

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**ESCOLA SUPERIOR DE EDUCAÇÃO FÍSICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DO MOVIMENTO**  
**HUMANO**  
**MESTRADO E DOUTORADO**

**EFEITO DO EXERCÍCIO SOBRE OS NÍVEIS SANGUÍNEOS DE**  
**PROTEÍNAS MARCADORAS DE LESÃO MUSCULAR E DA PROTEÍNA**  
**S100B EM TRIATLETAS TREINADOS**

**CÍNTIA MUSSI ALVIM STOCCHERO**

**ORIENTADOR: ÁLVARO REISCHAK DE OLIVEIRA**

## CATALOGAÇÃO NA FONTE

S864e Stocchero, Cíntia Mussi Alvim

Efeito do exercício sobre os níveis sanguíneos de proteínas marcadoras de lesão muscular e da proteína S100B em triatletas treinados. / Cíntia Mussi Alvim Stocchero. / Porto Alegre: UFRGS, 2009.

117 f., tab., il.

Tese (Doutorado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Escola de Educação Física. Programa de Pós-graduação em Ciências do Movimento Humano, Porto Alegre, RS, 2009.

1. Marcadores biológicos. 2. Proteínas musculares. 3. Lesão muscular.. 4. Triatletas. 5. Exercício físico. Título. III. Oliveira, Álvaro Reischak de, ori.

CDU: 796.012:612

Ficha catalográfica elaborada por Ivone Job, CRB-10/624

**EFEITO DO EXERCÍCIO SOBRE OS NÍVEIS SANGUÍNEOS DE  
PROTEÍNAS MARCADORAS DE LESÃO MUSCULAR E DA PROTEÍNA  
S100B EM TRIATLETAS TREINADOS**

Tese apresentada à Escola de  
Educação Física da Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul como requisito parcial para  
obtenção do título de Doutor em Ciências do  
Movimento Humano.

Porto Alegre, maio de 2009

## **AGRADECIMENTOS**

Sem dúvida, seria impossível ter concluído esse trabalho sem o apoio e ajuda de inúmeras pessoas. Particularmente eu gostaria de agradecer:

Ao meu orientador, Prof. Álvaro R. de Oliveira, pela confiança em mim depositada e pela oportunidade de crescimento que me proporcionou;

Ao Prof. Luis Portela (Roska), por ter me acolhido na Bioquímica e por todas as colaborações nas diversas etapas do projeto;

Ao Prof. Marco Vaz, pelo incentivo no desenvolvimento do projeto e pela disponibilização de equipamentos e pessoal de sua equipe;

Aos professores membros da banca, pelas contribuições para o projeto, particularmente na oportunidade da qualificação;

A todos os professores, que ao longo do meu processo de formação, foram acima de tudo mestres e com certeza me auxiliaram e incentivaram a chegar até aqui;

Aos meus colegas do Centro Universitário Metodista IPA, que me apoiaram e acompanharam nesse processo, particularmente ao Prof. Jerri Ribeiro, pelo auxílio na análise estatística;

Aos coordenadores dos cursos de Fisioterapia, Biomedicina e Educação Física do IPA, Prof. Adriana Raffone e Luciana Paiva, Prof. Ana Paula Jacobus e Paula Cilene e Prof. Leandro Vargas, pela compreensão e suporte recebido;

Aos meus colegas do grupo do GEFEX, pelo companheirismo e ajuda incondicional ao longo da coleta de dados, especialmente ao Prof. Giovani Santos e Prof. Jocelito Martins que muitas vezes “madrugaram” para me ajudar nas coletas;

Aos colegas da sala 212, pelo suporte técnico na área de ciclismo;

A todos os funcionários do LAPEX e do PPGCMH, em particular ao André, Ana, Luciano e Dani;

A todos os triatletas que participaram do estudo e aos seus treinadores, Frank Silvestrin e Eduardo Remião, pela incrível disponibilidade;

À minha bolsista de iniciação científica, Fernanda Huyer, que me auxiliou nas coletas e na organização do banco dados;

Aos farmacêuticos do Instituto de Cardiologia, especialmente à Liz que me auxiliou com as análises bioquímicas;

A todos os meus alunos que através de sua curiosidade e desejo de aprender, me instigam à pesquisa e a (re)pensar o conhecimento;

À escola pública brasileira, da qual sou fruto, por ter me oportunizado um ensino de qualidade;

Aos meus familiares, pela compreensão ao longo da realização do doutorado, em especial ao meu marido, pela paciência nesses últimos 4 anos;

Aos meus pais, pelo carinho e especialmente à minha mãe (*in memoriam*) por sempre ter acreditado em mim.

*“A dor é temporária. Ela pode durar um minuto,  
uma hora, um dia, ou um ano, mas finalmente ela acabará  
e alguma outra coisa tomará o seu lugar.  
Se eu parar, no entanto, ela dura para sempre.”*

*Lance Armstrong*

*Aos amores da minha vida,  
meus filhos Diego e Bruna  
e meu marido Jorgito.*

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIACOES .....	9
LISTA DE TABELAS .....	10
LISTA DE FIGURAS .....	11
RESUMO .....	12
ABSTRACT.....	14
1 INTRODUÇÃO.....	16
1.1 Objetivos.....	18
1.2 Hipóteses.....	18
2 FUNDAMENTACO TEÓRICA .....	20
2.1 A proteína S100B e exercício .....	20
2.2 Fontes extra cerebrais de S100B no exercício .....	24
2.3 Prolactina como marcador indireto de ativação serotoninérgica .....	27
2.4 Marcadores periféricos de estresse e lesão muscular e exercício....	28
2.4.1 Creatinaquinase (CK).....	29
2.4.2 Mioglobina e transaminase glutâmico oxalacética (TGO) .....	30
2.5 Marcadores inflamatorrios e exercício .....	31
3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS .....	33
3.1 Delineamento.....	33
3.2 População e Amostra.....	33
3.3 Instrumentos de medida .....	34
3.3.1 Fichas de acompanhamento do atleta .....	34
3.3.2 Equipamentos para avaliação antropométrica .....	34
3.3.3 Equipamentos para monitoramento das variáveis fisiológicas ...	34
3.3.4 Equipamentos bioquímicos para preparação das amostras.....	35
3.4 Procedimento geral.....	35
3.4.1 Composição corporal .....	36
3.4.2 Delineamento experimental.....	36
3.4.3 Procedimentos para os testes de exercício.....	37
3.4.4 Procedimentos para testes nos ergômetros.....	37
3.4.5 Testes máximos .....	38
3.4.6 Coleta de sangue .....	39
3.4.7 Descrição das técnicas de análise sanguínea .....	39
3.5 Tratamento estatístico .....	41
3.6 Aspectos ticos.....	41



4	RESULTADOS .....	43
4.1	Características dos triatletas participantes .....	43
4.2	Variáveis ergoespirométricas.....	44
4.3	Marcadores de lesão muscular.....	45
4.4	Marcador de lesão neural .....	48
4.5	Marcador de ativação serotoninérgica.....	50
4.6	Marcador inflamatório .....	51
4.7	Diferença entre os valores pós-exercício e basais ( $\Delta$ ).....	52
4.8	Correlações .....	54
5	DISCUSSÃO.....	57
6	CONCLUSÕES.....	66
7	PERSPECTIVAS PARA FUTUROS ESTUDOS .....	66
8	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	68
	ANEXOS.....	74
	ANEXO I – QUESTIONÁRIO DE HISTÓRICO MÉDICO .....	74
	ANEXO II – FICHA DE TREINAMENTO E RENDIMENTO DO ATLETA ...	76
	ANEXO III – FICHA DE AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA .....	77
	ANEXO IV – PLANILHA DOS TESTES MÁXIMOS E SUBMÁXIMOS .....	78
	ANEXO V – TCLE .....	81
	ANEXO VI – CARTA DE APROVAÇÃO.....	84
	ANEXO VII – VALORES INDIVIDUAIS DOS MARCADORES BIOQUÍMICOS.....	85
	ANEXO VIII – DOCUMENTOS SUBMISSÃO E APROVAÇÃO ARTIGO DE REVISÃO .....	88
	ANEXO IX –ARTIGO DE REVISÃO SUBMETIDO.....	89
	ANEXO X - ARTIGO ORIGINAL A SER SUBMETIDO .....	104

## LISTA DE ABREVIÇÕES

5-HT	5-hidroxytriptamina
AST	Aspartato aminotransferase
CK	Creatinaquinase
CRP	Proteína C-reativa
FC	Frequência cardíaca
IMC	Índice de massa corporal
LDH	Lactato desidrogenase
LV <sub>1</sub>	Primeiro limiar ventilatório
LV <sub>2</sub>	Segundo limiar ventilatório
Mb	Mioglobina
MHC	Miosina de cadeia pesada
NSE	Enolase específica neuronal
Prol	Prolactina
RER	Razão de troca respiratória
SNC	Sistema nervoso central
sTnl	Troponina esquelética
TGO	Transaminase glutâmico oxalacética
VCO <sub>2</sub>	Produção de gás carbônico
VE	Ventilação
VO <sub>2 max</sub>	Consumo máximo de oxigênio

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Diferenças nos níveis de S100B antes e após exercício em diferentes modalidades esportivas.....	26
Tabela 2 - Características da amostra estudada .....	43
Tabela 3 - Valores máximos e médios de VO2 e FC .....	44
Tabela 4 - Valores basais e diferença entre valores pós-exercício e basais .	53
Tabela 5 - Associação entre a proteína S100B e os marcadores bioquímicos em esteira .....	55
Tabela 6 - Associação entre a proteína S100B e marcadores bioquímicos em bicicleta.....	56
Tabela 7 - Associação entre os valores $\Delta$ de S100B e das variáveis bioquímicas analisadas.....	56

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Percepção subjetiva de esforço .....	45
Figura 2. Concentração sérica da enzima CK em esteira e em bicicleta. ....	46
Figura 3. Concentração sérica de mioglobina em esteira e em bicicleta. ....	47
Figura 4. Concentração sérica da enzima TGO em esteira e em bicicleta. ...	48
Figura 5. Concentrações séricas de S100B na esteira (A) e na bicicleta (B).	49
Figura 6. Concentração sérica de prolactina em esteira e em bicicleta. ....	51
Figura 7 - Concentração sérica de PCR em esteira e em bicicleta.....	52
Figura 8. Diferença entre os valores pós-exercício e basais ( $\Delta$ S100B) obtidos após teste submáximo em esteira e em bicicleta ( $p = 0,04$ ) .....	53

## RESUMO

A proteína S100B cerebral que tem sido utilizada como um marcador periférico de danos no sistema nervoso central (SNC). Entretanto, estudos recentes demonstraram que a S100B também aumenta após o exercício físico, embora o significado desse aumento ainda não esteja bem claro. Apesar de ser liberada principalmente por astrócitos no sistema nervoso central, fontes de produção extra cerebral de S100B durante o exercício podem estar implicadas no aumento sérico desta proteína. Assim, trabalhos propõem que o aumento da S100B após o exercício estaria relacionado à secreção ativa por adipócitos e músculos lesados. O objetivo desse estudo foi investigar os níveis sanguíneos de S100B em exercícios com impacto e sem impacto, determinando assim a relação entre os níveis séricos de S100B e marcadores considerados tradicionais de lesão muscular. MATERIAL E MÉTODOS: Participaram desse estudo 13 triatletas do sexo masculino com idade média de  $33,9 \pm 6,0$  anos, massa corporal de  $74,7 \pm 6,8$  kg, estatura de  $177 \pm 0,1$  cm e gordura corporal de  $11,1 \pm 4,7\%$ . Nas quatro visitas ao laboratório, eles foram submetidos a: a) anamnese; b) realizaram avaliação antropométrica; c) foram submetidos a dois testes progressivos para medida de consumo máximo de oxigênio e determinação dos limiares ventilatórios em esteira e bicicleta; e d) realizaram 2 protocolos contínuos de quarenta (40) minutos de duração em intensidade de 2<sup>o</sup> limiar ventilatório. Esses protocolos consistiram de exercício em esteira, sem inclinação e em bicicleta, utilizando a própria bicicleta do atleta acoplada a um ciclo-simulador. Durante cada protocolo foram retiradas três amostras de sangue, sendo uma em repouso, outra após o término do teste e a terceira uma hora após o término do teste. As amostras foram analisadas para S100B, creatinaquinase, mioglobina, TGO, prolactina e proteína C-reativa. RESULTADOS: Os testes foram realizados a uma intensidade de  $72\% \pm 0,05$  (esteira) e  $69\% \pm 0,05$  (bicicleta) do VO<sub>2</sub> max. Não houve diferença significativa entre os valores basais para todas as variáveis bioquímicas avaliadas em esteira e bicicleta. As seguintes variáveis apresentaram aumento significativo imediatamente após o teste em esteira: S100B ( $p < 0,05$ ), CK ( $p = 0,0001$ ), Mb ( $p=0,0001$ ),

TGO ( $p=0,0001$ ) e prolactina ( $p=0,0001$ ). Para o teste em bicicleta apresentaram diferença imediatamente após: CK ( $p=0,0001$ ), TGO ( $p=0,0001$ ) e prolactina ( $p=0,001$ ). Verificou-se valores mais elevados ( $p<0,05$ ) imediatamente após no protocolo esteira para S100B, CK, Mb, TGO e prolactina quando comparando ao protocolo em bicicleta. Houve uma correlação significativa entre S100B e mioglobina após para esteira ( $r= 0,588$ ) e bicicleta ( $r= 0,619$ ). CONCLUSÃO: os achados do presente estudo apontam para uma possível fonte extra-cerebral contribuindo para o aumento de S100B após exercício. Em esteira houve maior dano muscular, acompanhado de aumento na S100B, o que não ocorreu após exercício em bicicleta. Além disso, foi encontrada uma correlação significativa entre S100B e mioglobina após o teste, indicando que o dano muscular deve ser considerado com um fator contribuinte para o aumento de S100B observado após alguns tipos de exercício.

## ABSTRACT

The cerebral S100B protein has been used as a peripheral marker of central nervous system injuries. However, recent studies have shown that S100B protein also increases after physical exercise, yet these increases are not completely understood. Although S100B is primarily secreted by astrocytes in the central nervous system, maybe some extracerebral sources are implicated in S100B's serum elevations during exercise. Moreover, some authors have proposed that S100B increase during exercise is related to active secretion by adipocytes and skeletal muscle. This study aimed to investigate serum S100B levels in impact and non-impact exercises, establishing a relationship among S100B and traditional blood markers for muscle damage. METHODS: 13 male triathletes participated in this study. They presented (mean $\pm$ SD) age= 33,9  $\pm$  6,0 years, body mass= 74,7 $\pm$ 6,8 kg, height = 177  $\pm$ 0,1 cm and body fat = 11,1 $\pm$ 4,7%. In the 4 visits they made to the laboratory, they went through: a) an anamnesis; b) anthropometrical evaluation; c) two incremental tests (treadmill and bicycle) for VO<sub>2</sub>max and anaerobic threshold determination; d) two sub maximal exercise protocols lasting 40 minutes each at anaerobic threshold intensity. These protocols consisted of treadmill exercise with no inclination and bicycle, using the athlete's own bicycle with a cycle-simulator. During each protocol, 3 blood samples were taken: before, immediately after, and 1 hour after exercise. The samples were analyzed for S100B, creatine kinase, myoglobin, AST, prolactin and C-reactive protein. RESULTS: The tests were performed at a VO<sub>2</sub>max intensity of 72%  $\pm$  0,05 (treadmill) e 69%  $\pm$  0,05 (bicycle). There was no significant difference for all resting biochemical variables analyzed between treadmill and bicycle. The following variables showed a significant increase after the treadmill protocol: S100B (p < 0,05), CK (p = 0,0001), Mb (p=0,0001), AST (p=0,0001) and prolactin (p=0,0001). In the bicycle test CK (p=0,0001), AST(p=0,0001) and prolactin (p=0,001) showed increases immediately after. The S100B, CK, Mb, AST and prolactin immediately after serum values were statistically higher in treadmill than in bicycle. There was a significant correlation between S100B and myoglobin after treadmill (r=

0,588) and bicycle ( $r= 0,619$ ). CONCLUSION: The findings in this study point towards a possible extra cerebral source contributing to S100B's elevation after exercise. Treadmill exercise had higher muscle damage, accompanied by S100B increase which didn't happen in the bicycle exercise. Moreover, there was a significant correlation between after exercise's S100B and myoglobin, indicating that muscle damage must be considered as a factor for S100B increase during exercise.



## 1 INTRODUÇÃO

A participação em exercícios físicos regulares vem se tornando cada vez mais freqüente em nossa sociedade. Os benefícios do exercício têm sido amplamente reportados na literatura e incluem melhoras em parâmetros relacionados aos sistemas cardio-respiratório (DAUSSIN *et al.* 2008), imunológico (ROGERS *et al.* 2008), muscular (KNUTTGEN 2007; PHILLIPS 2007) e sistema nervoso central (SNC) (COTMAN *et al.* 2002). No entanto, muitos estudos têm investigado os possíveis efeitos deletérios (danos) que o exercício pode provocar no organismo. Como qualquer fator estressante, o exercício provoca modificações humorometabólicas agudas que, sob repetição do estímulo, tendem a favorecer uma adaptação dos sistemas biológicos a uma demanda de trabalho físico aumentada (HUONKER *et al.* 1996; COFFEY *et al.* 2007). O propósito das mudanças induzidas pelo exercício na célula muscular é adaptar o tecido a essa demanda aumentada.

Recentemente, alguns estudos têm relacionado a proteína S100B aos efeitos do exercício no SNC. A S100B pertence a uma família de proteínas conhecida genericamente como S100. Elas são parcialmente solúveis em sulfato de amônia 100% saturado em pH neutro. A forma beta (S100B) está localizada predominantemente nos astrócitos. Essa proteína tem atividades funcionais intracelulares como a regulação do metabolismo de energia, crescimento e divisão celular, comunicação celular e manutenção da homeostase do cálcio (DONATO 2001). Ela também pode ser secretada ativamente pelos astrócitos e exercer funções extracelulares, como, por exemplo, estimular a proliferação de células neurais e a plasticidade a sináptica (NISHIYAMA *et al.* 2002). Considerando estes efeitos tróficos da S100B sobre as células nervosas, estudos sugerem que esta proteína tem um papel destacado nas fases iniciais de desenvolvimento cerebral em roedores (TRAMONTINA *et al.* 2002) e também em humanos (PORTELA *et al.* 2002).

Por outro lado, a elevação dos níveis extracelulares da S100B está associada com dano e/ou disfunção do SNC. Assim, vários estudos clínicos e experimentais, têm investigado os níveis séricos e líquóricos da proteína

S100B como um marcador bioquímico de doenças agudas e crônicas relacionadas ao comprometimento do SNC (PORTELA *et al.* 2002), como trauma crânio encefálico (NYLEN *et al.* 2008), acidente vascular cerebral (PETZOLD *et al.* 2008), mielopatia associada ao vírus HTLV-1 (WALZ *et al.* 2000), doença de Parkinson (PORTELA *et al.* 2003; SCHAF *et al.* 2005) e doenças psiquiátricas como esquizofrenia e transtorno bipolar (LARA *et al.* 2001; MACHADO-VIEIRA *et al.* 2002).

Recentemente, têm sido observados aumentos de S100B após a realização de exercícios físicos (OTTO *et al.* 2000; DIETRICH *et al.* 2003; STALNACKE *et al.* 2003; HASSELBLATT *et al.* 2004; STALNACKE *et al.* 2004; SCHULPIS *et al.* 2007; CHEUVRONT *et al.* 2008).

Aumentos nos níveis séricos de S100B foram observados após esportes como corrida, boxe, hóquei no gelo e basquetebol (OTTO *et al.* 2000; STALNACKE *et al.* 2003). Os autores especularam que por esses esportes apresentarem eventos de aceleração e desaceleração, os impactos decorrentes do tipo de exercício realizado levariam a dano neural, o que explicaria os aumentos séricos de S100B observados. Também foram observados aumentos de S100B após competição de natação, atribuídos nesse caso a uma maior resposta dos astrócitos devido à estimulação serotoninérgica, já que a natação se caracteriza por ser uma atividade sem impacto e de não-contato. Outros estudos sugerem uma liberação extracerebral de S100B (HASSELBLATT *et al.* 2004; SCHULPIS *et al.* 2007), proveniente de músculo esquelético, uma vez que encontraram uma correlação positiva entre S100B e a enzima CK, um reconhecido marcador de lesão muscular.

Assim, os poucos estudos conduzidos até o momento sobre S100B e exercício têm especulado diferentes mecanismos para explicar o aumento de S100B encontrado após o exercício, como por exemplo: i) um aumento da atividade trófica dos astrócitos que se refletiria numa maior secreção da proteína; ii) a lesão de células neurais e ainda; iii) uma possível contribuição de fontes extracerebrais como o tecido adiposo (SCACCIANOCE *et al.* 2004; NETTO *et al.* 2006) e tecido muscular esquelético (HASSELBLATT *et al.* 2004; SCHULPIS *et al.* 2007).

Dessa forma, o presente trabalho busca investigar os possíveis mecanismos envolvidos na liberação de S100B durante o exercício físico.

## 1.1 Objetivos

O objetivo geral deste trabalho é investigar os níveis sanguíneos de S100B em exercícios com impacto e sem impacto, determinando assim a relação entre os níveis séricos de S100B e marcadores considerados tradicionais de lesão muscular.

Os objetivos específicos são:

- (1) verificar se existe diferença nos níveis séricos de S100B entre atividades de impacto (corrida em esteira) e sem impacto (bicicleta estacionária) realizadas na mesma intensidade de exercício: LV2 – intensidade do segundo limiar ventilatório;
- (2) comparar os níveis séricos de S100B e marcadores de lesão muscular (creatinaquinase, mioglobina e transaminase glutâmico oxalacética) nas duas situações experimentais;
- (3) relacionar os níveis da S100B e prolactina nas duas situações experimentais;
- (4) verificar se houve diferença em marcadores inflamatórios (proteína C reativa) entre as duas condições experimentais, relacionando os mesmos com os níveis de S100B;

## 1.2 Hipóteses

- Os níveis séricos de S100B apresentarão valores mais elevados após exercícios com impacto em relação aos exercícios sem impacto, ambos realizados na mesma intensidade relativa do exercício;
- O dano muscular induzido pelo exercício, avaliado indiretamente através das enzimas marcadoras de lesão, apresentará uma relação positiva com os níveis de S100B.

- O dano muscular será maior no protocolo em esteira, devido ao maior componente excêntrico do mesmo;

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A presente fundamentação teórica deu origem a um artigo de revisão, o qual foi aceito para publicação em um periódico nacional (ANEXOS VIII e IX).

### 2.1 A proteína S100B e exercício

A proteína S100B pertence a uma extensa família de proteínas solúveis em sulfato de amônio 100% saturado em pH neutro e, portanto referidas como S-100 proteínas. A forma beta está localizada principalmente nas células da glia, particularmente os astrócitos no sistema nervoso central. Essa proteína apresenta tanto funções intracelulares como extracelulares.

A nível intracelular, ela inclui as funções de regulação do metabolismo de energia, crescimento e divisão celular, comunicação celular e homeostase do cálcio (ZIMMER *et al.* 1995). Ela pode ser secretada ativamente e exercer funções extracelulares.

A S100B pode exercer tanto efeitos tróficos como tóxicos, dependendo da quantidade secretada. Em concentrações nanomolares, ela tem mostrado qualidades neurotróficas, enquanto em concentrações micromolares o seu efeito passa a ser tóxico. Sabe-se que a superexpressão de S100B pode causar dano neural crônico (AZMITIA 2001). Este é o caso, por exemplo, em indivíduos portadores de Síndrome de Down, já que os mesmos apresentam a trissomia do cromossomo 21, local onde está situado o gene da S100B, apresentando, portanto, superexpressão de S100B (WHITAKER-AZMITIA 2001).

Os níveis séricos desta proteína apresentam-se elevados até a idade de 20 anos, particularmente entre os neonatos e crianças, estabilizando-se depois disso. Considerando os efeitos tróficos da S100B sobre as células nervosas, parece que esta proteína desempenha um importante papel nas fases iniciais de desenvolvimento cerebral (PORTELA *et al.* 2002). Estudos com animais adultos têm indicado que a proteína S100B pode modular a plasticidade neural (NISHIYAMA *et al.* 2002) e a consolidação da memória (LEWIS *et al.* 1986).

A proteína S100B apresenta uma meia-vida sérica de aproximadamente 25 minutos e uma redução moderada na taxa de filtração glomerular parece não afetar sua eliminação (JONSSON *et al.* 2000).

As recentes observações de que o exercício físico eleva a concentração sérica de S100B, suscitaram indagações sobre os mecanismos que causariam essa elevação.

A idéia proposta inicialmente por alguns autores é de que tipos específicos de exercício poderiam causar dano cerebral e, portanto levar a aumentos séricos de S100B. No estudo de Otto e colaboradores (OTTO *et al.* 2000) foram analisadas modalidades diferentes de exercício como boxe, corrida de fundo (25km e 10km) e provas de velocidade (corrida e bicicleta, 3 séries de 2 min). Com exceção das modalidades bicicleta, todos os grupos apresentaram um aumento significativo entre os valores séricos basais e os valores pós-exercício de S100B. Os autores sugeriram que a vibração axial do cérebro durante a corrida poderia causar lesão cerebral. Já no boxe, parece haver uma relação direta entre a quantidade de golpes na cabeça e o aumento nos níveis séricos de S100B. Além disso, boxeadores que não usavam protetores de cabeça apresentaram níveis mais elevados de S100B em relação a boxeadores com protetores e que apresentaram o mesmo número de golpes (OTTO *et al.* 2000).

Da mesma forma Stalnacke e colaboradores (STALNACKE *et al.* 2003; STALNACKE *et al.* 2004) observaram aumentos séricos da S100B no pós-exercício nas modalidades hóquei no gelo, basquetebol e futebol, e também nos níveis de NSE (enolase específica neuronal), uma enzima predominantemente encontrada nos neurônios e que pode ser detectada na corrente sanguínea após dano neuronal. Nas três modalidades estudadas, foram também avaliados eventos de aceleração e desaceleração (quedas, colisões, pulos e cabeçadas na bola – no caso do futebol) e estes se correlacionaram com os níveis aumentados de S100B (valores pós-jogo menos valores pré-jogo). Mais uma vez, houve uma correlação positiva entre S100B e o número de cabeçadas na bola. Coincidentemente, após o futebol, também houve um aumento nos níveis de NSE. Entretanto, o efeito da aceleração/desaceleração parece não ser relevante uma vez que a prática de *bungee jumping* não afeta a liberação de S100B (WOERTGEN *et al.* 2002).

Portanto, o que os estudos de Otto (OTTO *et al.* 2000) e Stalnacke (STALNACKE *et al.* 2003; STALNACKE *et al.* 2004) parecem sugerir é que os exercícios físicos que têm um alto impacto no cérebro são potencialmente capazes de causar dano às células neurais e se refletir no aumento dos níveis do marcador astrocitário (S100B) e neuronal (NSE). Entretanto, essa proposta parece não se aplicar às modalidades esportivas que apresentam baixo impacto ao cérebro e nem tampouco ao efeito aceleração/desaceleração. Nesse sentido, alguns estudos questionaram a ideia de que exercícios físicos como ciclismo e corridas poderiam causar dano cerebral (DIETRICH *et al.* 2003; DIETRICH *et al.* 2004; DIETRICH MDE *et al.* 2004). Assim, foram analisados os níveis séricos de S100B pré e pós, de atletas que participaram de uma modalidade de exercício físico de baixo impacto e longa duração: a natação modalidade de travessia (7600m). Os resultados demonstraram que os níveis séricos de S100B coletados imediatamente após a prova estavam mais elevados que antes da prova. Existem evidências de que a ativação dos receptores serotoninérgicos aumenta a secreção de vários hormônios do hipotálamo, dentre eles a prolactina, que tem sido usada como um marcador periférico da estimulação do sistema serotoninérgico (VAN DE KAR *et al.* 1996; STRUDER *et al.* 2001). Nesse estudo com os nadadores, os níveis de prolactina também estavam aumentados logo após a prova indicando uma alta atividade serotoninérgica estimulada pelo exercício (DIETRICH *et al.* 2003). Estudos experimentais demonstram que a estimulação do receptor de serotonina 5HT1A em astrócitos promove um aumento na secreção de S100B (AZMITIA 2001). Assim, os autores postularam que o mecanismo celular envolvido no aumento de S100B pós-exercício poderia ser o resultado da estimulação serotoninérgica nos receptores 5HT1A astrocitários (BLOMSTRAND *et al.* 1989; CHAOULOFF 1997). Considerando as evidências experimentais recentes de que o exercício (COTMAN *et al.* 2002; BERCHTOLD *et al.* 2005; COTMAN *et al.* 2007) estimula a síntese e liberação de fatores tróficos no cérebro e que isso desencadeia processos que aumentam a plasticidade e resistência cerebral, alguns pesquisadores (DIETRICH *et al.* 2003; DIETRICH *et al.* 2004; DIETRICH MDE *et al.* 2004) propõem que o aumento dos níveis de

S100B está mais relacionado à ação trófica desta proteína no cérebro do que a possíveis lesões de células neurais.

Assim, a forte linha de pesquisa que relaciona os níveis séricos aumentados de S100B e o grau de severidade da lesão cerebral (INGEBRIGTSEN *et al.* 1999) provavelmente não seja aplicável à situação do exercício. Vale salientar que déficits neuropsicológicos após traumatismos na cabeça geralmente ocorrem em níveis séricos acima de 500ng/L, os quais não foram observados em nenhum dos estudos envolvendo exercício físico previamente citados.

Portanto, o uso da proteína S100B como um marcador exclusivo para lesão cerebral tem sido questionado, visto que recentemente foram observados aumentos na S100B em pacientes com quadro de trauma, mas sem dano cerebral (ANDERSON *et al.* 2001; KLEINE *et al.* 2003). Pacientes submetidos a cirurgias cardíacas, por exemplo, apresentam um pico nos níveis de S100B logo após a cirurgia não demonstrando dano cerebral subsequente (SNYDER-RAMOS *et al.* 2004). Esse achado parece indicar que a S100B pode também ser liberada do próprio tecido cardíaco ou outro tecido lesionado. A produção de S100B pelo tecido cardíaco de fato foi confirmada por Mazzini e colaboradores (MAZZINI *et al.* 2005) que utilizaram a técnica de coração isolado submetido à isquemia e observaram a liberação dessa proteína pelo próprio tecido cardíaco.

Em cirurgias cardíacas, tem se observado que o padrão de liberação de S100B (prematuro ou tardio) parece estar associado com a origem da S100B (SNYDER-RAMOS *et al.* 2004). Assim, a fonte para os níveis aumentados dessa proteína imediatamente após o término da cirurgia seria o próprio tecido cardíaco, enquanto os aumentos tardios nesses níveis seriam oriundos do tecido cerebral lesado.

Kleine e colaboradores (KLEINE *et al.* 2003) realizaram um estudo com uma amostra de 401 pacientes sob cuidado intensivo observando os níveis sanguíneos de S100B e NSE, além de vários marcadores de inflamação e lesão tecidual. Eles concluíram que as alterações metabólicas sistêmicas ocorridas em pacientes sob cuidado intensivo podem induzir a liberação de S100B de tecidos não-nervosos. Ou seja, apesar da pequena quantidade de S100B (5%) presente em tecidos não-nervosos, situações de



múltipla disfunção nos órgãos poderiam acarretar aumento na liberação de S100B a partir dos tecidos lesados.

## **2.2 Fontes extra cerebrais de S100B no exercício**

A idéia inicial de que a S100B era uma proteína específica do cérebro não tem se sustentado nos últimos anos. Apesar de estar presente em maior quantidade no cérebro (95%) essa proteína pode ser detectada em adipócitos, condrócitos e cardiomiócitos, embora ela não seja secretada ativamente por estas células (SUZUKI *et al.* 1984; SNYDER-RAMOS *et al.* 2004; MAZZINI *et al.* 2005). Trabalhos recentes sugerem que os níveis sanguíneos de S100B podem ter origem em outros tecidos que não somente o cérebro.

Uma possível fonte de S100B durante o exercício seriam os adipócitos. Estudos *in vitro* indicam que a S100B é secretada de adipócitos sob estimulação da epinefrina (NETTO *et al.* 2006). Netto e colaboradores (NETTO *et al.* 2006) apontam os adipócitos como uma importante fonte de S100B, sugerindo inclusive que a S100B deva ser considerada uma adipocina, liberada durante jejum e exercício. Assim, apesar dos estudos experimentais demonstrarem que os adipócitos secretam S100B sob estímulo da adrenalina (SCACCIAOCE *et al.* 2004; NETTO *et al.* 2006), falta esclarecer se durante o exercício, os adipócitos podem ser uma importante fonte de S100B.

Assim, parece também haver uma relação entre estresse e níveis de S100B. Um estudo conduzido por Scaccianoce e colaboradores (SCACCIAOCE *et al.* 2004) avaliaram os níveis séricos de S100B em ratos submetidos a situação estressante (120 min. de imobilização através de equipamento apropriado). Os ratos imobilizados apresentaram níveis séricos de S100B significativamente maiores do que os ratos não submetidos a essa situação, sendo que essa alteração ocorreu independente do nível de hormônios glicocorticóides, uma vez que também foi observada em ratos adenocorticomizados. Ou seja, a adenocorticotomia apresentou-se

ineficiente para afetar o aumento nos níveis de S100B, induzido pelo estresse da contenção.

Hasselblatt e colaboradores (HASSELBLATT *et al.* 2004) propuseram a idéia de que durante o exercício a S100B seria liberada do músculo esquelético.

Em estudo conduzido com atletas de maratona, o aumento do nível sérico da S100B após a prova teve uma forte correlação com a atividade da enzima creatinaquinase (CK) (HASSELBLATT *et al.* 2004), reconhecidamente um marcador de lesão muscular.

Outro estudo que observou a relação entre S100B e CK foi conduzido por Schulpis e colaboradores (SCHULPIS *et al.* 2007). Eles investigaram a influência do perfil antioxidante de jogadores de basquetebol sobre a concentração sérica de S100B. Os autores verificaram uma correlação inversa entre o estado antioxidante total e os níveis de S100B e observaram que atletas suplementados com vitamina E apresentaram níveis significativamente menores de S100B e CK pós-exercício quando comparados com eles mesmos sem suplementação.

A forte correlação entre CK e S100B encontrada no estudo com maratonistas ( $r = 0,7$ ) e no estudo com jogadores de basquete ( $r = 0,5$ ) pode indicar que a S100B, apesar de não ser secretada ativamente pelo músculo esquelético, poderia estar sendo extravasada como resultado do processo de lesão ocorrido no músculo.

Um resumo dos estudos conduzidos com exercício e S100B pode ser encontrado na Tabela 1.

Tabela 1 - Diferenças nos níveis de S100B antes e após exercício em diferentes modalidades esportivas.

Autor	Modalidade	Amostra	$\Delta$ S100B
		<i>n</i>	(valores médios)
Otto et al., 2000	Boxe	25	89 ng/L
	Corrida 25 km	11	66 ng/L
	Cross-country 10km	12	38,3 ng/L
	Corridas curtas (3 x 2 min)	12	23 ng/L
Stalnacke et al. 2003	Futebol	28	51 ng/L
Stalnacke et al., 2003	Hóquei no gelo	26	72 ng/L
	Basquetebol	18	76 ng/L
Dietrich et al., 2003	7600 m natação (travessia)	16	33,31 ng/L
Hasselblatt et al., 2004	Maratona	18	70 ng/L
Schulpis et al., 2007	Basquetebol (sem suplementação)	10	170 ng/L
	(com suplementação)*	10	60 ng/L
Cheuvront et al., 2008	Caminhada de 100 min.	9	20 ng/L**

$\Delta$ = refere-se à diferença entre os níveis séricos de S100B pré e pós-exercício.

\* Participantes foram suplementados por 30 dias com 200 mg/ dia de  $\alpha$ -tocoferol

\*\* Aumento não significativo

### 2.3 Prolactina como marcador indireto de ativação serotoninérgica

A prolactina é um hormônio protéico de cadeia única secretado pela adenohipófise. Sua secreção pode ser elevada, dentre outros fatores, pela combinação com agentes indutores de estresse. Existem dados indicando que os neurônios serotoninérgicos do núcleo dorsal da rafe se projetam ao hipotálamo, estimulando a secreção de prolactina através da ativação de receptores 5-HT (VAN DE KAR *et al.* 1996). Assim, a resposta de prolactina pode ser utilizada como um indicador da atividade central da serotonina (STRUDER *et al.* 2001; KIIVE *et al.* 2004).

A produção de serotonina pode ser afetada por fatores periféricos, já que a mesma é sintetizada a partir do aminoácido triptofano. Qualquer aumento plasmático no triptofano livre pode significar um aumento correspondente na formação de 5-hidroxitriptamina (5-HT) no cérebro (BLOMSTRAND *et al.* 1989), particularmente no tronco cerebral e hipotálamo.

Em humanos saudáveis, a administração de l-triptofano, produziu um aumento nas concentrações plasmáticas de prolactina (PRICE *et al.* 1991).

O exercício físico, sobretudo o de resistência, influencia sobremaneira o sistema serotoninérgico causando elevação nos níveis de serotonina no cérebro (CHAOULOFF 1997).

Contudo, estudos que observaram a resposta da prolactina ao exercício encontraram resultados conflitantes, sendo que alguns encontraram aumento pós-exercício (PITSILADIS *et al.* 2002; DIETRICH *et al.* 2003) e outros não verificaram diferença em relação aos valores basais (KIIVE *et al.* 2004; KARKOULIAS *et al.* 2008). Entretanto, a resposta da prolactina, assim como de outros hormônios, é dependente de muitos fatores como intensidade, duração, tipo de exercício e nível de treinamento do indivíduo. Segundo Brisson e colaboradores (BRISSEON *et al.* 1986), todos esses fatores na verdade tem um impacto sobre a temperatura corporal. Assim, o aumento na prolactina observado em alguns estudos poderia ser o resultado do aumento na temperatura corporal produzido pelo exercício. Pitsiladis e colaboradores (PITSILADIS *et al.* 2002) encontraram uma correlação positiva

significativa entre concentração de prolactina e temperatura retal durante quatro diferentes protocolos de exercício.

Como a liberação da proteína S100B dos astrócitos é, dentre outros fatores, estimulada pela serotonina (AZMITIA 2001), os níveis séricos de prolactina podem ser utilizados como um parâmetro indireto para investigar a interação entre S100B e serotonina.

## **2.4 Marcadores periféricos de estresse e lesão muscular e exercício**

Atividades físicas prolongadas e intensas podem causar uma diminuição no rendimento físico gerado por fadiga muscular. Considera-se dano muscular quando ocorre queda de rendimento associada com mudanças estruturais no músculo. O dano muscular é particularmente pronunciado em músculos que são alongados durante a contração (contrações excêntricas).

Acredita-se que o estresse mecânico imposto sobre o músculo durante as ações excêntricas seja o fator responsável pelo dano à célula muscular. Um músculo submetido a contrações excêntricas apresenta dois sinais característicos de dano: presença de desorganização nas miofibrilas (ruptura, alargamento ou prolongamento da linha Z) e dano ao sistema de acoplamento excitação-contração (E-C) (LIEBER *et al.* 2002).

Muitos estudos têm avaliado o aparecimento na corrente sanguínea após exercício excêntrico de proteínas tipicamente encontradas no músculo, apresentando dessa forma indicação indireta de dano muscular. O aumento das proteínas sanguíneas parece estar relacionado ao tipo e intensidade do exercício e ao nível prévio de atividade dos indivíduos (EVANS *et al.* 1986). Várias proteínas foram encontradas com níveis aumentados após exercício como a proteína citoplasmática creatina-quinase (CK), a lactato desidrogenase (LDH), a miosina de cadeia pesada (MHC), a mioglobina (Mb) e a troponina esquelética (sTnl), dentre outras. Dos marcadores citados, a CK é um dos mais usados para diagnóstico de lesão muscular.

### 2.4.1 Creatinaquinase (CK)

A creatinaquinase é a principal enzima reguladora do metabolismo anaeróbio, estando localizada no sarcolema e espaço intermembrana da mitocôndria, sendo responsável por catalisar o movimento do fosfato da creatina fosfato ao difosfato de adenosina, formando trifosfato de adenosina (ATP).

Apesar de a proteína CK ser extensivamente utilizada como marcadora de lesão muscular, ela não se configura em um marcador específico do músculo esquelético. Na verdade, existem 3 isoformas: para o músculo esquelético, músculo cardíaco e para o tecido cerebral. Contudo, excluindo casos de patologia cardíaca e lesões na cabeça, a maior parte da CK é proveniente do músculo esquelético. Alguns estudos demonstraram variabilidade nas respostas de CK quando comparada com o grau efetivo de lesão avaliado por estudos histológicos (KOMULAINEN *et al.* 1995). A liberação de proteínas citoplasmáticas como a CK pode ser causada por dano temporário na fibra muscular acompanhado de ruptura na membrana ou mesmo devido à morte da fibra muscular (MCNEIL *et al.* 1992). Sabe-se que o exercício extenuante danifica a estrutura da célula muscular esquelética, resultando em um aumento na CK total (EHLERS *et al.* 2002).

A proteína CK é liberada pelo músculo e captada pelo sistema linfático, onde circula até o ducto torácico, entrando então na corrente sanguínea, o que resulta no aumento dos níveis séricos de CK. Indivíduos imobilizados ou em repouso apresentaram diminuição na CK após realização de exercício físico, devido ao menor fluxo linfático nessas situações (HAVAS *et al.* 1997; SAYERS *et al.* 2000).

Aumentos de CK foram observados em grande número de atletas após treino de força de moderado a intenso ou treino aeróbio (HARTMANN *et al.* 2000). Dependendo do tipo de exercício realizado, por exemplo, o pico de CK ocorre em momentos diferentes. Após realização de corrida em plano inclinado (na descendente) o pico costuma ocorrer entre 12 e 24 h pós-exercício, com aumentos entre 100 e 600 IU (BYRNES *et al.* 1985) enquanto exercícios excêntricos máximos apresentam seu pico em torno do 4<sup>o</sup> dia,

com aumentos na ordem de 2000 a 10.000 IU (CLARKSON *et al.* 1992). Em um estudo comparando execução de exercícios excêntricos submáximos (75%) em aparelho isocinético entre braços e pernas, os aumentos nos níveis de CK foram observados a partir de 24h pós-exercício, atingindo seu pico 96h pós-exercício (JAMURTAS *et al.* 2005). Interessantemente, os valores de CK para os exercícios realizados com os braços foram significativamente maiores do que os valores encontrados para membros inferiores ( $3670 \pm 1531$  IU e  $459 \pm 161$  IU, respectivamente; valores 96h pós-exercício).

Estudos com animais têm demonstrado diferenças no padrão de resposta da enzima CK entre animais machos e fêmeas após protocolos aeróbios e de exercício excêntrico (KOMULAINEN *et al.* 1999). Entretanto, estudos realizados com humanos não tem demonstrado essa diferença (ESTON *et al.* 2000; SORICHTER *et al.* 2001). Considerando o aumento relativo à massa corporal não foram encontradas diferenças significativas entre homens e mulheres tanto na atividade da CK como na atividade de outras proteínas marcadoras de lesão, como mioglobina, sTnl e MHC (SORICHTER *et al.* 2001).

Entretanto, parecem existir diferenças quanto aos valores de CK pós-exercício conforme o grupo etário envolvido. Em estudo comparando um grupo de jovens ( $19.4 \pm 0.4$  anos) e um grupo de idosos ( $70.5 \pm 1.5$  anos) após exercício com pesos em membros superiores foi verificado um aumento de menor magnitude para os idosos em comparação com os jovens (LAVENDER *et al.* 2006) .

#### **2.4.2 Mioglobina e transaminase glutâmico oxalacética (TGO)**

A mioglobina (Mb) é uma molécula de armazenamento de oxigênio, seletivamente expressa em células musculares cardíacas e células musculares esqueléticas que possuem uma alta demanda de oxigênio

A transaminase glutâmico oxalacética (TGO) também é chamada de aspartato aminotransferase (AST). A TGO e a TGP (transaminase glutâmico pirúvica) são as enzimas que catalisam a conversão da porção nitrogenada de um aminoácido para um resíduo de aminoácido. A TGO é encontrada no

citoplasma e mitocôndrias de muitas células, entre elas, o músculo esquelético. A TGO e TGP são rotineiramente analisadas no soro para avaliação da função hepática.

Tanto a mioglobina como a TGO são liberadas de músculos lesionados e, portanto são utilizadas como marcadores de dano muscular após exercício (LEPPANEN 1989). Seu aumento está relacionado a maior permeabilidade do tecido muscular após exercício intenso.

Diferentes tipos de protocolo de exercício analisaram os níveis de Mb e TGO após término do mesmo. Hoffmann e colaboradores encontraram aumentos de Mb e TGO 15 minutos após jogo de futebol americano (HOFFMAN *et al.* 2002), mas não acharam diferença nos valores de CK em relação aos valores basais nesse período. Em outro estudo com triatletas brasileiros, foi encontrado aumento significativo nos níveis de TGO imediatamente após término da prova de triatlo (BURGER-MENDONCA *et al.* 2008). Indivíduos treinados participaram de uma meia-maratona e apresentaram aumentos de 1,1 vezes para TGO e 3 vezes para Mb em relação aos valores de repouso (LIPPI *et al.* 2008). Em outro estudo, indivíduos fisicamente ativos sem treinamento em musculação realizaram uma série de levantamento de pesos. Foram observados aumentos significativos para TGO e Mb após exercício, sendo que os valores de TGO permaneceram acima do limite de referência superior por até 5 dias após término do exercício e a Mb permaneceu aumentada em relação aos valores de repouso ainda no sétimo dia pós-exercício (PETTERSSON *et al.* 2008).

## **2.5 Marcadores inflamatórios e exercício**

A resposta local a uma lesão tecidual envolve a produção de citocinas que são liberadas no local da inflamação. Sob o controle dessas citocinas, ocorre um aumento na síntese de proteínas de fase aguda. Muitos estudos têm demonstrado que o exercício induz uma resposta de fase aguda, que apresenta semelhanças com a resposta ao sepse e ao trauma.

A proteína C-reativa é uma das proteínas de fase aguda que apresenta aumentos durante inflamações sistêmicas, infecções ou lesão tecidual. Sua síntese é hepática e regulada via citocinas pró-inflamatórias como a



interleucina-6 (IL-6), IL-1 e fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Sua meia-vida plasmática é de 19 horas em humanos e sua concentração sérica em indivíduos saudáveis situa-se abaixo de 1,0 mg/L (CASAS *et al.* 2008).

Alguns estudos examinaram os níveis de CRP e outros marcadores de fase aguda após exercício e verificaram que a resposta aguda desses marcadores ao exercício parece ser proporcional ao dano muscular e à quantidade de atividade realizada. Um estudo conduzido com maratonistas verificou aumentos de 2000% na CRP, imediatamente e 24h após uma prova de maratona (WEIGHT *et al.* 1991). Outros estudos, também envolvendo provas de longa duração, encontraram aumentos de CRP na ordem de 266%, 24h após término da prova (TAYLOR *et al.* 1987), 122%, 4 horas após evento (SIEGEL *et al.* 2001) e 543% imediatamente após prova de triatlo Ironman (NEUBAUER *et al.* 2008).

A CRP é utilizada no meio clínico para monitorar doenças cardiovasculares, já que é considerada um marcador sistêmico de inflamação (CASAS *et al.* 2008). Tendo em vista o reconhecido papel que a atividade física desempenha na prevenção das doenças cardiovasculares, através da redução da inflamação, o efeito crônico da atividade física sobre os níveis de CRP parece ser a sua diminuição. Um estudo de revisão sobre atividade física e CRP indicou que indivíduos mais treinados apresentam níveis mais baixos de CRP em comparação com indivíduos menos treinados (KASAPIS *et al.* 2005). Também indivíduos com níveis mais elevados de CRP que participaram de estudos prospectivos de treinamento físico apresentaram redução nas concentrações séricas de CRP após o período de treinamento (KASAPIS *et al.* 2005).

### **3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS**

#### **3.1 Delineamento**

Estudo experimental caracterizado pelo mesmo grupo de atletas realizarem dois protocolos distintos de exercício a uma mesma intensidade relativa de esforço.

#### **3.2 População e Amostra**

A população estudada foi composta por indivíduos do sexo masculino, com idade superior a 18 anos, saudáveis e praticantes de triatlo.

A amostragem foi do tipo intencional (não-probabilística).

Participaram desse estudo 13 triatletas, sendo 7 federados e 6 não-federados no ano de 2008 (dados obtidos no site oficial da Federação Gaúcha de Triatlo: [www.fgtri.org.br](http://www.fgtri.org.br)).

Os valores de referência para o cálculo do tamanho da amostra foram obtidos do estudo de Hasselblatt et al. (2004).

Para um nível de significância de 5%, um poder de 80% e um coeficiente de correlação de no mínimo 0,7 entre as variáveis bioquímicas e a proteína S100B, obteve-se um total de 13 indivíduos. Esse cálculo foi obtido de Hulley et al, 2003.

Fatores de inclusão: atletas com consumo de oxigênio máximo acima de  $50 \text{ ml.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$  e em treinamento regular há pelo menos um ano.

Fatores de exclusão: lesão músculo-tendínea ocorrida nos últimos seis meses anteriores ao estudo, conforme levantamento feito por ocasião da anamnese. O critério para caracterização da lesão foi relato pessoal e não, obrigatoriamente diagnóstico médico prévio.

O estudo foi realizado no Laboratório de Pesquisa do Exercício (LAPEX) da Escola Superior de Educação Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) localizado na cidade de Porto Alegre.

### **3.3 Instrumentos de medida**

Foram utilizados os seguintes instrumentos para coleta de dados no presente projeto:

#### **3.3.1 Fichas de acompanhamento do atleta**

Essas fichas consistiram de: (i) Questionário de histórico médico, onde constavam dados de identificação (nome completo e numeração), data de nascimento (dia/mês/ano), telefone (residencial e celular), endereço residencial, questões sobre estado de saúde atual e progresso (ANEXO I); (ii) Ficha de treinamento e rendimento do atleta, constando dados de identificação (nome e numeração), tempo de treinamento para triatlo, lesões músculo-esqueléticas nos últimos 6 meses, provas realizadas e resultados obtidos no último ano, dados de treinamento (distância média semanal para corrida, ciclismo e natação) (ANEXO II); (iii) Ficha avaliação antropométrica, constando dados de identificação (nome e numeração), data da avaliação, estatura, massa corporal, medidas de dobras cutâneas: tríceps, peitoral, axilar média, subescapular, supra-ilíaca, abdome e coxa; (ANEXO III); (iv) Planilhas dos testes máximos e submáximos, contendo informações sobre as variáveis fisiológicas observadas (frequência cardíaca, carga de trabalho,  $VO_{2max}$  e  $VO_2$  alvo) e percepção subjetiva de esforço. (ANEXO IV);

#### **3.3.2 Equipamentos para avaliação antropométrica**

Os equipamentos para avaliação antropométrica incluíram: (i) balança eletrônica, modelo OS – 180 da marca Urano, RS, Brasil, com carga máxima de 180 kg e precisão de 100g utilizada para determinação da massa corporal; (ii) compasso de dobras cutâneas da marca Lange (*Creative Health Products, EUA*); (iii) Fita antropométrica da marca Luftkin (*Rosscraft, EUA*), com precisão de 1 mm, como auxiliar na identificação dos locais de avaliação das dobras cutâneas;

#### **3.3.3 Equipamentos para monitoramento das variáveis fisiológicas**

Para realização dos testes máximos e submáximos foram utilizados: (i) monitor de frequência cardíaca (*Polar Electro Oy, Finlândia*); (ii) espirômetro

(analisador de gases) modelo MGC CPX/D (*MEDGRAPHICS - Cardiopulmonary Diagnostic System, Saint Paul, Minnesota, EUA*); (iii) ergômetros, consistindo de esteira ergométrica (Quinton Instruments, EUA), cicloergômetro (*Monark Ergonomic 828E, Suécia*) e ciclo-simulador (*Cateye, CS100B0, Osaka, Japão*).

### **3.3.4 Equipamentos bioquímicos para preparação das amostras**

Para preparação e análise das amostras sanguíneas utilizou-se: (i) centrífuga refrigerada de mesa modelo PK 120-R, marca ALC (*International SRL, Milão, Itália*); (ii) ultra-freezer da marca Nuair, para congelamento das amostras a  $-75^{\circ}$  até o momento da análise.

Os instrumentos citados encontram-se nos laboratórios de fisiologia e bioquímica do exercício do Laboratório de Pesquisa do Exercício (LAPEX) da Escola de Educação Física da UFRGS.

## **3.4 Procedimento geral**

Os atletas realizaram ao todo quatro visitas ao laboratório.

No primeiro encontro, os atletas: a) foram informados dos procedimentos e objetivos do estudo, assim como dos possíveis riscos e desconfortos associados à participação; b) preencheram um formulário de consentimento para participar do estudo (ANEXO V); c) realizaram uma anamnese, que incluiu questionário sobre histórico médico e ficha de treinamento e rendimento do atleta (ANEXO I E II); d) realizaram uma avaliação antropométrica para determinação do percentual de gordura (ANEXO III); e) foram submetidos a um teste para medida de consumo máximo de oxigênio e determinação dos limiares ventilatórios em esteira.

Em sua segunda visita ao laboratório os atletas realizaram o teste para avaliação do consumo máximo de oxigênio e determinação dos limiares ventilatórios em cicloergômetro.

Nas visitas restantes ao laboratório, os atletas realizaram os protocolos contínuos de longa duração, em intensidade pré-determinada situada no 2<sup>o</sup> limiar ventilatório, que foi realizado em esteira e em bicicleta.

Todos os comparecimentos dos voluntários ao laboratório foram intercalados por pelo menos uma semana de intervalo.

O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética dessa Universidade sob número 2007708 (ANEXO VI).

### **3.4.1 Composição corporal**

Visando a caracterização da amostra foi estimada a composição corporal, utilizando-se a técnica de dobras cutâneas. Para isso empregou-se a equação de predição específica para atletas, composta por sete dobras cutâneas, conforme proposto por Jackson & Pollock (JACKSON *et al.* 1978).

### **3.4.2 Delineamento experimental**

As situações experimentais consistiram de protocolo contínuo de longa duração de quarenta (40) minutos, em intensidade de 2<sup>o</sup> limiar ventilatório, previamente determinada a partir do resultado nos testes máximos.

Os protocolos contínuos foram realizados com pelo menos uma semana de intervalo e em ordem aleatória, do seguinte modo:

- a) Em esteira, sem inclinação (esteira);
- b) Em bicicleta, utilizando a própria bicicleta do atleta acoplada a um ciclo-simulador (Cateye CS100B0, Osaka, Japão) (BICICLETA);

Durante cada teste foram observados, a intervalos regulares (a cada 5 minutos), os comportamentos da frequência cardíaca (*Sport Tester, Polar Electro Oy, Finlândia*) e sensação subjetiva de esforço (BORG 1998). O consumo de oxigênio foi acompanhado ao longo de todo teste (*MEDGRAPHICS - Cardiopulmonary Diagnostic System, Saint Paul, Minesota*), garantindo dessa forma que o atleta se encontrava na intensidade de exercício pré-determinada. Os dados para análise de gases foram coletados respiração a respiração e relatados a cada 30s, a partir da média dos 30s. Durante o teste foram calculadas e relatadas as seguintes variáveis:  $VE \text{ l.min}^{-1}$  (BTPS),  $VO_2 \text{ l.min}^{-1}$  e  $VCO_2 \text{ l.min}^{-1}$  (STPD) e RER.

Os avaliados receberam orientações sobre o procedimento de saída da esteira e assentamento na cadeira para retirada das amostras de sangue.

Durante cada protocolo foram retiradas da veia cubital três amostras de sangue:

- I. Em repouso
- II. Imediatamente após o término do teste
- III. Uma hora após o término do teste

### **3.4.3 Procedimentos para os testes de exercício**

Foi solicitado aos participantes que reduzissem o volume e intensidade de treinamento no dia anterior aos testes, bem como que não realizassem treino de corrida nas 24h que antecederiam o teste. Apesar de ideal, a abstenção completa de exercícios nos dias anteriores ao teste não foi possível por ser a amostra constituída de atletas de competição e os mesmos seguirem um cronograma rígido de treinamento. Para minimizar os efeitos da participação em exercícios nos dias anteriores aos testes, os voluntários foram avaliados quanto às variáveis bioquímicas antes e após o exercício e não foram comparados com indivíduos não atletas. O agendamento dos testes ocorreu de acordo com as possibilidades de horário dos participantes, cuidando-se para que houvesse um intervalo mínimo de uma semana entre a realização dos testes submáximos.

### **3.4.4 Procedimentos para testes nos ergômetros**

Foram adotados procedimentos de calibração padrão do equipamento de calorimetria indireta que precederam todos os testes realizados. Os procedimentos incluíram realização de calibração completa antes do primeiro teste do dia e calibrações automáticas quando o atleta avaliado não era o primeiro a realizar teste no dia, contanto que as condições do teste não fossem alteradas durante o dia por qualquer razão (i.e. alterações consideráveis de temperatura e/ou pressão atmosférica ou falta de energia elétrica). Caso isso ocorresse, uma nova calibração completa era realizada, conforme descrição a seguir:

a. O equipamento foi ligado trinta minutos antes do primeiro teste agendado para o dia, permitindo dessa forma o aquecimento e estabilização das células de análise de gases.

b. Entrada no software com informação das condições ambientais: temperatura ambiente, pressão atmosférica e umidade relativa do ar.

c. Calibração do volume do pneumotacógrafo, consistindo de cinco injeções e ejeções manuais de ar em diferentes velocidades, realizada com seringa (*Medgraphics*) de três litros, espaço morto de 125 ml.

d. Calibração do analisador de gases, consistindo no ajuste das concentrações de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> de acordo com as concentrações dos cilindros de referência.

Durante os testes foram registrados os seguintes parâmetros: consumo de oxigênio por minuto (VO<sub>2</sub>), produção de gás carbônico por minuto (VCO<sub>2</sub>), ventilação por minuto (VE), pressão parcial de oxigênio ao final da expiração (P<sub>ET</sub>O<sub>2</sub>), pressão parcial de gás carbônico ao final da expiração (P<sub>ET</sub>CO<sub>2</sub>), razão de troca respiratória (RER), frequência cardíaca, tempo e velocidade.

### **3.4.5 Testes máximos**

Para determinação da potência aeróbia máxima (VO<sub>2max</sub>) e primeiro e segundo limiar ventilatório, foram realizados testes de esteira e cicloergômetro com cargas progressivas. Os resultados dos testes foram utilizados para caracterização da amostra e para determinação das cargas de realização dos protocolos contínuos em esteira e em bicicleta.

Após a chegada dos atletas ao laboratório, os mesmos foram instruídos sobre os procedimentos de interrupção do teste e após realizaram aquecimento livre na esteira ou no cicloergômetro (dependendo do teste a ser realizado). Em seguida, foram colocados os aparatos de frequência cardíaca e máscara de coleta de gases.

O teste na esteira rolante foi realizado com protocolo em rampa com velocidade inicial de 7 km/h e incremento de carga de 1 km/h a cada 60 segundos.

O teste no cicloergômetro foi realizado com protocolo em rampa, carga inicial de 50 W e incremento de carga de 25 W.min<sup>-1</sup>. Todos os testes duraram entre 12 e 19 minutos.

Para interrupção do teste dois dos seguintes critérios deveriam ser atingidos: (a) frequência cardíaca próxima da máxima prevista para a idade (220 – idade); (b) platô na curva de consumo de oxigênio; (c) taxa de troca respiratória maior que 1,15; ou (d) solicitação voluntária do avaliado, ou qualquer outra situação que colocasse em risco a integridade do mesmo.

Todos os participantes receberam uma pasta com os resultados de potência aeróbia máxima, determinação dos limiares ventilatórios e composição corporal.

#### **3.4.6 Coleta de sangue**

As coletas de sangue foram realizadas no Laboratório de Bioquímica do LAPEX na Escola Superior de Educação Física da UFRGS sob responsabilidade de técnico credenciado, seguindo todos os cuidados de higiene e assepsia. Foram coletados 10 ml sangue de veia da região antecubital, com seringa esterilizada. A assepsia da região foi feita com álcool a 70%. Todas as seringas e agulhas foram descartadas em caixas de papelão especiais marca Descarpack, São Paulo, Brasil.

#### **3.4.7 Descrição das técnicas de análise sanguínea**

O sangue coletado foi colocado em tubos sem anticoagulante. Após a coagulação (entre 5 a 10 min.), o sangue foi centrifugado por 7 minutos a 3000 x g. O soro obtido foi armazenado a -70 °C em tubos tipo “*ependorf*” para posterior análise da concentração dos marcadores bioquímicos.

##### **3.4.7.1 S100B**

A proteína S100B foi determinada quantitativamente através de imunoensaio utilizando-se kit comercialmente disponível (S100 ELISA kit; Diasorin, Saluggia, Italy). O teste é baseado na técnica de ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*), com apenas um passo. No ensaio, os calibradores, controles e amostras reagem simultaneamente com dois anticorpos de captura na fase sólida e um anticorpo detector, conjugado com



peroxidase de rábano (HRP), durante a incubação nos poços da microplaca. Após lavagem é adicionado o Cromógeno TMB (Tetrametilbenzidina) e a reação prossegue durante 15 minutos. A reação enzimática é parada pela adição de solução de Paragem e a absorvância é medida a 450 nm (*Microplate reader Biorad 680, Hercules, CA, USA*).

#### **3.4.7.2 Creatinaquinase**

Para a análise de creatinaquinase foi utilizado o equipamento Cobas Integra 400 (*Roche Diagnostics*). A atividade da CK sérica foi determinada em duplicata, utilizando um kit disponível comercialmente (*Roche, Cobas Integra Creatinaquinase*). O intervalo de referência normal para CK em homens utilizando esse método segundo Tietz (TIETZ 1995) é 38 a 174 U/L. O coeficiente de variação total para média de 157 U/L foi de 1,3%.

#### **3.4.7.3 Transaminase glutâmico oxalacética**

A determinação da atividade catalítica da TGO foi realizada em duplicata no equipamento Cobas Integra 400 utilizando kit comercialmente disponível com um sistema de reagente para diagnóstico in vitro (*Roche, Cobas Integra Aspartate Aminotransferase*). O coeficiente de variação total para média de 38 U/l foi de 1,2%.

#### **3.4.7.4 Proteína C-reativa**

A determinação imunológica quantitativa da proteína C-reativa foi realizada em duplicata no equipamento Cobas Integra 400 utilizando kit comercialmente disponível com um sistema de reagente para diagnóstico in vitro (*Roche, Cobas Integra C-Reactive Protein*). O coeficiente de variação total para média de 0,63 mg/dL foi de 2,9%.

#### **3.4.7.5 Mioglobina**

A mioglobina foi analisada por eletroquimioluminescência no equipamento Elecsys 2010 (*Roche Diagnostics*), utilizando kit comercialmente disponível (*Roche, Myoglobin STAT*). Os valores esperados para homens para mioglobina utilizando essa técnica situam-se entre 28 e 72 ng/mL. O coeficiente de variação total para média de 43 ng/mL foi de 2,6%.

#### **3.4.7.6 Prolactina**

A prolactina foi analisada por eletroquimioluminescência no equipamento Elecsys 2010 (*Roche Diagnostics*), utilizando kit comercialmente disponível (*Roche, Prolactin II*). Os valores esperados para homens para prolactina utilizando essa técnica situam-se entre 4,04 e 15,2 ng/mL. O coeficiente de variação total para média de 33,7 ng/mL foi de 3,6%.

### **3.5 Tratamento estatístico**

Todas as informações coletadas foram armazenadas em um banco de dados elaborado especialmente para este fim e analisadas com o auxílio do programa estatístico SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*) versão 16.0.

Os dados foram inicialmente analisados quanto ao pressuposto da normalidade, através do teste de Shapiro-Wilk. As variáveis com distribuição normal estão descritas através de média e desvio padrão.

Para comparar os diferentes tipos de exercícios em relação às variáveis bioquímicas foi aplicada a Análise de Variância (ANOVA) para medidas repetidas com *post-hoc* de Bonferroni.

Para comparar os dois protocolos de exercício foi utilizado o teste *t* para amostras pareadas.

Para avaliar a associação entre as variáveis bioquímicas e S100B foi utilizado o coeficiente de correlação de Pearson.

O nível de significância adotado foi de 5%, sendo considerados estatisticamente significativos valores de P menores ou iguais a 0,05.

### **3.6 Aspectos éticos**

O projeto foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa PROPESQ/UFRGS sob número 2007708 (ANEXO VI).

Todos os participantes receberam esclarecimentos necessários sobre os objetivos da pesquisa. Foi garantida a confidencialidade assim como a possibilidade de recusa ou abandono da pesquisa em qualquer momento.

Todos os atletas que concordaram em participar do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Apenas os membros da equipe, diretamente ligados à pesquisa, tiveram acesso e manusearam os dados coletados.

Todos os atletas receberam os resultados dos testes ergoespiométricos, da avaliação da composição corporal, bem como os resultados dos testes contínuos. Muitos dos atletas repassaram esses dados aos seus treinadores, os quais puderam realizar os ajustes nas cargas de treinamento a partir desses dados. Os atletas apresentaram-se muito curiosos sobre o significado prático das variáveis fisiológicas analisadas e receberam explicações sobre as mesmas da equipe avaliadora. A participação como voluntário nessa pesquisa foi considerada por muitos atletas como um incentivo para o cumprimento das metas de treinamento.

## 4 RESULTADOS

A seguir serão apresentadas as características gerais dos triatletas participantes do estudo e os resultados obtidos nas situações experimentais para as variáveis bioquímicas avaliadas.

### 4.1 Características dos triatletas participantes

Tabela 2 - Características da amostra estudada

<i>n</i> = 13	Média±DP	Mínimo	Máximo
Idade (anos)	33,9 ± 6,0	22	44
Massa corporal (kg)	74,7 ± 6,8	64,6	84,9
Estatura (cm)	177 ± 0,1	168	186
IMC (kg.m <sup>-2</sup> )	23,7 ± 1,7	21,3	27,3
Gordura corporal (%)	11,1 ± 4,7	3,5	23,8
VO <sub>2máx</sub> esteira (ml.kg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	62,7 ± 6,6	52,0	71,0
LV2 na esteira (ml.kg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	50,6 ± 5,6	36,0	55,4
VO <sub>2máx</sub> bicicleta (ml.kg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	59,3 ± 6,1	50,7	69,8
LV2 na bicicleta (ml.kg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	44,9 ± 3,7	33,9	51,5
Prática de triatlo (anos)	5,3 ± 4,8	1	17
Volume treino			
Corrida (km.semana <sup>-1</sup> )	41,5 ± 14,3	25	70
Bicicleta (km.semana <sup>-1</sup> )	235,4 ± 104,8	60	400
Natação (m. semana <sup>-1</sup> )	8446,2 ± 4706,8	1800	20000

## 4.2 Variáveis ergoespirométricas

Todos os atletas completaram os 40 minutos previstos para cada um dos testes submáximos. Os valores médios e de desvio-padrão de VO<sub>2</sub> e FC, bem como intensidade relativa obtidos nos testes máximos e submáximos estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Valores máximos e médios de VO<sub>2</sub> e FC

Situação	VO <sub>2</sub> max (ml.kg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	FC max (bpm)	VO <sub>2</sub> médio (ml.kg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	FC média (bpm)	Intensidade (% VO <sub>2max</sub> )
Esteira	62,7 ± 6,6 *	188 ± 5,9*	45,1 ± 5,5*	170 ± 8,1	72 ± 0,05
Bicicleta	59,3 ± 6,1	185 ± 5,7	40,9 ± 5,6	166 ± 11,1	69 ± 0,05

\*p<0,05

Houve diferença significativa na frequência cardíaca máxima e no consumo de oxigênio máximo e médio obtidos durante os testes em esteira e em bicicleta. Contudo, não houve diferença significativa ( $p = 0,13$ ) entre os dois protocolos com relação à intensidade relativa (LV 2 expresso como percentual do VO<sub>2 max</sub>). A taxa de troca respiratória (RER) não apresentou diferença ( $p = 0,65$ ) entre esteira e bicicleta para os protocolos submáximos, sendo os valores de média e desvio-padrão respectivamente de  $0,92 \pm 0,05$  e  $0,93 \pm 0,03$ . A sensação subjetiva de esforço também não apresentou diferença significativa entre esteira e bicicleta ao longo do teste, conforme pode ser verificado na figura 1.

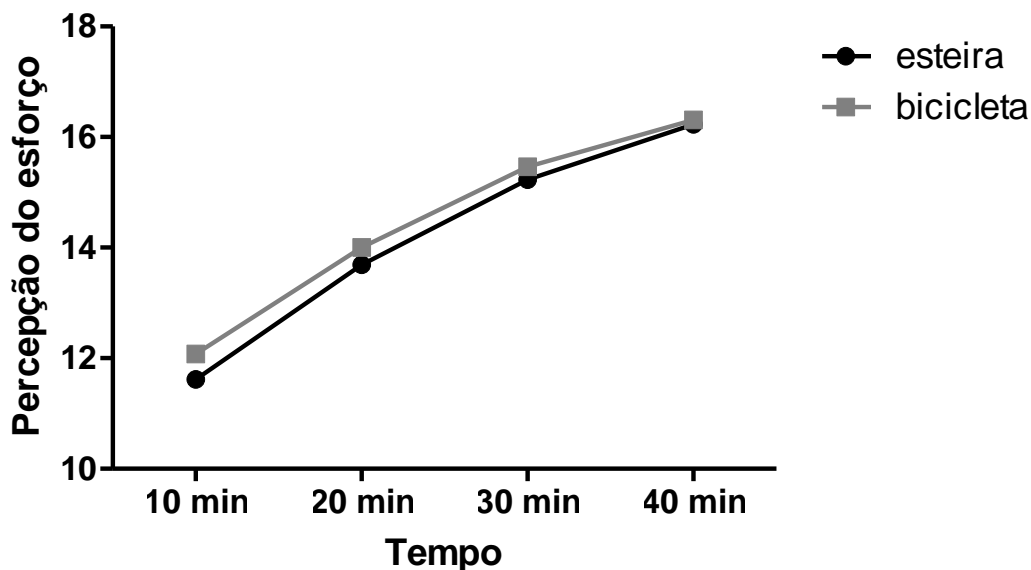


Figura 1. Percepção subjetiva de esforço

#### 4.3 Marcadores de lesão muscular

Para a enzima creatinaquinase houve aumento significativo em relação aos valores basais imediatamente após e 1 hora após exercício para o protocolo em esteira ( $p=0,0001$  e  $p=0,0001$ , respectivamente após e 1h) e em bicicleta ( $p=0,0001$  e  $p=0,002$ , respectivamente). Para o protocolo em esteira não houve diferença entre os valores após e 1h ( $p= 0,22$ ), mas para o protocolo na bicicleta houve diferença significativa entre esses valores pós-exercício ( $p=0,03$ ). Na comparação entre situações experimentais (esteira x bicicleta) não houve diferença significativa entre os valores basais ( $p=0,16$ ), mas a situação esteira apresentou valores significativamente mais altos de CK para as coletas imediatamente após ( $p=0,02$ ) e 1 hora após o exercício ( $p=0,001$ ).

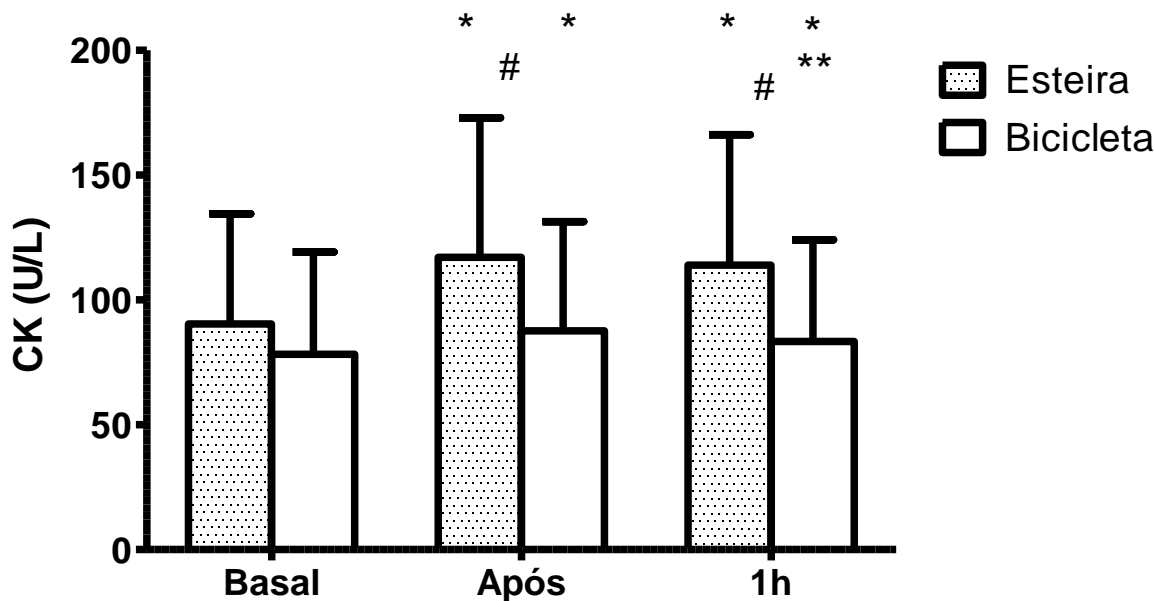


Figura 2. Atividade da enzima CK em esteira e em bicicleta.

- \* significativamente diferente basal ( $p < 0,05$ )
- \*\* significativamente diferente após ( $p < 0,05$ )
- # significativamente diferente entre esteira e bicicleta ( $p < 0,05$ )

A mioglobina apresentou aumento significativo na esteira imediatamente após o exercício ( $p=0,0001$ ) e 1 hora após o exercício ( $p=0,0001$ ). Os valores de mioglobina 1 hora após exercício na esteira também foram significativamente mais elevados do que imediatamente após ( $p=0,025$ ) nessa situação. Já na bicicleta só ocorreu aumento significativo 1h após o exercício ( $p=0,022$ ), sendo que os valores observados imediatamente após exercício apresentaram uma tendência de elevação, não sendo esta estatisticamente significativa ( $p=0,054$ ) em relação aos valores basais. Não houve diferença entre os valores após e 1 hora após o exercício na bicicleta ( $p=0,148$ ). Comparando os resultados entre as situações esteira e bicicleta, houve diferença significativa nos valores pós-exercício, sendo que na situação esteira eles foram mais elevados (imediatamente após,  $p=0,0001$  e 1 hora após,  $p=0,03$ ) do que no teste na bicicleta. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores basais nas duas condições de exercício ( $p=0,93$ ).

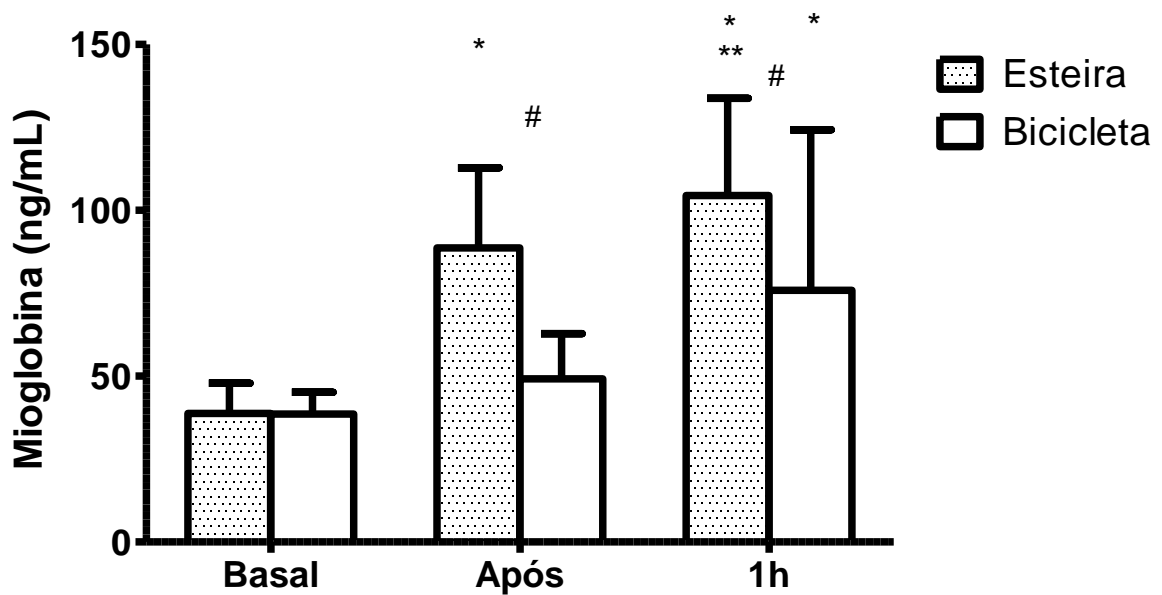


Figura 3. Concentração sérica de mioglobina em esteira e em bicicleta.

\* significativamente diferente basal ( $p < 0,05$ )

\*\* significativamente diferente após ( $p < 0,05$ )

# significativamente diferente entre esteira e bicicleta ( $p < 0,05$ )

Os resultados para a enzima TGO indicam diferença estatisticamente significativa para os valores após exercício quando comparados aos valores basais para esteira ( $p = 0,0001$ ) e bicicleta ( $p = 0,0001$ ). Já os valores 1 hora pós- exercício comparados aos valores basais só foram estatisticamente significativos no protocolo esteira ( $p = 0,001$ ), não sendo na bicicleta significativamente diferentes ( $p = 0,081$ ). No protocolo de bicicleta houve uma redução nos valores de TGO 1h após o exercício, sendo os mesmos significativamente menores do que imediatamente após ( $p = 0,003$ ). Não houve diferença significativa entre os valores imediatamente após e 1 hora após o exercício quando os atletas exercitaram-se na esteira. Também não houve diferença significativa para os valores basais da enzima TGO entre os exercícios em esteira e bicicleta ( $p = 0,0821$ ), mas o protocolo em esteira produziu aumentos significativamente maiores para os valores de TGO após ( $p = 0,0358$ ) e 1 h após ( $p = 0,0019$ ) o exercício, quando comparado ao protocolo em bicicleta.



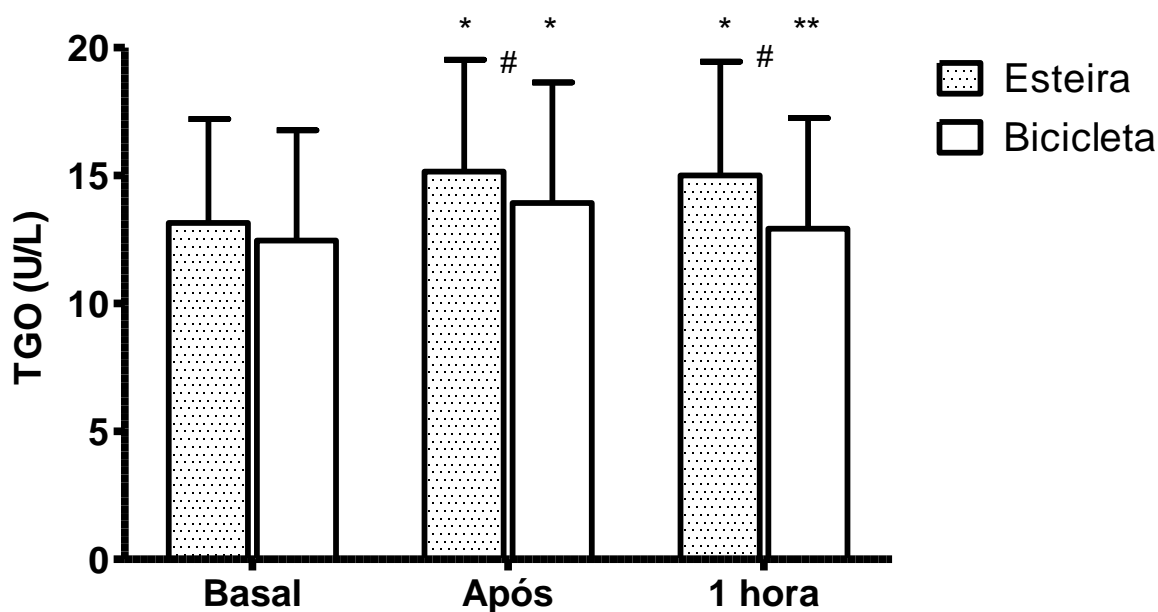


Figura 4. Atividade da enzima TGO em esteira e em bicicleta.

- \* significativamente diferente basal ( $p < 0,05$ )
- \*\* significativamente diferente após ( $p < 0,05$ )
- # significativamente diferente entre esteira e bicicleta ( $p < 0,05$ )

Avaliando-se todos os dados em conjunto para os marcadores de lesão, evidencia-se um aumento proporcional de maior magnitude quando os atletas exercitaram-se em esteira. Foram encontrados aumentos imediatamente após exercício em esteira de  $32,0\% \pm 16,3$  para creatinaquinase,  $140,5\% \pm 96,5$  para mioglobina e  $15,6\% \pm 6,7$  para TGO. Esse aumento foi menos pronunciado após exercício em bicicleta, sendo observados incrementos de  $13,0\% \pm 5,8$  para CK e  $11,9\% \pm 7,0$  para TGO.

#### 4.4 Marcador de lesão neural

Os resultados da proteína S100B para cada situação experimental são apresentados a seguir, com os valores basais, imediatamente após e 1 hora após completar 40 minutos de exercício na intensidade do LV2.

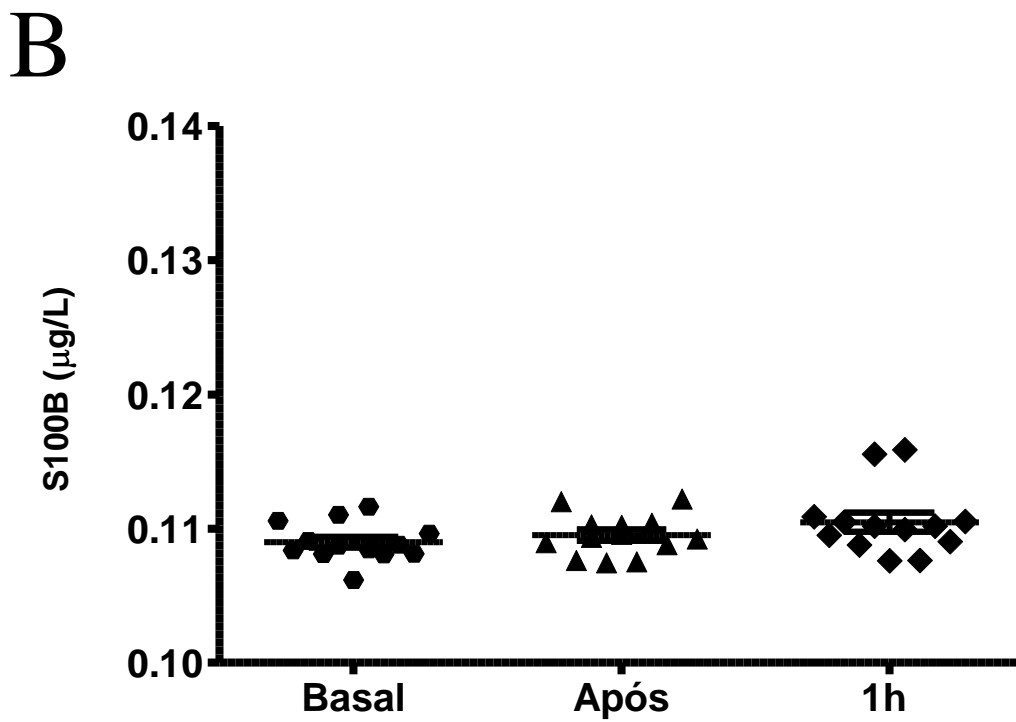
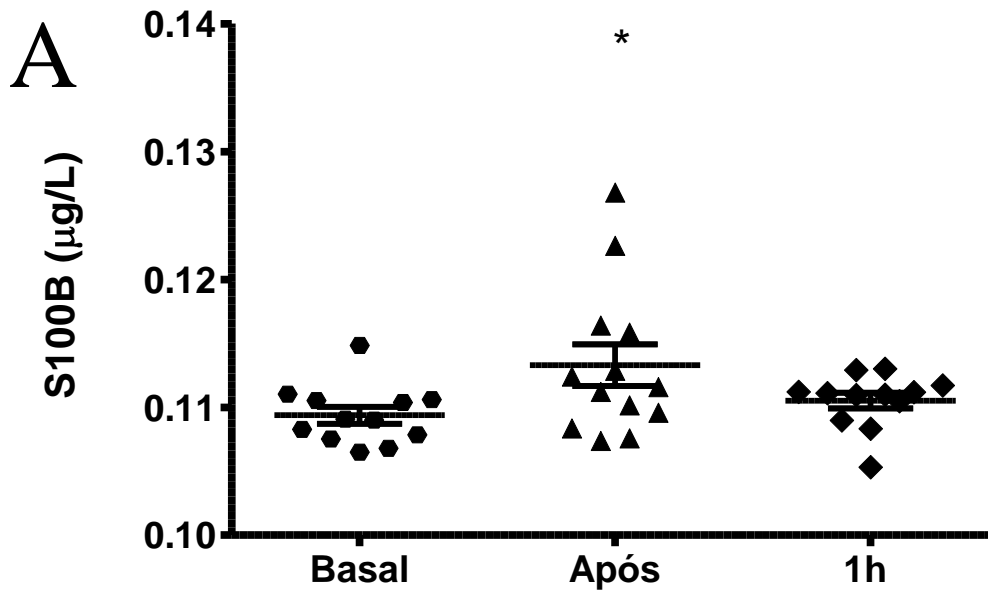


Figura 5. Concentrações séricas de S100B na esteira (A) e na bicicleta (B).

\* significativamente diferente basal ( $p < 0,05$ )

Houve um aumento significativo nos valores de S100B imediatamente após o teste em esteira em relação aos valores basais ( $p < 0,05$ ) e também em comparação com os valores após o protocolo de bicicleta ( $p = 0,0207$ ). Não ocorreu nenhuma diferença estatística significativa na comparação entre os valores basal e 1h após exercício e entre os valores imediatamente após e 1h após o exercício para bicicleta e esteira. Não foi encontrada diferença significativa entre os valores basais de S100B para as duas situações experimentais ( $p = 0,5932$ ) e também entre os valores encontrados após 1h de teste ( $p = 0,9714$ ).

#### **4.5 Marcador de ativação serotoninérgica**

Analisando-se os resultados encontrados para o hormônio prolactina foi verificado que no protocolo em esteira houve aumento significativo nos níveis de prolactina considerando-se: (a) valores basais x imediatamente após ( $p = 0,0001$ ); (b) valores basais x 1h pós-exercício ( $p = 0,02$ ) e diminuição para (c) valores após x 1h pós-exercício ( $p = 0,001$ ). Os resultados para prolactina observados no protocolo de bicicleta demonstraram elevação entre as seguintes coletas: (a) valores basais x imediatamente após ( $p = 0,001$ ) e diminuição entre (b) valores após x 1h pós-exercício ( $p = 0,004$ ). Não houve diferença significativa entre os valores basais e 1h pós-exercício quando os atletas realizaram exercício na bicicleta ( $p = 0,264$ ). Comparando-se os valores basais de prolactina não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os testes em esteira e bicicleta ( $p = 0,9451$ ), mas a realização do exercício em esteira causou aumento significativo nos níveis de prolactina imediatamente após ( $p = 0,0125$ ) e 1h pós-exercício ( $p = 0,01$ ) quando comparado com o exercício na bicicleta.

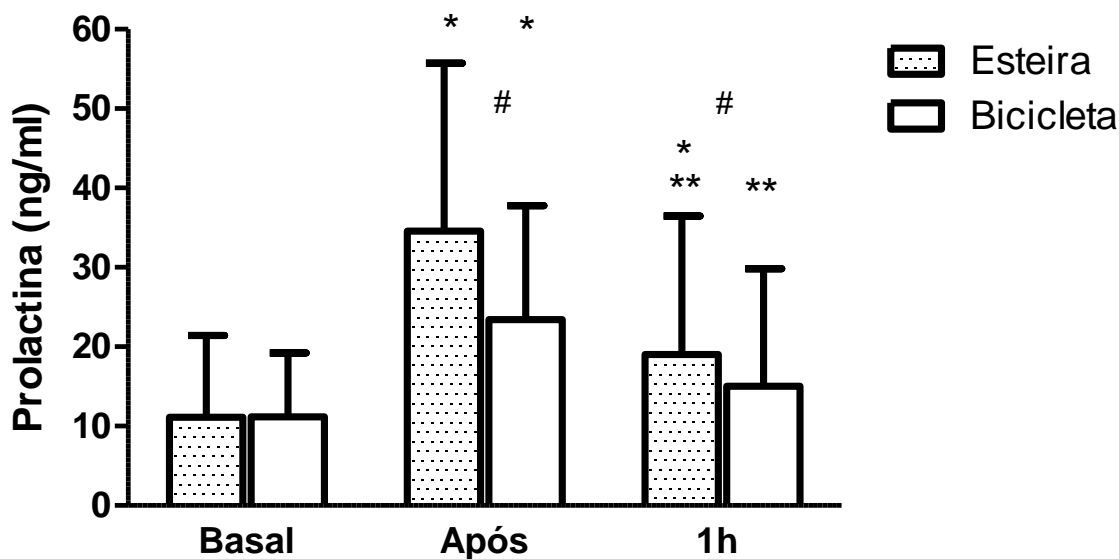


Figura 6. Concentração sérica de prolactina em esteira e em bicicleta.

\* significativamente diferente basal (p<0,05)

\*\* significativamente diferente após (p<0,05)

# significativamente diferente entre esteira e bicicleta (p<0,05)

#### 4.6 Marcador inflamatório

A proteína C-reativa (CRP) não apresentou aumento significativo em relação aos valores basais tanto em esteira como na bicicleta. Também não houve aumento quando comparando os valores 1h x após para nenhuma das situações experimentais. Não houve diferença entre os valores de CRP entre esteira e bicicleta em nenhum dos momentos do teste.

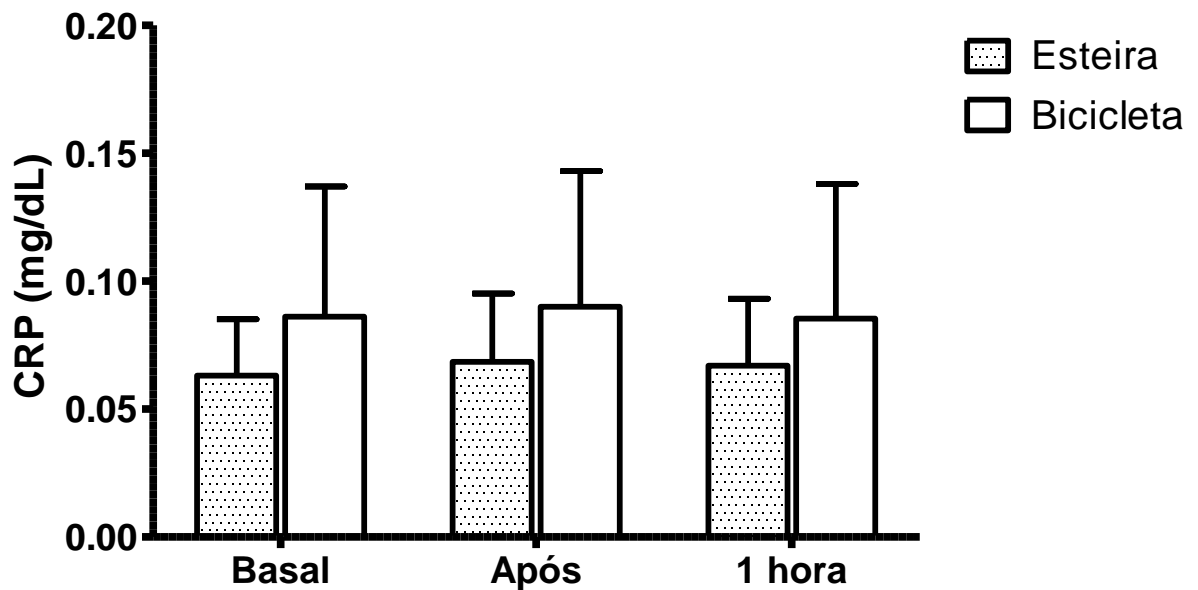


Figura 7 - Concentração sérica de CRP em esteira e em bicicleta.

#### 4.7 Diferença entre os valores pós-exercício e basais ( $\Delta$ )

A resposta dos indicadores bioquímicos aos diferentes tipos de exercício (esteira x bicicleta) pode ser traduzida pela variação que esses marcadores apresentaram no decorrer do teste. Assim, para avaliar essa resposta foi calculada a diferença entre os valores pós-exercício e basais ( $\Delta$ ) para cada indicador bioquímico nas duas situações experimentais. O  $\Delta$  foi calculado como a diferença entre o valor obtido imediatamente após o teste e o valor basal. Analisando-se os resultados foi verificado que os  $\Delta$  para as variáveis S100B, CK, mioglobina, prolactina e foram significativamente maiores no exercício em esteira quando comparados com os  $\Delta$  do exercício em bicicleta ( $p=0,0012$ ,  $p<0,0001$ ,  $p=0,0113$ ,  $p=0,04$ , respectivamente). Para os marcadores bioquímicos TGO e CRP não houve diferença significativa ( $p=0,0678$  e  $p=0,7305$ , respectivamente) para os  $\Delta$  entre exercício em esteira e bicicleta. Não ocorreu nenhuma diferença estatisticamente significativa entre os valores basais nas duas situações experimentais para cada uma dos indicadores bioquímicos avaliados.

Na Tabela 4 podem-se observar os valores basais bem como a variação para cada indicador e na Figura 8 pode-se verificar o efeito do tipo de exercício sobre a variação de S100B.

Tabela 4 - Valores basais e diferença entre valores pós-exercício e basais

Marcador	Esteira		Bicicleta	
	Basal	$\Delta$	Basal	$\Delta$
CK (U/L)	99,5 $\pm$ 44,1	26,7 $\pm$ 16,5*	78,3 $\pm$ 40,9	9,4 $\pm$ 4,4
TGO (U/L)	13,2 $\pm$ 4,1	2,0 $\pm$ 1,1	12,5 $\pm$ 4,3	1,5 $\pm$ 0,9
Mioglobina (ng/ml)	38,8 $\pm$ 9,1	49,9 $\pm$ 23,8*	38,6 $\pm$ 6,5	10,6 $\pm$ 11,9
CRP ( $\mu$ g/dL)	0,06 $\pm$ 0,02	0,005 $\pm$ 0,01	0,09 $\pm$ 0,05	0,004 $\pm$ 0,01
Prolactina (ng/ml)	11,1 $\pm$ 10,3	23,5 $\pm$ 15,6*	11,2 $\pm$ 8,0	12,3 $\pm$ 8,9

\* significativamente diferente do protocolo na bicicleta ( $p < 0,05$ )

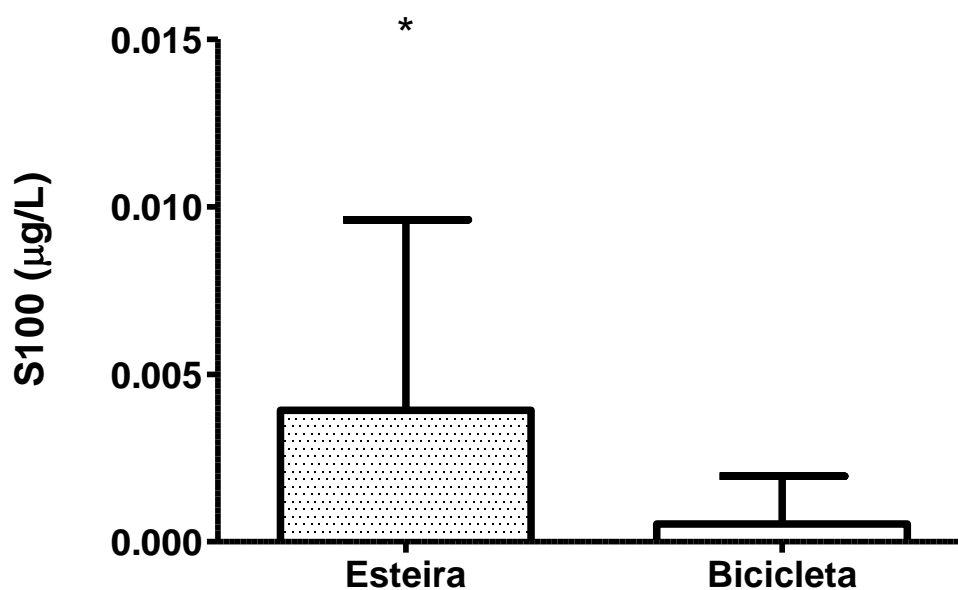


Figura 8. Diferença entre os valores pós-exercício e basais ( $\Delta$  S100B) obtidos após teste submáximo em esteira e em bicicleta ( $p = 0,04$ )

## 4.8 Correlações

Relacionando-se a proteína S100B com os demais marcadores bioquímicos avaliados, foi encontrada correlação significativa entre os níveis de S100B obtidos imediatamente após o teste em esteira e a concentração de mioglobina sérica obtida no mesmo momento ( $r=,588$ ,  $p=,034$ ). Para o protocolo na bicicleta também foi encontrada correlação significativa entre os níveis de S100B e mioglobina obtidos após o teste em esteira ( $r=,619$ ,  $p=,024$ ). Além disso, os níveis de prolactina observados após exercício correlacionaram-se significativamente com níveis de S100B após ( $r=,608$ ,  $p=,027$ ) o teste na bicicleta. Nas tabelas 5 e 6 podem ser verificados os valores de correlação e significância para cada variável avaliada.

Também foi analisada a correlação entre a variação que os marcadores bioquímicos apresentaram no decorrer do teste, a partir do cálculo da diferença entre os valores pós-exercício e basais ( $\Delta$ ). A única correlação significativa encontrada foi entre a variação da S100B e da prolactina ( $r=0,59$ ,  $p=0,03$ ) no teste em esteira (Tabela 7).

Tabela 5 - Associação entre a proteína S100B e os marcadores bioquímicos em esteira

Indicadores	S100B antes		S100B após		S100B 1h	
	r	p	r	p	r	p
CK antes	,026	,935	,446	,127	,091	,779
CK após	,125	,700	,494	,086	,141	,662
CK 1h	,145	,653	,483	,094	,169	,601
TGO antes	,132	,682	,264	,384	-,019	,053
TGO após	,212	,508	,360	,227	,118	,714
TGO 1h	,339	,281	,196	,522	,016	,960
Mb antes	-,018	,955	,339	,258	-,444	,148
Mb após	,232	,467	,588*	,034	,082	,799
Mb 1h	,322	,307	,258	,394	,054	,867
CRP antes	,345	,272	-,449	,124	,190	,554
CRP após	,596*	,041	-,473	,103	,056	,862
CRP 1h	,421	,173	-,444	,128	,171	,595
Prol antes	-,106	,742	-,152	,620	,139	,666
Prol após	-,169	,599	,305	,312	-,015	,964
Prol 1h	-,209	,514	-,014	,964	,083	,798

\*p<0,05



Tabela 6 - Associação entre a proteína S100B e marcadores bioquímicos em bicicleta

Indicadores	S100B antes		S100B após		S100B 1h	
	r	p	r	p	r	p
CK antes	-,002	,995	-,069	,824	,020	,949
CK após	,003	,992	-,044	,886	,039	,898
CK 1h	,037	,905	-,037	,904	,023	,941
TGO antes	-,169	,582	-,070	,819	,045	,885
TGO após	-,153	,619	-,086	,781	,021	,946
TGO 1h	-,143	,642	,061	,842	,021	,946
Mb antes	-,132	,667	,296	,326	,373	,209
Mb após	,326	,276	,619*	,024	,269	,375
Mb 1h	-,002	,996	-,045	,885	-,080	,794
CRP antes	,145	,635	-,467	,108	-,254	,403
CRP após	,114	,710	-,478	,099	-,153	,617
CRP 1h	,232	,446	-,364	,222	-,170	,578
Prol antes	,392	,185	,480	,097	-,022	,942
Prol após	,617*	,025	,608*	,027	-,138	,652
Prol 1h	,453	,120	,457	,117	,018	,954

\*p<0,05

Tabela 7 - Associação entre os valores  $\Delta$  de S100B e das variáveis bioquímicas analisadas

Indicadores	$\Delta$ S100B esteira		$\Delta$ S100B bicicleta	
	r	p	r	p
$\Delta$ Prol	0,59*	0,03	-0,06	0,83
$\Delta$ CK	0,36	0,22	0,16	0,59
$\Delta$ Mb	0,39	0,18	0,13	0,67
$\Delta$ TGO	0,34	0,24	-0,13	0,67

\*p<0,05

## 5 DISCUSSÃO

O objetivo geral do presente trabalho foi investigar os níveis sanguíneos de S100B em exercícios com impacto (esteira) e sem impacto (bicicleta), determinando assim a relação entre os níveis séricos de S100B e marcadores considerados tradicionais de lesão muscular como creatinaquinase, mioglobina e aspartato aminotransferase. A seguir, discutiremos os resultados encontrados no presente estudo.

Primeiramente, é importante salientar que a amostra de triatletas estudada apresenta características morfológicas e de treinamento semelhante à encontrada em estudo prévio utilizando triatletas bem treinados não profissionais (NEUBAUER *et al.* 2008). Valores de consumo máximo de oxigênio situaram-se abaixo do obtido por atletas de elite de triatlo (MILLET *et al.* 2003), o que contudo já era esperado, pelo fato de nossa amostra ser constituída na sua maioria por atletas recreacionais.

Para poder avaliar-se o efeito do tipo do exercício, sem o viés da intensidade e da duração, o presente estudo foi delineado para que ambos os protocolos (esteira e bicicleta) fossem realizados na mesma intensidade relativa do esforço. Para que isso fosse alcançado, os atletas realizaram testes máximos em esteira e bicicleta e tiveram seus limiares ventilatórios determinados a partir de cada teste específico. Devido às particularidades de cada tipo de exercício, o consumo de oxigênio e a frequência cardíaca apresentados em cada protocolo submáximo não foram iguais, mas apesar disso o objetivo de realizar os protocolos na mesma intensidade relativa foi alcançado (Tabela 3). Isso é ainda corroborado pelo fato dos atletas terem mantido a mesma percepção de esforço ao longo dos dois testes (Figura 1).

Nossa hipótese inicial de que exercícios com impacto e maior componente excêntrico (esteira) provocariam maior aumento sobre os níveis séricos de S100B pós-exercício quando comparados com exercício sem impacto e menor componente excêntrico (bicicleta) foi confirmada. Os achados do presente estudo indicam uma elevação nos níveis de S100B após exercício em esteira, o mesmo não ocorrendo após exercício em bicicleta (Fig. 3). Apesar desse aumento verificado para S100B após exercício em esteira, os valores observados para a maioria dos atletas

ficaram abaixo ou situados no ponto de corte de 0,12 ng/ml (STRAUMENAESHEIM *et al.* 2008). Ainda segundo Anderson e colaboradores (ANDERSON *et al.* 2001) valores de S100B situados entre 0,12 e 0,15 µg/L são considerados dentro do limite superior para uma população normal saudável. Além disso, a variação observada para S100B considerando-se os valores pós-exercício e basais foi muito menor do que a observada em outros estudos avaliando S100B e exercício (OTTO *et al.* 2000; DIETRICH *et al.* 2003; STALNACKE *et al.* 2003; HASSELBLATT *et al.* 2004; SCHULPIS *et al.* 2007)(Tabela 1). Contudo, deve ser salientado que os protocolos de exercício foram bastante diferentes entre os estudos, bem como a duração e o grau de condicionamento dos participantes. Mesmo assim, selecionando-se o único estudo (OTTO *et al.* 2000) que avaliou variação de S100B com distância semelhante à percorrida em nosso estudo (10km), foi verificado um aumento praticamente dez vezes superior ao nosso (ver Tabela 1). Essa diferença pode estar relacionada ao grau de condicionamento dos participantes daquele estudo (que não eram atletas), bem como ao tempo despendido para completar o percurso, que variou entre 55 e 75 minutos, sendo portanto maior que o nosso. Com relação à ausência de elevação nos níveis de S100B após exercício em bicicleta, o estudo (OTTO *et al.* 2000) que avaliou S100B após o mesmo tipo de exercício fez com que os participantes pedalassem com alta intensidade e curta duração, sendo portanto predominantemente anaeróbio. Apesar dessas diferenças importantes, no referido estudo ocorreu quase a mesma variação absoluta nos níveis de S100B (0,3 ng/L contra 0,5 ng/L obtida em nosso estudo). Contudo, da mesma forma que em nosso estudo, a diferença apresentada no aumento de S100B não foi significativa.

Com relação ao dano muscular provocado pelos dois tipos de exercício, foi confirmada a hipótese de que o exercício em esteira provocaria maior dano muscular (hipótese 3), conforme pode ser verificado pelos níveis significativamente mais elevados dos marcadores creatinaquinase, mioglobina e TGO após esse tipo de exercício quando comparados com o exercício em bicicleta (figuras 2, 3 e 4). Apesar dos estudos tradicionais de dano muscular induzido por exercício utilizarem protocolos de exercício com corrida na esteira em declínio (*downhill*) (SORICHTER *et al.* 2001) ou contrações exclusivamente excêntricas em equipamento isocinéticos

(JAMURTAS *et al.* 2005), decidimos comparar dois exercícios (corrida e bicicleta) presentes em uma mesma modalidade, o triatlo, mas que apresentassem níveis diferentes de contração excêntrica. O dano provocado pela corrida em esteira sem inclinação evidenciou-se maior do que o proporcionado pelo exercício em bicicleta. Aumentos imediatamente após exercício na ordem de  $32,0\% \pm 16,3$ ,  $140,5\% \pm 96,5$  e  $15,6\% \pm 6,7$  foram encontrados respectivamente para creatinaquinase, mioglobina e TGO, quando os atletas exercitaram-se em esteira. Esse aumento foi menos pronunciado após exercício em bicicleta, sendo observados incrementos de  $13,0\% \pm 5,8$  para CK,  $28,3\% \pm 33,0$  para mioglobina e  $11,9\% \pm 7,0$  para TGO. Um estudo que avaliou a creatinaquinase e a mioglobina após corrida no plano por 20 minutos em indivíduos ativos apresentou valores para esses marcadores semelhantes ao nosso estudo (SORICHTER *et al.* 1997). Contudo, outros estudos que avaliaram marcadores de lesão após corrida, apresentaram uma elevação de maior magnitude do que a observada em nosso estudo. Uma possível explicação para essa diferença está relacionada à duração dos exercícios nesses trabalhos, muitos deles utilizando provas de longa duração (KYROLAINEN *et al.* 2000; HASSELBLATT *et al.* 2004; NEUBAUER *et al.* 2008). Já outro estudo com atletas que completaram a meia-maratona, verificou elevação imediatamente após de  $65,2\%$  para CK e  $90,3\%$  para mioglobina (JASSAL *et al.* 2009), valores esses mais próximos aos nossos, evidenciando uma relação entre duração do evento (e portanto quantidade de trabalho realizada) e magnitude do dano muscular.

Apesar de estudos utilizando CK e outros marcadores de lesão serem relativamente comuns, poucos estudos avaliam esses marcadores após exercício em bicicleta, já que segundo Koller e colaboradores (KOLLER *et al.* 1998) devido às ações musculares primariamente concêntricas, são esperadas respostas mais moderadas de CK após ciclismo do que após corrida.

Contudo, de todos os marcadores de lesão avaliados nesse estudo, apenas a mioglobina apresentou uma correlação significativa moderada com a proteína S100B (hipótese 2) tanto após teste em esteira como na bicicleta (tabelas 5 e 6). Já a enzima creatinaquinase não apresentou correlação significativa com a proteína S100B em nenhum dos momentos tanto do teste

em bicicleta como do teste em esteira. Esses achados são contrários ao estudo de Hasselblat e colaboradores (HASSELBLATT *et al.* 2004), que encontraram uma alta correlação entre S100B e CK após prova de maratona. Contudo, naquele estudo foram realizadas coletas até 20h horas pós-exercício, encontrando-se valores de CK de 1600 U/L. Além disso por tratar-se de uma competição, a duração do exercício não pode ser controlada, com os participantes apresentando uma variação de aproximadamente 1h para término da prova. No geral, os atletas tiveram valores medianos de 4h12min para completar a prova, ou seja, uma duração muito mais longa do que a do presente estudo, que certamente favoreceu o aparecimento da enzima na corrente sanguínea, além de produzir mais lesão. Estudos utilizando a enzima creatinaquinase como marcador de lesão apontam para o seu aumento tardio (BYRNES *et al.* 1985; SORICHTER *et al.* 1997) e no presente estudo não foram obtidos os dados referentes ao pico de CK, que corresponderiam às coletas sanguíneas obtidas entre 24 e 48h pós-exercício. No entanto, aumentos imediatamente pós-exercício também são observados, apesar da menor magnitude, como foi o caso no presente estudo e no estudo de Schulpis (SCHULPIS *et al.* 2007). No mesmo estudo, foi encontrada uma correlação moderada, mas significativa ( $p=.48$ ) entre S100B e CK.

Entretanto, nenhum dos dois estudos citados avaliou mioglobina, que se caracteriza por ser um marcador de lesão muscular mais precoce do que a creatinaquinase. Sorichter e colaboradores (1997) avaliaram CK e Mb, dentre outros marcadores, até 7 dias após 4 diferentes protocolos de exercício e encontraram valores de pico para mioglobina 120 minutos após exercício, enquanto para CK o tempo para alcançar o pico foi de 2 dias (SORICHTER *et al.* 1997).

Quanto ao marcador inflamatório utilizado, a proteína C-reativa, esperava-se encontrar sua concentração sérica pós-exercício aumentada, o que não ocorreu. Outros estudos prévios utilizando exercícios de alta intensidade verificaram aumento agudo nesse marcador após exercício (TAYLOR *et al.* 1987; SIEGEL *et al.* 2001; NEUBAUER *et al.* 2008). Contudo, a resposta da CRP parece ser proporcional ao dano muscular e à quantidade de atividade realizada, os quais, devido à duração do exercício, foram menores em nosso estudo do que nos estudos previamente citados, o que

talvez explique a ausência de aumento nesse marcador. Também o bom nível de treinamento dos atletas participantes pode ter influenciado na ausência de aumento. Verificou-se que os valores de repouso nos atletas apresentaram-se levemente acima do valor esperado em testes clínicos ( $< 0,05$  mg/dL), sendo de  $0,06 \pm 0,02$  mg/dL na esteira e  $0,09 \pm 0,05$  mg/dL na bicicleta. Contudo, pelo fato dos atletas apresentarem uma grade de treinamento variada, algum treino anterior aos testes pode ter contribuído para essa leve elevação encontrada nos valores basais de CRP, que, entretanto não se apresentaram estatisticamente diferentes.

Outra possibilidade investigada foi de que as variações nos níveis de S100B pudessem estar relacionadas à atividade serotoninérgica central, conforme avaliado indiretamente através dos níveis de prolactina (objetivo 3). Dietrich e colaboradores (DIETRICH *et al.* 2003), não encontraram correlação significativa entre níveis séricos de S100B e prolactina, mas verificaram um aumento significativo nesse hormônio de  $16,0 \pm 2,2$  ng/mL após término da prova. No presente estudo, houve aumento significativo nos níveis de prolactina pós-exercício em relação aos valores basais para as duas situações experimentais, sendo esse aumento estatisticamente mais elevado após protocolo em esteira. No entanto, analisando-se os dados separadamente por situação experimental, verificou-se correlação significativa ( $r=,608, p=,027$ ) entre S100B e prolactina avaliadas após o teste somente para o protocolo de bicicleta. Apesar de não ter sido encontrada correlação significativa entre S100B e prolactina pós-teste em esteira, houve uma correlação significativa entre a variação desses dois marcadores nesse protocolo de exercício ( $r= 0,59, p =0,03$ ). Segundo Bridget e colaboradores (BRIDGET *et al.* 1999), a concentração de prolactina aumenta durante exercício extenuante como consequência da elevação na temperatura central e da pele. No presente estudo as condições ambientais (temperatura e umidade) foram relativamente controladas, por se tratar de um estudo laboratorial. Assim, apesar de não ter sido avaliada a temperatura central dos participantes, assume-se que não houve muita variação na mesma entre as situações experimentais, devido ao fato da temperatura durante os testes ter se situado entre  $18$  e  $21^{\circ}\text{C}$  e umidade entre  $50\%$  e  $70\%$ , o que dessa forma não explica o maior aumento de prolactina observado na situação esteira.

Também o fato de não ocorrer diferença na percepção de esforço nos diferentes protocolos confirma essa idéia, já que exercícios realizados no calor provocam um aumento mais rápido e acentuado na escala de percepção de esforço (PITSILADIS *et al.* 2002), quando comparados com exercícios em temperaturas mais frias.

A prolactina é liberada por ação estimulatória serotonérgica sobre os receptores hipotalâmicos 5-HT1A e 5-HT2A/C (VAN DE KAR *et al.* 1996) e a modulação do receptor astrocístico 5-HT1A promove a liberação de S100B dos astrócitos (AZMITIA *et al.* 1992; AZMITIA 2001). Assim, um aumento na atividade serotonérgica poderia resultar tanto em uma elevação nos níveis de S100B, como nos níveis de prolactina. Interessantemente, esse aumento paralelo de S100B e prolactina foi observado na situação esteira, mas só houve correlação entre a variação ( $\Delta$ ) apresentada entre eles, enquanto no exercício em bicicleta houve correlação entre os valores de S100B e prolactina pós-exercício, apesar do aumento de S100B não ter sido estatisticamente significativo. Assim, da mesma forma que no estudo de Dietrich e colaboradores (DIETRICH *et al.* 2003), em nosso estudo não foi possível associar o aumento na atividade serotonérgica observado nos dois protocolos com o aumento nos níveis séricos de S100B observado após exercício de esteira.

É importante salientar que os maiores aumentos de S100B observados após exercício ocorreram em situações de competição (DIETRICH *et al.* 2003; STALNACKE *et al.* 2003; HASSELBLATT *et al.* 2004; STALNACKE *et al.* 2004) ou de exercício ao ar-livre (OTTO *et al.* 2000), o que não foi o caso de nosso estudo. Straume e colaboradores (STRAUME-NAESHEIM *et al.* 2008) encontraram diferença significativa nos níveis de S100B em jogadores quando comparando os valores obtidos em sessões de treinamento de futebol de alta intensidade e partidas de futebol. Os autores atribuíram essa diferença ao nível de esforço e estresse presentes em cada situação. Em situações de competição e, portanto de maior estresse, ocorre um aumento nos níveis de catecolaminas circulantes, o que está relacionado com aumento na permeabilidade hemato-encefálica (SCACCIANOCE *et al.* 2004). Segundo Watson e colaboradores (WATSON *et al.* 2005) o aparecimento de S100B na corrente sanguínea tem sido proposto como um marcador

periférico de maior permeabilidade da barreira hematoencefálica, o que pode ocorrer principalmente em situações de hipertermia. Contudo, Cheuvront e colaboradores (CHEUVRONT *et al.* 2008) avaliaram o impacto do exercício de moderada intensidade realizado no calor sobre os níveis séricos de S100B e observaram apenas uma pequena mudança sobre os mesmos quando comparando os valores pós-exercício com os valores basais. No referido estudo foi encontrado um aumento médio de  $0,02 \pm 0,04$   $\mu\text{g/L}$  nos níveis de S100B, o qual não foi suficiente para alcançar significância estatística, ao contrário de nosso estudo que apresentou uma variação menor ( $0,004 \pm 0,006$   $\mu\text{g/L}$ ), mas atingiu significância estatística.

Outro possível efeito das catecolaminas aumentadas durante o exercício, seria promover a maior liberação de S100B dos adipócitos (SCACCIANOCE *et al.* 2004; NETTO *et al.* 2006), um dos tipos celulares onde a S100B foi detectada (SUZUKI *et al.* 1984). Apesar de em nosso estudo não termos utilizado nenhum marcador bioquímico de mobilização lipídica, monitoramos os atletas continuamente para variáveis de troca respiratória. Assim, pudemos obter os valores médios de taxa de troca respiratória (RER) alcançados por cada atleta em cada situação experimental. A partir do RER pode-se determinar a participação dos sistemas energéticos principais (carboidratos e lipídios) sendo utilizados durante o exercício. Como não houve diferença significativa para o RER entre esteira e bicicleta, apresentando ambas situações respectivamente, valores médios de  $0,92 \pm 0,05$  e  $0,93 \pm 0,03$ , pode-se assumir que não houve diferença na mobilização lipídica entre as duas situações experimentais. A utilização de lipídios pode ser estimada em 0,125 g de lipídios por litro de oxigênio consumido para um RER de 0,93 e 0,108 g de lipídios por litro de oxigênio para um RER de 0,92 (MCARDLE *et al.* 1999). Considerando-se a duração do teste, o consumo de oxigênio médio dos atletas e os valores médios de RER, o total de utilização de lipídios ao longo dos testes correspondeu a 14,9 g de lipídios para o teste em esteira e 15,1 g para o teste em bicicleta.

Analisando-se esses resultados em conjunto, alguns fatores devem ser destacados. Primeiramente, que seja do nosso conhecimento, esse é o único estudo que avaliou o efeito de diferentes tipos de exercício sobre os níveis



séricos de S100B utilizando a mesma amostra de indivíduos sob condições laboratoriais controladas, bem como, não apenas realizando os protocolos de exercício com a mesma duração, mas também garantindo que todos os participantes o realizassem na mesma intensidade relativa. Outro fator importante foi que além de todos os triatletas participantes do estudo apresentaram valores basais de S100B dentro do esperado para uma população saudável normal (ANDERSON *et al.* 2001), houve pouquíssima variação nesses valores entre os atletas. Esse fato talvez possa ter ocorrido devido à faixa etária restrita dos participantes, uma vez que as concentrações séricas de S100B apresentam uma correlação negativa com a idade nos primeiros 20 anos de vida (PORTELA *et al.* 2002). Outros estudos com exercício e S100B, por exemplo, utilizaram adolescentes e adultos jovens como amostra e apresentaram uma variabilidade bem maior tanto nos valores basais de S100B, como nos valores obtidos pós-exercício (DIETRICH *et al.* 2003; SCHULPIS *et al.* 2007; CHEUVRONT *et al.* 2008).

A pequena variabilidade amostral provavelmente explique a significância estatística encontrada em nosso estudo na situação esteira, apesar da magnitude do aumento de S100B ter sido inferior à encontrada nos estudos previamente citados.

Assim, o fato dos marcadores de lesão se apresentarem significativamente mais altos e de ser observado aumento nos níveis de S100B somente após exercício em esteira, além do fato de existir uma correlação significativa entre S100B e mioglobina logo após o teste, apontam para uma possível fonte extra-cerebral de S100B durante o exercício. Esses achados corroboram a idéia de que a elevação de S100B observada após alguns tipos de exercício não seja exclusivamente de origem central, e sim apresente contribuição do músculo esquelético lesado (HASSELBLATT *et al.* 2004; SCHULPIS *et al.* 2007). A respeito do mecanismo envolvido na elevação de S100B observada após exercício, nossos resultados apontam para uma possível interação entre fontes centrais e periféricas (particularmente o músculo esquelético). Assim, acreditamos que a participação do SNC não pode ser descartada como contribuinte para o aumento nos níveis de S100B observados pós-exercício, uma vez que observamos correlação de S100B e prolactina após bicicleta, bem como

correlação entre a variação de S100B e prolactina após esteira. Contudo, devido a limitações metodológicas, a participação de cada fonte não tem como ser isolada nesse tipo de experimentação.

Os resultados obtidos nesse estudo estão apresentados no artigo intitulado “The effect of treadmill x bicycle exercise upon S100B levels in trained triathletes” (ANEXO X), o qual será submetido a periódico internacional após apreciação pela banca de examinadores da presente tese.

## 6 CONCLUSÕES

O exercício de corrida em esteira sem inclinação de média duração e intensidade de segundo limiar ventilatório promove aumento nos marcadores de lesão muscular, S100B e prolactina, enquanto exercício em bicicleta de mesma duração e intensidade não causa aumento de S100B e apresenta aumento menos acentuado do que exercício em esteira nos marcadores de lesão muscular e prolactina. Dessa forma, a lesão muscular deve ser considerada como um fator contribuinte para o aumento de S100B observado após alguns tipos de exercício.

## 7 PERSPECTIVAS PARA FUTUROS ESTUDOS

A proteína S100B apresenta muitos usos no meio clínico, mas sua aplicação na área de fisiologia do exercício ainda encontra-se incipiente. Determinar precisamente os tipos de exercício, intensidade, duração, bem como nível de condicionamento dos participantes, que promovam aumentos de S100B pode esclarecer melhor a origem da S100B durante o exercício. Assim, mais estudos deveriam ser realizados utilizando protocolos de exercício em laboratório, que tornem possível o controle dessas variáveis.

Para melhor estabelecer a relação entre S100B e lesão muscular, novos estudos poderiam utilizar protocolos de lesão muscular em dinamômetro isocinético. Nesse caso, os participantes deveriam realizar séries de contrações de um grupo muscular tanto excêntrica quanto concentricamente, comparando dessa forma os níveis de S100B e marcadores de lesão nas duas situações experimentais.

O fato da proteína S100B apresentar atividade trófica central também não pode ser descartado, uma vez que reconhecidamente o exercício promove a saúde cerebral. Assim, pode existir uma ligação entre níveis aumentados de S100B e efeitos positivos do exercício sobre o cérebro. Para esclarecer melhor essa relação, outros marcadores centrais poderiam ser utilizados como o BDNF (*brain derived neurotrophic factor*) que é considerado um dos

melhores candidatos em promover os efeitos benéficos do exercício sobre o cérebro.

## 8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson, R. E., L. O. Hansson, et al. (2001). "High serum S100B levels for trauma patients without head injuries." Neurosurgery **48**(6): 1255-8; discussion 1258-60.
- Azmitia, E. C. (2001). "Modern views on an ancient chemical: serotonin effects on cell proliferation, maturation, and apoptosis." Brain Res Bull **56**(5): 413-24.
- Azmitia, E. C. (2001). "Neuronal instability: implications for Rett's syndrome." Brain Dev **23 Suppl 1**: S1-S10.
- Azmitia, E. C., W. S. Griffin, et al. (1992). "S100 beta and serotonin: a possible astrocytic-neuronal link to neuropathology of Alzheimer's disease." Prog Brain Res **94**: 459-73.
- Berchtold, N. C., G. Chinn, et al. (2005). "Exercise primes a molecular memory for brain-derived neurotrophic factor protein induction in the rat hippocampus." Neuroscience **133**(3): 853-61.
- Blomstrand, E., D. Perrett, et al. (1989). "Effect of sustained exercise on plasma amino acid concentrations and on 5-hydroxytryptamine metabolism in six different brain regions in the rat." Acta Physiol Scand **136**(3): 473-81.
- Borg, G. (1998). Borg's Perceived Exertion and Pain Scales. Champaign, IL, Human Kinetics.
- Bridget, M., T. Allen, et al. (1999). "Effect of ambient temperature on exercise-induced prolactinaemia." J Physiol (Lond) **521**: 103P.
- Brisson, G. R., F. Peronnet, et al. (1986). "Temperature-induced hyperprolactinemia during exercise." Horm Metab Res **18**(4): 283-4.
- Burger-Mendonca, M., M. Bielavsky, et al. (2008). "Liver overload in Brazilian triathletes after half-ironman competition is related muscle fatigue." Ann Hepatol **7**(3): 245-8.
- Byrnes, W. C., P. M. Clarkson, et al. (1985). "Delayed onset muscle soreness following repeated bouts of downhill running." J Appl Physiol **59**(3): 710-5.
- Casas, J. P., T. Shah, et al. (2008). "C-reactive protein and coronary heart disease: a critical review." J Intern Med **264**(4): 295-314.
- Chaouloff, F. (1997). "Effects of acute physical exercise on central serotonergic systems." Med Sci Sports Exerc **29**(1): 58-62.
- Cheuvront, S. N., T. D. Chenevere, et al. (2008). "Serum S-100beta Response to Exercise-Heat Strain before and after Acclimation." Med Sci Sports Exerc **40**(8): 1477-82.
- Clarkson, P. M., K. Nosaka, et al. (1992). "Muscle function after exercise-induced muscle damage and rapid adaptation." Med Sci Sports Exerc **24**(5): 512-20.
- Coffey, V. G. and J. A. Hawley (2007). "The molecular bases of training adaptation." Sports Med **37**(9): 737-63.
- Cotman, C. W. and N. C. Berchtold (2002). "Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity." Trends Neurosci **25**(6): 295-301.

- Cotman, C. W., N. C. Berchtold, et al. (2007). "Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation." Trends Neurosci **30**(9): 464-72.
- Daussin, F. N., J. Zoll, et al. (2008). "Effect of interval versus continuous training on cardiorespiratory and mitochondrial functions: relationship to aerobic performance improvements in sedentary subjects." Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol **295**(1): R264-72.
- Dietrich, M., O., D. O. Souza, et al. (2004). "Serum S100B protein: what does it mean during exercise?" Clin J Sport Med **14**(6): 368; author reply 368-9.
- Dietrich Mde, O., D. O. Souza, et al. (2004). "Serum S100B protein: what does it mean during exercise?" Clin J Sport Med **14**(6): 368; author reply 368-9.
- Dietrich, M. O., A. B. Tort, et al. (2003). "Increase in serum S100B protein level after a swimming race." Can J Appl Physiol **28**(5): 710-6.
- Donato, R. (2001). "S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles." Int J Biochem Cell Biol **33**(7): 637-68.
- Ehlers, G. G., T. E. Ball, et al. (2002). "Creatine Kinase Levels are Elevated During 2-A-Day Practices in Collegiate Football Players." J Athl Train **37**(2): 151-156.
- Eston, R. G., A. B. Lemmey, et al. (2000). "Effect of stride length on symptoms of exercise-induced muscle damage during a repeated bout of downhill running." Scand J Med Sci Sports **10**(4): 199-204.
- Evans, W. J., C. N. Meredith, et al. (1986). "Metabolic changes following eccentric exercise in trained and untrained men." J Appl Physiol **61**(5): 1864-8.
- Hartmann, U. and J. Mester (2000). "Training and overtraining markers in selected sport events." Med Sci Sports Exerc **32**(1): 209-15.
- Hasselblatt, M., F. C. Mooren, et al. (2004). "Serum S100beta increases in marathon runners reflect extracranial release rather than glial damage." Neurology **62**(9): 1634-6.
- Havas, E., J. Komulainen, et al. (1997). "Exercise-induced increase in serum creatine kinase is modified by subsequent bed rest." Int J Sports Med **18**(8): 578-82.
- Hoffman, J. R., C. M. Maresh, et al. (2002). "Performance, biochemical, and endocrine changes during a competitive football game." Med Sci Sports Exerc **34**(11): 1845-53.
- Huonker, M., M. Halle, et al. (1996). "Structural and functional adaptations of the cardiovascular system by training." Int J Sports Med **17** **Suppl 3**: S164-72.
- Ingebrigtsen, T., K. Waterloo, et al. (1999). "Traumatic brain damage in minor head injury: relation of serum S-100 protein measurements to magnetic resonance imaging and neurobehavioral outcome." Neurosurgery **45**(3): 468-75; discussion 475-6.
- Jackson, A. S. and M. L. Pollock (1978). "Generalized equations for predicting body density of men." Br J Nutr **40**(3): 497-504.
- Jamurtas, A. Z., V. Theocharis, et al. (2005). "Comparison between leg and arm eccentric exercises of the same relative intensity on indices of muscle damage." Eur J Appl Physiol **95**(2-3): 179-85.

- Jassal, D. S., D. Moffat, et al. (2009). "Cardiac Injury Markers in Non-elite Marathon Runners." Int J Sports Med **30**(2): 75-9.
- Jonsson, H., P. Johnsson, et al. (2000). "Elimination of S100B and renal function after cardiac surgery." J Cardiothorac Vasc Anesth **14**(6): 698-701.
- Karkoulas, K., I. Habeos, et al. (2008). "Hormonal responses to marathon running in non-elite athletes." Eur J Intern Med **19**(8): 598-601.
- Kasapis, C. and P. D. Thompson (2005). "The effects of physical activity on serum C-reactive protein and inflammatory markers." Journal of the American College of Cardiology **45**(10): 1563-9.
- Kiive, E., J. Maaros, et al. (2004). "Growth hormone, cortisol and prolactin responses to physical exercise: higher prolactin response in depressed patients." Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry **28**(6): 1007-13.
- Kleine, T. O., L. Benes, et al. (2003). "Studies of the brain specificity of S100B and neuron-specific enolase (NSE) in blood serum of acute care patients." Brain Res Bull **61**(3): 265-79.
- Knuttgen, H. G. (2007). "Strength training and aerobic exercise: comparison and contrast." J Strength Cond Res **21**(3): 973-8.
- Koller, A., J. Mair, et al. (1998). "Effects of prolonged strenuous endurance exercise on plasma myosin heavy chain fragments and other muscular proteins. Cycling vs running." J Sports Med Phys Fitness **38**(1): 10-7.
- Komulainen, J., S. O. Koskinen, et al. (1999). "Gender differences in skeletal muscle fibre damage after eccentrically biased downhill running in rats." Acta Physiol Scand **165**(1): 57-63.
- Komulainen, J., T. E. Takala, et al. (1995). "Does increased serum creatine kinase activity reflect exercise-induced muscle damage in rats?" Int J Sports Med **16**(3): 150-4.
- Kyrolainen, H., T. Pullinen, et al. (2000). "Effects of marathon running on running economy and kinematics." Eur J Appl Physiol **82**(4): 297-304.
- Lara, D. R., C. S. Gama, et al. (2001). "Increased serum S100B protein in schizophrenia: a study in medication-free patients." J Psychiatr Res **35**(1): 11-4.
- Lavender, A. P. and K. Nosaka (2006). "Comparison between old and young men for changes in makers of muscle damage following voluntary eccentric exercise of the elbow flexors." Appl Physiol Nutr Metab **31**(3): 218-25.
- Leppanen, E. A. (1989). "Experimental basis of standardized specimen collection: the effect of short moderate exercise on serum K, Na, ASAT, ALAT, CK and LD." Scand J Clin Lab Invest **49**(3): 287-92.
- Lewis, D. and T. J. Teyler (1986). "Anti-S-100 serum blocks long-term potentiation in the hippocampal slice." Brain Res **383**(1-2): 159-64.
- Lieber, R. L. and J. Friden (2002). "Mechanisms of muscle injury gleaned from animal models." Am J Phys Med Rehabil **81**(11 Suppl): S70-9.
- Lippi, G., F. Schena, et al. (2008). "Acute variation of biochemical markers of muscle damage following a 21-km, half-marathon run." Scand J Clin Lab Invest **68**(7): 667-72.
- Machado-Vieira, R., D. R. Lara, et al. (2002). "Elevated serum S100B protein in drug-free bipolar patients during first manic episode: a pilot study." Eur Neuropsychopharmacol **12**(3): 269-72.

- Mazzini, G. S., D. V. Schaf, et al. (2005). "The ischemic rat heart releases S100B." Life Sci **77**(8): 882-9.
- McArdle, W., F. I. Katch, et al. (1999). Sports and exercise nutrition. Baltimore, Maryland, Lippincott Williams & Wilkins.
- McNeil, P. L. and R. Khakee (1992). "Disruptions of muscle fiber plasma membranes. Role in exercise-induced damage." Am J Pathol **140**(5): 1097-109.
- Millet, G. P., P. Dreano, et al. (2003). "Physiological characteristics of elite short- and long-distance triathletes." Eur J Appl Physiol **88**(4-5): 427-30.
- Netto, C. B., S. Conte, et al. (2006). "Serum S100B protein is increased in fasting rats." Arch Med Res **37**(5): 683-6.
- Neubauer, O., D. Konig, et al. (2008). "Recovery after an Ironman triathlon: sustained inflammatory responses and muscular stress." Eur J Appl Physiol **104**(3): 417-26.
- Nishiyama, H., T. Knopfel, et al. (2002). "Glial protein S100B modulates long-term neuronal synaptic plasticity." Proc Natl Acad Sci U S A **99**(6): 4037-42.
- Nylen, K., M. Ost, et al. (2008). "Serum levels of S100B, S100A1B and S100BB are all related to outcome after severe traumatic brain injury." Acta Neurochir (Wien) **150**(3): 221-7; discussion 227.
- Otto, M., S. Holthusen, et al. (2000). "Boxing and running lead to a rise in serum levels of S-100B protein." Int J Sports Med **21**(8): 551-5.
- Pettersson, J., U. Hindorf, et al. (2008). "Muscular exercise can cause highly pathological liver function tests in healthy men." Br J Clin Pharmacol **65**(2): 253-9.
- Petzold, A., P. Michel, et al. (2008). "Glial and axonal body fluid biomarkers are related to infarct volume, severity, and outcome." J Stroke Cerebrovasc Dis **17**(4): 196-203.
- Phillips, S. M. (2007). "Resistance exercise: good for more than just Grandma and Grandpa's muscles." Appl Physiol Nutr Metab **32**(6): 1198-205.
- Pitsiladis, Y. P., A. T. Strachan, et al. (2002). "Hyperprolactinaemia during prolonged exercise in the heat: evidence for a centrally mediated component of fatigue in trained cyclists." Exp Physiol **87**(2): 215-26.
- Portela, L. V., J. C. Brenol, et al. (2002). "Serum S100B levels in patients with lupus erythematosus: preliminary observation." Clin Diagn Lab Immunol **9**(1): 164-6.
- Portela, L. V., A. B. Tort, et al. (2002). "The serum S100B concentration is age dependent." Clin Chem **48**(6 Pt 1): 950-2.
- Portela, L. V., A. B. Tort, et al. (2003). "Interictal serum S100B levels in chronic neurocysticercosis and idiopathic epilepsy." Acta Neurol Scand **108**(6): 424-7.
- Price, L. H., D. S. Charney, et al. (1991). "Serotonin function and depression: neuroendocrine and mood responses to intravenous L-tryptophan in depressed patients and healthy comparison subjects." Am J Psychiatry **148**(11): 1518-25.
- Rogers, C. J., L. H. Colbert, et al. (2008). "Physical activity and cancer prevention: pathways and targets for intervention." Sports Med **38**(4): 271-96.



- Sayers, S. P., P. M. Clarkson, et al. (2000). "Activity and immobilization after eccentric exercise: II. Serum CK." Med Sci Sports Exerc **32**(9): 1593-7.
- Scaccianoce, S., P. Del Bianco, et al. (2004). "Relationship between stress and circulating levels of S100B protein." Brain Res **1004**(1-2): 208-11.
- Schaf, D. V., A. B. Tort, et al. (2005). "S100B and NSE serum levels in patients with Parkinson's disease." Parkinsonism Relat Disord **11**(1): 39-43.
- Schulpis, K. H., M. Moukas, et al. (2007). "The effect of alpha-Tocopherol supplementation on training-induced elevation of S100B protein in sera of basketball players." Clin Biochem **40**(12): 900-6.
- Siegel, A. J., J. J. Stec, et al. (2001). "Effect of marathon running on inflammatory and hemostatic markers." American Journal of Cardiology **88**: 918-20.
- Snyder-Ramos, S. A., T. Gruhlke, et al. (2004). "Cerebral and extracerebral release of protein S100B in cardiac surgical patients." Anaesthesia **59**(4): 344-9.
- Sorichter, S., J. Mair, et al. (2001). "Release of muscle proteins after downhill running in male and female subjects." Scand J Med Sci Sports **11**(1): 28-32.
- Sorichter, S., J. Mair, et al. (1997). "Skeletal troponin I as a marker of exercise-induced muscle damage." J Appl Physiol **83**(4): 1076-82.
- Sorichter, S., J. Mair, et al. (2001). "Creatine kinase, myosin heavy chains and magnetic resonance imaging after eccentric exercise." J Sports Sci **19**(9): 687-91.
- Stalnacke, B. M., Y. Tegner, et al. (2003). "Playing ice hockey and basketball increases serum levels of S-100B in elite players: a pilot study." Clin J Sport Med **13**(5): 292-302.
- Stalnacke, B. M., Y. Tegner, et al. (2004). "Playing soccer increases serum concentrations of the biochemical markers of brain damage S-100B and neuron-specific enolase in elite players: a pilot study." Brain Inj **18**(9): 899-909.
- Straume-Naesheim, T. M., T. E. Andersen, et al. (2008). "Minor head trauma in soccer and serum levels of S100B." Neurosurgery **62**(6): 1297-305; discussion 1305-6.
- Struder, H. K. and H. Weicker (2001). "Physiology and pathophysiology of the serotonergic system and its implications on mental and physical performance. Part I." Int J Sports Med **22**(7): 467-81.
- Suzuki, F., K. Kato, et al. (1984). "Hormonal regulation of adipose S-100 protein release." J Neurochem **43**(5): 1336-41.
- Suzuki, F., K. Kato, et al. (1984). "Regulation of nervous system-specific S-100 protein and enolase levels in adipose tissue by catecholamines." J Neurochem **42**(1): 130-4.
- Taylor, C., G. Rogers, et al. (1987). "Hematologic, iron-related, and acute-phase protein responses to sustained strenuous exercise." J Appl Physiol **62**(2): 464-9.
- Tietz, N. (1995). Clinical Guide to Laboratory Tests. Philadelphia, PA, WB Saunders Co.
- Tramontina, F., S. Conte, et al. (2002). "Developmental changes in S100B content in brain tissue, cerebrospinal fluid, and astrocyte cultures of rats." Cell Mol Neurobiol **22**(3): 373-8.

- Van de Kar, L. D., P. A. Rittenhouse, et al. (1996). "Serotonergic regulation of renin and prolactin secretion." Behav Brain Res **73**(1-2): 203-8.
- Walz, R., L. V. Portela, et al. (2000). "Serum S100B levels in patients with HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis." Neurology **54**(10): 2021-2.
- Watson, P., S. M. Shirreffs, et al. (2005). "Blood-brain barrier integrity may be threatened by exercise in a warm environment." Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol **288**(6): R1689-94.
- Weight, L. M., D. Alexander, et al. (1991). "Strenuous exercise: analogous to the acute-phase response?" Clin Sci (Lond) **81**(5): 677-83.
- Whitaker-Azmitia, P. M. (2001). "Serotonin and brain development: role in human developmental diseases." Brain Res Bull **56**(5): 479-85.
- Woertgen, C., R. D. Rothoerl, et al. (2002). "Does bungee jumping release S-100B protein?" J Clin Neurosci **9**(1): 51-2.
- Zimmer, D. B., E. H. Cornwall, et al. (1995). "The S100 protein family: history, function, and expression." Brain Res Bull **37**(4): 417-29.

## ANEXOS

### ANEXO I – QUESTIONÁRIO DE HISTÓRICO MÉDICO

Questionário de histórico médico

Nome:	Atleta número:
Data de nascimento:	
Endereço:	
Bairro:	
Telefone residencial:	

Seção A:

1. Quando foi a última vez que você foi examinado por um médico?  
\_\_\_\_\_
2. Se você é alérgico a algum medicamento, alimento ou outra substância, por favor indique quais são.  
\_\_\_\_\_
3. Você apresenta alguma doença crônica ou séria?  
\_\_\_\_\_
4. Forneça as seguintes informações com relação às 3 últimas vezes que você foi hospitalizado:

	Hospitalização 1	Hospitalização 2	Hospitalização 3
Tipo de operação			
Ano e mês			
Hospital /cidade			

Seção B

Durante os últimos 12 meses:	Sim	Não
1. o médico receitou qualquer tipo de medicação para você?		
2. o seu peso flutuou mais que 2 kg?		
3. você sentiu algum tipo de tontura ou enjôos?		
4. ocasionalmente você tem algum problema para dormir ou durante o sono?		
5. você já apresentou algum tipo de visão borrada?		
6. você teve alguma dor de cabeça severa?		
7. você tem/teve tosse crônica matinal?		
8. você já apresentou algum problema de mudança temporária no seu padrão de fala, tal como <i>slurring</i> ou perda de fala?		
9. você já se sentiu nervoso ou ansioso sem motivo aparente?		
10. já apresentou batimentos cardíacos irregulares tal como palpitações?		

Atualmente	Sim	Não
1. você apresenta dormência ou falta de sensação repentina no seus braços, pernas, pés ou rosto?		
2. você apresenta caimbras ou dores nas suas pernas?		
3. você apresenta alguma dor ou desconforto no peito?		
4. alguma pressão ou sensação de peso no peito?		
5. alguma vez lhe disseram que sua pressão arterial era anormal?		
6. algum exame acusou níveis de colesterol e triglicerídios alto?		
7. você tem diabetes?		
Caso positivo, como ela é controlada?		

8. Você considera seu nível de estresse alto:

ocasionalmente                       frequentemente                       constantemente

9. Alguma vez lhe disseram que você apresenta alguma das seguintes doenças:

<input type="checkbox"/> enfarto do miocárdio	<input type="checkbox"/> aterosclerose	<input type="checkbox"/> ataque cardíaco
<input type="checkbox"/> trombose coronária	<input type="checkbox"/> aneurisma	<input type="checkbox"/> angina
<input type="checkbox"/> oclusão coronária	<input type="checkbox"/> doença cardíaca	<input type="checkbox"/> sopro cardíaco

### Seção C

Algum membro da sua família próxima foi tratado ou suspeitou-se que apresentava alguma das condições abaixo? Identifique o grau de parentesco (irmão, pai, mãe, etc.)

a. Diabetes

b. Doença cardíaca

c. Derrame cerebral

d. Hipertensão arterial

## ANEXO II – FICHA DE TREINAMENTO E RENDIMENTO DO ATLETA

### Ficha de treinamento e rendimento do atleta

Nome:

<b>TEMPO DE TREINAMENTO PARA TRIATHLON:</b>	<b>INICIO</b>
<b>LESÕES MÚSCULO-ESQUELÉTICAS ÚLTIMOS 6 MESES:</b>	

### PROVAS REALIZADAS E RESULTADOS OBTIDOS NO ÚLTIMO ANO


### DADOS DE TREINAMENTO

	<b>DISTÂNCIA MÉDIA SEMANAL</b>	<b>DURAÇÃO</b>
<b>CORRIDA</b>		
<b>CICLISMO</b>		
<b>NATAÇÃO</b>		

**OBS:**

---

---

## ANEXO III – FICHA DE AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

Nº: \_\_\_\_\_

### AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

Nome:	Sexo: ( ) M ( ) F	Data da avaliação:
Estatura (cm):	Massa corporal (kg):	Idade:
Nasc: ____ / ____ / _____	Horário:	
Avaliador:	Observações: <b>Lado Direito</b>	Nº Voluntário:

### DOBRAS CUTÂNEAS (mm)

	1ª medida	2ª medida	3ª medida	Média
Bíceps				
Tríceps				
Peitoral				
Axilar-médial				
Subescapular				
Supra-ilíaca				
Abdome				
Panturrilha				
Coxa				

## ANEXO IV – PLANILHA DOS TESTES MÁXIMOS E SUBMÁXIMOS

Nº: \_\_\_\_\_

### PLANILHA DE TESTES

Nome:		Data:
Estatura:	Massa Corporal:	Data Nasc:
Aquecimento:		

### TESTE MÁXIMO ESTEIRA

<b>Tempo de Exercício (min)</b>	<b>Carga máxima (W)</b>	<b>FC Repouso (bpm):</b>
1º LV:	2º LV:	FC Máx (bpm):
VO <sub>2</sub> máx:		

**Código:**

### TESTE SUBMÁXIMO ESTEIRA

Carga de trabalho (W):		2º LV:	Data:
FC Alvo (bpm):		FC Repouso (bpm):	FC Máx (bpm):
<b>Tempo</b>	<b>Borg</b>	<b>FC</b>	
<b>0 min.</b>			
<b>5 min.</b>			
<b>10 min.</b>			
<b>15 min.</b>			
<b>20 min.</b>			
<b>25 min.</b>			
<b>30 min.</b>			
<b>35 min.</b>			
<b>40 min.</b>			

### DADOS DE TREINAMENTO DIA ANTERIOR

TIPO	DISTÂNCIA	DURAÇÃO

Nº: \_\_\_\_\_

**PLANILHA DE TESTES**

Nome:		Data:
Estatura:	Massa Corporal:	Data Nasc:

<b><u>Aquecimento:</u></b>	
----------------------------	--

**TESTE MÁXIMO BIKE**

Estágios	Carga (Kp)	RPM	WATTS
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			

**RESULTADOS**

Tempo de Exercício (min)	Carga máxima (W)	FC Repouso (bpm):
1º LV:	2º LV:	FC Máx (bpm):
VO <sub>2</sub> máx:		



No: \_\_\_\_\_

Código:

**TESTE SUBMÁXIMO Bicicleta**

Carga de trabalho (W):		2º LV:		Data:
FC Alvo (bpm):		FC Repouso (bpm):		FC Máx (bpm):
Tempo	Borg	FC	Watts	RPM
0 min.				
5 min.				
10 min.				
15 min.				
20 min.				
25 min.				
30 min.				
35 min.				
40 min.				

**DADOS DE TREINAMENTO DIA ANTERIOR**

TIPO	DISTÂNCIA	DURAÇÃO

**OBS:**

---

## **ANEXO V – TCLE**

### **TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO**

Atividades físicas prolongadas e intensas podem causar mudanças estruturais no músculo que são chamadas de lesão muscular induzida por exercício. O dano é particularmente pronunciado em músculos que são alongados durante a contração (contrações excêntricas). A extensão do dano pode ser verificada indiretamente através da mensuração na corrente sanguínea de proteínas tipicamente encontradas dentro do músculo.

Recentemente, a S100B, uma proteína principalmente liberada por astrócitos e tipicamente utilizada como um marcador periférico de lesão neural, tem apresentado seus níveis elevados na corrente sanguínea após a realização de exercícios físicos. Estudos recentes têm apontado que podem ocorrer aumentos séricos de S100B independente de dano cerebral e parece que o exercício físico se enquadraria nesse contexto.

Este projeto tem como objetivo verificar os níveis sanguíneos de S100B em exercícios com impacto e sem impacto, bem como diferentes tipos de contração muscular, determinando assim a relação dos níveis séricos de S100B com marcadores considerados tradicionais de lesão muscular.

Para participar deste trabalho, você primeiramente deverá comparecer ao Laboratório de Pesquisa do Exercício (LAPEX) para a realização de uma avaliação antropométrica, seguida de um teste progressivo em esteira para determinação de alguns parâmetros físicos.

Uma semana após a avaliação inicial, você deverá retornar ao LAPEX para realização do protocolo de corrida, onde você deverá correr a uma intensidade pré-determinada (média-alta) até exaustão.

Uma semana após a realização do primeiro protocolo você retornará ao LAPEX para realização do protocolo de bicicleta até exaustão, que terá intensidade igual ao protocolo de corrida.

Nessa etapa do projeto, serão coletadas amostras de sangue venoso antes, imediatamente após e uma hora após os exercícios, para cada um dos

protocolos, sendo preferencialmente feito um revezamento no local de punção. As coletas serão feitas por técnico habilitado.

Ao total, serão necessárias três visitas ao LAPEX durante a participação no projeto. O projeto não gerará nenhum custo ao participante e o transporte até o local de coleta de dados será pago pelo pesquisador.

Durante os protocolos de exercício poderão ocorrer desconfortos associados à intensidade do exercício, bem como nos procedimentos de punção e coleta de sangue. No entanto haverá monitoramento ao longo dos testes e acompanhamento de profissionais capacitados. O consumo de água será realizado à vontade durante os testes.

Ao final do projeto, você receberá os resultados de todos os exames e testes, bem como da avaliação antropométrica.

Pelo presente Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, declaro que autorizo a minha participação neste projeto de pesquisa, pois fui informado, de forma clara e detalhada, livre de qualquer forma de constrangimento e coerção, dos objetivos, da justificativa, dos procedimentos que serei submetido, dos riscos, desconfortos e benefícios.

Fui igualmente informado:

Da garantia de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida a cerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa;

Da liberdade de retirar meu consentimento, a qualquer momento, e deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuação dos meus cuidados e tratamento;

Da garantia de que não serei identificado quando da divulgação dos resultados e que as informações obtidas serão utilizadas apenas para fins científicos vinculados ao presente projeto de pesquisa;

Do compromisso de proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo, ainda que esta possa afetar a minha vontade em continuar participando;

Os Pesquisadores Responsáveis por este Projeto de Pesquisa serão o Profº Dr. Alvaro Reischak de Oliveira (33165861) e a Prof. M.Sc. Cíntia Mussi Alvim Stocchero (cel: 92535356), tendo este documento sido revisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa desta Instituição em

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

Nome do Voluntário: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Pesquisador Responsável: \_\_\_\_\_

## ANEXO VI – CARTA DE APROVAÇÃO



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA  
CARTA DE APROVAÇÃO**

pro.pesq

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul analisou o projeto:

**Número :** 2007708


**Título :** Efeito do exercício sobre os níveis sanguíneos de proteínas marcadoras de lesão muscular e da proteína S100B

**Pesquisador (es) :**

<u>NOME</u>	<u>PARTICIPAÇÃO</u>	<u>EMAIL</u>	<u>FONE</u>
ALVARO REISCHAK DE OLIVEIRA	PESQ RESPONSÁVEL	aroliveira@esef.ufrgs.br	33083320
CINTIA MUSSI ALVIM STOCHERO	PESQUISADOR	00040805@ufrgs.br	
LUIZ VALMOR CRUZ PORTELA	PESQUISADOR	roskaportela@gmail.com	3308-7753

O mesmo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS, reunião nº 10 , ata nº 90 , de 19/7/2007 , por estar adequado ética e metodologicamente e de acordo com a Resolução 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde.

Porto Alegre, quinta-feira, 26 de julho de 2007

  
**LUIZ CARLOS BOMBASSARO**  
Coordenador do CEP-UFRGS

## ANEXO VII – VALORES INDIVIDUAIS DOS MARCADORES BIOQUÍMICOS

Tabela 1 – Valores individuais de CK (U/L) nos protocolos em esteira e bicicleta

Atleta	CK esteira			CK bicicleta		
	antes	após	1h	antes	após	1h
1	161	188	182	175	190	175
2	71	86	81	32	38	36
3	75	89	83	51	61	59
4	118	156	156	102	114	107
5	68	88	82	61	73	64
6	50	87	88	54	65	59
7	66	86	80	58	64	58
8	55	74	77	49	53	60
9	47	71	80	58	59	59
10	92	119	111	50	57	52
11	183	258	243	103	119	116
12	60	75	75	91	104	100
13	130	146	143	134	143	139

Tabela 2 – Valores individuais de TGO (U/L) nos protocolos em esteira e bicicleta

Atleta	TGO esteira			TGO bicicleta		
	antes	após	1h	antes	após	1h
1	24	25	25	25	27	25
2	10	12	13	9	10	9
3	10	12	11	10	11	10
4	17	19	22	15	17	16
5	11	13	12	10	12	11
6	14	17	17	14	17	15
7	12	14	12	11	13	11
8	10	11	11	9	10	10
9	12	13	14	11	11	12
10	10	11	12	10	10	9
11	17	22	19	14	16	15
12	12	14	14	10	12	11
13	12	14	13	14	15	14

Tabela 3 – Valores individuais de mioglobina (ng/ml) nos protocolos em esteira e bicicleta

Atleta	Mb esteira			Mb bicicleta		
	antes	após	1h	antes	após	1h
1	46,05	79,55	113,9	41,05	49	59,38
2	43,13	83,52	90,51	39,1	39,91	48,92
3	44,76	82,5	73,45	38,32	78,06	69,11
4	39,89	88,82	134,8	43,92	45,65	51,83
5	30,61	72,69	89,26	34,93	38,33	45,86
6	33,78	74,94	83,32	41,09	44,18	62,59
7	41,75	78,56	103	26,65	29,91	71,74
8	23,64	114,8	149,7	31,49	60,06	217,7
9	29,11	117,5	151,7	39,05	39,64	61
10	52,68	97,5	96,84	41,44	52,76	50,43
11	52,42	143,1	130,8	53,78	70,52	135,9
12	30	54,26	63,45	36,92	52,47	53,21
13	36,47	64,89	77,48	34,11	39,64	58,77

Tabela 4 – Valores individuais de CRP (mg/dL) nos protocolos em esteira e bicicleta

Atleta	TGO esteira			TGO bicicleta		
	antes	após	1h	antes	após	1h
1	0,04	0,05	0,04	0,05	0,05	0,07
2	0,07	0,08	0,05	0,04	0,04	0,04
3	0,07	0,07	0,08	0,11	0,13	0,13
4	0,1	0,14	0,12	0,11	0,13	0,12
5	0,07	0,08	0,09	0,12	0,12	0,11
6	0,08	0,08	0,08	0,07	0,09	0,07
7	0,04	0,05	0,04	0,09	0,09	0,08
8	0,06	0,06	0,08	0,08	0,08	0,06
9	0,04	0,05	0,04	0,07	0,06	0,04
10	0,07	0,07	0,07	0,04	0,05	0,04
11	0,04	0,03	0,03	0,06	0,06	0,06
12	0,04	0,05	0,06	0,05	0,04	0,06
13	0,1	0,08	0,09	0,23	0,23	0,23

Tabela 5 – Valores individuais de prolactina (ng/ml) nos protocolos em esteira e bicicleta

Atleta	Prolactina esteira			Prolactina bicicleta		
	antes	após	1h	antes	após	1h
1	10,04	58,42	21,39	8,55	19,09	13,14
2	5,75	39,79	11,22	8,86	22,31	9,52
3	6,99	37,51	16,71	8,67	31,99	10,41
4	7,44	12,23	7,32	7,75	19,78	13,66
5	8,15	19,14	14,48	9,95	17,83	13,23
6	17,16	20,09	12,36	16,97	22,83	13,21
7	4,04	29,45	13,22	8,34	23,32	9,02
8	11,07	48,18	29,14	12,14	24,74	20
9	10,02	35,07	13,54	7,46	34,1	12,51
10	5,72	15,11	8,82	6,27	6,36	4,57
11	6,72	37,35	13,4	8,46	10,79	6,23
12	43,66	86,25	73,93	36,19	62,84	62,51
13	7,65	11,11	12,05	5,56	8,62	7,61

Tabela 6 – Valores individuais de S100B (µg/L) nos protocolos em esteira e bicicleta

Atleta	S100B esteira			S100B bicicleta		
	antes	após	1h	antes	após	1h
1	0,107523	0,116407	0,108321	0,108733	0,110261	0,11018
2	0,110533	0,112424	0,110479	0,110588	0,10958	0,107606
3	0,111048	0,122649	0,551906	0,111643	0,112209	0,110479
4	0,114852	0,110153	0,111103	0,108376	0,107468	0,115539
5	0,109006	0,111589	0,111724	0,108101	0,108952	0,109935
6	0,110397	0,107579	0,111211	0,108129	0,109225	0,109499
7	0,107854	0,10958	0,108979	0,108074	0,107634	0,108787
8	---	0,112881	0,110994	0,109089	0,108815	0,11018
9	0,109089	0,115855	0,111184	0,108815	0,110425	0,109034
10	0,106501	0,107386	0,105336	0,106169	0,109362	0,115882
11	0,110615	0,1268	0,112908	0,108458	0,110289	0,110533
12	0,108294	0,111211	0,110967	0,111048	0,112021	0,110886
13	0,106806	0,108349	0,113015	0,109635	0,107523	0,107634



## ANEXO VIII – DOCUMENTOS SUBMISSÃO E APROVAÇÃO ARTIGO DE REVISÃO

Cintia Alvim Stocchero,

Agradecemos a submissão do seu manuscrito "A proteína S100B e o exercício físico" para Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano. Através da interface de administração do sistema, utilizado para a submissão, será possível acompanhar o progresso do documento dentro do processo editorial, bastando logar no sistema localizado em:

URL do Manuscrito:

<http://www.periodicos.ufsc.br/index.php/rbcdh/author/submission/6519>

Login: cstochero

Em caso de dúvidas, envie suas questões para este email. Agradecemos mais uma vez considerar nossa revista como meio de transmitir ao público seu trabalho.

Edio Luiz Petroski

Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano

---

Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano - Brazilian Journal of Kinanthropometry and Human Performance

<http://www.periodicos.ufsc.br/index.php/rbdch>

Esta mensagem foi verificada pelo E-mail Protegido Terra.

Atualizado em 11/09/2008

Prezada Cíntia Stocchero,

O artigo "A proteína S100B e o exercício físico" foi bem avaliado pelos revisores da RBCDH, tendo poucas sugestões para o aprimoramento do mesmo.

Seguem anexo: o parecer e o seu artigo "A proteína S100B e o exercício físico".

Você poderá fazer a reapresentação do artigo na plataforma on-line.

Atenciosamente,

Edio Luiz Petroski.

---

E-mail verificado pelo Terra Anti-Spam.

Para classificar esta mensagem como spam ou não spam, [clique aqui](#).

Verifique periodicamente a pasta Spam para garantir que apenas mensagens indesejadas sejam classificadas como Spam.

---

Esta mensagem foi verificada pelo E-mail Protegido Terra.

Atualizado em 13/05/2009

## **ANEXO IX –ARTIGO DE REVISÃO SUBMETIDO**

### **ARTIGO DE REVISÃO** **A Proteína S100B e o exercício físico** S100B protein and physical exercise

Cíntia Mussi Alvim Stocchero <sup>1</sup>

Alexandre Pastoris Muller <sup>2</sup>

Álvaro Reischak de Oliveira <sup>1</sup>

Luis Valmor Portela<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Escola de Educação Física, Universidade Federal do Rio Grande do Sul,  
Porto Alegre, RS, Brasil

<sup>2</sup> Departamento de Bioquímica, ICBS, Universidade Federal do Rio Grande  
do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

Autor correspondente:

Luis Valmor Portela

Departamento de Bioquímica, ICBS

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Rua Ramiro Barcelos 2600, anexo

CEP 90035-003

Telefone 51 33085558

Fax 51 33085540

Email: roskaportela@gmail.com

**Contagem de palavras: 3270**

## **A Proteína S100B e o exercício físico**

### **Resumo**

A proteína S100B cerebral que tem sido utilizada como um marcador periférico de injúrias do sistema nervoso central (SNC). Entretanto, estudos recentes demonstraram que a S100B também aumenta após o exercício físico, embora o significado desse aumento ainda não esteja bem claro. Apesar de ser liberada principalmente por astrócitos no sistema nervoso central, fonte de produção extracerebral de S100B durante o exercício podem estar implicadas no aumento sérico desta proteína. No entanto, exercícios que implicam em impacto ao cérebro como o boxe, por exemplo, o aumento é claramente associado à lesão cerebral. Assim, trabalhos propõem que o aumento da S100B após o exercício estaria relacionado à secreção ativa por adipócitos e músculos lesados. Uma vez que a liberação da S100B pelo músculo lesado seja confirmada experimentalmente, o uso desta proteína poderia ser aprofundado principalmente no treinamento esportivo. Atualmente, estamos desenvolvendo protocolos na direção de avaliar o potencial valor da S100B como indicador de lesão do músculo esquelético. Portanto, o objetivo da presente revisão é apresentar o atual estado de conhecimento sobre a relação entre a proteína S100B e o exercício físico, discutindo os possíveis mecanismos envolvidos e propondo novas abordagens.

Palavras-chave: Sistema Nervoso Central, Proteína S100B, Exercício físico, Lesão muscular.

## **S100B protein and physical exercise**

### **Abstract**

S100B protein has been studied as a peripheral biochemical marker of brain injury and or activity. This protein is also elevated in serum after physical activity, albeit the interpretation of such finding remains controversy. Despite predominantly released by astrocytes in the central nervous system, it has been suggested that extracerebral sources could contribute for the increased serum levels. Nevertheless, exercises that have a great impact on brain as box, for example, the increased levels are clearly associated with brain damage. More recently, some works have proposed that S100B could be released by activated adipocytes and by damaged muscular cells. If confirmed experimentally, S100B could have a role in sports training. Thus, we are currently investigating the potential role of serum S100B as indicator of muscular damage. Therefore, this review discusses the current state of art concerning physical exercise and serum S100B protein, as well as, possible leakage from muscular cell secondary to exercise damage.

Key-words: Central nervous system, S100B protein, Physical exercise, Muscular damage.

## **Introdução**

A participação em exercícios físicos regulares vem se tornando cada vez mais freqüente em nossa sociedade. Os benefícios do exercício têm sido amplamente reportados na literatura e incluem melhoras em parâmetros relacionados aos sistemas cardio-respiratório <sup>(1)</sup>, imunológico <sup>(2)</sup> e ao sistema nervoso central (SNC) <sup>(3)</sup>. No entanto, alguns estudos têm investigado os possíveis efeitos deletérios que a atividade física poderia provocar no organismo. Como qualquer fator estressante, o exercício provoca modificações humorometabólicas agudas que, sob repetição do estímulo, tendem a favorecer uma adaptação dos sistemas biológicos a uma demanda de trabalho físico aumentada <sup>(4, 5)</sup>. No entanto, a manutenção do equilíbrio funcional dos sistemas biológicos e as suas inter-relações são fatores determinantes nos resultados do exercício.

Recentemente, alguns estudos têm relacionado a proteína S100B aos efeitos do exercício no SNC. A S100B pertence a uma família de proteínas conhecida genericamente como S100. Elas são parcialmente solúveis em sulfato de amônia 100% saturado em pH neutro. A forma beta (S100B) está localizada predominantemente nos astrócitos. Essa proteína tem atividades funcionais intracelulares como a regulação do metabolismo de energia, crescimento e divisão celular, comunicação celular e manutenção homeostase do cálcio <sup>(6)</sup>. Ela também pode ser secretada ativamente pelos astrócitos e exercer funções extracelulares, como, por exemplo, estimular a proliferação de células neurais e a plasticidade a sináptica <sup>(7)</sup>. Considerando estes efeitos tróficos da S100B sobre as células nervosas, estudos sugerem

que esta proteína tem um papel destacado nas fases iniciais de desenvolvimento cerebral em roedores <sup>(8)</sup> e também em humanos <sup>(9)</sup>.

Por outro lado, a elevação dos níveis extracelulares da S100B está associada com dano e/ou disfunção do SNC. Assim, vários estudos clínicos e experimentais, têm investigado os níveis séricos e líquóricos da proteína S100B como um marcador bioquímico de patologias agudas e crônicas que cursam com o comprometimento do SNC <sup>(10)</sup>, como trauma crânio encefálico <sup>(11)</sup>, acidente vascular cerebral <sup>(12)</sup>, mielopatia associada ao vírus HTLV-1 <sup>(13)</sup>, doença de Parkinson <sup>(14, 15)</sup> e doenças psiquiátricas como esquizofrenia e transtorno bipolar <sup>(16, 17)</sup>.

Mais recentemente, alguns estudos têm demonstrado aumentos séricos de S100B após exercício físico <sup>(18-24)</sup>. Os poucos estudos conduzidos até o momento sobre S100B e exercício têm especulado diferentes mecanismos para explicar este aumento, como por exemplo: i) um aumento da atividade trófica dos astrócitos que se refletiria numa maior secreção da proteína; ii) a lesão de células neurais e ainda; iii) uma possível contribuição de fontes extracerebrais como o tecido adiposo <sup>(25, 26)</sup> e tecido muscular esquelético <sup>(22, 23)</sup>.

O objetivo da presente revisão é apresentar o atual estado de conhecimento sobre a relação entre a proteína S100B como indicador de lesão e /ou atividade cerebral durante o exercício físico. Pretende-se também abordar a possível influência de fontes extracerebrais, com ênfase no tecido muscular esquelético nos níveis séricos desta proteína.

## **A proteína S100B e o exercício físico**

A idéia proposta inicialmente por alguns autores é de que tipos específicos de exercício poderiam causar injúria cerebral e, portanto levar a aumentos séricos de S100B. No estudo de Otto e colaboradores <sup>(18)</sup> foram analisadas modalidades diferentes de exercício como boxe, corrida de fundo (25km e 10km) e provas de velocidade (corrida e bicicleta, 3 séries de 2 min). Com exceção das modalidades bicicleta, todos os grupos apresentaram um aumento significativo entre os valores séricos basais e os valores pós-exercício de S100B. Os autores sugeriram que a vibração axial do cérebro durante a corrida poderia causar lesão cerebral. Já no boxe, parece haver uma relação direta entre a quantidade de golpes na cabeça e o aumento nos níveis séricos de S100B. Além disso, boxeadores que não usavam protetores de cabeça apresentaram níveis mais elevados de S100B em relação a boxeadores com protetores e que apresentaram o mesmo número de golpes <sup>(18)</sup>.

Da mesma forma Stalnacke e colaboradores <sup>(19,20)</sup> observaram aumentos séricos da S100B no pós-exercício nas modalidades hóquei no gelo, basquetebol e futebol, e também nos níveis de NSE (enolase específica neuronal), uma enzima predominantemente encontrada nos neurônios e que pode ser detectada na corrente sangüínea após dano neuronal. Nas três modalidades estudadas, foram também avaliados eventos de aceleração e desaceleração (quedas, colisões, pulos e cabeçadas na bola – no caso do futebol) e estes se correlacionaram com os níveis aumentados de S100B (valores pós-jogo menos valores pré-jogo). Entretanto, o efeito da aceleração/desaceleração parece não ser relevante uma vez que a prática de

bungee jumping não afetou a liberação de S100B <sup>(27)</sup>. Mais uma vez, houve uma correlação positiva entre S100B e o número de cabeçadas na bola. Coincidentemente, após o futebol, também houve um aumento nos níveis de NSE.

Portanto, no nosso entendimento, o que os estudos de Otto<sup>(18)</sup> e Stalnacke<sup>(19, 20)</sup> sugerem é que os exercícios físicos que têm um alto impacto no cérebro são potencialmente capazes de causar dano às células neurais e se refletir no aumento dos níveis do marcador astrocitário (S100B) e neuronal (NSE). Entretanto, essa proposta parece não se aplicar às modalidades esportivas que apresentam baixo impacto ao cérebro e nem tampouco ao efeito aceleração/desaceleração. Nesse sentido, nosso grupo questionou a ideia de que os exercícios físicos como ciclismo e corridas poderiam causar dano cerebral <sup>(21, 28, 29)</sup>. Assim, analisamos os níveis séricos de S100B pré e pós, de atletas que participaram de uma modalidade de exercício físico de baixo impacto e longa duração: a natação modalidade de travessia (7600m). Os resultados demonstraram que os níveis séricos de S100B coletados imediatamente após estavam mais elevados que antes da prova. Existem evidências de que a ativação dos receptores serotoninérgicos aumenta a secreção de vários hormônios do hipotálamo, dentre eles a prolactina, que tem sido usada como um marcador periférico da estimulação do sistema serotoninérgico <sup>(30, 31)</sup>. No estudo já citado com os nadadores, os níveis de prolactina também estavam aumentados logo após a prova indicando uma alta atividade serotoninérgica estimulada pelo exercício <sup>(21)</sup>. Estudos experimentais demonstram que a estimulação do receptor de serotonina 5HT1A em astrócitos promove um aumento na secreção de S100B <sup>(32)</sup>.



Assim, postulamos que o mecanismo celular envolvido no aumento de S100B pós-exercício poderia ser o resultado da estimulação serotoninérgica nos receptores 5HT1A astrocitários <sup>(33,34)</sup>. Considerando as evidências experimentais recentes de que o exercício <sup>(3,35,36)</sup> estimula a síntese e liberação de fatores tróficos no cérebro e que isso desencadeia processos que aumentam a plasticidade e resistência cerebral, nosso grupo <sup>(21,28,29)</sup> propõe que o aumento dos níveis de S100B está mais relacionado a ação trófica desta proteína no cérebro do que a possíveis lesões de células neurais. As recentes observações de que o exercício físico eleva a concentração sérica de S100B, suscitaram indagações sobre os mecanismos envolvidos nessa elevação. Os principais estudos realizados até o momento referente a esse tema são apresentados na tabela abaixo.

**Tabela 1.** Diferenças nos níveis de S100B antes e após exercício em diferentes modalidades esportivas.

Autor	Modalidade	Amostra *	Δ S100B
		<i>n</i>	(valores médios)
	Boxe	25	↑ 89 ng/L
	Corrida 25 km	11	↑ 66 ng/L
Otto et al., 2000	Cross-country 10km	12	↑ 38,3 ng/L
	Corridas curtas (3 x 2 min)	12	↑ 23 ng/L
Stalnacke et al. 2003	Futebol	28	↑ 0.051 μg/L
Stalnacke et al., 2003	Hóquei no gelo	26	↑ 0,072 μg/L
	Basquetebol	18	↑ 0,076 μg/L
Dietrich et al., 2003	7600 m natação (travessia)	16	↑ 33,31 pg/mL
Hasselblatt et al., 2004	Maratona	18	↑ 0,07 μg/L
Schulpis et al., 2007	Basquetebol	10	↑ 0,17 μg/L
Cheuvront et al., 2008	Caminhada de 100 min.	9	↑ 0,02 μg/L

\* Todos os estudos foram realizados com os indivíduos do sexo masculino, a maioria atletas.

Δ=refere-se a diferença entre os níveis séricos de S100B pré e pós-exercício.

↑= indica valores aumentados de S100B pós-exercício

## Fontes extracerebrais de S100B no exercício

A idéia inicial de que a S100B era uma proteína específica do cérebro não tem se sustentado nos últimos anos. Apesar de estar presente em maior quantidade no cérebro (95%) essa proteína pode ser detectada em adipócitos, condrócitos e cardiomiócitos, embora ela não seja secretada ativamente por estas células<sup>(37-39)</sup>. Trabalhos recentes sugerem que os níveis sanguíneos de S100B podem ter origem em outros tecidos que não somente o cérebro. Assim, estudos experimentais demonstraram que os adipócitos secretam S100B sob estímulo da adrenalina<sup>(25, 26)</sup>. Falta, contudo esclarecer se durante o exercício, os adipócitos podem ser uma importante fonte de S100B.

Em estudo conduzido com atletas de maratona, o aumento do nível sérico da S100B após a prova teve uma forte correlação com a atividade da enzima creatinaquinase (CK)<sup>(23)</sup>, reconhecidamente um marcador de lesão muscular. O mesmo foi demonstrado em atletas de basquete após uma sessão de treinamento<sup>(22)</sup>. A forte correlação entre CK e S100B encontrada no estudo com maratonistas ( $r = 0,7$ ) e no estudo com jogadores de basquete ( $r = 0,5$ ) pode indicar que a S100B, apesar de não ser secretada ativamente pelo músculo esquelético, poderia estar sendo extravasada como resultado do processo de lesão ocorrido no músculo. Recentemente demonstramos experimentalmente que o coração isquêmico libera S100B, corroborando com a hipótese anterior<sup>(37)</sup>.

É reconhecido que a realização de contrações excêntricas causam maior dano à estrutura muscular esquelética do que as contrações concêntricas<sup>(40, 41)</sup>. Neste caso, postulamos que o tipo de contração realizado

predominantemente durante o exercício poderia ter um impacto no nível de lesão muscular e conseqüentemente, na liberação de S100B. Para tanto estamos desenvolvendo protocolos onde atletas realizam exercícios de mesma intensidade na esteira (onde predominam as contrações excêntricas) e em bicicleta ergométrica (onde predominam as contrações concêntricas). Em ambas situações serão avaliados os níveis séricos das proteínas marcadoras de lesão muscular (CK, mioglobina) e também da S100B. Pretendemos com isso, determinar o potencial valor da S100B como indicador de lesão muscular.

A quantificação de marcadores bioquímicos para prescrição e monitoramento do treinamento físico de atletas de competição tem sido uma proposta constante no meio esportivo para auxiliar nos ajustes de carga de treinamento. Assim, acreditamos que a avaliação dos níveis séricos de S100B após o exercício possa se configurar em uma ferramenta complementar na avaliação bioquímica de lesões musculares.

## **Conclusões**

Aumentos nos níveis séricos da proteína S100B observados após exercício físico podem estar relacionados a diferentes mecanismos centrais e periféricos. As principais considerações sobre a relação entre S100B e exercício, com base nos estudos já abordados, são: (i) O exercício físico estimula no cérebro a liberação de fatores tróficos como S100B que melhoram a função cerebral; (ii) Impacto ao cérebro por exercícios como boxe aumentam os níveis de S100 devido à lesão em células nervosas cerebrais; e (iii) Fontes extracerebrais podem contribuir para os níveis

sanguíneos, embora em humanos isso seja ainda especulativo, uma vez que não é possível isolar a fonte cerebral.

Propomos avançar na investigação da S100B como um marcador bioquímico de lesão muscular, o que poderia ser útil como parâmetro adicional no monitoramento do treinamento físico.

## Referências bibliográficas

1. Daussin FN, Zoll J, Dufour SP, Ponsot E, Lonsdorfer-Wolf E, Doutreleau S, et al. Effect of interval versus continuous training on cardiorespiratory and mitochondrial functions: relationship to aerobic performance improvements in sedentary subjects. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008;295(1):R264-72.
2. Rogers CJ, Colbert LH, Greiner JW, Perkins SN, Hursting SD. Physical activity and cancer prevention: pathways and targets for intervention. *Sports Med* 2008;38(4):271-96.
3. Cotman CW, Berchtold NC. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci* 2002;25(6):295-301.
4. Coffey VG, Hawley JA. The molecular bases of training adaptation. *Sports Med* 2007;37(9):737-63.
5. Huonker M, Halle M, Keul J. Structural and functional adaptations of the cardiovascular system by training. *Int J Sports Med* 1996;17 Suppl 3:S164-72.
6. Donato R. S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles. *Int J Biochem Cell Biol* 2001;33(7):637-68.
7. Nishiyama H, Knopfel T, Endo S, Itohara S. Glial protein S100B modulates long-term neuronal synaptic plasticity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99(6):4037-42.
8. Tramontina F, Conte S, Goncalves D, Gottfried C, Portela LV, Vinade L, et al. Developmental changes in S100B content in brain tissue, cerebrospinal fluid, and astrocyte cultures of rats. *Cell Mol Neurobiol* 2002;22(3):373-8.
9. Portela LV, Tort AB, Schaf DV, Ribeiro L, Nora DB, Walz R, et al. The serum S100B concentration is age dependent. *Clin Chem* 2002;48(6 Pt 1):950-2.
10. Portela LV, Brenol JC, Walz R, Bianchin M, Tort AB, Canabarro UP, et al. Serum S100B levels in patients with lupus erythematosus: preliminary observation. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002;9(1):164-6.
11. Nylen K, Ost M, Csajbok LZ, Nilsson I, Hall C, Blennow K, et al. Serum levels of S100B, S100A1B and S100BB are all related to outcome after severe traumatic brain injury. *Acta Neurochir (Wien)* 2008;150(3):221-7; discussion 227.
12. Petzold A, Michel P, Stock M, Schlupe M. Glial and axonal body fluid biomarkers are related to infarct volume, severity, and outcome. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2008;17(4):196-203.
13. Walz R, Portela LV, Tort AB, Neto EC, Fernandes LN, Goncalves CA, et al. Serum S100B levels in patients with HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *Neurology* 2000;54(10):2021-2.
14. Portela LV, Tort AB, Walz R, Bianchin M, Trevisol-Bittencourt PC, Wille PR, et al. Interictal serum S100B levels in chronic neurocysticercosis and idiopathic epilepsy. *Acta Neurol Scand* 2003;108(6):424-7.
15. Schaf DV, Tort AB, Fricke D, Schestatsky P, Portela LV, Souza DO, et al. S100B and NSE serum levels in patients with Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2005;11(1):39-43.

16. Lara DR, Gama CS, Belmonte-de-Abreu P, Portela LV, Goncalves CA, Fonseca M, et al. Increased serum S100B protein in schizophrenia: a study in medication-free patients. *J Psychiatr Res* 2001;35(1):11-4.
17. Machado-Vieira R, Lara DR, Portela LV, Goncalves CA, Soares JC, Kapczinski F, et al. Elevated serum S100B protein in drug-free bipolar patients during first manic episode: a pilot study. *Eur Neuropsychopharmacol* 2002;12(3):269-72.
18. Otto M, Holthusen S, Bahn E, Sohnchen N, Wiltfang J, Geese R, et al. Boxing and running lead to a rise in serum levels of S-100B protein. *Int J Sports Med* 2000;21(8):551-5.
19. Stalnacke BM, Tegner Y, Sojka P. Playing soccer increases serum concentrations of the biochemical markers of brain damage S-100B and neuron-specific enolase in elite players: a pilot study. *Brain Inj* 2004;18(9):899-909.
20. Stalnacke BM, Tegner Y, Sojka P. Playing ice hockey and basketball increases serum levels of S-100B in elite players: a pilot study. *Clin J Sport Med* 2003;13(5):292-302.
21. Dietrich MO, Tort AB, Schaf DV, Farina M, Goncalves CA, Souza DO, et al. Increase in serum S100B protein level after a swimming race. *Can J Appl Physiol* 2003;28(5):710-6.
22. Schulpis KH, Moukas M, Parthimos T, Tsakiris T, Parthimos N, Tsakiris S. The effect of alpha-Tocopherol supplementation on training-induced elevation of S100B protein in sera of basketball players. *Clin Biochem* 2007;40(12):900-6.
23. Hasselblatt M, Mooren FC, von Ahsen N, Keyvani K, Fromme A, Schwarze-Eicker K, et al. Serum S100beta increases in marathon runners reflect extracranial release rather than glial damage. *Neurology* 2004;62(9):1634-6.
24. Chevront SN, Chinevere TD, Ely BR, Kenefick RW, Goodman DA, McClung JP, et al. Serum S-100beta Response to Exercise-Heat Strain before and after Acclimation. *Med Sci Sports Exerc* 2008;40(8):1477-82.
25. Netto CB, Conte S, Leite MC, Pires C, Martins TL, Vidal P, et al. Serum S100B protein is increased in fasting rats. *Arch Med Res* 2006;37(5):683-6.
26. Scaccianoce S, Del Bianco P, Pannitteri G, Passarelli F. Relationship between stress and circulating levels of S100B protein. *Brain Res* 2004;1004(1-2):208-11.
27. Woertgen C, Rothoerl RD, Sauer K, Brawanski A. Does bungee jumping release S-100B protein? *J Clin Neurosci* 2002;9(1):51-2.
28. Dietrich Mde O, Souza DO, Portela LV. Serum S100B protein: what does it mean during exercise? *Clin J Sport Med* 2004;14(6):368; author reply 368-9.
29. Dietrich M, O., Souza DO, Portela LV. Serum S100B protein: what does it mean during exercise? *Clin J Sport Med* 2004;14(6):368; author reply 368-9.
30. Van de Kar LD, Rittenhouse PA, Li Q, Levy AD. Serotonergic regulation of renin and prolactin secretion. *Behav Brain Res* 1996;73(1-2):203-8.
31. Struder HK, Weicker H. Physiology and pathophysiology of the serotonergic system and its implications on mental and physical performance. Part I. *Int J Sports Med* 2001;22(7):467-81.
32. Azmitia EC. Neuronal instability: implications for Rett's syndrome. *Brain Dev* 2001;23 Suppl 1:S1-S10.
33. Blomstrand E, Perrett D, Parry-Billings M, Newsholme EA. Effect of sustained exercise on plasma amino acid concentrations and on 5-hydroxytryptamine

- metabolism in six different brain regions in the rat. *Acta Physiol Scand* 1989;136(3):473-81.
34. Chaouloff F. Effects of acute physical exercise on central serotonergic systems. *Med Sci Sports Exerc* 1997;29(1):58-62.
  35. Berchtold NC, Chinn G, Chou M, Kesslak JP, Cotman CW. Exercise primes a molecular memory for brain-derived neurotrophic factor protein induction in the rat hippocampus. *Neuroscience* 2005;133(3):853-61.
  36. Cotman CW, Berchtold NC, Christie LA. Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. *Trends Neurosci* 2007;30(9):464-72.
  37. Mazzini GS, Schaf DV, Oliveira AR, Goncalves CA, Bello-Klein A, Bordignon S, et al. The ischemic rat heart releases S100B. *Life Sci* 2005;77(8):882-9.
  38. Snyder-Ramos SA, Gruhlke T, Bauer H, Bauer M, Luntz AP, Motsch J, et al. Cerebral and extracerebral release of protein S100B in cardiac surgical patients. *Anaesthesia* 2004;59(4):344-9.
  39. Suzuki F, Kato K, Nakajima T. Regulation of nervous system-specific S-100 protein and enolase levels in adipose tissue by catecholamines. *J Neurochem* 1984;42(1):130-4.
  40. Balnave CD, Thompson MW. Effect of training on eccentric exercise-induced muscle damage. *J Appl Physiol* 1993;75(4):1545-51.
  41. Nosaka K, Clarkson PM. Muscle damage following repeated bouts of high force eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc* 1995;27(9):1263-9.



## **ANEXO X - ARTIGO ORIGINAL A SER SUBMETIDO**

**The effect of treadmill x bicycle exercise upon S100B levels in trained triathletes**

**CINTIA M.A. STOCCHERO<sup>1</sup>**

**LUIS V. PORTELA<sup>2</sup>**

**ALVARO R. OLIVEIRA<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Escola de Educação Física, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

<sup>2</sup> Departamento de Bioquímica, ICBS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

Corresponding author:

Cintia Mussi Alvim Stocchero

Laboratório de Pesquisas do Exercício

Escola Superior de Educação Física

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Rua Felizardo, 750

CEP CEP 90690-200

Telefone: 51- 33085861

Fax:

E-mail: [cstochero@terra.com.br](mailto:cstochero@terra.com.br)

## ABSTRACT

The cerebral S100B protein has been used as a peripheral marker of central nervous system injuries. However, recent studies have shown that S100B protein also increases after physical exercise, yet these increases are not completely understood. Some authors have proposed that S100B increase during exercise is related to active secretion by adipocytes and skeletal muscle. **PURPOSE:** Investigate serum S100B levels in impact and non-impact exercises, establishing a relationship among S100B and traditional blood markers for muscle damage. **METHODS:** 13 male triathletes participated in this study. They completed two sub maximal exercise protocols lasting 40 minutes each at anaerobic threshold intensity. The impact exercise was done in treadmill with no inclination (RUN). The non-impact exercise was done in the athlete's own bicycle using a cycle-simulator (CYC). During each protocol, 3 blood samples were taken: before, immediately after and 1 hour after exercise. The samples were analyzed for S100B, creatine kinase, myoglobin, AST, prolactin and C-reactive protein. **RESULTS:** The following variables showed a significant increase after treadmill protocol: S100B ( $p < 0.05$ ), CK ( $p = 0.0001$ ), Mb ( $p=0.0001$ ), AST ( $p=0.0001$ ) and prolactin ( $p=0.0001$ ). In the bicycle test CK ( $p=0.0001$ ), AST ( $p=0.0001$ ) and prolactin ( $p=0.001$ ) showed increases immediately after. The S100B, CK, Mb, AST and prolactin immediately after serum values were statistically higher in RUN than in CYC. There was a significant correlation between S100B and myoglobin after RUN and CYC. **CONCLUSION:** Exercise that presents higher muscle damage (RUN) promoted an increase in serum S100B levels, while exercise in the same intensity/duration (CYC) with lesser muscle damage did not present a significant increase in S100B.

**Key Words:** muscle damage, eccentric contractions, anaerobic threshold, blood markers

## INTRODUCTION:

Physical exercise has been recognized as beneficial for many purposes, including improvements in cardiovascular parameters [1], in immune function [2] and in the central nervous system [3]. However, recent studies [4-7] have linked some types of exercise to brain injury, since increases in a highly sensitive marker of brain tissue damage (S100B) have been observed after these exercises.

The S100B is a glial protein that presents intracellular and extracellular function [8]. Exogenous S100B modulates neuronal synaptic plasticity [9] and stimulates neural cell proliferation [10]. At nanomolar concentrations, S100B exerts neurotrophic and gliotrophic actions, presenting an important role in neurodevelopment processes in rodents [11] and in humans [12]. On the other hand, increases in serum S100B are associated to CNS injury and/or dysfunction. Many clinical and experimental studies have investigated S100B's serum and cerebrospinal fluid levels as a biochemical marker for diseases that affect the CNS [13], as severe traumatic brain injury [14], ischemic stroke [15], HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis [16], Parkinson's disease [17] and neuropsychiatric disorders, as schizophrenia and bipolar disorder [18, 19].

However, S100B specificity as a marker of brain injury has been questioned in the last years [20]. Although 95% of S100B is found in the brain, particularly in astrocytes, it also can be detected in other tissues [21-23]. Accordingly, the increments in S100B after exercise may not be related to neural injury.

Moreover, the few studies that have observed serum S100B levels after an exercise session [4-7, 24-27] postulated different explanations for S100B's elevation. Some possible mechanisms are: (i) increase in astrocytic trophic activity, resulting in greater S100B release [24]; (ii) neural injury due to acceleration/desacceleration or vertical vibration of the brain [4-7]; (iii) extra cerebral contribution from the adipose tissue [28, 29] or from the damaged muscle [25, 27].

It has been demonstrated that S100B increases after different types of exercise and it seems that exercise mode, intensity and duration play a role in these increments. However, the mechanisms behind these increases are not completely understood.

## PURPOSE:

The purpose of this study was to compare the effect of impact versus non-impact exercise at the same relative intensity upon serum S100B levels. Additionally, in order to determine whether central or extra cerebral sources would be involved in S100B levels elevation, we measured prolactin and muscle damage markers, as CK, AST and myoglobin.

## METHODS:

Thirteen amateurs male triathletes (mean  $\pm$  SD: age =  $33.9 \pm 6.0$  yr, height =  $177 \pm 0.1$  cm, mass =  $74.7 \pm 6.8$  kg, body fat =  $11.1 \pm 4.7\%$ ,  $VO_{2max} = 62.7 \pm 6.6$  ml.kg<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>, participated in this study. Their training included running an average  $41.5 \pm 14.3$  km.week<sup>-1</sup>, cycling  $235 \pm 104.8$  km.week<sup>-1</sup> and swimming  $8.44 \pm 4.70$  km.week<sup>-1</sup>. The subjects were fully informed about the procedures and all possible risks involved. Each volunteer provided written informed consent before participation. The study was approved in advance by the University Ethical Committee.

All participants of the study were required to complete four visits to the laboratory, in order to: evaluate maximal oxygen uptake in treadmill and bicycle ergometer, document their training and screening for possible diseases, and participate in the experimental protocols. All subjects reported to be free of acute or chronic illnesses and were not taking prescribed medication. After the maximal tests completion, the individual ventilatory threshold for running and cycling were determined, according to established criteria [30, 31]. To participate in the experimental protocols, the athletes were asked to refrain from vigorous exercise and also to abstain from running the day before the exercise protocol. The experimental protocols consisted of running on a treadmill at ventilatory threshold intensity for forty (40) minutes (RUN), and cycling (CYC) at the same duration and relative intensity in their own bicycles in a cycle simulator (Cateye CS1000, Osaka, Japan). All testing procedures took place in a laboratory with temperature ranging from 18 to 21° C and relative humidity ranging from 50 to 70%. During the  $VO_{2max}$  and experimental protocols the following parameters were obtained: oxygen and carbon dioxide fractions and ventilation (MEDGRAPHICS, Cardiopulmonary Diagnostic System, Saint Paul, Minnesota), heart rate (Polar Electro, Oy, Finland) and rated perceived exertion (RPE)[32].

During each protocol, three blood samples were taken: pre exercise, after exercise (within 15 minutes) and 1 h after exercise. At each sampling, blood was collected into a plain vacutainer and allowed to coagulate for 10 minutes before centrifugation (3000g) for 7 minutes at room temperature. Serum aliquots were immediately frozen at  $-70^{\circ}\text{C}$ . For all blood collection, subjects sat calmly in the laboratory and a 10-ml whole blood sample was taken from the antecubital region. Analyses for S100B were performed using a commercially available ELISA enzyme linked immunosorbent assay (Diasorin, Saluggia, Italy). The intra-assay coefficient variation (CV) was 9.4%.

Serum creatine kinase (CK) and aspartate aminotransferase (AST) activity, as well as high-sensitive C-reactive protein (hs-CRP) concentration were detected using an automatic analyser (Cobas Integra 400 - *Roche Diagnostics*). Myoglobin and prolactin concentration were analysed by electrochemiluminescence immunoassays (Elecsys 2010, Roche Diagnostics). The intra-assay coefficient variation (CV) was 1,3% for CK, 1,2% for AST, 2,9% for CRP, 2,6% for myoglobin and 3,6% for prolactin.

#### ESTATISTICS

Data were tested for normal distribution using the Shapiro-Wilk test. Physiological and biochemical measurements made at rest, immediately after and 1h after exercise were compared using one-way repeated-measures ANOVA. When appropriate, Bonferroni procedure was used to identify differences among means. Paired t tests were used to compare means obtained during treadmill and bicycle tests. Pearson's correlation was used to examine significant relationships among S100-B and other biochemical variables. All data are reported as means  $\pm$  SD. Statistical significance was accepted at  $P < 0.05$ .

Reference values for sample size determination were obtained from a previous study investigating S100B and CK association [25]. We estimate that thirteen subjects would provided sufficient statistical power ( $B=0.20$ ) to detect association of at least 0.7 among biochemical markers and S100B protein.

#### RESULTS

All subjects completed 40 minutes in each sub maximal test. There was no significant difference among relative intensity (RUN =  $72\pm 0.05\%$  and CYC =  $69\pm 0.05\%$   $VO_2\max$ ), respiratory exchange ratio (RER) (RUN =  $0.92\pm 0.05$  and  $0.93\pm 0.03$ ) and rated perceived exertion (data not shown) on both experimental situations. The results for the muscle damage markers indicate a significant higher increase after treadmill. Immediately after treadmill, there was an increase by  $32.0\pm 16.3\%$  for CK,  $140.5\pm 96.5\%$  for myoglobin, and  $15.6\pm 6.7\%$  for AST, while after bicycle the increments were  $13.0\pm 5.8\%$  for CK and  $11.9\pm 7.0$  for AST, as may be seen in figures I,II and III. Prolactin also presented a higher increase in RUN protocol (Fig IV). Resting values and the difference between post exercise and pre exercise values for biochemical markers are depicted in table I. After RUN protocol, athletes exhibited a significant, although small increase in their serum S100B levels, which didn't happen after CYC protocol (Fig V). Additionally, a positive significant correlation was found between S100B and myoglobin levels post-exercise in RUN ( $r=0.58$ ) and CYC ( $r=0.62$ ). Also, there was a correlation ( $r=0.61$ ) between post exercise prolactin and S100B levels in CYC, but not in RUN. There was no significant difference for CRP among all time points on both situations (data not shown).

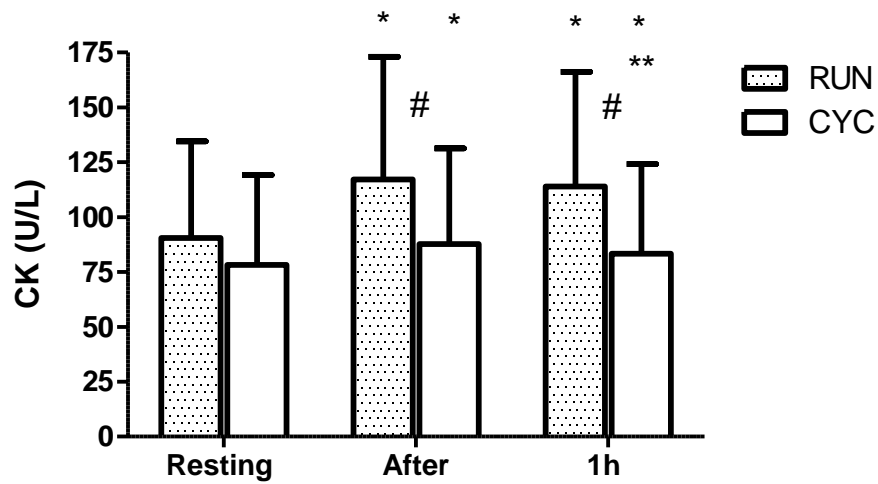


Figure 1 – Serum CK activity in RUN and CYC

\* Significantly different from resting ( $p < 0.05$ )

\*\* Significantly different from after ( $p < 0.05$ )

# Significantly different between RUN and CYC ( $p < 0.05$ )

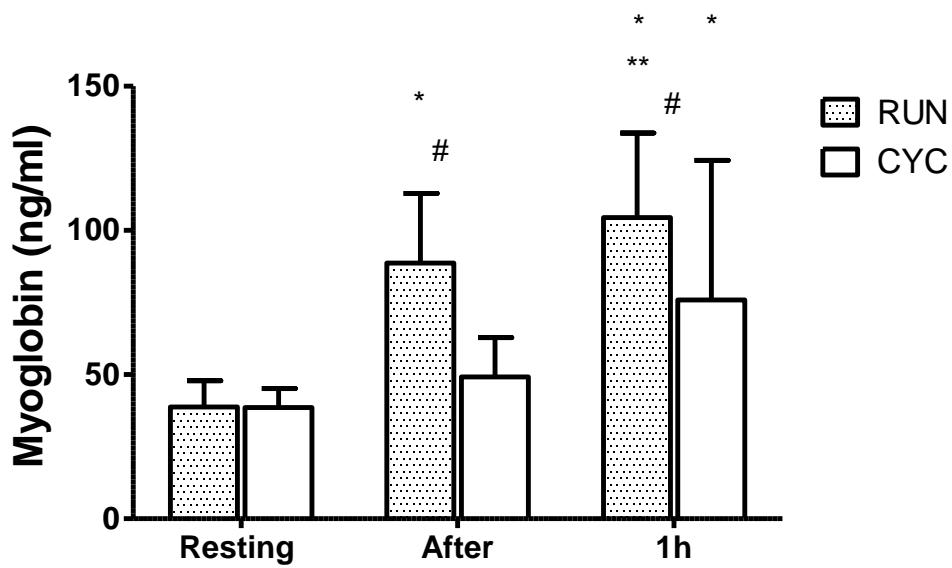


Figure 2 – Serum myoglobin concentration in RUN and CYC

\* Significantly different from resting ( $p < 0.05$ )

\*\* Significantly different from after ( $p < 0.05$ )

# Significantly different between RUN and CYC ( $p < 0.05$ )

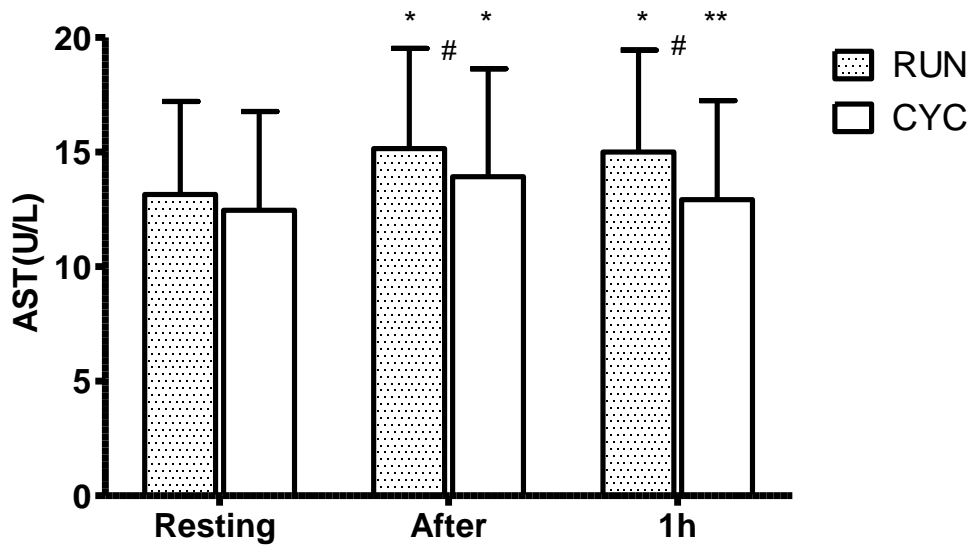


Figure 3 – Serum AST activity in RUN and CYC

\* Significantly different from resting ( $p < 0.05$ )

\*\* Significantly different from after ( $p < 0.05$ )

# Significantly different between RUN and CYC ( $p < 0.05$ )

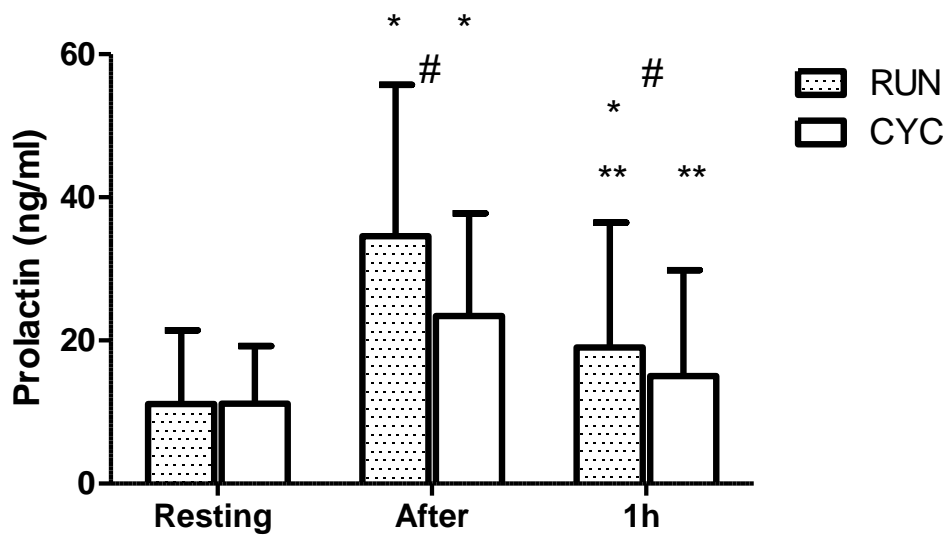


Figure 4 – Serum prolactin concentration in RUN and CYC

\* Significantly different from resting ( $p < 0.05$ )

\*\* Significantly different from after ( $p < 0.05$ )

# Significantly different between RUN and CYC ( $p < 0.05$ )

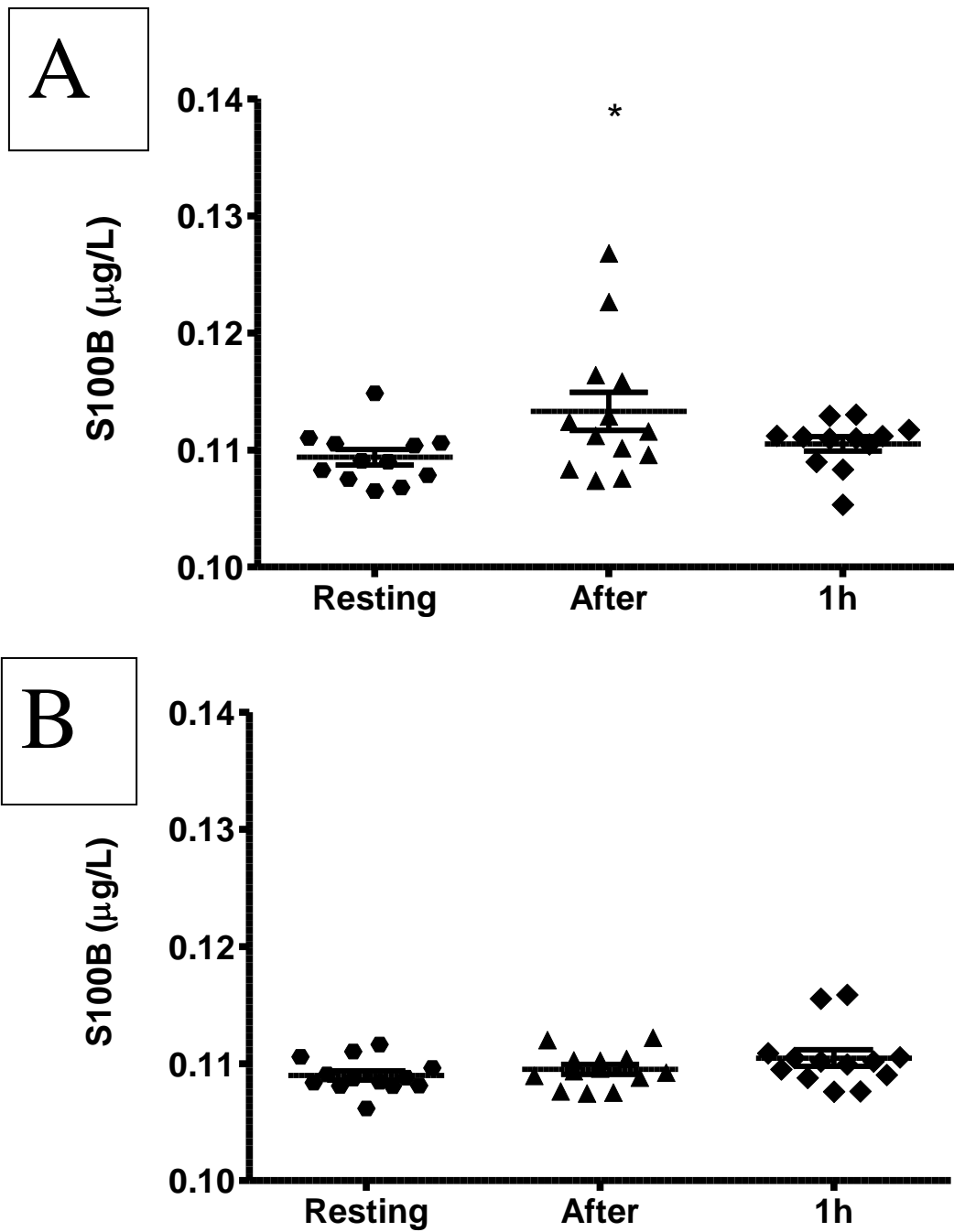


Figure 1. Serum S100B concentration in RUN (A) and in CYC (B).

\* Significantly different from resting ( $p < 0.05$ )



Table I – Resting values and difference ( $\Delta$ ) between post exercise and resting values

Marker	RUN		CYC	
	Resting	$\Delta$	Resting	$\Delta$
CK (U/L)	99.5 $\pm$ 44.1	26.7 $\pm$ 16.5*	78.3 $\pm$ 40.9	9.4 $\pm$ 4.4
AST (U/L)	13.2 $\pm$ 4.1	2.0 $\pm$ 1.1	12.5 $\pm$ 4.3	1.5 $\pm$ 0.9
Myoglobina (ng/ml)	38.8 $\pm$ 9.1	49.9 $\pm$ 23.8*	38.6 $\pm$ 6.5	10.6 $\pm$ 11.9
C P ( $\mu$ g/dL)	0.06 $\pm$ 0.02	0.005 $\pm$ 0.01	0.09 $\pm$ 0.05	0.004 $\pm$ 0.01
Prolactin (ng/ml)	11.1 $\pm$ 10.3	23.5 $\pm$ 15.6*	11.2 $\pm$ 8.0	12.3 $\pm$ 8.9

\* Significantly different from CYC ( $p < 0,05$ )

## DISCUSSION

This study investigated the S100B response to impact and non-impact exercise in the same group of athletes, performing both protocols at the same relative intensity (anaerobic threshold) and duration. So in order to study the interaction between S100B and muscle damage caused by these different types of exercise, we evaluated traditional markers of muscle damage, as CK, Mb and AST. Our results showed that a single bout of impact exercise (RUN) promoted an increase in serum S100B levels in athletes compared with their baseline values. However, the same intensity/duration single bout of non-impact exercise (CYC) was not able to significantly increase S100B's levels above baseline levels. The RUN protocol resulted in a variation from pre to post exercise S100B values that was smaller than previous studies [4-7, 24-27]. The small sample variability for S100B observed in our study may be accounted for the statistical significance found, although the small increase in S100B.

Considering that running presents a higher eccentric component than cycling, we would expect a higher muscular damage in running than in cycling, as it was observed in a previous study [33] and in our study. Previous studies have associated S100B levels and markers of muscle damage, particularly CK activity, and found positive correlations [25, 27]. Although in our study the increases in CK, AST and S100B were not correlated, we did find a positive correlation between myoglobin and S100B post exercise in both experimental situations. Some studies using CK as a muscle damage marker, point to its delayed increase in circulation [34-36], reaching peak values 24 to 48h post-exercise. However, in the present study we did not take

blood samples corresponding to these CK peak values, but evaluated myoglobin, that increases more rapidly after exercise. In a previous study, the median time-to peak values for Mb was 120 min [36], much earlier than 24h time-to peak values observed for CK in the same study. Moreover, given the blood sampling time frame and also exercise duration adopted in our study, myoglobin probably better reflected the magnitude of muscle damage produced by exercise.

Regarding possible mechanisms involved in S100B increases after exercise, we also investigated the association between S100B and prolactin increases after exercise, since prolactin is considered an indirect parameter of central serotonergic activity [37]. Our group previously suggested that S100B increase observed after exercise could be associated to serotonergic stimulation [24], since modulation of astrocytic 5-HT<sub>1A</sub> receptors by serotonin causes S100B releases from astrocytes [38]. Prolactin levels have significantly increased post exercise above resting levels on both protocols. According to Bridget et al. [39] the rise in circulating prolactin after extenuating exercise could also be related to rectal temperature elevation. Since body temperature is a consequence of exercise intensity and ambient conditions (kept the same on both protocols), we can assume, even without evaluating the participant's body temperature, that there was little or no difference in body temperature between RUN and CYC exercises. This idea is reinforced by the fact that there was no difference in perceived effort between protocols, since RPE increases throughout exercise in parallel with the increase in rectal temperature [40]. Furthermore, we cannot explain the higher prolactin levels found in RUN protocol based on increments in body temperature as suggest previously [39]. Thus, we cannot completely associate the increases in serum prolactin and S100B levels since they were not correlated on RUN, possibly due to the muscular contribution on S100B elevation. On the contrary, on CYC protocol there was a significant correlation between S100B and prolactin post exercise, but there was less muscle damage. Dietrich et al [24] evaluating swimmers could not find an association between prolactin and S100B response to exercise, and they didn't evaluate muscle damage markers. A previous study examined the S100B response to treadmill walking exercise with marked heat strain and found no changes in serum S100B from pre to post exercise [26], although the subjects presented hyperthermia.

Since adipocytes are considered a peripheral source of S100B [28, 29], its contribution to S100B levels during exercise may increase due to increments in lipolysis. None previous study about S100B and exercise has used markers to determine lipid mobilization. Although in our study we haven't used a biochemical marker of lipid mobilization, we could calculate respiratory exchange rate (RER) from the gas exchange measurements, as previously described [41]. Both protocols

presented a similar RER throughout exercise, which indicates that there was no difference in lipid mobilization during both types of exercise. Moreover, lipid mobilization cannot account for the increase in S100B levels observed after RUN.

The novelty of this study is that it examined the effect of exercise type upon S100B levels and concomitantly investigated prolactin and blood markers for muscle damage. From the present results, it seems that S100B response to exercise vary with exercise type, and not only as a result from intensity and duration. Importantly, exercise intensity and duration may directly influence the degree of muscle damage thus exacerbating S100B response. With regards to the mechanism involved in S100B secretion during exercise, our results point to a possible interaction among central and peripheral sources, particularly skeletal muscle.

## CONCLUSION

The present work showed that exercise that presents a higher muscle damage (RUN) promoted an increase in serum S100B levels, while exercise in the same intensity/duration with lesser muscle damage didn't present a significant increase in S100B. In the present study the results for S100B and prolactin association were not consistent on both protocols. Moreover, we cannot entirely attribute S100B increase after RUN exercise to muscle damage, since under physiological conditions S100B is mainly secreted by the CNS.

## ACKNOWLEDGMENTS

This research was supported by CAPES, CNPq and FAPERGS.

## REFERENCES

1. Daussin, F.N., J. Zoll, S.P. Dufour, E. Ponsot, E. Lonsdorfer-Wolf, S. Doutreleau, B. Mettauer, F. Piquard, B. Geny, and R. Richard, Effect of interval versus continuous training on cardiorespiratory and mitochondrial functions: relationship to aerobic performance improvements in sedentary subjects. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2008. **295**(1): p. R264-72.
2. Rogers, C.J., L.H. Colbert, J.W. Greiner, S.N. Perkins, and S.D. Hursting, Physical activity and cancer prevention: pathways and targets for intervention. *Sports Med*, 2008. **38**(4): p. 271-96.
3. Cotman, C.W. and N.C. Berchtold, Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci*, 2002. **25**(6): p. 295-301.
4. Otto, M., S. Holthusen, E. Bahn, N. Sohnchen, J. Wiltfang, R. Geese, A. Fischer, and C.D. Reimers, Boxing and running lead to a rise in serum levels of S-100B protein. *Int J Sports Med*, 2000. **21**(8): p. 551-5.
5. Stalnacke, B.M., Y. Tegner, and P. Sojka, Playing soccer increases serum concentrations of the biochemical markers of brain damage S-100B and

- neuron-specific enolase in elite players: a pilot study. *Brain Inj*, 2004. **18**(9): p. 899-909.
6. Stalnacke, B.M., Y. Tegner, and P. Sojka, Playing ice hockey and basketball increases serum levels of S-100B in elite players: a pilot study. *Clin J Sport Med*, 2003. **13**(5): p. 292-302.
  7. Stalnacke, B.M., A. Ohlsson, Y. Tegner, and P. Sojka, Serum concentrations of two biochemical markers of brain tissue damage S-100B and neurone specific enolase are increased in elite female soccer players after a competitive game. *Br J Sports Med*, 2006. **40**(4): p. 313-6.
  8. Donato, R., S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles. *Int J Biochem Cell Biol*, 2001. **33**(7): p. 637-68.
  9. Nishiyama, H., T. Knopfel, S. Endo, and S. Itohara, Glial protein S100B modulates long-term neuronal synaptic plasticity. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002. **99**(6): p. 4037-42.
  10. Kleindienst, A., M.J. McGinn, H.B. Harvey, R.J. Colello, R.J. Hamm, and M.R. Bullock, Enhanced hippocampal neurogenesis by intraventricular S100B infusion is associated with improved cognitive recovery after traumatic brain injury. *J Neurotrauma*, 2005. **22**(6): p. 645-55.
  11. Tramontina, F., S. Conte, D. Goncalves, C. Gottfried, L.V. Portela, L. Vinade, C. Salbego, and C.A. Goncalves, Developmental changes in S100B content in brain tissue, cerebrospinal fluid, and astrocyte cultures of rats. *Cell Mol Neurobiol*, 2002. **22**(3): p. 373-8.
  12. Portela, L.V., A.B. Tort, D.V. Schaf, L. Ribeiro, D.B. Nora, R. Walz, L.N. Rotta, C.T. Silva, J.V. Busnello, F. Kapczinski, C.A. Goncalves, and D.O. Souza, The serum S100B concentration is age dependent. *Clin Chem*, 2002. **48**(6 Pt 1): p. 950-2.
  13. Portela, L.V., J.C. Brenol, R. Walz, M. Bianchin, A.B. Tort, U.P. Canabarro, S. Beheregaray, J.A. Marasca, R.M. Xavier, E.C. Neto, C.A. Goncalves, and D.O. Souza, Serum S100B levels in patients with lupus erythematosus: preliminary observation. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2002. **9**(1): p. 164-6.
  14. Nylen, K., M. Ost, L.Z. Csajbok, I. Nilsson, C. Hall, K. Blennow, B. Nellgard, and L. Rosengren, Serum levels of S100B, S100A1B and S100BB are all related to outcome after severe traumatic brain injury. *Acta Neurochir (Wien)*, 2008. **150**(3): p. 221-7; discussion 227.
  15. Petzold, A., P. Michel, M. Stock, and M. Schlupe, Glial and axonal body fluid biomarkers are related to infarct volume, severity, and outcome. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2008. **17**(4): p. 196-203.
  16. Walz, R., L.V. Portela, A.B. Tort, E.C. Neto, L.N. Fernandes, C.A. Goncalves, and D.O. Souza, Serum S100B levels in patients with HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *Neurology*, 2000. **54**(10): p. 2021-2.
  17. Schaf, D.V., A.B. Tort, D. Fricke, P. Schestatsky, L.V. Portela, D.O. Souza, and C.R. Rieder, S100B and NSE serum levels in patients with Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*, 2005. **11**(1): p. 39-43.
  18. Lara, D.R., C.S. Gama, P. Belmonte-de-Abreu, L.V. Portela, C.A. Goncalves, M. Fonseca, S. Hauck, and D.O. Souza, Increased serum S100B protein in schizophrenia: a study in medication-free patients. *J Psychiatr Res*, 2001. **35**(1): p. 11-4.
  19. Machado-Vieira, R., D.R. Lara, L.V. Portela, C.A. Goncalves, J.C. Soares, F. Kapczinski, and D.O. Souza, Elevated serum S100B protein in drug-free bipolar patients during first manic episode: a pilot study. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2002. **12**(3): p. 269-72.
  20. Anderson, R.E., L.O. Hansson, O. Nilsson, R. Djalil-Merzoug, and G. Settergren, High serum S100B levels for trauma patients without head injuries. *Neurosurgery*, 2001. **48**(6): p. 1255-8; discussion 1258-60.

21. Suzuki, F., K. Kato, and T. Nakajima, Hormonal regulation of adipose S-100 protein release. *J Neurochem*, 1984. **43**(5): p. 1336-41.
22. Snyder-Ramos, S.A., T. Gruhlke, H. Bauer, M. Bauer, A.P. Luntz, J. Motsch, E. Martin, C.F. Vahl, U. Missler, M. Wiesmann, and B.W. Bottiger, Cerebral and extracerebral release of protein S100B in cardiac surgical patients. *Anaesthesia*, 2004. **59**(4): p. 344-9.
23. Mazzini, G.S., D.V. Schaf, A.R. Oliveira, C.A. Goncalves, A. Bello-Klein, S. Bordignon, R.S. Bruch, G.F. Campos, D.V. Vassallo, D.O. Souza, and L.V. Portela, The ischemic rat heart releases S100B. *Life Sci*, 2005. **77**(8): p. 882-9.
24. Dietrich, M.O., A.B. Tort, D.V. Schaf, M. Farina, C.A. Goncalves, D.O. Souza, and L.V. Portela, Increase in serum S100B protein level after a swimming race. *Can J Appl Physiol*, 2003. **28**(5): p. 710-6.
25. Hasselblatt, M., F.C. Mooren, N. von Ahsen, K. Keyvani, A. Fromme, K. Schwarze-Eicker, V. Senner, and W. Paulus, Serum S100beta increases in marathon runners reflect extracranial release rather than glial damage. *Neurology*, 2004. **62**(9): p. 1634-6.
26. Chevront, S.N., T.D. Chinevere, B.R. Ely, R.W. Kenefick, D.A. Goodman, J.P. McClung, and M.N. Sawka, Serum S-100beta Response to Exercise-Heat Strain before and after Acclimation. *Med Sci Sports Exerc*, 2008. **40**(8): p. 1477-82.
27. Schulpis, K.H., M. Moukas, T. Parthimos, T. Tsakiris, N. Parthimos, and S. Tsakiris, The effect of alpha-Tocopherol supplementation on training-induced elevation of S100B protein in sera of basketball players. *Clin Biochem*, 2007. **40**(12): p. 900-6.
28. Scaccianoce, S., P. Del Bianco, G. Pannitteri, and F. Passarelli, Relationship between stress and circulating levels of S100B protein. *Brain Res*, 2004. **1004**(1-2): p. 208-11.
29. Netto, C.B., S. Conte, M.C. Leite, C. Pires, T.L. Martins, P. Vidal, M.S. Benfato, R. Giugliani, and C.A. Goncalves, Serum S100B protein is increased in fasting rats. *Arch Med Res*, 2006. **37**(5): p. 683-6.
30. Wasserman, K. and M.B. McIlroy, Detecting The Threshold Of Anaerobic Metabolism In Cardiac Patients During Exercise. *Am J Cardiol*, 1964. **14**: p. 844-52.
31. Dekerle, J., B. Baron, L. Dupont, J. Vanvelcenaher, and P. Pelayo, Maximal lactate steady state, respiratory compensation threshold and critical power. *Eur J Appl Physiol*, 2003. **89**(3-4): p. 281-8.
32. Borg, G., *Borg's Perceived Exertion and Pain Scales*. 1998, Champaign, IL: Human Kinetics.
33. Koller, A., J. Mair, W. Schobersberger, T. Wohlfarter, C. Haid, M. Mayr, B. Villiger, W. Frey, and B. Puschendorf, Effects of prolonged strenuous endurance exercise on plasma myosin heavy chain fragments and other muscular proteins. Cycling vs running. *J Sports Med Phys Fitness*, 1998. **38**(1): p. 10-7.
34. Byrnes, W.C., P.M. Clarkson, J.S. White, S.S. Hsieh, P.N. Frykman, and R.J. Maughan, Delayed onset muscle soreness following repeated bouts of downhill running. *J Appl Physiol*, 1985. **59**(3): p. 710-5.
35. Kyrolainen, H., T. Pullinen, R. Candau, J. Avela, P. Huttunen, and P.V. Komi, Effects of marathon running on running economy and kinematics. *Eur J Appl Physiol*, 2000. **82**(4): p. 297-304.
36. Sorichter, S., J. Mair, A. Koller, W. Gebert, D. Rama, C. Calzolari, E. Artner-Dworzak, and B. Puschendorf, Skeletal troponin I as a marker of exercise-induced muscle damage. *J Appl Physiol*, 1997. **83**(4): p. 1076-82.
37. Van de Kar, L.D., P.A. Rittenhouse, Q. Li, and A.D. Levy, Serotonergic regulation of renin and prolactin secretion. *Behav Brain Res*, 1996. **73**(1-2): p. 203-8.

38. Azmitia, E.C., Modern views on an ancient chemical: serotonin effects on cell proliferation, maturation, and apoptosis. *Brain Res Bull*, 2001. **56**(5): p. 413-24.
39. Bridget, M., T. Allen, A. Sharma, and D. Jones, Effect of ambient temperature on exercise-induced prolactinaemia. *J Physiol (Lond)*, 1999. **521**: p. 103P.
40. Bridge, M.W., A.S. Weller, M. Rayson, and D.A. Jones, Responses to exercise in the heat related to measures of hypothalamic serotonergic and dopaminergic function. *Eur J Appl Physiol*, 2003. **89**(5): p. 451-9.
41. Pillard, F., C. Moro, I. Harant, E. Garrigue, M. Lafontan, M. Berlan, F. Crampes, I. de Glisezinski, and D. Riviere, Lipid oxidation according to intensity and exercise duration in overweight men and women. *Obesity (Silver Spring)*, 2007. **15**(9): p. 2256-62.