quando associado aos fatores de crescimento e o sistema reprodutivo a nível endócrino, o dano é ainda mais nefasto(63). Para o sistema cardiovascular, reflete com toda probabilidade, danos às células, promovendo alterações estruturais do miocárdio devido à perda de integridade das conexões desmossomais(64)(65)(66)(67).

Os danos estruturais no músculo cardíaco são evidenciados pelo aumento dos vários marcadores sorológicos que incluem troponina I cardíaca, creatina quinase e banda miocárdica da creatina quinase (CK-MB), mioglobina e BNP sendo caracterizados esses achados como lesão miocárdica o que suscita a um intenso debate sobre as possíveis consequências negativas para a saúde(68) (69).

Outra ferramenta para diagnóstico de danos às células do miocárdio após exercícios exigentes é o ecocardiografia, tornando-se possível realizar medições funcionais e estruturais não invasivas detalhadas do coração. Estudos com atletas de endurance, observaram que durante o desenvolvimento das adaptações cardíacas, ocorreram um conjunto de alterações estruturais, incluindo aumento da espessura e massa cardíaca, volumes aumentados de ventrículo esquerdo,

aumento do tamanho do átrio esquerdo, e aumento da rigidez aórtica que sugerem que parte dessa remodelação pode ser patológica, e não inteiramente benigna e adaptativa (70)(68).

Quanto ao eletrocardiografia (ECG) sabe-se que há evidências crescentes de que a FA que corresponde à arritmia cardíaca mais comum, poderá ocorrer em atletas jovens ou de meia idade e saudáveis, e essa condição é comumente associada a grandes doenças cardiovasculares e danos estruturais no músculo cardíaco provocando lesões permanentes associada ao TFE(71). Outro estudo com atletas veteranos, evidenciou que, o exercício de resistência crônica, excessivo, sustentado e de alta intensidade, poderá estar associado a um substrato para arritmias atriais e ventriculares. Com a lesão e reparo miocárdico recorrente, poderá estar associado à disfunção diastólica, e eventualmente resultar em fibrose miocárdica irregular(69).

Observa-se a prática de exercícios de grande exigência para a melhoria do desempenho e manutenção da saúde, o que com o decorrer no tempo, poderá denotar malefícios ao invés de benefícios. Embora certa quantidade de dano muscular possa ser necessária para a adaptação muscular, danos excessivos ou recuperação inadequada pelo pouco período de pausa entre os TFE aumentam os riscos em perspectiva com outros benefícios (72).

Assim, é de fato que a maioria dos estudos sugere que os benefícios do exercício físico aumentam progressivamente com o aumento da AF e o treinamento com exercícios são benéficos, mas é possível que exercícios prolongados e treinamento com exercícios possam afetar adversamente a função cardíaca em alguns indivíduos(73)(74)(75). Entretanto, poucos estudos, examinaram os efeitos do dano do exercício exigente na repercussão crônica a nível cardíaco.

Para tal, está bem estabelecido que as anormalidades bioquímicas, eletrocardiogramas e ecocardiográficas são comumente observadas transitoriamente após a conclusão dos TFE nos atletas, embora seu significado clínico seja desconhecido(72)(76)(77)(78), porém não é possível realizar as análises em sua estrutura cardíaca. Assim, o objetivo do estudo experimental no modelo animal, foi analisar como o treino exigente está relacionado com as alterações estruturais no tecido cardíaco. Tais evidências auxiliarão no processo para abordar as lacunas atuais no nosso conhecimento nesse cenário para

minimizar as consequências das doenças e poderão sugerir estratégias de intervenção para adoção e manutenção da AF, com ênfase para propostas de aderência aos exercícios físicos sobre a saúde pública.

Material e método

Animais e desenho do estudo

O presente estudo teve uma amostra de 15 ratos machos da linhagem WISTAR (Charles River Laboratório/ Barcelona) com 4 semanas de idade. Os animais foram colocados em gaiolas contendo 2 ratos em cada unidade com temperatura, umidade controlada e ciclo 12h claro/escuro invertido. Os animais tiveram água e comida *ad libitum*. Após uma semana de aclimatização, os ratos foram distribuídos aleatoriamente em 2 grupos: (n=5 por grupo): controle (SED) e treinado (TR) Os animais TR foram subdivididos aleatoriamente em treinamento de 1 semana (TR1) e 3 semanas (TR3). Os animais TR praticaram corrida em tapete rolante com inclinação negativa (-25°; 30m/minuto; 60 min) 6x/semana, durante 1 e 3 semanas.

O sacrifício do grupo experimental ocorreu em três momentos: SED, TR1 e TR3, estabelecidos pelos 5 ratos sedentários, 5 com treinamento de 1 semana e 5 no final do experimento com 3 semanas de exercício.

Protocolo Experimental

O grupo de exercício teve 1 semana de adaptação à passadeira. Após iniciou-se o protocolo experimental na passadeira com inclinação negativa de 25°. O protocolo consistiu no aumento progressivo da intensidade da corrida de 25 para 48 metros/minutos por 1 hora ao dia durante 6 dias na semana. Sendo que o TR1 com total de 1 semana e TR2 com 3 semanas de treino. O protocolo teve início com 25 metros/minuto em que eram aumentados 1.25 metros/minuto a cada sessão alcançando no final de uma semana a intensidade de 32.5 metros/minutos e 48 metros/minuto em três semanas. O grupo controle esteve todo o protocolo limitado às gaiolas. Peso dos animais e quantidade de comida foram medidos diariamente antes de cada sessão.

Processamento da amostra

Os processamentos dos tecidos se deram a partir das rotinas histológicas do laboratório da pesquisa (fixadas 24 horas em solução de paraformaldeído a 4% a 4°C, desidratadas em soluções graduadas de etanol e depuradas em xileno e

montadas em parafina). Após o processamento dos tecidos, os mesmos foram cortados em 5µm de espessura.

Colorações histológicas

Hematoxilina e Eosina (H&E)

O protocolo de H&E consistiu em imersão das seções na solução de hematoxilina de Mayer por 5 min. seguido de imersão em solução de eosina a 1% por 10 minutos, desidratação alcoólica e imersão em xileno por 5 minutos sucedidas pela montagem laminar posterior com DPX (dibutil xileno) (talato; Shandon EZ-Mount. Thermo Electron Corporation. EUA). Os núcleos são corados pela hematoxilina sendo evidenciados em roxo, enquanto o citoplasma e os espaços intercelulares são corados pela eosina (visualizados em rosa) (79).

Picrosirius Red (Pc)

Com o objetivo de analisar a presença de fibrose no tecido cardíaco as seções foram coradas com Pricosirius Red e incubados em ácido picrico vermelho Sirius a 0.1% por 90 min. (79).

Exame microscópico

As seções foram analisadas com um microscópio óptico (Axior Imager A1. Carl Zeiss; Alemanha) e as imagens gravadas com uma câmera digital acoplada (Leica DM4000B. Nussloch. Alemanha). O software Image- J (Media Cybernetics. Inc) foi utilizado para quantificar a distância e áreas estudadas (µm).

Histologia

Processamento de tecidos para microscopia óptica: amostras de coração foram fixadas por 24h em solução de paraformaldeído a 4% a 4°C, desidratadas em soluções graduadas de etanol, depuradas em xileno e montadas em parafina. Cortes de 5 µm de espessura de todos os lobos foram cortados e utilizados para

avaliar o conteúdo de tecido de colágeno, polarização de macrófagos (ativação M1 e M2), expressão de fator nuclear kappa B (NF- κ B) e proliferação celular (ki 67). As seções foram analisadas com um microscópio óptico (Axio Imager A1, Carl Zeiss; Alemanha) e as imagens gravadas com uma câmera digital acoplada (Leica DM4000B, Nussloch, Alemanha).

Avaliação da polarização de NF- κ B, macrófagos por imuno-histoquímica e proliferação celular: seções desparafinizadas do coração foram lavadas em água destilada e incubadas em PBS por 10 min antes da recuperação do antígeno em uma panela de pressão por 10 min em tampão de citrato 0,1 M (pH 6,0). Depois de refrigerados à temperatura ambiente imersos em tampão citrato 0,1 M, as seções foram lavadas duas vezes (5 min cada) com solução de PBS e a atividade da peroxidase endógena foi bloqueada com peróxido de hidrogênio a 3% em metanol por 30 min. Os locais de ligação não específicos foram bloqueados com BSA a 3% em PBS durante 30 min. Cada lâmina foi incubada com anticorpo policlonal de coelho anti-NF- κ B p50 (diluído 1:50; sc114, Sta. Cruz), anticorpo policlonal de coelho anti-CD68 (diluído 1:50; ab125212, Abcam) para quantificação de macrófagos M1 e anticorpo policlonal de coelho receptor de manose (diluído 1:50; ab64693, Abcam) para quantificação de macrófagos M2 em PBS-T durante a noite (4°C) e anticorpo policlonal de coelho receptor de humano (diluído 1:50; ab8191, Abcam) para a proliferação celular. As seções foram lavadas com PBS e depois incubadas com um anticorpo secundário conjugado à IgG peroxidase anti-coelho de cabra (diluído 1: 100; Ab97051, Abcam) em PBS-T por 2h a 37°C para o M1, M2 e NF κ B. O secundário utilizado para o KI67 foi o secundário conjugado à IgG peroxidase anti-humano (diluído 1:100; Ab6728, Abcam). As seções foram então lavadas sob agitação suave e incubadas com reagente de tetrahidrocloro de 3,3'-diaminobenzidina (SIGMAFAST™ DAB, gato D4293-50SET, Sigma-Aldrich) por 5 minutos. Após a interrupção da reação e lavagem subsequente, as lâminas foram contrastadas com hematoxilina-água diluída (1:12) por 3 min.(80). Os controles negativos foram realizados com a omissão da etapa de incubação do anticorpo primário. Seis campos visuais microscópicos por seção foram avaliados por animal. Os resultados foram expressos como o número de células positivas por seção.

Análise dos índices de dano muscular

As lâminas foram coradas com hematoxilina-eosina e a partir disso, tiradas fotos aleatórias de magnitude 40x, sendo avaliadas segundo 4 parâmetros indicadores de dano muscular, relacionado a sinais de degenerescência celular (dilatação das fibras, vacuolização, presença de núcleos picnóticos e densidade sarcoplasmática), de necrose (fibras musculares necróticas ou eosinofílicas), da presença de reação inflamatória (leucócitos intersticiais ou no interior das fibras) e o grau de desorganização tecidual, de acordo com a metodologia já descrita(81).

Análise estatística

A normalidade dos dados foi verificada através do teste Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk. As variáveis estudadas com distribuição normal foram apresentadas através de média e desvio padrão (DP). Para a análise inferencial utilizou-se a ANOVA. As variáveis anormais foram apresentadas na forma de mediana e intervalo interquartil. Para os dados não normais utilizou-se o Kruskal-Wallis. O nível de significância estabelecido foi de 5%. A tabulação dos dados foi realizada através do EXCEL for WINDOWS® e a análise dos dados através do programa GraphPad Prisma versão 8.

Resultados

Dano celular

Tratando-se dos quatro indicadores do dano celular, evidenciou-se que as diferenças estatísticas entre os grupos se seguem na degeneração tecidual, necrose, infiltração conforme expressado na tabela 4. Os valores no processo de degeneração aumentaram em TR1 e ainda mais em TR3, mediante a exigência do treino, assim como para a necrose e infiltração. Para a organização celular os valores se mantiveram.

Tabela 4. Representação do dano celular entre os diferentes níveis de treino

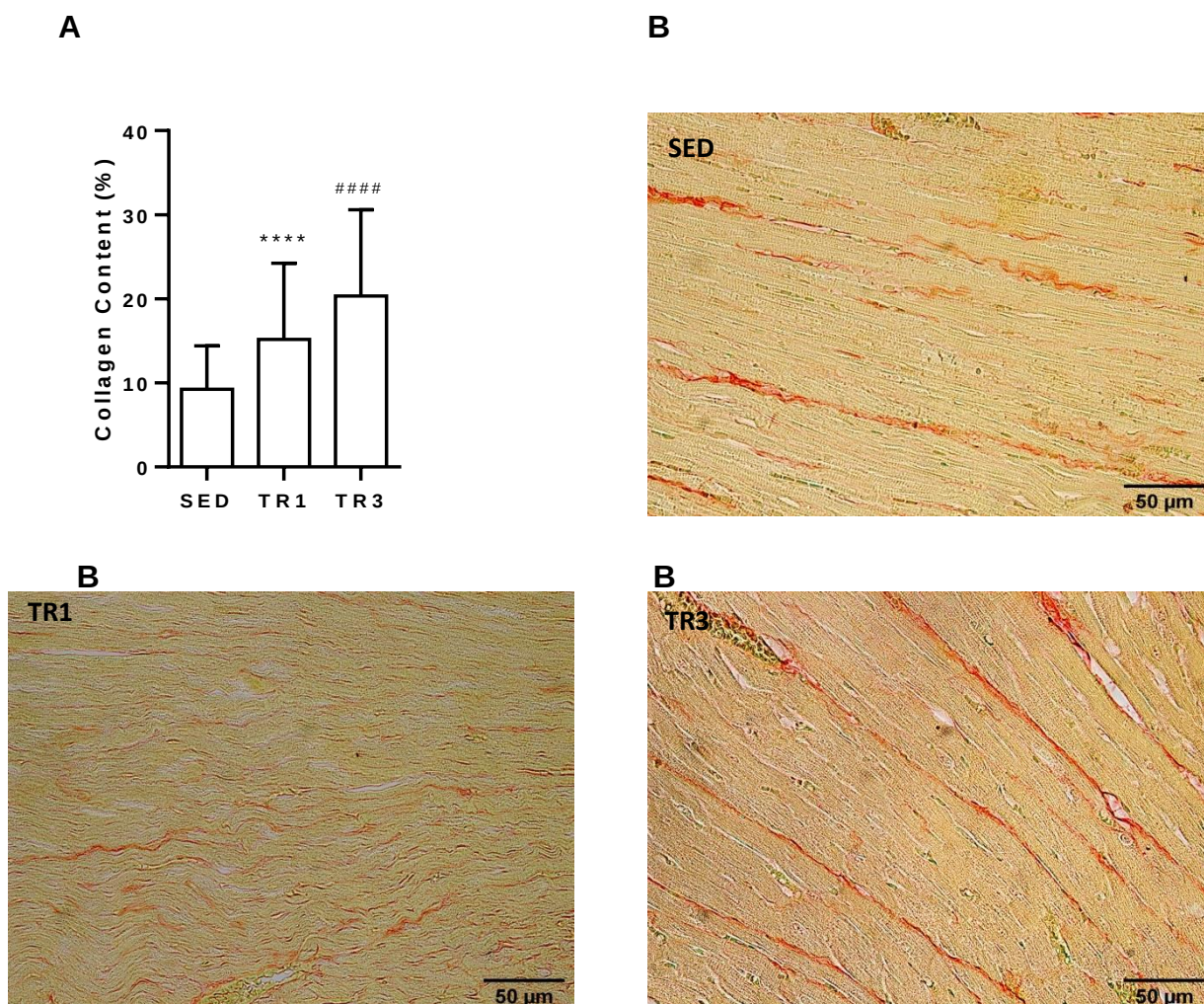
	Degeneração	Necrose	Infiltração	Organização
SED	0(0-1,0) * #	0(0-0) * #	0(0-0) * #	0(0-0)
TR1	1,0(1,0-2,0)	1(0-1)	1,0(0-1,0)	0(0-0)
TR3	2,0(1,0-2,0)	1,0(1,0-2,0)	1,0(1,0-2,0)	0(0-0)

Os valores são descritos em mediana 1º e 3º quartil. * p<0.0001 vs. TR1; # p<0.0001 vs. TR3.

Níveis de Colágeno

O treino excêntrico induziu ao aumento dos níveis de colágeno nas fibras cardíacas especificamente entre o grupo SED com TR1 e SED com TR3, conforme figura 2. Houve o aumento do colágeno a partir da primeira semana de treino, aumentando ao longo do tempo indicando uma remodelação dos cardiomiócitos atribuídos por um processo de adaptação ao exercício.

Figura 2. Caracterização do conteúdo de colágeno entre os grupos no exercício excêntrico representado em A. Micrografias de luz representativas do músculo cardíaco do grupo sedentário (SED), subgrupo de exercícios excêntricos da semana (TR1) e subgrupo de exercícios excêntricos da semana (TR3), corados com Pricosirius Red, estão representados em B.

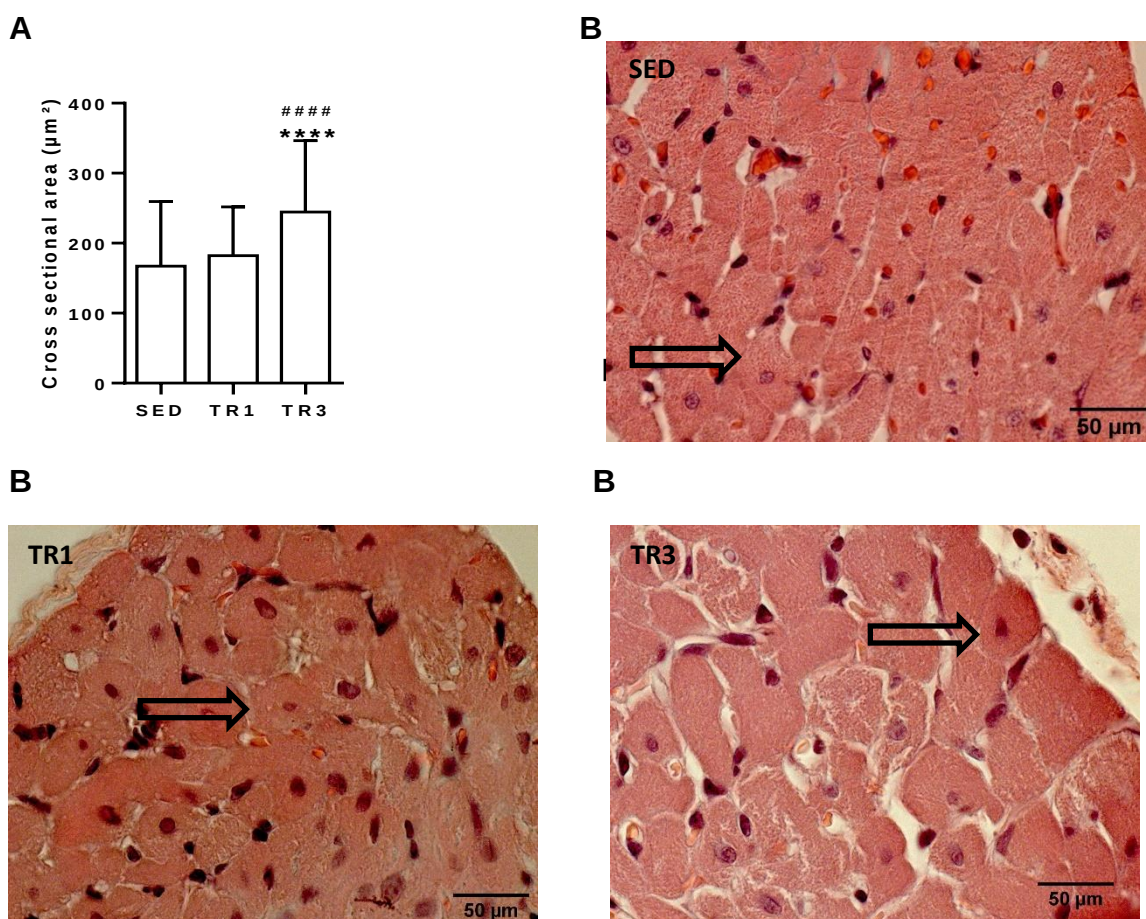


**** $p < 0.0001$ vs. SED;
 ##### $p < 0.0001$ vs. SED.

Área de secção transversa

O treino excêntrico também induziu um aumento significativo da área de secção transversa entre o SED e TR3 com um $p < 0,0001$. Entre o grupo TR1 e TR3, encontramos uma relação significativa de $p < 0,0001$, conforme expresso na figura 3. Apesar de em TR1 não haver significância entre o SED, observa-se que os valores representam aumento de TR3 significando que as células foram sobrecarregadas pela ação mecânica sofrendo uma adaptação.

Figura 3. Caracterização entre os grupos em área de secção transversa no exercício excêntrico representado em A. Micrografias de luz representativas do músculo cardíaco do grupo sedentário (SED), subgrupo de exercícios excêntricos da semana (TR1) e subgrupo de exercícios excêntricos da semana (TR3), corados com Hematoxilina e Eosina, estão representados em B.



**** $p < 0.0001$ vs. SED;

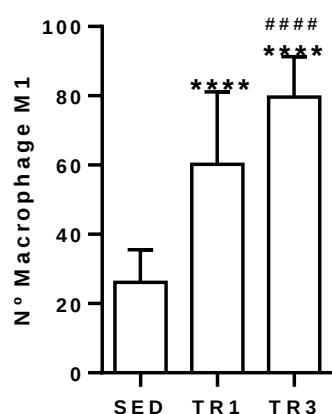
$p < 0.0001$ vs. TR1.

Macrófago M1

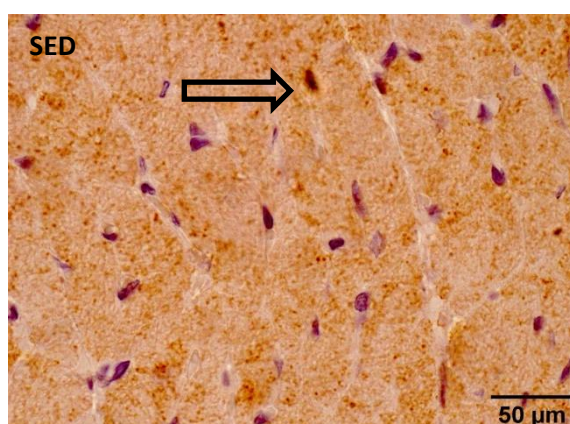
Tratando-se do macrófago M1, encontrou-se diferenças significativas em todo período de treino, estabelecido pela figura 4. Observa-se um aumento da densidade ao longo do tempo, significando um quadro de inflamação e interação com a imunidade adaptativa.

Figura 4. Caracterização entre os grupos de polarização de macrófagos M1 no exercício excêntrico representados em A. Micrografias de luz representativas do músculo cardíaco do grupo sedentário (SED), subgrupo de exercícios excêntricos da semana (TR1) e subgrupo de exercícios excêntricos da semana (TR3), amparados com Imunohistoquímica Macrófago M1, estão representados em B.

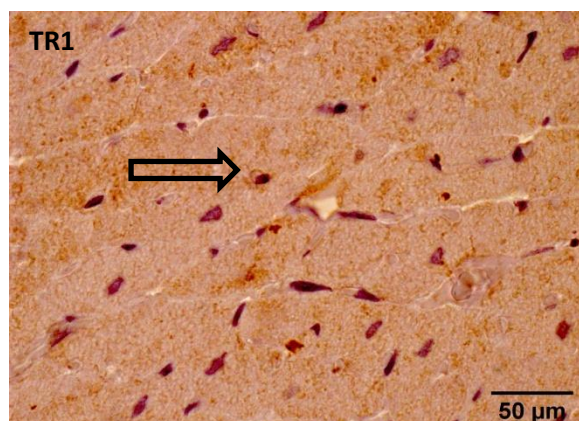
A



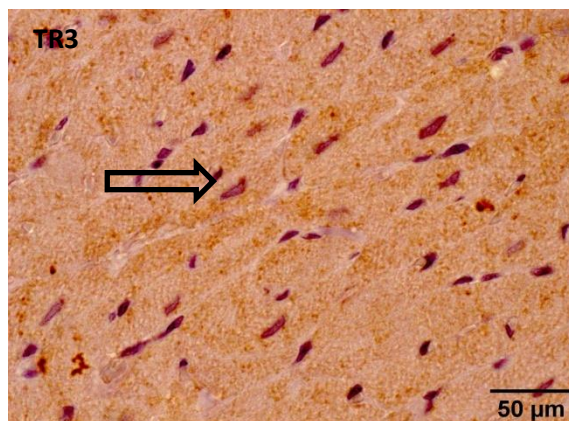
B



B



B



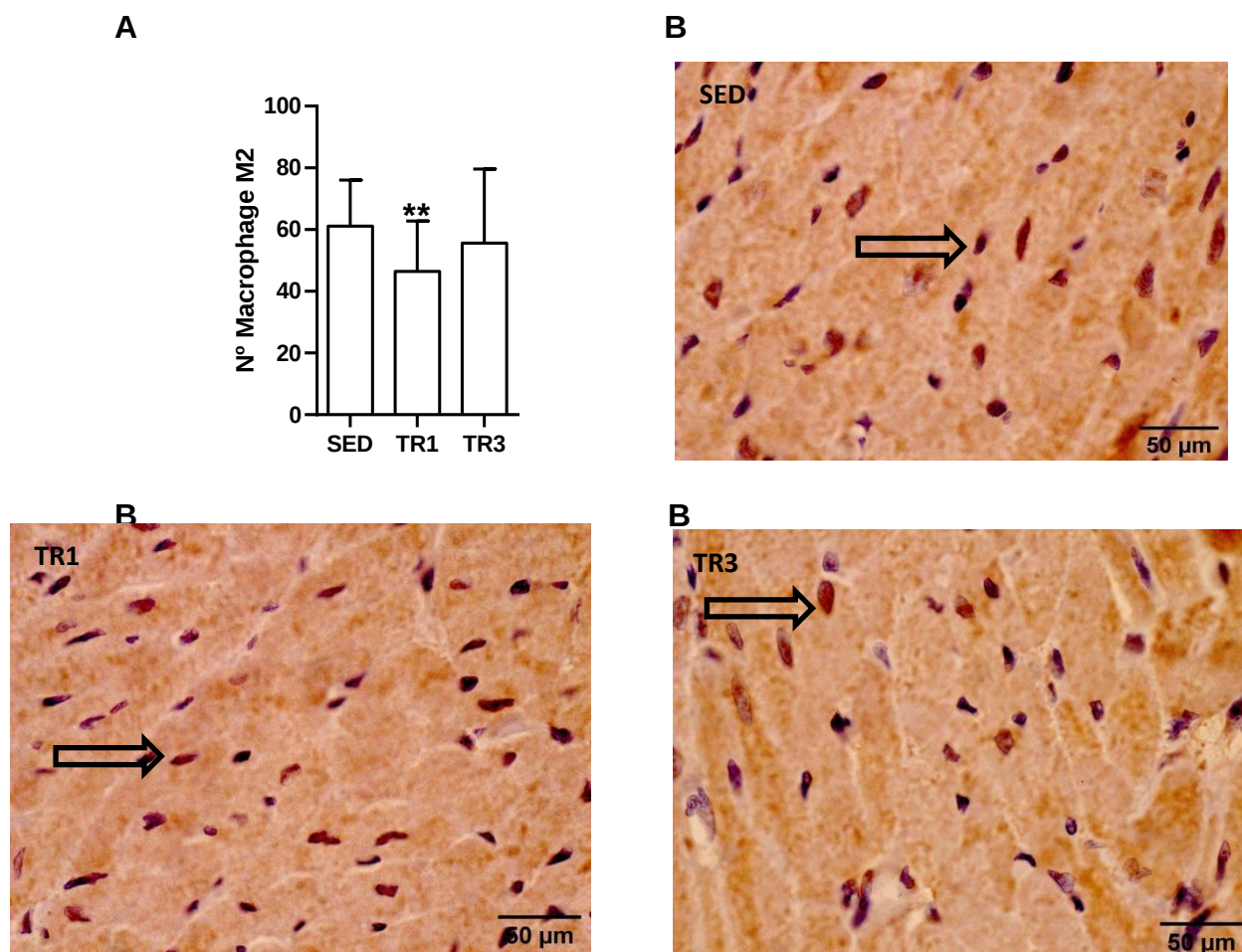
**** $p < 0.0001$ vs. SED;

$p < 0.0001$ vs. TR1.

Macrófago M2

Referente à marcação do macrófago M2, na qual desempenham papel importante no processo de reparo tecidual, houve a significância entre o SED e TR1 com $p=0,0096$, e ilustrado na figura 5. Pode-se observar que houve uma diminuição do processo reparativo na primeira semana e que mesmo com o aumento em TR3 não demonstrou ser significativo no processo, o que pode ser suposto de um processo danoso ao tecido cardíaco pela exposição excessiva.

Figura 5. Caracterização entre os grupos de polarização de macrófagos M2 no exercício excêntrico representados em A. Micrografias de luz representativas do músculo cardíaco do grupo sedentário (SED), subgrupo de exercícios excêntricos da semana (TR1) e subgrupo de exercícios excêntricos da semana (TR3), amparados com Imunohistoquímica Macrófago M2, estão representados em B.



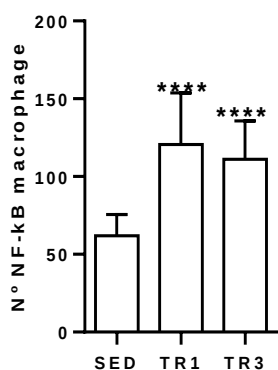
** $p=0,0096$ vs. SED.

Macrófago NF-kB

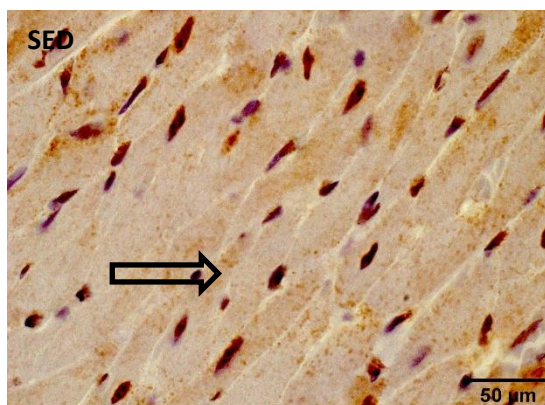
Para a marcação do macrófago de NF-kB, relacionado à resposta celular como estímulos de estresse e inflamação, foi identificado expressivamente que na primeira semana de atividade já se observa tal resposta celular se comparado ao sedentário ($p < 0,001$), este que por sua vez relacionou-se significativamente ao treino de 3 semanas ($p < 0,001$), conforme expressado na figura 6. Observado uma diminuição da resposta celular em TR3 aos estímulos quando comparados com TR1.

Figura 6. Caracterização entre os grupos de polarização de NF-kB no exercício excêntrico representados em A. Micrografias de luz representativas do músculo cardíaco do grupo sedentário (SED), subgrupo de exercícios excêntricos da semana (TR1) e subgrupo de exercícios excêntricos da semana (TR3), amparados com Imunohistoquímica Macrófago NFKB, estão representados em B.

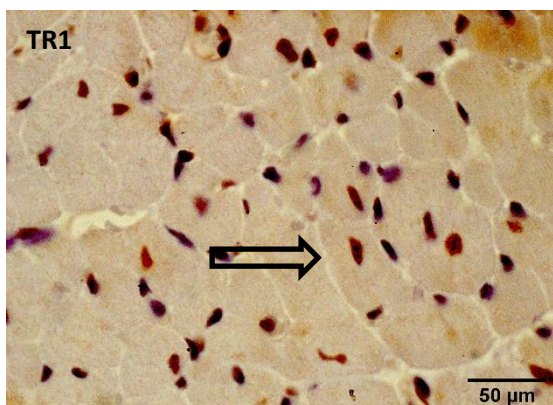
A



B

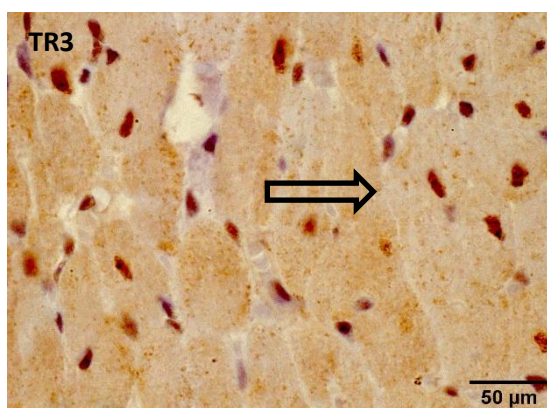


B



**** $p < 0.0001$ vs. SED

B

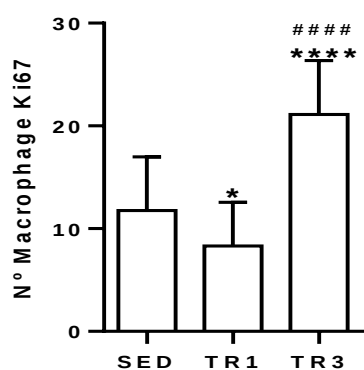


Macrófago Ki 67

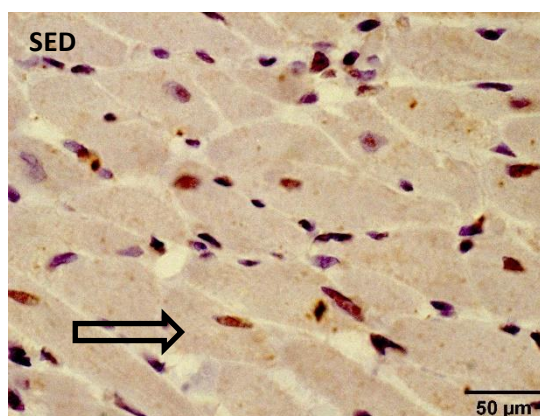
Para o referido macrófago, foram encontradas diferenças significativas em todo o processo de nível de atividade física relacionada à proliferação celular na tentativa de reparar o dano conforme figura 7. Observou-se uma diminuição na primeira semana com um aumento significativo para a reparação tecidual dos cardiomiócitos em TR3.

Figura 7. Caracterização entre os grupos de reparação tecidual pelo Ki-67 no exercício excêntrico representados em A. Micrografias de luz representativas do músculo cardíaco do grupo sedentário (SED), subgrupo de exercícios excêntricos da semana (TR1) e subgrupo de exercícios excêntricos da semana (TR3), amparados com Imunohistoquímica Macrófago Ki67, estão representados em B.

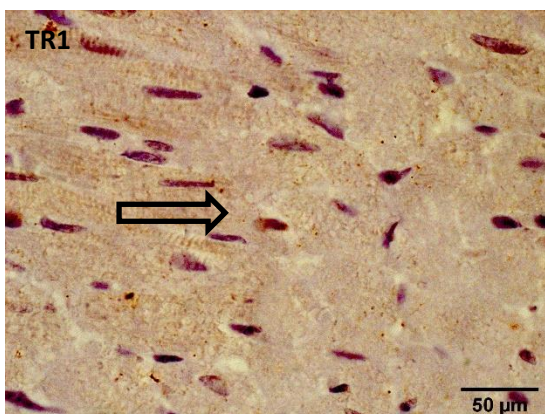
A



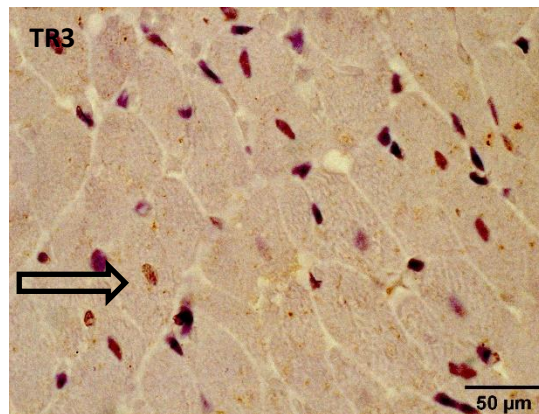
B



B



B



**** $p < 0.0001$ vs. SED;

$p < 0.0001$ vs. TR1;

* $p = 0,0211$ vs. SED.

Discussão

Os resultados obtidos demonstraram que os diferentes níveis de exercício excêntrico de alta intensidade causaram danos nos cardiomiócitos, mesmo com as evidências de remodelação tecidual durante todo o processo da atividade física.

No presente estudo, o dano apresentado ao tecido cardiomiócitos pode estar relacionado à intensidade da AF gerida pelo protocolo imposto. Em um estudo semelhante que estudou o sóleo e músculo tibial, relatou que o dano muscular demonstra comportamentos diferentes de acordo com o tipo de trabalho que cada músculo realiza(82).

Os danos musculares foram induzidos pela exigência do exercício excêntrico à medida que se aumentava o tempo de exposição da atividade. Na literatura, encontramos estudos que afirmam que as contrações musculares associada a maior tensão mecânica provavelmente causam maiores danos às proteínas contráteis (32).

Todo o processo de resposta inflamatória foi evidenciado no corrente estudo a partir da primeira semana de atividade, representado pelo TR1. Atualmente, o processo de resposta inflamatória é geralmente aceito que, se bem reguladas são essenciais para o reparo e a regeneração muscular, embora a inflamação tenha sido historicamente vista como prejudicial para a recuperação do exercício (30). O estresse metabólico e as alterações mecânicas contemplados ao dano muscular, estimulam vários tipos de células que compreendem o músculo esquelético para iniciar o processo das respostas inflamatórias (32).

Os nossos dados também mostraram um acentuado aumento da área do conteúdo de colágeno muscular juntamente com o aumento da área de secção transversa no exercício excêntrico, denotando que houve uma adaptação durante o protocolo intenso nos diferentes nível de atividade física conforme corrobora com outro estudo (83).

O treino excêntrico induziu ao aumento da área de secção transversa nas fibras cardíacas especificamente entre o grupo SED com TR1 e SED com TR3. Podemos afirmar ainda que o treino excêntrico também induziu um aumento significativo da área de secção transversa entre o SED e TR3. Toda essa alteração projetada pelo nível de atividade relacionado à intensidade associado a exposição repetitiva da prática do exercício na qual o músculo se submete gera

um estresse que produz alterações estruturais e ultra-estruturais que são tangenciadas pelos tipos distintos de contração muscular(27).

Está bem estabelecido que às adaptações do músculo esquelético, o estresse celular e os sinais metabólicos resultantes para a biogênese mitocondrial dependem amplamente da intensidade do exercício (30), conforme corrobora com nosso estudo.

Está bem documentada sobre as intensidades do treino físico na água fatores de proteção no miocárdio(84)(85), treino de alta e média intensidade em ratos idosos(86), alta intensidade em os padrões dinâmicos do fenótipo de macrófagos no músculo esquelético mediante estímulos excêntricos induzido pelo exercício (87), o papel do exercício na plasticidade do dano (88).

Após a lesão muscular induzida pelo exercício mais grave, a recuperação, ou seja, todo o processo inflamatório recorrente dependerá da extensão do dano muscular inicial, que é influenciado pela intensidade e duração do exercício (33). Em nosso estudo, observamos a reparação tecidual denotada na referência a imunohistoquímica M2 entre SED e TR1, o que pode sugerir que houve o processo regenerativo na primeira semana do exercício excêntrico aplicado. Após as seguintes semanas, apesar do aumento das células de regeneração, não foram encontrados significâncias entre ao SED e TR3, ou mesmo TR1 e TR3.

Conclusões

O exercício excêntrico praticado durante as três primeiras semanas induziu no tecido cardíaco respostas celulares a estímulos de estresse, mantendo em todo o período a apoptose e a fagocitose no processo pró-inflamatória através da interação da imunidade adaptativa.

O processo de reparação tecidual e de cicatrização no miocárdico iniciou-se na primeira fase da implementação do exercício excêntrico e induziu a proliferação de colágeno e a adaptação das fibras musculares da área de secção transversa.

Já o processo de contínuo do exercício excêntrico de alta intensidade na terceira semana, não se evidenciou significância das células reparadoras, o que poderá caracterizar um dado tecidual pela exigência do exercício ou pela não intermitência na AF.

Assim, apesar dos potenciais benefícios do ponto de vista metabólico, os esforços de saúde pública também devem se concentrar na manutenção dos níveis de atividade física uma vez que nosso estudo evidenciou que a AF intensa apresentou efeitos nefastos a nível cardíaco.

Referências

1. Organização Mundial da Saúde. Relatório de status global sobre doenças não transmissíveis 2010. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2011. 176 p. No Title.
2. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* (London, England) [Internet]. 2012 Dec 15;380(9859):2095–128. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23245604>
3. Santulli G, Lombardi A, Sorriento D, Anastasio A, Del Giudice C, Formisano P, et al. Age-related impairment in insulin release: the essential role of $\beta(2)$ -adrenergic receptor. *Diabetes* [Internet]. 2012/02/07. 2012 Mar;61(3):692–701. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22315324>
4. Group UKPDS. Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. UK Prospective Diabetes Study Group. *BMJ* [Internet]. 1998 Sep 12;317(7160):703–13. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9732337>
5. Izzo R, de Simone G, Chinali M, Iaccarino G, Trimarco V, Rozza F, et al. Insufficient control of blood pressure and incident diabetes. *Diabetes Care* [Internet]. 2009/02/17. 2009 May;32(5):845–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19223610>
6. Nunes GFS. Caracterização dos portadores de hipertensão e diabetes atendidos nas unidades básicas de saúde da cidade de Agudos e avaliação da associação entre nível de atividade física e fatores de risco cardiovascular, qualidade de vida e comorbidades. *Revista Andaluza de Medicina*, 2018.
7. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*

- (London, England) [Internet]. 2004 Sep 11;364(9438):937–52. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15364185>
8. Dempsey PC, Friedenreich CM, Leitzmann MF, Buman MP, Lambert E, Willumsen J, et al. Global Public Health Guidelines on Physical Activity and Sedentary Behavior for People Living With Chronic Conditions: A Call to Action. *J Phys Act Health*. 2020 Dec;1–10.
 9. Cillekens B, Lang M, van Mechelen W, Verhagen E, Huysmans MA, Holtermann A, et al. How does occupational physical activity influence health? An umbrella review of 23 health outcomes across 158 observational studies. *Br J Sports Med* [Internet]. 2020 Dec 1;54(24):1474 LP – 1481. Available from: <http://bjsm.bmj.com/content/54/24/1474.abstract>
 10. Nattel S. Physical activity and atrial fibrillation risk: it's complicated; and sex is critical. *Eur Heart J* [Internet]. 2020 Apr 14;41(15):1487–9. Available from: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz906>
 11. MORRIS JN, CRAWFORD MD. Coronary heart disease and physical activity of work; evidence of a national necropsy survey. *Br Med J* [Internet]. 1958 Dec 20;2(5111):1485–96. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13608027>
 12. Zbrońska I, Mędreła-Kuder E. The level of physical activity in elderly persons with overweight and obesity. *Rocz Panstw Zakl Hig* [Internet]. 2018;69(4):369–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30525327>
 13. Rubio Castañeda FJ, Tomás Aznar C, Muro Baquero C. Validity, Reliability and Associated Factors of the International Physical Activity Questionnaire Adapted to Elderly (IPAQ-E) TT - Medición de la actividad física en personas mayores de 65 años mediante el IPAQ-E: validez de contenido, fiabilidad y facto. *Rev Esp Salud Publica* [Internet]. 2017 Jan 18;91:e201701004. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28098134>
 14. Ashton WD, Nanchahal K, Wood DA. Leisure-time physical activity and coronary risk factors in women. *J Cardiovasc Risk* [Internet]. 2000

- Aug;7(4):259–66. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11006896>
15. Schnohr P. Longevity and causes of death in male athletic champions. *Lancet* (London, England) [Internet]. 1971 Dec 18;2(7738):1364–6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4108278>
 16. Löllgen H, Böckenhoff A, Knapp G. Physical activity and all-cause mortality: an updated meta-analysis with different intensity categories. *Int J Sports Med* [Internet]. 2009/02/06. 2009 Mar;30(3):213–24. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19199202>
 17. Mok A, Khaw K-T, Luben R, Wareham N, Brage S. Physical activity trajectories and mortality: population based cohort study. *BMJ* [Internet]. 2019 Jun 26;365:l2323–l2323. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31243014>
 18. Boss HM, Kappelle LJ, Van Der Graaf Y, Kooistra M, Visseren FLJ, Geerlings MI. Physical Activity and Vascular Events and Mortality in Patients with Vascular Disease. *Med Sci Sports Exerc* [Internet]. 2015 Nov;47(11):2359–65. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25793539>
 19. González-Saiz L, Santos-Lozano A, Fiuza-Luces C, Sanz-Ayán P, Quezada-Loaiza CA, Ruiz-Casado A, et al. Physical activity levels are low in patients with pulmonary hypertension. *Ann Transl Med* [Internet]. 2018 Jun;6(11):205. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30023368>
 20. Ramakrishnan R, He J-R, Ponsonby A-L, Woodward M, Rahimi K, Blair SN, et al. Objectively measured physical activity and all cause mortality: A systematic review and meta-analysis. *Prev Med (Baltim)* [Internet]. 2021;143:106356. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S009174352030387X>
 21. Ekelund U, Tarp J, Fagerland MW, Johannessen JS, Hansen BH, Jefferis BJ, et al. Joint associations of accelero-meter measured physical activity and sedentary time with all-cause mortality: a harmonised meta-analysis in more than 44 000 middle-aged and older individuals. *Br J Sports Med*

- [Internet]. 2020 Dec 1;54(24):1499 LP – 1506. Available from:
<http://bjsm.bmj.com/content/54/24/1499.abstract>
22. Sanchez-Lastra MA, Ding D, Dalene K-E, Ekelund U, Tarp J. Physical activity and mortality across levels of adiposity: a prospective cohort study from the UK Biobank. *Mayo Clin Proc* [Internet]. 2021;En prensa:1–15. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2020.06.049>
 23. Ekelund U, Ward HA, Norat T, Luan J, May AM, Weiderpass E, et al. Physical activity and all-cause mortality across levels of overall and abdominal adiposity in European men and women: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition Study (EPIC). *Am J Clin Nutr*. 2015 Mar;101(3):613–21.
 24. Forster A, Lambley R, Young JB. Is physical rehabilitation for older people in long-term care effective? Findings from a systematic review. *Age Ageing* [Internet]. 2010/01/21. 2010 Mar;39(2):169–75. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20097661>
 25. Wicker P, Frick B. Intensity of physical activity and subjective well-being: an empirical analysis of the WHO recommendations. *J Public Health (Oxf)* [Internet]. 2017 Jun 1;39(2):e19–26. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27412174>
 26. Füzéki E, Vogt L, Banzer W. German National Physical Activity Recommendations for Adults and Older Adults: Methods, Database and Rationale TT - Nationale Bewegungsempfehlungen für Erwachsene und ältere Erwachsene – Methodisches Vorgehen, Datenbasis und Begründung. *Gesundheitswesen* [Internet]. 2017/04/11. 2017 Mar;79(S 01):S20–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28399582>
 27. Duarte JA, Mota MP, Neuparth MJ, Appell HJ, Soares JMC. Miopatia do exercício. *Anatomopatologia e Fisiopatologia. Rev Port Ciências do Desporto*. 2001;2001(2):73–80.
 28. Hedayatpour N, Falla D. Physiological and Neural Adaptations to Eccentric Exercise: Mechanisms and Considerations for Training. *Biomed Res Int* [Internet]. 2015/10/12. 2015;2015:193741. Available from:

- <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26543850>
29. Walker PM, Brunotte F, Rouhier-Marcer I, Cottin Y, Casillas JM, Gras P, et al. Nuclear magnetic resonance evidence of different muscular adaptations after resistance training. Arch Phys Med Rehabil [Internet]. 1998 Nov;79(11):1391–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9821899>
 30. MacInnis MJ, Gibala MJ. Physiological adaptations to interval training and the role of exercise intensity. J Physiol [Internet]. 2016/12/07. 2017 May 1;595(9):2915–30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27748956>
 31. Foschini D., ; PJ, Charro M. Artigo de revisão MUSCULAR DE INÍCIO TARDIO RELATIONSHIP BETWEEN PHYSICAL EXERCISE , MUSCLE DAMAGE AND DELAYED-ONSET MUSCLE SORENESS. Rev Bras Cineantropometria E Desempenho Hum. 2007;9(February 2016):101–6.
 32. Hyldahl RD, Hubal MJ. Lengthening our perspective: morphological, cellular, and molecular responses to eccentric exercise. Muscle Nerve [Internet]. 2013/12/03. 2014 Feb;49(2):155–70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24030935>
 33. Peake JM, Neubauer O, Della Gatta PA, Nosaka K. Muscle damage and inflammation during recovery from exercise. J Appl Physiol [Internet]. 2016/12/29. 2017 Mar 1;122(3):559–70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28035017>
 34. Pitanga FJG. Epidemiology, physical activity and health. Rev Bras Ciên e Mov. 2002;Brasília v:49–54.
 35. Duarte E. Atividade física e a relação com a qualidade de vida, de pessoas com sequelas de acidente vascular cerebral isquêmico (AVCI). Atividade física e a relação com a Qual vida, pessoas com sequelas Acid Vasc Cereb isquêmico [Internet]. 2008;10(1):47–54. Available from: <https://portalrevistas.ucb.br/index.php/RBCM/article/download/415/468>
 36. Oh GC, Cho H-J. Blood pressure and heart failure. Clin Hypertens. 2020;26(1):1–8.

37. Lacey B, Lewington S, Clarke R, Kong XL, Chen Y, Guo Y, et al. Age-specific association between blood pressure and vascular and non-vascular chronic diseases in 0.5 million adults in China: a prospective cohort study. *Lancet Glob Heal*. 2018;
38. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S. Erratum: Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): Case-control study (*Lancet* (2004) 364 (937-952)). *Lancet*. 2004;364(9450):2020.
39. Dishman RK. Advances in exercise adherence. *Champaign Hum Kinet*. 1994;
40. Mazini Filho ML, Zanella AL, Aida FJ, Silva AMS da, Salgueiro R da S, Matos DG de. Atividade física e envelhecimento humano: a busca pelo envelhecimento saudável. *Rev Bras Ciências do Envelhec Hum*. 2010;7(1):97–106.
41. Gottlieb MG, Schwanke CH, Gomes I, Cruz IBM da. Envelhecimento e longevidade no Rio Grande do Sul: um perfil histórico, étnico e de morbimortalidade dos idosos. *Rev Bras Geriatr e Gerontol* [Internet]. 2011;14(2):365–80. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/rbagg/v14n2/v14n2a16.pdf>
42. Matsudo SM, Matsudo VKR, Barros Neto TL de. Impacto do envelhecimento nas variáveis antropométricas, neuromotoras e metabólicas da aptidão física. *Rev bras ciênc mov*. 2000;8(4):21–32.
43. Chave SPW, Morris JN, Moss S, Semmence AM. Vigorous exercise in leisure time and the death rate: a study of male civil servants. *J Epidemiol Community Health*. 1978;32(4):239–43.
44. Lee IM, Paffenbarger Jr RS, Hennekens CH. Physical activity, physical fitness and longevity. *Aging (Milano)* [Internet]. 1997;9(1–2):2–11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9177581>
45. Brasileira S. 7ª diretriz brasileira de hipertensão arterial. 2016;107.
46. Campolina AG, Bortoluzzo AB, Ferraz MB, Ciconelli RM, Ferraz MB,

- Bortoluzzo AB. Validação da versão brasileira do questionário genérico de qualidade de vida short-form 6 dimensions (SF-6D Brasil) TT - Validation of the brazilian version of the generic six-dimensional short form quality of life questionnaire (SF-6D Brazil). Ciênc saúde coletiva [Internet]. 2011;16(7):3103–10. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci%7B_%7Darttext%7B&%7Dpid=S1413-81232011000800010%0Ahttp://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232011000800010
47. Questionário Internacional De Atividade Física (Ipaq): Estupo De Validade E Reprodutibilidade No Brasil. Vol. 6, Questionário Internacional De Atividade Física (Ipaq): Estupo De Validade E Reprodutibilidade No Brasil. 2012. p. 5–18.
 48. Cheung YK, Moon YP, Kulick ER, Sacco RL, Elkind MS V, Willey JZ. Leisure-Time Physical Activity and Cardiovascular Mortality in an Elderly Population in Northern Manhattan: A Prospective Cohort Study. J Gen Intern Med [Internet]. 2016/10/17. 2017 Feb;32(2):168–74. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27752879>
 49. Notara V, Panagiotakos DB, Kogias Y, Stravopodis P, Antonoulas A, Zombolos S, et al. The impact of educational status on 10-year (2004-2014) cardiovascular disease prognosis and all-cause mortality among acute coronary syndrome patients in the Greek acute coronary syndrome (GREECS) longitudinal study. J Prev Med Public Heal. 2016;49(4):220–9.
 50. Willey JZ, Moon YP, Sherzai A, Cheung YK, Sacco RL, Elkind MSV. Leisure-time physical activity and mortality in a multiethnic prospective cohort study: The Northern Manhattan Study. Ann Epidemiol [Internet]. 2015;25(7):475-479.e2. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.annepidem.2015.04.001>
 51. Lee IM, Paffenbarger Jr RS. Associations of light, moderate, and vigorous intensity physical activity with longevity. The Harvard Alumni Health Study. Am J Epidemiol [Internet]. 2000 Feb 1;151(3):293–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10670554>

52. Leon AS. Physical activity levels and coronary heart disease. Analysis of epidemiologic and supporting studies. *Med Clin North Am* [Internet]. 1985 Jan;69(1):3–20. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3883077>
53. Lissner L, Bengtsson C, Björkelund C, Wedel H. Physical activity levels and changes in relation to longevity. A prospective study of Swedish women. *Am J Epidemiol* [Internet]. 1996 Jan 1;143(1):54–62. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8533747>
54. Kujala UM, Kaprio J, Sarna S, Koskenvuo M. Relationship of leisure-time physical activity and mortality: the Finnish twin cohort. *JAMA* [Internet]. 1998 Feb 11;279(6):440–4. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9466636>
55. Pekkanen J, Nissinen A, Marti B, Tuomilehto J, Punsar S, Karvonen M. REDUCTION OF PREMATURE MORTALITY BY HIGH PHYSICAL ACTIVITY: A 20-YEAR FOLLOW-UP OF MIDDLE-AGED FINNISH MEN. *Lancet* [Internet]. 1987 Jun 27;329(8548):1473–7. Available from:
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(87\)92218-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(87)92218-5)
56. LaMonte MJ, Durstine JL, Addy CL, Irwin ML, Ainsworth BE. Physical activity, physical fitness, and Framingham 10-year risk score: the cross-cultural activity participation study. *J Cardiopulm Rehabil* [Internet]. 2001;21(2):63–70. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11314285>
57. Forrest KY, Bunker CH, Kriska AM, Ukoli FA, Huston SL, Markovic N. Physical activity and cardiovascular risk factors in a developing population. *Med Sci Sports Exerc* [Internet]. 2001 Sep;33(9):1598–604. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11528351>
58. Claesson I-M, Klein S, Sydsjö G, Josefsson A. Physical activity and psychological well-being in obese pregnant and postpartum women attending a weight-gain restriction programme. *Midwifery*. 2014 Jan;30(1):11–6.
59. Malta DC, Andrade SSC de A, Oliveira TP, Moura L de, Prado RR do,

- Souza M de FM de. Probability of premature death for chronic non-communicable diseases, Brazil and Regions, projections to 2025 TT - Probabilidade de morte prematura por doenças crônicas não transmissíveis, Brasil e regiões, projeções para 2025. Rev Bras Epidemiol [Internet]. 2019 Apr 1;22:e190030–e190030. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30942336>
60. Cymet TC, Sinkov V. Does long-distance running cause osteoarthritis? J Am Osteopath Assoc. 2006 Jun;106(6):342–5.
 61. L'Hermette MF, Tourny-Chollet C, Polle G, Dujardin FH. Articular cartilage, degenerative process, and repair: current progress. Int J Sports Med. 2006 Sep;27(9):738–44.
 62. Simpson RJ, Campbell JP, Gleeson M, Krüger K, Nieman DC, Pyne DB, et al. Can exercise affect immune function to increase susceptibility to infection? Exerc Immunol Rev. 2020;26:8–22.
 63. Eliakim A. Endocrine Response to Exercise and Training-Closing the Gaps. Pediatr Exerc Sci. 2016 May;28(2):226–32.
 64. La Gerche A, Burns AT, Mooney DJ, Inder WJ, Taylor AJ, Bogaert J, et al. Exercise-induced right ventricular dysfunction and structural remodelling in endurance athletes. Eur Heart J. 2012 Apr;33(8):998–1006.
 65. Neilan TG, Januzzi JL, Lee-Lewandrowski E, Ton-Nu T-T, Yoerger DM, Jassal DS, et al. Myocardial injury and ventricular dysfunction related to training levels among nonelite participants in the Boston marathon. Circulation. 2006 Nov;114(22):2325–33.
 66. Scherr J, Braun S, Schuster T, Hartmann C, Moehlenkamp S, Wolfarth B, et al. 72-h kinetics of high-sensitive troponin T and inflammatory markers after marathon. Med Sci Sports Exerc. 2011 Oct;43(10):1819–27.
 67. Dugauquier C, Hanssen M, Gach O, Legrand V. [Elevation of cardiac biomarkers after strenuous physical exertion]. Rev Med Liege. 2009;64(7–8):370–2.
 68. Maron BJ, Pelliccia A, Spirito P. Cardiac disease in young trained athletes.

- Insights into methods for distinguishing athlete's heart from structural heart disease, with particular emphasis on hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*. 1995 Mar;91(5):1596–601.
69. Patil HR, O'Keefe JH, Lavie CJ, Magalski A, Vogel RA, McCullough PA. Cardiovascular damage resulting from chronic excessive endurance exercise. *Mo Med*. 2012;109(4):312–21.
 70. Vlachopoulos C, Kardara D, Anastasakis A, Baou K, Terentes-Printzios D, Tousoulis D, et al. Arterial stiffness and wave reflections in marathon runners. *Am J Hypertens*. 2010 Sep;23(9):974–9.
 71. Sanchis-Gomar F, Perez-Quilis C, Lippi G, Cervellin G, Leischik R, Löllgen H, et al. Atrial fibrillation in highly trained endurance athletes - Description of a syndrome. *Int J Cardiol*. 2017 Jan;226:11–20.
 72. Day SM, Thompson PD. Cardiac risks associated with marathon running. *Sports Health*. 2010 Jul;2(4):301–6.
 73. Eijssvogels TMH, Fernandez AB, Thompson PD. Are There Deleterious Cardiac Effects of Acute and Chronic Endurance Exercise? *Physiol Rev* [Internet]. 2016 Jan;96(1):99–125. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26607287>
 74. Wingo JE, Ganio MS, Cureton KJ. Cardiovascular drift during heat stress: implications for exercise prescription. *Exerc Sport Sci Rev* [Internet]. 2012 Apr;40(2):88–94. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22410803>
 75. Dawson E, George K, Shave R, Whyte G, Ball D. Does the human heart fatigue subsequent to prolonged exercise? *Sports Med* [Internet]. 2003;33(5):365–80. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12696984>
 76. Corrado D, Pelliccia A, Bjørnstad HH, Vanhees L, Biffi A, Borjesson M, et al. Cardiovascular pre-participation screening of young competitive athletes for prevention of sudden death: proposal for a common European protocol: Consensus Statement of the Study Group of Sport Cardiology of the Working Group of Cardiac Rehabilitation and. *Eur Heart J* [Internet]. 2005

- Feb 2;26(5):516–24. Available from:
<https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehi108>
77. Maron BJ, Thompson PD, Ackerman MJ, Balady G, Berger S, Cohen D, et al. Recommendations and considerations related to preparticipation screening for cardiovascular abnormalities in competitive athletes: 2007 update: a scientific statement from the American Heart Association Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabo. *Circulation*. 2007 Mar;115(12):1455–643.
 78. Neilan TG, Yoerger DM, Douglas PS, Marshall JE, Halpern EF, Lawlor D, et al. Persistent and reversible cardiac dysfunction among amateur marathon runners. *Eur Heart J*. 2006 May;27(9):1079–84.
 79. Lattouf R, Younes R, Lutomski D, Naaman N, Godeau G, Senni K, et al. Picrosirius red staining: a useful tool to appraise collagen networks in normal and pathological tissues. *J Histochem Cytochem Off J Histochem Soc*. 2014 Oct;62(10):751–8.
 80. Molinaro E, Caputo L, Amendoeira R. Capítulo 3 - Técnicas Histológicas. *Conceitos e Métodos para Formação Profissionais em Laboratórios Saúde Vol 2* [Internet]. 2010;89–188. Available from:
http://www.epsjv.fiocruz.br/sites/default/files/capitulo_3_vol2.pdf
 81. Dinis-Oliveira RJ, Duarte JA, Remião F, Sánchez-Navarro A, Bastos ML, Carvalho F. Single high dose dexamethasone treatment decreases the pathological score and increases the survival rate of paraquat-intoxicated rats. *Toxicology* [Internet]. 2006/08/03. 2006 Oct 3;227(1–2):73–85. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16956706>
 82. António da Silva Leite F. Recurrent Exercise-Induced Muscle Damage and Overtraining Syndrome: Is There Any Relationship? 2019.
 83. Cruz APS. Repercussões Crônicas Musculares Esqueléticas ao Treino com Exercícios Excêntricos. *J Chem Inf Model* [Internet]. 2013;53(9):1689–99. Available from: <https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/87031/2/161449.pdf>
 84. Guerreiro LF, Rocha AM, Martins CN, Ribeiro JP, Wally C, Strieder DL, et

- al. Oxidative status of the myocardium in response to different intensities of physical training. *Physiol Res*. 2016;65(5):737–49.
85. Ravi Kiran T, Subramanyam MV V, Asha Devi S. Swim exercise training and adaptations in the antioxidant defense system of myocardium of old rats: relationship to swim intensity and duration. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 2004 Feb;137(2):187–96.
 86. Chung E, Diffie GM. Moderate intensity, but not high intensity, treadmill exercise training alters power output properties in myocardium from aged rats. *Journals Gerontol - Ser A Biol Sci Med Sci*. 2012;67(11):1178–87.
 87. Zuo Q, Wang SC, Yu XK, Chao WW. Response of macrophages in rat skeletal muscle after eccentric exercise. *Chinese J Traumatol - English Ed*. 2018;21(2):88–95.
 88. Silveira L, Antunes B, Minari A, Santos R, Rosa J, Lira F. Macrophage Polarization: Implications on Metabolic Diseases and the Role of Exercise. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*. 2016 Jan 1;26.

Impact of Physical Activity on Survival in Hypertensive and Diabetic Patients in the Interior of São Paulo

Grace Fernanda Severino Nunes^{1*}, Luis Cuadrado Martin¹, Roberto Jorge da Silva Franco¹, Nathalia Valenço Nicolau², Monica Marcelli de Souza² and Rozinéia dos Santos³

¹Departamento: Fisiopatologia em Clínica Médica UNESP, Botucatu/São Paulo, Rua Alfredo Pena 277, Agudos, São Paulo, Brasil

²Departamento: Fisioterapia, Agudos/São Paulo- Brasil

³Departamento: Enfermagem, Agudos/São Paulo, Brasil

Abstract

Non-communicable chronic diseases (NCDs) are a group of complications characterized by a long latency period, prolonged evolution time and irreversible lesions that lead to a variety of disabilities and death. Thus, this study aims to prospectively evaluate the association between physical activity level and mortality in hypertensive and diabetic patients from a city in the state of São Paulo, Brazil. A standardized longitudinal study was conducted with 200 patients evaluated in 2012 and reassessed in 2018. These hypertensive and diabetic patients answered specific questions about the level of physical activity and quality of life. Univariate analyzes for the significance test of associations were performed using the analysis of variance and the chi-square test for continuous and discrete variables, respectively. All significance tests were considered at $p < 0.05$ and survival analysis was conducted using the COX regression model. The major findings have shown that the chance of active patients with 80% survival could be compared to sedentary. Physical activity was related to survival, although irregularly with 65% of chances of survival by the patients who do not maintain this practice. We concluded that active people have lower odds of mortality compared to sedentary. Irregularly active people have a higher chance of death when compared to the active as the level of physical activity is directly related to mortality in hypertensive and diabetic patients.

Keywords: Hypertension • Diabetes mellitus • Physical activity • Mortality • São Paulo

Introduction

Noncommunicable chronic diseases (NCDs) are a group of complications characterized by a long latency period, prolonged evolution time and irreversible lesions that lead to a variety of disabilities and death. Among the diseases, high blood pressure (HBP) and diabetes mellitus (DM) have common characteristics and are easily diagnosed and responsible for more than two million deaths per year worldwide [1-5].

Therefore, the Brazilian Ministry of Health, through the Unified Health System launched the Hiperdia program that aims to prevent complications arising from the non-adherence to antihypertensive treatment prescribed by the doctor for hypertensive treatment and diabetes.

A previous cross-sectional study conducted by our group "Characterization of people with hypertension and diabetes treated at the basic health units of the city of Agudos and evaluation of the association among physical activity level and cardiovascular risk factors, quality of life and comorbidities" [6] concluded that sedentary people had higher rates of stroke, infarction, heart failure hospitalization, kidney disease, dialysis and higher frequency of family history of hypertension. On the one hand, the higher level of physical activity was associated with better quality of life, even after excluding patients with stroke, dialysis or heart failure.

Literature suggests that maintaining an adequate level of physical activity is an important health promotion factor in the elderly population. Thus, lifestyle plays a key role in the prevention and control of chronic

noncommunicable diseases, especially those that constitute the main cause of mortality [7].

On the other hand, many randomized experimental studies have shown that exercise programs improve not only physical fitness but also blood lipid levels, blood pressure, bone density, body composition, insulin sensitivity and glucose tolerance. Hence, it seems reasonable to suppose that the improvement of these clinical variables may lead to a reduction in mortality rates and to an increase in people's healthy lifespan [7,8].

We have found in Brazil peer-reviewed studies on healthy aging [8], historical profile of morbidity and on elderly's mortality [9] and on the epidemiological aspect of aging [10]. Nevertheless, there is a lack of longitudinal studies in the literature to verify the association between physical activity and mortality.

The results of these studies may suggest that intervention strategies in the adoption and maintenance of physical activity should emphasize the proposals for adherence to physical activity practice considering the specific characteristics of our population.

We should also consider that the main studies in this scope were conducted abroad. Thus, it is necessary to conduct research with the Brazilian population to assess whether the results obtained in other countries can be confirmed in our country. The present study is justified as it contributes to the knowledge of the impact of physical activity on mortality in hypertensive and diabetic patients in a city in the interior of the state of São Paulo.

*Corresponding author: Grace Fernanda Severino Nunes, Departamento: Fisiopatologia em Clínica Médica UNESP, Botucatu/São Paulo, Rua Alfredo Pena 277, Agudos, São Paulo, Brasil, Tel: +5514 988032809; E-mail: gracefernanda@live.com

Copyright: © 2020 Nunes GFS, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the creative commons attribution license which permits unrestricted use, distribution and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Received date: Jan 28, 2020; Accepted date: Feb 06, 2020; Published date: Feb 14, 2020

Therefore, the present study aims to prospectively evaluate the association between physical activity level and mortality in hypertensive and diabetic patients.

Material and Methods

Outline

A longitudinal study was conducted with 200 patients aged over 18 years, both sexes, who enrolled in the Hiperdia Program of the city of Agudos. They had already participated in a previous study in 2009, where the number of patients was determined using the Hiperdia population average sample formula reaching 200 patients.

From May to August 2018 the same patients were evaluated and data were collected in a standardized assessment by questionnaires, anthropometric, biometric parameters and blood pressure measured according to the recommendations of the VI Hypertension Guidelines [11].

Laboratory tests were obtained from a specific patient's database registered in Hiperdia that has been considered the last examination requested by the physician.

Regarding the patients who died, an investigative research was conducted to verify the cause of death through the death certificate. The inclusion criteria comprised participants aged over 18 years, aware and able to answer the questionnaires and the exclusion criteria encompassed intellectual disabilities and patients aged less than 18 years.

All the involved have read and gave written informed consent and all the procedures were in accordance with the Botucatu Protocol 1.642.169. The instruments used for evaluation were the Kidney Disease and Quality of Life Short-Form (KDQOL-SFTM) [12] and the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) [13], both in their translated version, adapted and validated for the Brazilian culture.

Statistical analysis

Data has been written in discrete or continuous quantitative variables and the independent variable was the level of physical activity. Data were transcribed in a spreadsheet that was specifically designed for data collection in the software Statistic SPSS 25.

Univariate analyzes for the significance test of associations were performed using the analysis of variance and the chi-square test for continuous and discrete variables, respectively. All significance tests were considered at $p < 0.05$. Data were presented as mean and standard deviation or median (first, fourth quartile) when appropriate.

Survival analysis was performed using the COX regression model to data analysis from life time studies, in which the response was the beginning of the evaluation in 2012, until the occurrence of a covariate adjusted to a death event.

Results

The cohort comprised 200 patients, 152 were female (76%), with a mean age of 65 ± 12.8 years. White patients predominated with 91 (45%) and a mean of 3.3 ± 2.3 years of schooling, average monthly income of 1.13 minimum wages.

There were 22 deaths, 13 women (7%) and 9 men (5%). The causes were: 01 patient died from ischemic stroke and respiratory failure, 03 acute pulmonary edema, 02 congestive heart failure (CHF), 01 neck cancer, 01 septic shock and pneumonia, 01 chronic obstructive arterial disease, 02 acute respiratory failure, 02 breast cancer, 01 lung cancer, respiratory failure, 01 rectal cancer, peritoneal carcinomatosis, 02 cardiopulmonary

failure, 01 cardiac failure, and finally 04 home deaths without medical assistance.

Patients were categorized according to physical activity level classification: sedentary, insufficiently active and active. Thus, the frequency of sedentary lifestyle was 11% (22), insufficiently active 68.5% (137), and active 20.5% (41).

Table 1 shows clinical and anthropometric data divided according to death occurrence. We obtained a 30 ± 5.3 kg/m² mean body mass index (BMI). No statistical difference was found among groups as we did not find it on blood pressure, heart rate and neck circumference indicators.

Table1: Sample physical examinations and deaths of the population of Hiperdia in the municipality of Agudos.

Dependent Variables	Deaths (n=22)	Sample (n=178)	P
SBP (mm Hg)	138±19,1	132±21,8	0,235
DBP (mm Hg)	87±10,8	84±16,2	0,482
HR (bpm)	69±11,2	70±10,1	0,606
BMI	30±5,6	30±6,7	0,992
Circ. neck (cm)	40±11,2	38±7,5	0,182

Data are expressed as mean $\pm$ standard deviation, or median (first; fourth quartile).

Abbreviations: SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; HR, heart rate; BMI, body mass index; Circ. Neck, neck circumference.

Data of laboratory tests divided according to death occurrence are shown in Table 2. Laboratory tests have shown differences between the sample and the different levels of physical activity outcomes, as fasting glycemia ($p = 0.038$) and LDL ($p = 0.02$).

Table 2: Sample laboratory tests and deaths of the population of Hiperdia and outcome in the municipality of Agudos.

Dependent Variables	Deaths (n=22)	Sample (n=178)	P
Fasting Blood Glucose (mg/dL)	128±75,4	112±75,4	0,038
Total cholesterol (mg/dL)	201±50,3	204±38,6	0,756
HDL (mg/dL)	49±21,5	44±10,6	0,060
LDL (mg/dL)	114±42,2	131±37,5	0,002

Data are expressed as mean $\pm$ standard deviation, or median (first; fourth quartile).

Abbreviations: HDL, high density lipoprotein; LDL, low density lipoprotein.

This study presented on the variable of congestive heart failure (CHF) a difference among the distinct levels of physical activity, indicating $p = 0.007$, as well as in nonsmoker patients at any time of life, $p = 0.014$. Patients who never drank alcohol or who stopped drinking have showed difference among the distinct levels of physical activity, $p = 0.038$.

A statistically significant difference was found among the outcomes of different levels of physical activity and mortality, $p = 0.003$.

The level of physical activity was associated with mortality, even after adjusting for the confounding variables, age and CHF hospitalization, as

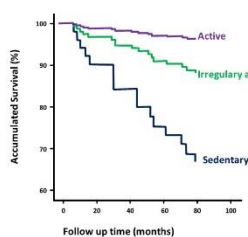
shown in Table 3. Taking the sedentary patients as a reference, the hazard ratio was 0.345 (95% CI: 0.130-0.914) for irregularly active patients and 0.193 (95% CI: 0.038-0.980) for active (Figure 1).

Table 3: Association of different levels of physical activity and mortality in hypertensive and/or diabetic patients.

		P	Hazard Ratio	95,0% IC Hazard Ratio	
				Botton	Higher
Step 1	Age (years)	0,136	1,023	0,993	1,054
	Male	0,454	1,479	0,531	4,123
	Limitation by physical aspects	0,964	1,000	0,987	1,013
	Emotional aspects	0,211	0,993	0,981	1,004
	DM	0,133	1,983	0,811	4,846
	Previous hospitalization for CHF	0,066	20,764	0,935	80,176
	Past ou current smoking	0,335	10,551	0,635	30,785
	IPAQ (active)	0,264	Reference		
	IPAQ (irregularly active)	0,265	0,520	0,165	10,640
	IPAQ (sedentary)	0,114	0,246	0,043	10,403
Step 2	Age (years)	0,136	10,023	0,993	10,054
	Male	0,445	10,484	0,539	40,089
	Emotional aspects	0,152	0,993	0,983	10,003
	DM	0,133	10,979	0,812	40,820
	Previous hospitalization for CHF	0,064	20,755	0,941	80,065
	Past ou current smoking	0,335	10,551	0,635	30,785
	IPAQ (active)	0,233	Reference		
	IPAQ (irregularly active)	0,258	0,523	0,170	10,609
	IPAQ (sedentary)	0,099	0,249	0,048	10,300
	Step 3	Age (years)	0,108	10,024	0,995
Emotional aspects		0,127	0,993	0,983	10,002
DM		0,123	20,007	0,827	40,866
Previous hospitalization for CHF		0,054	20,855	0,984	80,287
Past ou current smoking		0,239	10,676	0,709	30,964
IPAQ (active)		0,142	Reference		
IPAQ (irregularly active)		0,113	0,441	0,160	10,214
IPAQ (sedentary)		0,080	0,232	0,045	10,190

Step 4	Age (years)	0,082	10,026	0,997	10,055
	Emotional aspects	0,142	0,993	0,983	10,002
	DM	0,165	10,855	0,775	40,437
	Previous hospitalization for CHF	0,055	20,746	0,977	70,714
	IPAQ (active)	0,123	Reference		
	IPAQ (irregularly active)	0,079	0,414	0,155	10,106
	IPAQ (sedentary)	0,087	0,241	0,047	10,230
Step 5	Age (years)	0,101	10,024	0,995	10,053
	Emotional aspects	0,134	0,993	0,983	10,002
	Previous hospitalization for CHF	0,098	20,329	0,856	60,338
	IPAQ (active)	0,062	Reference		
	IPAQ (irregularly active)	0,043	0,368	0,140	0,969
	IPAQ (sedentary)	0,051	0,201	0,040	10,009
Step 6	Age (years)	0,087	10,026	0,996	10,058
	Previous hospitalization for CHF	0,042	20,788	10,036	70,498
	IPAQ (active)	0,050	Reference		
	IPAQ (irregularly active)	0,032	0,345	0,130	0,914
	IPAQ (sedentary)	0,047	0,193	0,038	0,980

HR: hazard ratio, Physical aspects: limitation by physical aspects according to SF-36; Emotional aspects Physical limitation according to SF-36; DM: presence of diabetes; CHF: Congestive heart failure



Graph 1 Quantification of survival time for different levels of physical activity

Figure 1 Quantification of survival time for different levels of physical activity.

Discussion

The main finding of this study was the 80% chance of survival in active patients compared to sedentary. Data were maintained throughout the analysis process. Physical activity was related to survival, although irregularly, with 65% of chances of survival of the patient who does not maintain this practice.

In the literature, a hispanic investigation with 3.298 participants conducted over 11 years has found that free time physical activity protects against all mortality causes, except obesity [14].

A Greek longitudinal study with 1.918 patients found the relation of education level with the level of physical activity, noting that the high level of education was related to higher levels of physical activity [15]. In correlation with mortality, the lower level of education had a higher risk of death for all causes, as well as a recurrence on coronary artery disease.

A study in North Manhattan with 3.298 elderly, multiethnic, city-dwelling participants and mean age 69 years has associated the lower risk of all-cause mortality with the lower risk. However, these findings were only seen among those with a BMI < 30 and not in those with a BMI ≥ 30. In the study, no association was found between mortality and leisure time physical activity. The authors sustained that the physical activity protective effect could be mitigated by high BMI in a group with high risk of mortality [16].

We have found in the literature a study on the level of physical activity and mortality comprising 13.485 men, mean age 57.5 years, where the low level of physical activity was not related to a reduction in mortality rate. Whereas moderate physical activity seemed beneficial, only vigorous activities were clearly associated with physical activity and reduced mortality rates. In the current study, involving hypertensive and diabetic patients, those with irregular levels of physical activity have already statistically correlated with the significance for reducing the mortality rate [17].

A study conducted for 7 years, 12.138 middle-aged men showed that moderate leisure time physical activity was associated with only 63% of CVD deaths and that low levels of leisure time physical activity accounted for 70% of deaths from all causes compared to their detected mortality rates [18].

In another study involving 1,405 Swedish women aged 38 to 60 years, it was reported that in the most active group, the risk of death was only slightly reduced compared to that found in the moderately active and among it, compared to the less active without statistical significance [19].

Another study demonstrated that the beneficial effect of physical activity remained unchanged after adjusting other mortality predictors of moderately active leisure time and highly active individuals relative to the odds detected in sedentary counterparts [20].

Pekkanen et al. found in an investigation encompassing 636 healthy Finnish men, aged 45-64 yrs, that the highly active individuals lived 2.1 years longer than the less active [21].

We found data on 1,404 women in Framingham, aged 50 to 74 years, monitored for 16 years based on their physical activity and it was reported that two more active groups had an overall 30% lower mortality rate compared to the two most sedentary groups [22]. Adjustment for cardiac risk factors or exclusion of all subjects who died throughout these six years did not result in any change, and there was no association between activity levels and cardiovascular morbidity or mortality.

The current study has shown no statistical differences between the different outcome groups regarding blood pressure, heart rate, and BMI, waist and neck circumference. We found data in the study that systolic and diastolic blood pressure was associated with increased physical activity. Several studies have indicated that low levels of physical activity associated with various other risk factors are independent on morbidity and mortality [23,24]. Forest et al. reported that, in men, physical activity inversely correlated with high blood pressure risk [25]. We have not found significant statistical difference on fasting glucose, total cholesterol, HDL and glucose, but triglycerides have shown no difference among the living groups and those who died. Ashton, Forest et al. maintained the inverse relationship of physical activity to insulin, total cholesterol and LDL cholesterol, and have directly correlated with HDL cholesterol, but have not related them to death [24,25].

We have also found that the most important factor in reducing mortality risk was the level of physical activity rather than the subject's background of exercise, which does not corroborate with our research [23,26].

Large cohorts of patients were evaluated by telephone and self-reported the possibility of over-report physical activity, which in the current study overlaps the results considering the on-site assessment [25].

It is well documented that both physical fitness and physical activity are associated with the reduced all-cause mortality and the reduced mortality of mixed and healthy groups. However, we have found no substantial data on the group of hypertensive and diabetic patients systematically and presencially assessed, which can add literature a contribution.

Conclusion

We found that active people have lower chances of mortality compared to sedentary, and irregularly active people have a higher chance of death when compared to the active. Therefore, the level of physical activity is directly related to mortality in hypertensive and diabetic patients.

Hypertensive and diabetic patients who were hospitalized due to congestive heart failure have higher mortality chances as there was a direct relationship with age between groups.

Ethical Approval and Consent to Participate

All the involved have given and signed the Informed Consent Form, which was approved by the Botucatu Protocol 1.642.169.

Funding

There was no financing of the current work.

Authors' Contributions

All authors contributed substantially to the conception, planning or analysis and interpretation of data, to the drafting or critical review of the contents and participated in the approval of the final version of the manuscript.

Acknowledgements

Prefeitura Municipal de Agudos/São Paulo/Brazil

References

1. Pitanga, Francisco José Godim. "Epidemiology, physical activity and health." *Rev Bras Ciên and Mov* 10 (2002): 49-54.
2. Costa, Alberto Martins and Edison Duarte. "Physical activity and the relationship with quality of life of people with sequelae of ischemic stroke (CVA)." *Rev Bras Ciên and Mov* 10 (2002): 47-54.
3. Oh, Gyu Chul and Hyun-Jai Cho. "Blood pressure and heart failure." *Clin Hypertens* 26 (2020): 1-8.
4. Ben, Lacey, Lewington Sarah, Clarke Rober, Kong XL, et al. "Age-specific association between blood pressure and vascular and non-vascular chronic diseases in 0.5 million adults in China: a prospective cohort study." *Lancet Glob Heal* (2018).
5. Salim, Yusuf, Hawken Steven, Ounpuu Stephanie, Tony Dans, et al. "Erratum: Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): Case-control study." *Lancet* 364 (2004): 2020.
6. Nunes, Grace Fernanda Severino. "Characterization of patients with hypertension and diabetes treated at the basic health units of the city of Agudos and evaluation of the association between physical activity level and cardiovascular risk factors, quality of life and comorbidities." *Tese de Mestrado em Fisiopatologia em Clínica Médica, Universidade Estadual Paulista. Botucatu* (2012): 146.
7. Dishman, Kod. "Advances in Exercise Adherence." *Champaign: Human Kinetics* (1994).
8. Son, Mauro Mazzini. "Physical activity and human aging: the search for healthy aging." *RBCEH, Passo Fundo* 7 (2010): 97-106.
9. Gottlieb, Maria Gabriela Valle, Carla Helena Augustin Schwanke, Irênio Gomes and Ivana Beatrice Mânica da Cruz. "Longevity and aging in Rio Grande do Sul: a historical, ethnic and morbidity-mortality profile of the elderly." *Rev bras Geriatr gerontol, Rio de Janeiro* 14 (2011): 365-380.
10. Matsudo, Sandra Mahecha, Victor Keihan Rodrigues Matsudo, Barros Neto and Turibio Milk. "Physical activity and aging: epidemiological aspects." *Rev Bras Med Sport, Niterói* 7 (2001): 2-13.
11. "V Brazilian Guidelines on Hypertension". Brazilian Society of Cardiology, Brazilian Society of Hypertension, Brazilian Society of Nephrology (2006).
12. Ciconelli, Rozana, Ferraz Marcos Bosi, Winton Santos, Meinão Ivone, et al. "Translation into Portuguese and validation of the generic quality-of-life questionnaire SF-36 (Brazil SF-36)." *Rev Bras Reumatol* 39 (1999).
13. Matsudo, Sandra, Timoteo Araujo, Victor Matsudo, Douglas Andrade, et al. "International Physical Activity Questionnaire (Ipaq): Validity and Reproducibility Study in Brazil." 6 (2012): 5-18.
14. Willey, Joshua, Yeseon Park Moon, Ayesha Sherzai, Ying Kuen Cheung, et al. "Leisure-time physical activity and mortality in a multiethnic prospective cohort study: The Northern Manhattan Study." *Ann Epidemiol* 25 (2015): 475-479.
15. Notara, Venetia, Panagiotakos Demóstenes, Kogias Yannis, Stravopodis Petros, et al. "The impact of educational status on 10-year (2004-2014) cardiovascular disease prognosis and all-cause mortality among acute

- coronary syndrome patients in the Greek acute coronary syndrome (GREECS) longitudinal study." *J Prev Med Public Heal* 49 (2016): 220-229.
16. Cheung, Ying Kuen, Yeseon Moon, Erin Kulick, Ralph Sacco, et al. "Leisure-Time Physical Activity and Cardiovascular Mortality in an Elderly Population in Northern Manhattan: A Prospective Cohort Study." *J Gen Intern Med* 32 (2017): 168-74.
 17. Lee, I-Min and Paffenbarger, Ralph. "Associations of light, moderate, and vigorous intensity physical activity with longevity." *The Harvard Alumni Health Study, Am J Epidemiol* 151 (2000): 293-299.
 18. Leon, Arthur. "Physical activity levels and coronary heart disease. Analysis of epidemiologic and supporting studies." *Med Clin North Am* 69 (1985): 3-20.
 19. Lauren, Lissner, Bengtsson Calle, Björkelund Cecilia and Wedel Hans. "Physical activity levels and changes in relation to longevity." A prospective study of Swedish women, *Am J Epidemiol* 143 (1996): 54-62.
 20. Kujala, Urho M, Kaprio Jaakko and Sarna Seppo. "Relationship of leisure-time physical activity and mortality: the Finnish twin cohort." *JAMA* 279 (1998): 440-444.
 21. Juha, Pekkanen, Nissinen Aulikki, Marti Bernard, Tuomilehto Jaakko, et al. "Reduction of premature mortality by high physical activity: a 20-year follow-up of middle-aged finnish men." *Lancet* 329 (1987): 1473-1477.
 22. Michael, Lamonte, Durstine JI, Addy Cheryl, Irwin Melinda, et al. "Physical activity, physical fitness, and Framingham 10-year risk score: the cross-cultural activity participation study." *J Cardiopulm Rehabil* 21 (2001): 63-70.
 23. David, Ashton W, Nanchahal Kiran and Wood David. "Leisure-time physical activity and coronary risk factors in women." *J Cardiovasc Risk*. 7 (2000): 259-266.
 24. Forrest, Kimberly YZ, Clareann Bunker, Andrea M Kriska, Flora AM Ukoli, et al. "Physical activity and cardiovascular risk factors in a developing population." *Med Sci Sports Exerc* 33 (2001): 1598-1604.
 25. Schnohr, Paul. "Longevity and causes of death in male athletic champions." *Lancet (London, England)* 2 (1971): 1364-1366.

How to cite this article: Grace Fernanda Severino Nunes, Luis Cuadrado Martín, Roberto Jorge da Silva Franco, Nathalia Valenço Nicolau, Monica Marcelli de Souza, Rozinéia dos Santos. "Impact of Physical Activity on Survival in Hypertensive and Diabetic Patients in the Interior of São Paulo". *J Hypertens (Los Angel)* 9 (2020) doi:10.24105/2167-1095.9.263

Cardiac Structural Repercussions Induced by Exhaustive Physical Training in the Animal Model

Grace Fernanda Severino Nunes^{1,2}, Edyla Camelo^{1(in memoriam)}, Antonio Bovolini¹, Catarina Cardoso¹, Sara Maia¹, Ana Reis-Mendes³, Luis Cuadrado Martin², José Alberto R. Duarte¹

¹Faculty of Sport, University of Porto, Porto, Portugal.

²UneSP, Botucatu, Brazil, Capes scholarship /PDSE/88881.187957/2018.

³UCIBIO-REQUIMTE, Laboratory of Toxicology, Faculty of Pharmacy, University of Porto, Porto, Portugal.

***Corresponding Author:** Grace Fernanda Severino Nunes, Faculty of Sport, University of Porto, Porto, Portugal, UneSP, Botucatu, Brazil.

Abstract

The levels of physical activity (PA), as well as their intensity, are major impactors to achieve the full benefits of such practice. Exhaustive physical training (EPT) may be associated with the projection of structural damage to the heart muscle. Thus, the objective of the experimental study in the animal model, was to analyse how demanding training is related to structural changes in cardiomyocyte tissue. Sample of 15 male WISTAR rats at 04 weeks of age were randomly assigned to 02 groups: Sedentary (SED n = 5) and trained (TR n = 10) who were subdivided into a 1-week training (TR1 n = 5) and week (TR3 n = 5). The TR animals practiced running on a treadmill (-25%; 30m / minute; 60 min whose intensity increased 1.25 meters/ minute in each training session 6x / week for 03 weeks. The animals of the TR subgroup were sacrificed at the end of the first week (TR1 n = 5) and at the end of the third week (TR3 n = 5). For the inferential analysis, ANOVA was used and the data with non-normal distribution were then analysed with Kruskal-Wallis with a significance level of 5 % for macrophage M2, there was a significance between SED and TR1 with $p = 0.0096$, supposed to be a harmful process to the cardiac tissue due to excessive exposure. In the case of the M1 macrophage, significant differences were found in every period of training, meaning a picture of inflammation and interaction with adaptive immunity. The eccentric exercise practiced during the first three weeks induced cellular responses to stress stimuli in the cardiac tissue, maintaining the interaction of adaptive immunity. Potential benefits from the metabolic point of view, public health efforts should also focus on maintaining levels of physical activity since our study showed that intense physical activity had harmful effects at the cardiac level.

Keyword: Physical training, damage, cardiomyocytes, rats.

INTRODUCTION

The promotion of physical exercise has been strongly encouraged by the government, since physical activity has been identified as the main non-pharmacological agent, assuming a beneficial and protective role, especially at the physical, psychological and physiological level (1) (2).

The activity levels of physical activity (PA) as well as its intensity are large impactors order to reach the fullness of the benefits come and such practice. It is known that the level of AP practice is a relevant factor for maintaining good health (3) and this benefit is widely achieved with its regularity (4). Such practice

and regularity may require repetitive exposure to the muscle, attributed by muscle contractions associated with greater mechanical tension, resulting in more severe, strenuous and exhausting exercise- induced muscle damage (5).

Exhaustive physical training (EPT) can be associated with the projection of damage to the muscular system, increasing the risk of excessive use of osteoarticular structures, culminating in overload injuries, fractures and fatigue (6)(7). For the system immunologic, all demand may suppress immunity and increase the risk of infection (8) and when associated with growth factors and reproductive

Cardiac Structural Repercussions Induced by Exhaustive Physical Training in the Animal Model

endocrine system level, the damage is even more harmful (9). For the cardiovascular system, it most likely reflects damage to cells, promoting structural changes in the myocardium due to loss of integrity of the desmosome connections (10) (11) (12) (13).

Structural damage to the cardiac muscle is evidenced by the increase in the various serological markers that include cardiac troponin I, creatine kinase and myocardial creatine kinase band, myoglobin and BNP, and these findings are characterized as myocardial injury, which causes an intense myocardial injury debate on the possible negative health consequences (14) (15).

Another tool for diagnosing damage to myocardial cells after demanding exercise is the echocardiography, making it possible to perform functional and structural measurements non-invasively detailed heart. Studies with endurance athletes have observed that during the development of cardiac adaptations, a series of structural changes occurred, including increased cardiac thickness and mass, increased left ventricular volumes, increased left atrial size, and increased aortic stiffness that suggest that part of this remodelling can be pathological, and not entirely benign and adaptive (16) (14).

As the electrocardiogram know that there is growing evidence that atrial fibrillation (AF) which is the most common cardiac arrhythmia, can occur in young athletes or middle-aged and healthy, and this condition is commonly associated with major cardiovascular diseases and structural damage to the heart muscle, causing permanent injuries associated with EPT (17). Another study with veteran athletes, evidenced that the exercise of chronic resistance, excessive, sustained and of high intensity, may be associated with a substrate for atrial and ventricular arrhythmias. With recurrent myocardial injury and repair, it may have been associated with diastolic dysfunction and eventually result in irregular myocardial fibrosis (15).

We observe the practice of demanding exercises to improve performance and maintain health, which, over time, may denote harm instead of benefits. Although a certain amount of muscle damage may be necessary for muscle adaptation, excessive damage or inadequate recovery due to the short pause

between EPT increases the risks in perspective with other benefits (18).

So is the fact that most studies suggest that the benefits of exercise physiologic increase progressively with increasing physical activity and exercise training are beneficial, but it is possible that prolonged exercise and exercise training may adversely affect cardiac function in some individuals (19) (20) (21). However, few studies have examined the effects of the damage of demanding exercise on chronic repercussions at the cardiac level.

To this end, it is well established that biochemical, electrocardiogram and echocardiographic abnormalities are commonly observed transiently after the completion of EPT in athletes, although their clinical significance is unknown (18) (22) (23) (24), but cannot perform the analyses on your cardiac structure. Thus, the objective of the experimental study in the animal model, was to analyse how demanding training is related to structural changes in cardiomyocyte tissue. Such evidence will assist in the process to address the current gaps in our knowledge in this scenario to minimize the consequences of diseases and may suggest intervention strategies for the adoption and maintenance of physical activity, with emphasis on proposals for adherence to physical exercises on public health.

MATERIAL AND METHOD

The present study had a sample of 15 male WISTAR rats (Charles River Laboratories Barcelona) at 4 weeks of age. The animals were housed in collective cages (2 per cage) with controlled temperature and humidity ($22 \pm 2^\circ\text{C}$ and $60 \pm 10\%$) and 12 hours inverted light / dark with access to food and water *ad libitum*.

After one week of acclimatization, the rats were randomly assigned to 02 groups: Sedentary (SED $n = 5$) and trained (TR $n = 10$) that were subdivided into 01 week (TR1 $n = 5$) and 03-week training (TR3 $n = 5$). The TR animals practiced running on a treadmill (-25° ; 30m/minute; 60 min whose intensity increased 1.25 meters/minute in each training session, reaching a maximum intensity at the end of the first and third weeks) 6x/week, during 01 and 03 weeks respectively

Cardiac Structural Repercussions Induced by Exhaustive Physical Training in the Animal Model

with eccentric contraction exercise due to mechanical demand and inflammatory response from intense physical exercise (25).

The animals of the TR subgroup were sacrificed at the end of the first week (TR1 n=5) and at the end of the third week (TR3 n=5). The SED animals remained limited to the space of the cage throughout the study and were sacrificed one day after the first week of the protocol. For sacrifice, the animals were weighed and anesthetized with ketamine (90 mg/kg, Merial, France), xylazine (10 mg/kg, Bayer, German) and sacrificed by exsanguination and the cardiac tissue collected and processed for structural analysis by optical microscopy and immunohistochemistry.

The processing of the tissues took place from the histological routines of the research laboratory and after the processing of the tissues, they were cut to 5µm thick and stained with haematoxylin-eosin (26) for analysis of muscle damage through the signs of cell degeneration necrosis, the presence of an inflammatory reaction and the degree of tissue disorganization (27) and also for the quantification of the cross-sectional area through analysis of round cells with nucleus in the center. Picrosirius Red staining (28) was used to analyse the collagen content and preparations for immunohistochemistry in the study of macrophage polarization (M1 and M2 activation), expression of kappa B nuclear factor (NF-κB) p65 and cell proliferation (KI 67).

The sections were analysed with an optical microscope (Axio Imager A1, Carl Zeiss; Germany) and the images recorded with a coupled digital camera

(Leica DM4000B, Nussloch, Germany). A total of 150 photos were analyzed, 50 for each group, 10 for each animal in each subscript technique.

The data were tabulated using EXCEL for WINDOWS® and the data analysis was performed using the GraphPad Prisma® version 8 program. The normality of the data was verified using the test and Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilk. The variables studied with normal distribution (NFκB p65, M1, M2, KI67) were presented using means and standard deviations (SD). For the inferential analysis, One-way ANOVA was used followed by the Bonferroni post hoc comparison test. The data with non-normal distribution were then analysed with Kruskal-Wallis followed by Dunn's post hoc comparison test. The abnormal variables (degeneration, necrosis, infiltration and organization, collagen levels and cross-sectional area) were presented as medians and interquartile ranges (first and third). The level of significance was set at 5%.

RESULTS

Cell Damage

Regarding the four indicators of cell damage, it was evident that the statistical differences between the groups follow in tissue degeneration, necrosis, and infiltration as expressed in table 1. The values in the degeneration process increased in TR1 and even more in TR3, training requirement, as well as for necrosis and infiltration. For the cellular organization the values were maintained.

Table 1. Representation of cell damage between different training levels.

	Degeneration	Necrosis	Infiltration	Organization
SED	0 (0-1.0) *#	0 (0-0) *#	0 (0-0) *#	0 (0-0)
TR1	1.0 (1.0-2.0)	1 (0-1)	1.0 (0-1.0)	0 (0-0)
TR3	2.0 (1.0-2.0)	1.0 (1.0-2.0)	1.0 (1.0-2.0)	0 (0-0)

Values are described in median 1st and 3rd quartile. * p <0.0001 vs. TR1; # p <0.0001 vs. TR3.

Collagen Levels

Eccentric training induced an increase in the levels of collagen in cardiac fibers specifically between the SED group with TR1 and SED with TR3, as shown in

figure 1. There was an increase in collagen from the first week of training, increasing over time indicating a remodelling of the cardiomyocytes attributed by a process of adaptation to exercise.

Cardiac Structural Repercussions Induced by Exhaustive Physical Training in the Animal Model

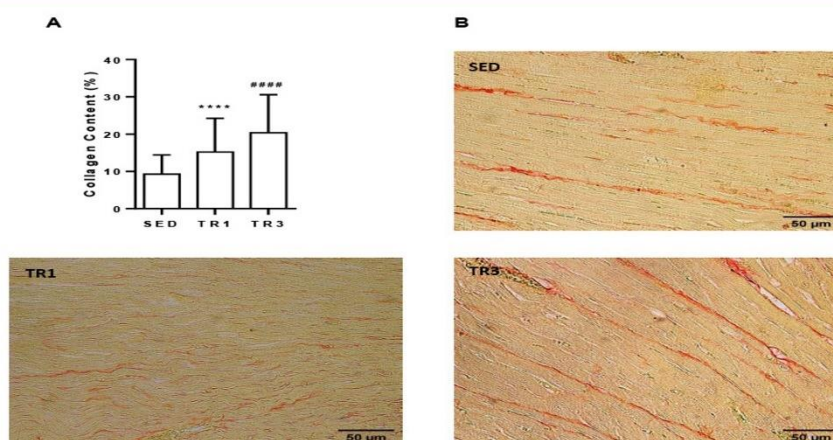


Fig1. Characterization of the collagen content between the groups in the eccentric exercise represented in A. Light micrographs representative of the cardiac muscle of the sedentary group (SED), subgroup of eccentric exercises of the week (TR1) and subgroup of eccentric exercises of the week (TR3), stained with Picrosirius Red, are represented in B. **** $p < 0.0001$ vs. SED; ### $p < 0.0001$ vs. SED.

Cross-Sectional Area

Eccentric training also induced a significant increase in the cross-sectional area between the SED and TR3 with a $p < 0.0001$. Between the TR1 and TR3 groups, we found a significant relationship of $p < 0.0001$,

as shown in figure 2. Although in TR1 there is no significance between the SED, it is observed that the values represent an increase in TR3 meaning that the cells were overloaded by mechanical action undergoing an adaptation.

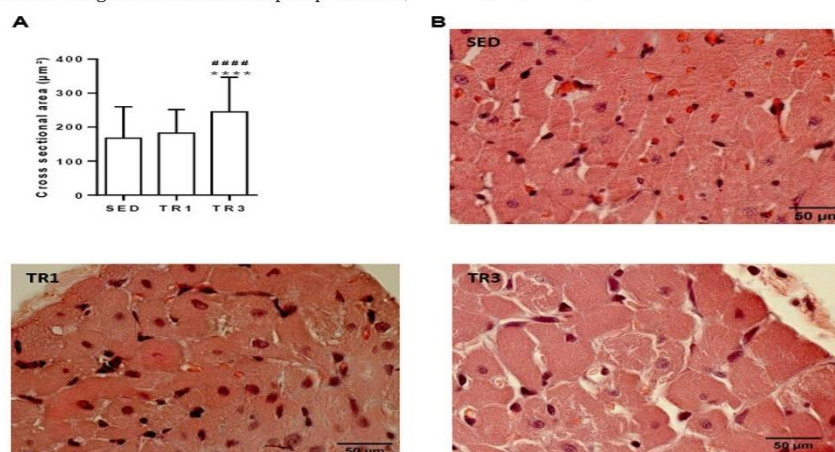


Fig2. Characterization between groups in cross-sectional area in the eccentric exercise represented in A. Light micrographs representative of the cardiac muscle of the sedentary group (SED), subgroup of eccentric exercises of the week (TR1) and subgroup of eccentric exercises of the week (TR3), stained with Haematoxylin and Eosin, are represented in B. **** $p < 0.0001$ vs. SED; ### $p < 0.0001$ vs. TR1.

Cardiac Structural Repercussions Induced by Exhaustive Physical Training in the Animal Model

Macrophage M1

In the case of the M1 macrophage, significant differences were found throughout the training period,

established by figure 3. An increase in density is observed over time, meaning a picture of inflammation and interaction with adaptive immunity.

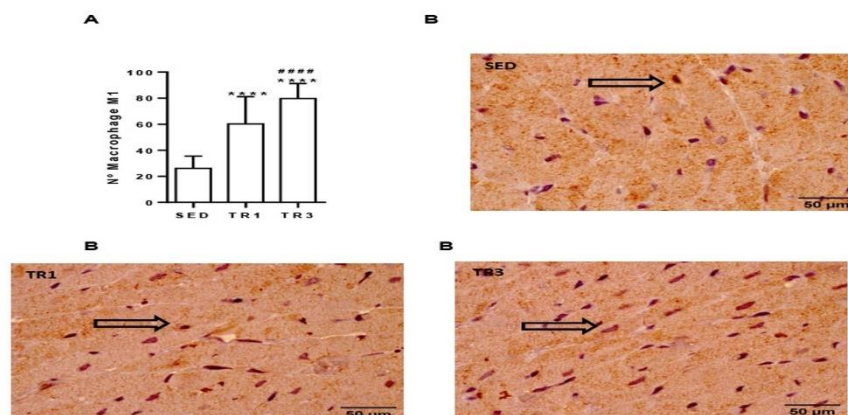


Fig3. Characterization between the polarization groups of M1 macrophages in eccentric exercise represented in A. Light micrographs representative of the cardiac muscle of the sedentary group (SED), eccentric exercise subgroup of the week (TR1) and eccentric exercise subgroup of the week (TR3), supported by M1 Macrophage Immunohistochemistry, are represented in B. **** $p < 0.0001$ vs. SED; ### $p < 0.0001$ vs. TR1.

Macrophage M2

Regarding the marking of the M2 macrophage, in which they play an important role in the tissue repair process, there was a significance between the SED and TR1 with $p = 0.0096$, and illustrated in figure 4. It can

be seen that there was a decrease in the repair process in the first week and that even with the increase in TR3 it was not shown to be significant in the process, which can be assumed of a harmful process to the cardiac tissue due to excessive exposure.

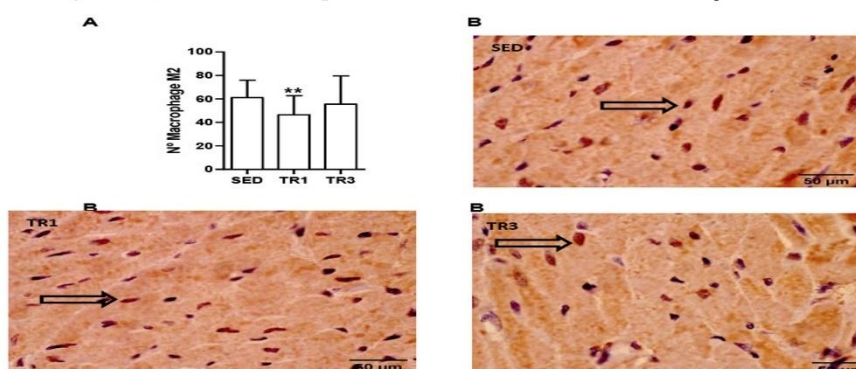


Fig4. Characterization of the groups of macrophages polarization M2 in eccentric exercise represented in A. micrographs of representative light of the heart muscle group sedentary (SED), eccentric exercise subgroup of the week (TR1) and eccentric exercise subgroup of the week (TR3), supported by Immunohistochemistry Macrophage M2, are represented in B. ** $p = 0.0096$ vs. SED.

Cardiac Structural Repercussions Induced by Exhaustive Physical Training in the Animal Model

Macrophage NF- κ B

For the marking of the NF- κ B macrophage, related to the cellular response as stimuli of stress and inflammation, it was expressively identified that in the first week of activity such cellular response is

already observed when compared to the sedentary one ($p < 0.001$), which this time was significantly related to the 3-week training ($p < 0.001$), as shown in figure 5. A decrease in the cellular response in TR3 to the stimuli was observed when compared with TR1.

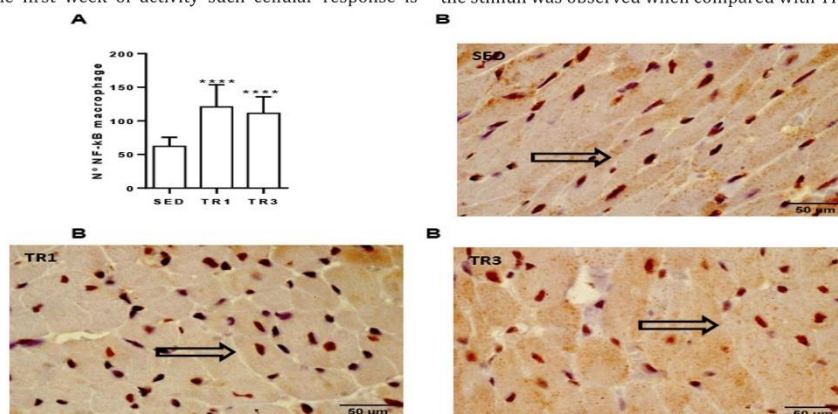


Fig5. Characterization between groups of polarization NF- κ B in eccentric exercise represented in A. micrographs of representative light of the cardiac muscle of sedentary group (SED), eccentric exercise subgroup of the week (TR1) and eccentric exercise subgroup of the week (TR3), supported by NF- κ B Macrophage Immunohistochemistry, are represented in B. **** $p < 0.0001$ vs. SED

Macrophage Ki 67

For the above macrophage were found significant differences in the process of physical activity related to cell proliferation in an attempt to

repair the damage as shown in figure 6. There was a decrease in the first week with a significant increase for the repair of tissue cardiomyocytes in TR3.

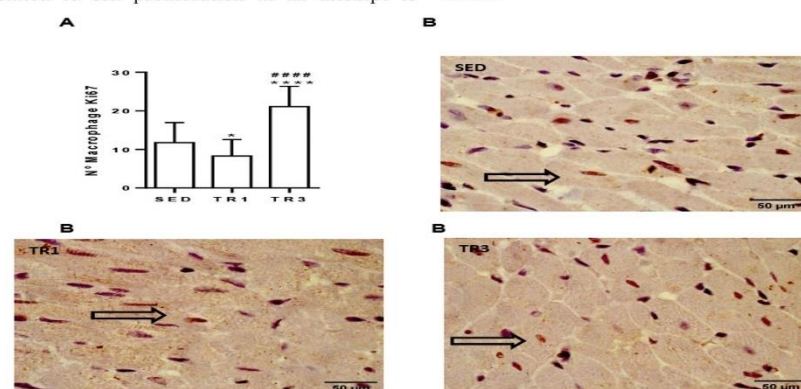


Fig6. Characterization between the tissue repair groups by Ki-67n and the eccentric exercise represented in A. Light micrographs representative of the cardiac muscle of the sedentary group (SED), subgroup of eccentric exercises of the week (TR1) and subgroup of eccentric exercises of the week (TR3), supported by Macrophage Ki67 Immunohistochemistry, are represented in B. **** $p < 0.0001$ vs. SED; ### $p < 0.0001$ vs. TR1; * $p = 0.0211$ vs. SED.

Cardiac Structural Repercussions Induced by Exhaustive Physical Training in the Animal Model

DISCUSSION

The results obtained demonstrated that the different levels of high intensity eccentric exercise caused damage to the cardiomyocytes, even with the evidence of tissue remodelling during the entire process of physical activity.

In the present study, the damage to the cardiomyocyte tissue may be related to the intensity of physical activity managed by the imposed protocol. In a similar study we studied the soleus and tibialis muscle, reported that the muscle damage shows different behaviours depending on the type of work each muscle conducts (29).

The muscle damage was induced by the requirement of eccentric exercise as it increased the exposure time of the activity. In the literature, we found studies that state that muscle contractions associated with greater mechanical tension are likely to cause greater damage to contractile proteins (5).

The entire process of inflammatory response was evidenced in the current study from the first week of activity, represented by TR1. Currently, the process and inflammatory response is generally accepted that if well regulated are essential for repair and muscle regeneration, although the inflammation has historically been seen as detrimental to the recovery of the exercise (30). The metabolic stress and the mechanical alterations contemplated to the muscular damage, stimulate several types of cells that comprise the skeletal muscle to start the process of the inflammatory responses (5).

Our data also showed a marked increase in the area of muscle collagen content along with an increase in the cross-sectional area in eccentric exercise, showing that there was an adaptation during the intense protocol at different levels of physical activity, as corroborated with another study (31).

The eccentric training induced an increase in the cross-sectional area in the cardiac fibres specifically between the SED group with TR1 and SED with TR3. We can also state that the eccentric training also induced a significant increase in the cross-sectional area between the SED and TR3. All this change projected by the level of activity related to the intensity associated with the repetitive exposure of the exercise to which the muscle undergoes generates stress that produces structural and ultra-structural changes that are affected by the different types of muscle contraction (32).

It is well established that the adaptations of the skeletal muscle, cellular stress and the resulting metabolic signals for mitochondrial biogenesis depend largely on the intensity of the exercise (30), as corroborated with our study.

It is well documented about the intensities of physical training in water protective factors in the myocardium (33) (34), high and medium intensity training in elderly rats (35), high intensity in the dynamic patterns of the macrophage phenotype in skeletal muscle through eccentric stimuli induced by exercise (36), the role of exercise in the damage plasticity (37)

After muscle injury induced by more severe exercise, recovery, that is, the entire recurrent inflammatory process will depend on the extent of the initial muscle damage, which is influenced by the intensity and duration of the exercise (38). In our study, we observed tissue repair denoted in reference to M2 immunohistochemistry between SED and TR1, which may suggest that there was a regenerative process in the first week of the applied eccentric exercise. After the following weeks, despite the increase in regeneration cells, no significant differences were found between SED and TR3, or even TR1 and TR3.

CONCLUSION

The eccentric exercise practiced during the first three weeks induced cellular responses to stress stimuli in the cardiac tissue, maintaining apoptosis and phagocytosis throughout the pro-inflammatory process through the interaction of adaptive immunity.

The tissue repair and healing process in the myocardium started in the first phase of the implementation of eccentric exercise and induced the proliferation of collagen and the adaptation of muscle fibers in the cross-sectional area.

The continuous process of high intensity eccentric exercise in the third week, on the other hand, did not show any significance for the repairing cells, which may characterize a tissue data due to the exercise requirement or the non-intermittence in physical activity.

Thus, despite the potential benefits from the metabolic point of view, public health efforts should also focus on maintaining levels of physical activity since our study showed that intense physical activity had harmful effects at the cardiac level.

Cardiac Structural Repercussions Induced by Exhaustive Physical Training in the Animal Model

ACKNOWLEDGMENT

The authors thank Ms. Celeste Maria R. dos Santos for their technical assistance and we also thank, MSc. Francisco Leite, MSc Maurilio Tiradentes Dutra, and MSc Beshoy Girgis for their support.

REFERENCES

- [1] Claesson I-M, Klein S, Sydsjö G, Josefsson A. Physical activity and psychological well-being in obese pregnant and postpartum women attending a weight-gain restriction programme. *Midwifery*. 2014 Jan;30(1):11–6.
- [2] Boss HM, Kappelle LJ, Van Der Graaf Y, Kooistra M, Visseren FLJ, Geerlings MI. Physical Activity and Vascular Events and Mortality in Patients with Vascular Disease. *Med Sci Sports Exerc* [Internet]. 2015 Nov;47(11):2359–65. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25793539>
- [3] Malta DC, Andrade SSC de A, Oliveira TP, Moura L de, Prado RR do, Souza M de FM de. Probability of premature death for chronic non-communicable diseases, Brazil and Regions, projections to 2025 TT - Probabilidade de morte prematura por doenças crônicas não transmissíveis, Brasil e regiões, projeções para 2025. *Rev Bras Epidemiol* [Internet]. 2019 Apr 1;22:e190030–e190030. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30942336>
- [4] Lacey B, Lewington S, Clarke R, Kong XL, Chen Y, Guo Y, et al. Age-specific association between blood pressure and vascular and non-vascular chronic diseases in 0.5 million adults in China: a prospective cohort study. *Lancet Glob Heal*. 2018;
- [5] Hyldahl RD, Hubal MJ. Lengthening our perspective: morphological, cellular, and molecular responses to eccentric exercise. *Muscle Nerve* [Internet]. 2013/12/03. 2014 Feb;49(2):155–70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24030935>
- [6] Cymet TC, Sinkov V. Does long-distance running cause osteoarthritis? *J Am Osteopath Assoc*. 2006 Jun;106(6):342–5.
- [7] L'Hermette MF, Tourny-Chollet C, Polle G, Dujardin FH. Articular cartilage, degenerative process, and repair: current progress. *Int J Sports Med*. 2006 Sep;27(9):738–44.
- [8] Simpson RJ, Campbell JP, Gleeson M, Krüger K, Nieman DC, Pyne DB, et al. Can exercise affect immune function to increase susceptibility to infection? *Exerc Immunol Rev*. 2020;26:8–22.
- [9] Eliakim A. Endocrine Response to Exercise and Training-Closing the Gaps. *Pediatr Exerc Sci*. 2016 May;28(2):226–32.
- [10] La Gerche A, Burns AT, Mooney DJ, Inder WJ, Taylor AJ, Bogaert J, et al. Exercise-induced right ventricular dysfunction and structural remodelling in endurance athletes. *Eur Heart J*. 2012 Apr;33(8):998–1006.
- [11] Neilan TG, Januzzi JL, Lee-Lewandrowski E, Ton-Nu T-T, Yoerger DM, Jassal DS, et al. Myocardial injury and ventricular dysfunction related to training levels among nonelite participants in the Boston marathon. *Circulation*. 2006 Nov;114(22):2325–33.
- [12] Scherr J, Braun S, Schuster T, Hartmann C, Moehlenkamp S, Wolfarth B, et al. 72-h kinetics of high-sensitive troponin T and inflammatory markers after marathon. *Med Sci Sports Exerc*. 2011 Oct;43(10):1819–27.
- [13] Dugauquier C, Hanssen M, Gach O, Legrand V. [Elevation of cardiac biomarkers after strenuous physical exertion]. *Rev Med Liege*. 2009;64(7–8):370–2.
- [14] Maron BJ, Pelliccia A, Spirito P. Cardiac disease in young trained athletes. Insights into methods for distinguishing athlete's heart from structural heart disease, with particular emphasis on hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*. 1995 Mar;91(5):1596–601.
- [15] Patil HR, O'Keefe JH, Lavie CJ, Magalski A, Vogel RA, McCullough PA. Cardiovascular damage resulting from chronic excessive endurance exercise. *Mo Med*. 2012;109(4):312–21.
- [16] Vlachopoulos C, Kardara D, Anastasakis A, Baou K, Terentes-Printzios D, Tousoulis D, et al. Arterial stiffness and wave reflections in marathon runners. *Am J Hypertens*. 2010 Sep;23(9):974–9.
- [17] Sanchis-Gomar F, Perez-Quilis C, Lippi G, Cervellin G, Leischik R, Löllgen H, et al. Atrial fibrillation in highly trained endurance athletes - Description of a syndrome. *Int J Cardiol*. 2017 Jan;226:11–20.

Cardiac Structural Repercussions Induced by Exhaustive Physical Training in the Animal Model

- [18] Day SM, Thompson PD. Cardiac risks associated with marathon running. *Sports Health*. 2010 Jul; 2(4):301-6.
- [19] Eijssvogels TMH, Fernandez AB, Thompson PD. Are There Deleterious Cardiac Effects of Acute and Chronic Endurance Exercise? *Physiol Rev* [Internet]. 2016 Jan;96(1):99-125. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26607287>
- [20] Wingo JE, Ganio MS, Cureton KJ. Cardiovascular drift during heat stress: implications for exercise prescription. *Exerc Sport Sci Rev* [Internet]. 2012 Apr;40(2):88-94. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22410803>
- [21] Dawson E, George K, Shave R, Whyte G, Ball D. Does the human heart fatigue subsequent to prolonged exercise? *Sports Med* [Internet]. 2003;33(5):365-80. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12696984>
- [22] Corrado D, Pelliccia A, Bjørnstad HH, Vanhees L, Biffi A, Bjørnstad M, et al. Cardiovascular pre-participation screening of young competitive athletes for prevention of sudden death: proposal for a common European protocol: Consensus Statement of the Study Group of Sport Cardiology of the Working Group of Cardiac Rehabilitation and. *Eur Heart J* [Internet]. 2005 Feb 2;26(5):516-24. Available from: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehi108>
- [23] Maron BJ, Thompson PD, Ackerman MJ, Balady G, Berger S, Cohen D, et al. Recommendations and considerations related to preparticipation screening for cardiovascular abnormalities in competitive athletes: 2007 update: a scientific statement from the American Heart Association Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabo. *Circulation*. 2007 Mar;115(12):1455-643.
- [24] Neilan TG, Yoerger DM, Douglas PS, Marshall JE, Halpern EF, Lawlor D, et al. Persistent and reversible cardiac dysfunction among amateur marathon runners. *Eur Heart J*. 2006 May; 27 (9) :1079-84.
- [25] Armstrong RB, Ogilvie RW, Schwane JA. Eccentric exercise-induced injury to rat skeletal muscle. *J Appl Physiol*. 1983 Jan;54(1):80-93.
- [26] Molinaro E, Caputo L, Amendoeira R. Capítulo 3 - Técnicas Histológicas. Conceitos e Métodos para Formação Profissionais em Laboratórios Saúde Vol 2 [Internet]. 2010;89-188. Available from: http://www.epsjv.fiocruz.br/sites/default/files/capitulo_3_vol2.pdf
- [27] Dinis-Oliveira RJ, Duarte JA, Remião F, Sánchez-Navarro A, Bastos ML, Carvalho F. Single high dose dexamethasone treatment decreases the pathological score and increases the survival rate of paraquat-intoxicated rats. *Toxicology* [Internet]. 2006/08/03. 2006 Oct 3;227(1-2): 73-85. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16956706>
- [28] Lattouf R, Younes R, Lutowski D, Naaman N, Godeau G, Senni K, et al. Picrosirius red staining: a useful tool to appraise collagen networks in normal and pathological tissues. *J Histochem Cytochem Off J Histochem Soc*. 2014 Oct;62(10):751-8.
- [29] Antonio da Silva Leite F. Recurrent Exercise-Induced Muscle Damage and Overtraining Syndrome: Is There Any Relationship? 2019.
- [30] MacInnis MJ, Gibala MJ. Physiological adaptations to interval training and the role of exercise intensity. *J Physiol* [Internet]. 2016/12/07. 2017 May 1;595(9):2915-30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27748956>
- [31] Cruz APS. Repercussões Crônicas Musculares Esqueléticas ao Treino com Exercícios Excêntricos. *J Chem Inf Model* [Internet]. 2013;53(9):1689-99. Available from: <https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/87031/2/161449.pdf>
- [32] Duarte JA, Mota MP, Neuparth MJ, Appell HJ, Soares JMC. Miopatia do exercício. *Anatomopatologia e Fisiopatologia. Rev Port Ciências do Desporto*. 2001;2001(2):73-80.
- [33] Guerreiro LF, Rocha AM, Martins CN, Ribeiro JP, Wally C, Strieder DL, et al. Oxidative status of the myocardium in response to different intensities of physical training. *Physiol Res*. 2016;65(5):737-49.
- [34] Ravi Kiran T, Subramanyam MV V, Asha Devi S. Swim exercise training and adaptations in the antioxidant defense system of myocardium of old rats: relationship to swim intensity and duration. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 2004 Feb;137(2):187-96.
- [35] Chung E, Diffie GM. Moderate intensity, but not high intensity, treadmill exercise training alters power output properties in myocardium from