

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DO MOVIMENTO HUMANO

EFEITO DOS EXERCÍCIOS CONCÊNTRICOS E EXCÊNTRICOS SOBRE A
HEMOSTASIA

Bruno Costa Teixeira

Porto Alegre
Agosto de 2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DO MOVIMENTO HUMANO

EFEITO DOS EXERCÍCIOS CONCÊNTRICOS E EXCÊNTRICOS SOBRE A
HEMOSTASIA

Bruno Costa Teixeira

Dissertação de mestrado apresentada
ao Programa de Pós Graduação em
Ciências do Movimento Humano
como requisito parcial para a
obtenção do grau de mestre.

Orientador

Prof. Álvaro Reischak de Oliveira

Local de realização

Escola de Educação Física da UFRGS

Porto Alegre

Agosto de 2012

CIP - Catalogação na Publicação

Costa Teixeira, Bruno
Efeitos dos exercícios concêntricos e excêntricos
na hemostasia / Bruno Costa Teixeira. -- 2012.
60 f.

Orientador: Alvaro Reischak de Oliveira.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Escola de Educação Física, Programa
de Pós-Graduação em Ciências do Movimento Humano,
Porto Alegre, BR-RS, 2012.

1. Exercício. 2. Inflamação . 3. Sangue. I.
Reischak de Oliveira, Alvaro, orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho só foi possível de ser realizada, graças à ajuda, compreensão, comprometimento e dedicação de várias pessoas que faço questão de agradecer neste momento.

Gostaria de agradecer muito a minha família, Pai; Carlos Alberto Carvalho Teixeira, Mãe; Anselma Costa Teixeira, Irmão; Marcelo Costa Teixeira, pelo amor companheirismo, compreensão, amizade e dedicação que tiveram durante todo esse tempo.

Gostaria de agradecer também ao restante da minha família e a pessoas que fazem parte dela, Rodrigo Ramos Costa, Felipe Cândido, Valdir Sidinei Costa, Célia Costa, Virgínia de Moura Souza, Celso Zarth, Isabel de Moura Souza e especialmente aos meus padrinhos Silvia Mantovani Teixeira e Claudio Gilberto Carvalho Teixeira.

Aos meus colegas, André Luiz Lopes, Rodrigo Macedo, Cleiton Correa, Jeam Geremia, Aguiar Lemos, Giovani dos Santos Cunha, Diana Perin, Julia Gross, Renata Kruger, Randhall Carteri, Leandro Lemos, Matheus Cassales.

A todos os voluntários que participaram do estudo e ajudaram a concretizar esse trabalho, pois sem eles nada aconteceria.

Aos professores que fizeram toda a diferença, Maristela Padilha, Alessandra Peres, Ronei Silveira Pinto, Marco Aurélio Vaz, Eliane Bandinelli e principalmente, Jerri Luiz Ribeiro que além de professor se tornou grande amigo.

A todos os professores do PPGCMH pelos ensinamentos que me foram passados.

Aos funcionários do LAPEX e do PPGCMH, Dani, Luciano, Alex Fagundes, Luis, Marcio, Rosane, Aninha, André e Jaque.

Gostaria de agradecer a REUNI pelo apoio financeiro que me foi dado durante esses anos de mestrado.

Por último, gostaria de fazer um agradecimento especial ao meu orientador, Prof. Alvaro R. Oliveira, pela oportunidade que me foi dada, por todos os ensinamentos

e por toda paciência e atenção que teve comigo durante esse tempo. Obrigado por além de um grande orientador ser também um grande amigo.

RESUMO

Existem evidências mostrando que diferentes tipos de contração realizadas no exercício de força, podem causar alterações distintas na hemostasia e inflamação. O exercício estimula a coagulação através do aumento do fator VIII (FVIII) e de fator von Willebrand (FvW). A atividade fibrinolítica é regulada, principalmente, pelo ativador de plasminogênio tecidual (t-PA) e pelo inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1 (PAI-1), o aumento da atividade fibrinolítica como consequência da atividade física é atribuída ao aumento da liberação de t-PA pelo endotélio vascular e à diminuição na atividade do PAI-1. O exercício excêntrico causa maiores danos à fibra muscular e uma maior resposta inflamatória de proteína C reativa (PCR). A PCR quando aumentada desregula o balanço entre coagulação e fibrinólise devido ao aumento de PAI-1 o que aumenta o risco para formação de trombos. Participaram do estudo 11 sujeitos jovens, sedentários, com idade média de $25,4 \pm 2,8$ anos, estatura $176,2 \pm 4,4$ cm, massa corporal $77,1 \pm 8,7$ kg, massa de gordura $32,3 \pm 5,2$ kg e $VO_{2m\acute{a}x}$ $41,4 \pm 6,5$ ml/kg/min⁻¹. Na primeira semana os sujeitos realizavam três visitas ao laboratório, na primeira visita realizavam coletas de sangue pré e pós protocolo, uma contração voluntária máxima (CVM) em um protocolo de dano isocinético, na segunda e terceira visita os sujeitos realizavam apenas a coleta de sangue e a CVM. Na segunda semana após sete dias de descanso os sujeitos repetiam todos os testes da semana anterior mudando apenas o tipo de contração. Os protocolos de dano concêntrico eram decididos por sorteio no dia do teste. O protocolo excêntrico apresentou maior déficit de torque 24h ($62,4 \pm 30,6$ 5,3 \pm 29,9 Nm) e 48h pós a realização ($64,3 \pm 33,6$; $2,5 \pm 31,1$ Nm). Também existiu um aumento de PCR no excêntrico 48h pós ($0,140 \pm 0,04$; $0,06 \pm 0,04$ mg/L) e um aumento da inibição de fibrinólise por aumento de PAI-1 48h pós quando comparados ao concêntrico ($13,5 \pm 7,5$; $7,3 \pm 6,7$ ug/L). Além disso, foi encontrada uma correlação positiva entre PCR e PAI-1 no protocolo excêntrico 48h pós $r = 0,69$; $p < 0,05$. Concluímos com este estudo que o exercício excêntrico causa maior perda de força, maior resposta inflamatória e essa resposta inflamatória aumenta a inibição do processo fibrinolítico.

Palavras chave: Exercício, inflamação e sangue.

ABSTRACT

There is evidence that different types of contraction performed in the exercise of strength, can cause different changes in hemostasis and inflammation. Exercise stimulates coagulation by increasing factor VIII (FVIII) and von Willebrand factor (vWF). The fibrinolytic activity is regulated primarily by tissue plasminogen activator (t-PA) and plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1), increased fibrinolytic activity as a consequence of physical activity is attributed to increased release of t-PA by vascular endothelium and a decrease in the activity of PAI-1. The eccentric exercise causes greater damage to muscle fibers and a greater inflammatory response of c-reactive protein (CRP). PCR deregulates increased when the balance between clotting and fibrinolysis because of increased PAI-1 increases the risk for thrombus formation. The study included 11 young subjects who were sedentary, with a mean age of 25.4 ± 2.8 years, height 176.2 ± 4.4 cm, body mass 77.1 ± 8.7 kg, fat mass 32.3 ± 5.2 kg and VO_{2max} 41.4 ± 6.5 ml / kg / min⁻¹. In the first week the subjects performed three visits to the laboratory, the first visit performed blood sampling before and after protocol, a maximum voluntary contraction (MVC) in a protocol of isokinetic damage in the second and third visit, the subjects performed only the blood collection and CVM. In the second week after seven days of rest subjects repeated all the tests the week before just changing the type of contraction. The damage concentric protocols were decided by lottery on test day. The protocol had higher eccentric torque deficit 24 (62.4 ± 5.3 30.6 ± 29.9 Nm) and 48 hours after the completion (64.3 ± 33.6 , 31.1 ± 2.5 Nm). There was also an increase in PCR cam 48h post (0.140 ± 0.04 , 0.06 ± 0.04 mg/L) and inhibiting an increase in fibrinolysis by increasing PAI-1 after 48 hours when compared to the concentric (13 , 5 ± 7.5 , 7.3 ± 6.7 ug/L). Furthermore, we found a positive correlation between CRP and PAI-1 in the protocol 48h after eccentric $r = 0.69$, $p < 0.05$. We conclude from this study that eccentric exercise causes greater loss of strength, a greater inflammatory response and the inflammatory response increases the inhibition of fibrinolysis.

Keywords: Exercise, inflammation and blood.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ACTH – Hormônio adrenocorticotrófico
ADP – Adenosina difosfato
aPTT – Tromboplastina ativada
ATP – Adenosina trifosfato
Ca⁺⁺ – Cálcio
CK – Creatina Quinase
CVM – Contração voluntária máxima
ECG – Eletrocardiograma
EDRF – fator de relaxamento derivado do endotélio.
eNOS – Enzima óxido nítrico sintase endotelial
ERO – Espécie reativa de oxigênio
ET-1 – Endotelina
FVIII – Fator oito pro coagulante
FvW – Fator von Willebrand
GMP – Guanina monofosfato
GMPc – Guanina monofosfato cíclico
GTP – Guanina trifosfato
IL-6 – Interleucina-6
IL-1 β – Interleucina- 1 β
K – Potássio
LDL – Lipoproteína de baixa densidade
MMP-1 – matriz da metaloproteinase-1
NADPH – Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase
NO – Óxido Nítrico
NO₂⁻ – Nitrito
NO₃⁻ – Nitrato
PAI-1 – Inibidor do ativador do plaminogênio tipo 1
PCr – Proteína c-reativa
PGI₂ – Prostaciclina
TNF- α – Fator de necrose tumoral - α
t-PA – Ativador do plasminogênio
VCAM-1 – Molécula de adesão vascular 1
CVM – Contração voluntária máxima

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Dados de caracterização da amostra expressos em média \pm DP

Tabela 2 - Dados de registro alimentar

Tabela 3- Teste de Coeficiente de Correlação Intraclasse (ICC)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Sequência temporal dos protocolos realizados durante o estudo

Figura 2- Equipamento para dinamometria isocinética.

Figura 3- Coagulometro Stago US Start 4

Figura 4- Equipamento para análise colorimétrica ELISA

Figura 5- Multianalisador bioquímico Cobas Mira Plus

Figura 6- Comportamento da força isométrica

Figura 7- Comportamento do déficit de força isométrica

Figura 8- Comportamento das concentrações de Fator Von Willebrand (FvW)

Figura 9- Comportamento das concentrações de Ativador de Plasminogênio (t-PA)

Figura 10- Comportamento das concentrações de fator oito coagulante (FVIII)

Figura 11- Comportamento das concentrações de inibidor do ativador de plasminogênio (PAI-1)

Figura 12- Comportamento das concentrações de proteína c reativa (PCR)

Figura 13 - Correlação entre proteína c reativa (PCR) e inibidor do ativador do plasminogênio (PAI-1)

Sumário

1. INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 HEMOSTASIA	15
2.2 EXERCÍCIO EXCÊNTRICO E CONCÊNTRICO	16
2.3 EXERCÍCIO DE FORÇA E RESPOSTAS PRÓ-TROMBÓTICAS E HIPOFIBRINOLÍTICAS	18
2.4 EXERCÍCIO DE FORÇA E MARCADORES INFLAMATÓRIOS	19
2.5 PROTEÍNA C REATIVA E HEMOSTASIA.....	20
3 PROBLEMA DE PESQUISA	22
4 OBJETIVOS	22
4.1 OBJETIVO GERAL	22
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	22
4.3 HIPÓTESES	23
5 DEFINIÇÃO OPERACIONAL DAS VARIÁVEIS	24
5.1 VARIÁVEIS INDEPENDENTES	24
5.2 VARIÁVEIS DEPENDENTES	24
5.3 VARIÁVEIS INTERVENIENTES.....	25
6 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS	26
6.1 TIPOS DE ESTUDO, POPULAÇÃO E AMOSTRA	26
6.2 DESENHO DO ESTUDO	26
7 INSTRUMENTOS DE MEDIDA E PROCEDIMENTOS DE COLETA	28
7.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA.....	28
7.1.1 MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS	28
7.1.2 CONSUMO MÁXIMO DE OXIGÊNIO $VO_{2\text{ MAX}}$	28
7.1.3 TEMPO DE PROTROMBINA TP E TEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ATIVADA TTPa.....	29
7.2 CONTROLE DIETÉTICO.....	29
7.3 AVALIAÇÃO ISOCINÉTICA	30
7.4 AVALIAÇÃO SANGUÍNEA	31
7.4.1 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS	32
7.4.2 ANÁLISE DAS AMOSTRAS	32
7.5 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	34
7.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	35
8 RESULTADOS	36
8.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA.....	36
8.2 RECORDATÓRIOS ALIMENTARES DE 24 HORAS	37
8.3 CONTRAÇÃO VOLUNTÁRIA MÁXIMA (CVM).....	38
8.4 DÉFICIT DE FORÇA	39
8.5 FATOR DE VON WILLEBRAND	40
8.6 ATIVADOR DE PLASMINOGÊNIO (T-PA)	41
8.7 FATOR VIII DE COAGULAÇÃO	42

	11
8.8 INIBIDOR DO ATIVADOR DE PLASMINOGÊNIO (PAI-1).....	43
8.9 PROTEÍNA C REATIVA (PCR)	44
8.10 PROTEÍNA C REATIVA (PCR) E INIBIDOR DO ATIVADOR DE PLASMINOGÊNIO (PAI-1).....	45
9 DISCUSSÃO	47
10 CONCLUSÃO	51
11 LIMITAÇÕES	51
12 REPERCUSSÕES CLÍNICAS E PERSPECTIVAS.....	51
13 REFERÊNCIAS.....	53
ANEXO 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	57
ANEXO 2 - ANAMNESE.....	59

1. INTRODUÇÃO

O estudo da hemostasia, inflamação e suas relações com o exercício de força tornou-se objeto de estudo deste projeto a partir de evidências que sugerem que diferentes tipos de contração realizadas durante o exercício de força podem causar alterações distintas em ambos os sistemas citados acima (Leon, Connett et al. 1987; Blair, Kohl et al. 1995). Estudos anteriores mostram que o tipo de contração pode influenciar no balanço entre coagulação e fibrinólise. A contração realizada de forma excêntrica causa maiores danos à fibra muscular quando comparada a contração concêntrica, gerando com isso um maior processo inflamatório que pode ter relação com a diminuição do processo fibrinolítico, tendo em vista que a resposta do sistema de coagulação sanguínea não difere nos dois tipos de contração (Ribeiro, Almeida-Dias et al. 2007).

Vários protocolos com diferentes tipos e intensidades de exercício têm sido aplicados, mas poucos estudos compararam o exercício de força excêntrica com o de força concêntrica, para as variáveis de hemostasia, analisando o balanço entre coagulação, fibrinólise e inflamação, principalmente a proteína c reativa PCR (Radomski, Palmer et al. 1987).

Com relação à coagulação, diversos estudos têm demonstrado que o exercício físico agudo estimula o aumento dos níveis plasmáticos do complexo do fator VIII (Cohen, Epstein et al. 1968; Wheeler, Davis et al. 1986). Esse complexo é composto por duas proteínas: o fator VIII pro coagulante (FVIII) e o fator von Willebrand (FvW) (Andrew, Carter et al. 1986; Bourey and Santoro 1988; Vlot, Koppelman et al. 1998). O FVIII circula no plasma, formando um complexo não covalente com o FvW (Vlot, Koppelman et al. 1998). O FvW é uma glicoproteína de estrutura multimérica que é encontrada no plasma, nos α -grânulos de plaquetas e no subendotélio vascular e é sintetizado por células endoteliais e megacariócitos (Ruggeri 1997; Vlot, Koppelman et al. 1998).

A atividade fibrinolítica é regulada, principalmente, pelo ativador de plasminogênio tecidual (t-PA) e pelo inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1 (PAI-1) (Stratton, Chandler et al. 1991). O aumento da atividade fibrinolítica como consequência da atividade física é atribuída ao aumento da liberação de t-PA pelo endotélio vascular e à diminuição na atividade do PAI-1 (Stratton, Chandler et al. 1991; Szymanski and Pate 1994).

O exercício excêntrico é metabolicamente menos exigente pois recruta menos unidades motoras, apresenta um gasto energético e um consumo de oxigênio menor, mas causa maiores danos à fibra muscular e uma maior resposta inflamatória quando comparado ao exercício concêntrico. Estudos mostram uma grande perda de força isométrica, que é a força realizada de forma máxima sem o deslocamento da resistência, principalmente 48 horas após a realização do exercício excêntrico (Paulsen, Benestad et al. 2005; Baroni, Leal Junior et al. 2010).

Este dano causado pelo exercício excêntrico, no entanto, não é apenas dirigido à fibra muscular, mas também pode afetar o endotélio vascular por meio da liberação de fatores inflamatórios e EROs, o que pode até agravar o dano muscular. Sua contribuição no aumento da inflamação é bem conhecida e a inflamação parece estar ligada com a inibição do sistema fibrinolítico, aumentando o risco para formação de trombos (Adams, Duvoisin et al. 1992; Speidl, Zeiner et al. 2005; Ribeiro, Almeida-Dias et al. 2007; Baroni, Leal Junior et al. 2010).

Após o exercício de força, acontecem alterações no sistema inflamatório, como um aumento na população de células inflamatórias circulantes, inicialmente neutrófilos e monócitos, posteriormente linfócitos, que são recrutados para os sítios de inflamação onde produzem espécies reativas de oxigênio (ERO) e enzimas proteolíticas para limpar e reparar o tecido lesado. Também existe um aumento na síntese de citocinas pró-inflamatórias tais como fator de necrose tumoral – α (TNF- α) e interleucina 1 β (IL-1 β), estes estimulam a síntese de IL-6 que estimula a produção de PCR (Fay 2010).

Diversos estudos mostram que a PCR quando aumentada desregula o balanço entre coagulação e fibrinólise devido a inibição do tPA e aumento na concentração de

PAI-1 causados diretamente por essa proteína o que aumenta o risco para formação de trombos (Devaraj, Xu et al. 2003; Singh, Devaraj et al. 2005).

A partir dessas evidências da relação entre exercício de força concêntrica e excêntrica, nas respostas de força, hemostáticas e de inflamação, formulou-se o seguinte problema: quais os efeitos dos exercícios concêntricos e excêntricos sobre a força, hemostasia, inflamação e qual a relação entre essas variáveis?

2 REVISÃO DE LITERATURA

A revisão a seguir tem o objetivo de abordar os temas que serão discutidos ao longo do trabalho.

2.1 HEMOSTASIA

Hemostasia é o mecanismo fisiológico que tem por finalidade a prevenção da perda de sangue assim como a manutenção da sua fluidez. As substâncias que participam do processo da coagulação são chamadas de pró-coagulantes quando promovem e anticoagulantes quando inibem este processo. Quando um vaso é lesado, uma reação hemostática localizada é estimulada sendo mediada pela interação entre plaquetas, sistema de coagulação e endotélio vascular (Bourey and Santoro 1988).

Com relação à coagulação, diversos estudos têm demonstrado que o exercício físico estimula o aumento dos níveis plasmáticos do complexo do fator VIII (Cohen, Epstein et al. 1968; Wheeler, Davis et al. 1986). Esse complexo é composto por duas proteínas: o FVIII e o FvW (Andrew, Carter et al. 1986; Bourey and Santoro 1988; Vlot, Koppelman et al. 1998). O FVIII circula no plasma, formando um complexo não covalente com o FvW (Vlot, Koppelman et al. 1998). O FvW é uma glicoproteína de estrutura multimérica que é encontrada no plasma, nos α -grânulos de plaquetas e no subendotélio vascular e é sintetizado por células endoteliais e megacariócitos (Ruggeri 1997; Vlot, Koppelman et al. 1998).

A atividade fibrinolítica é regulada, principalmente, pelo t-PA e pelo PAI-1 (Stratton, Chandler et al. 1991). O aumento da atividade fibrinolítica como consequência da atividade física é atribuída ao aumento da liberação de t-PA pelo endotélio vascular e à diminuição na atividade do PAI-1 (Stratton, Chandler et al. 1991; Szymanski and Pate 1994).

O aumento no sistema de coagulação plaquetária tem sido implicado na patogênese de doenças vasculares (Bourey and Santoro 1988). Em contrapartida, uma ativação paralela da fibrinólise pode proteger contra eventos tromboembólicos (Korsan-Bengtzen, Wilhelmsen et al. 1973; Mockel, Ulrich et al. 1999). A coagulação e a fibrinólise constituem dois importantes oponentes fisiológicos na hemostasia e na formação de trombos, sendo que a ativação do sistema de coagulação induz a formação do coágulo de fibrina, enquanto a ativação do mecanismo fibrinolítico resulta na degradação desse coágulo. Esses sistemas são regulados por um balanço entre ativadores e inibidores que devem estar sempre em equilíbrio pra um bom funcionamento (van den Burg, Hospers et al. 1997). A resposta a alguns estímulos, dentre os quais está o exercício físico e a inflamação, podem gerar mudanças tanto nos mecanismos de coagulação quanto nos fibrinolíticos (Jern, Eriksson et al. 1989). Independente da causa, um desequilíbrio entre coagulação e fibrinólise pode estar implicado na patogenicidade da aterosclerose, de eventos tromboembólicos e das doenças cardiovasculares (Szymanski and Pate 1994; De Paz, Villa et al. 1995).

2.2 EXERCÍCIO EXCÊNTRICO E CONCÊNTRICO

O exercício concêntrico é caracterizado pela realização da contração seguido de um encurtamento muscular, tem como característica gerar uma força, um dano muscular e um processo inflamatório menor quando comparado ao exercício excêntrico.

O exercício excêntrico tem como característica a contração muscular simultânea ao estiramento, ou seja, o músculo faz força para contração ao mesmo tempo em que está se alongando. A quantidade de força desenvolvida nesse tipo de contração é aproximadamente duas vezes superior a da contração isométrica e esta maior força é atribuída aos componentes elásticos do músculo que estão agindo durante o alongamento (Jones and Round 1997).

O custo energético e o número de unidades motoras recrutadas durante este tipo de contração é menor em relação ao concêntrico e esta menor ativação de unidades motoras é responsável por uma maior produção de força por fibra muscular o que acaba acarretando um maior dano muscular, ocasionando dor muscular tardia após a realização de atividades intensas de exercício excêntrico. Reporta-se ainda que a intensidade do exercício possa ser o fator determinante na indução da lesão muscular e dor tardia, mais importante até mesmo que o volume do mesmo (Jones and Round 1997; Proske and Morgan 2001).

O dano da contração excêntrica é caracterizado pelo incremento da atividade da creatina quinase (CK), mioglobina, proteína S100b e outros marcadores presentes na circulação, além de alterações estruturais e redução de força. O padrão de danos musculares após contrações excêntricas já está bem caracterizado por estudos realizados em humanos e roedores. Em ambos, imediatamente após o exercício, por microscopia óptica se demonstra uma pequena evidência de dano. Em contraste, um exame por microscopia eletrônica demonstra claramente danos nos túbulos T e desorganização dos miofilamentos. Essas microlesões são resultado da alta força desenvolvida pelo músculo na contração excêntrica (Brooks, Zerba et al. 1995; Baroni, Leal Junior et al. 2010).

Essa quantidade relativamente pequena de danos será então amplificada nos próximos dias e fica claramente evidenciada a necrose com a infiltração de células imunitárias por três a quatro dias após a contração e pela perda secundária de força máxima (Brooks, Zerba et al. 1995).

Por estes fatores o exercício excêntrico parece causar maiores danos à musculatura, causando uma maior perda de torque e maior resposta inflamatória em comparação ao concêntrico. Esse dano pode atingir não apenas o sistema muscular, mas também o endotélio vascular uma vez que o exercício excêntrico causa um notável dano a musculatura, aumentando a inflamação e a produção de EROS (Speidl, Zeiner et al. 2005).

2.3 EXERCÍCIO DE FORÇA E RESPOSTAS PRÓ-TROMBÓTICAS E HIPOFIBRINOLÍTICAS

A ativação dos sistemas de coagulação e fibrinólise pós-exercício está bem documentada e dependem da intensidade do exercício (Bourey and Santoro 1988; Gibala, MacDougall et al. 1995). O estado de hipercoagulabilidade pós-exercício foi principalmente encontrado devido a maior contagem de plaquetas circulantes, tempo menor de ativação parcial da tromboplastina (TTPa) e aumento na atividade do F VIII e FvW (van den Burg, Hospers et al. 2000). Concomitantemente, a atividade fibrinolítica é aumentada por meio do incremento do t-PA e diminuição nos níveis circulantes do PAI-1 (Rankinen, Vaisanen et al. 1995; Prisco, Paniccia et al. 1998). Independente das diferenças nos tipos de exercício e nos protocolos experimentais dos estudos relacionados às respostas de coagulação e fibrinólise, estes têm demonstrado a ativação de ambos os sistemas paralelamente (Ferguson, Bernier et al. 1987; Hansen, Wilsgard et al. 1990; Prisco, Paniccia et al. 1998). Desta forma, existe um equilíbrio entre o sistema de coagulação e fibrinólise com o exercício, o que é crucial para o bom funcionamento do sistema. Muitos protocolos com diferentes tipos e intensidades de exercício têm sido utilizados nestes estudos, no entanto, poucos estudos comparam o esforço concêntrico com o excêntrico.

O exercício excêntrico provoca maiores danos à musculatura e com isso um aumento de processo inflamatório (Adams, Duvoisin et al. 1992). Isso é devido ao fato das contrações excêntricas recrutarem uma menor quantidade de unidades motoras para a mesma carga de trabalho, aumentando assim a carga relativa para cada fibra (Bouma and Mosner 2004). Sua contribuição na inflamação, coagulação e na fibrinólise é bem conhecida e a inflamação parece estar ligada com a ativação da coagulação e a inibição do sistema fibrinolítico o que poderia causar um desequilíbrio no sistema de coagulação e fibrinólise (Speidl, Zeiner et al. 2005; Ribeiro, Almeida-Dias et al. 2007).

Em um estudo que avaliou 20 crianças, 10 realizando exercícios com ênfase em contrações concêntricas e 10 em contrações excêntricas demonstrou que o exercício excêntrico causa um aumento dos fatores de coagulação F VIII, mas não aumenta o t-PA. Além disso, o exercício aumenta o PAI-1, o que pode causar um desequilíbrio no sistema de coagulação e fibrinólise, ao contrário do concêntrico que apresentou um aumento de ambos os fatores mantendo o equilíbrio hemostático (Ribeiro, Almeida-Dias et al. 2007). Essa menor atividade fibrinolítica mostrada no exercício excêntrico pode ser atribuída ao aumento do processo inflamatório ocasionado pelo maior dano muscular promovido por este tipo de contração. Alguns estudos mostram que fatores inflamatórios como PCR podem aumentar a síntese de PAI-1, diminuindo o processo de fibrinólise (Venugopal, Devaraj et al. 2003). No entanto este estudo não controlou de forma precisa a intensidade do exercício realizado, o que este trabalho pretende corrigir usando um equipamento padrão ouro para controle de intensidade de exercício de força.

2.4 EXERCÍCIO DE FORÇA E MARCADORES INFLAMATÓRIOS

O exercício de força, dependendo de sua intensidade, pode causar lesões musculares, caracterizadas pela dor muscular tardia, ruptura de fibras, liberação de proteínas musculares para o plasma, resposta imune de fase aguda e diminuição de força. O consumo de ATP, a alteração na homeostase do Ca^{++} e a produção de ERO têm sido demonstrados na lesão muscular e na etiologia da necrose (Stupka, Lowther et al. 2000; Stupka, Tarnopolsky et al. 2001).

Após o exercício de força, há alterações na população de células inflamatórias circulantes. Inicialmente neutrófilos e monócitos, posteriormente linfócitos são recrutados para os sítios de inflamação onde produzem ERO e enzimas proteolíticas para limpar e reparar o tecido lesado. A infiltração de neutrófilos é promovida por fatores quimiotáticos, incluindo as prostaglandinas, TNF- α , IL- 1 β e IL-6. Estas últimas

duas citocinas são conhecidas por aumentar em resposta ao exercício. Os neutrófilos fagocitam a fibra muscular lesada por meio da ativação do sistema enzimático da nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase (NADPH oxidase) e da liberação de enzimas proteolíticas de seus grânulos intracelulares. Essa resposta não é específica e, portanto, pode levar à lesão de células normais adjacentes ao local lesado (Nieman, Davis et al. 2005; Rogero, Mendes et al. 2005).

Existe também um aumento na síntese de fatores e citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α e IL-1 β , o que estimula a síntese de IL-6. A IL-6 atua como mediador primário da reação de fase aguda, estimulando a produção hepática de proteínas como a PCR e os inibidores de protease (por exemplo, inibidor de protease α -1). A IL-6 restringe a extensão da resposta inflamatória, uma vez que aumenta a síntese de citocinas anti-inflamatórias. Na resposta da fase aguda, se restabelecem as proteínas degradadas e se começa a reverter o efeito deletério inicial de uma resposta inflamatória. A partir disso, a IL-6 também estimula a hipófise a liberar o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), que posteriormente, promove o aumento de cortisol liberado do córtex adrenal (Nieman, Davis et al. 2005). A PCR, que receberá o enfoque deste trabalho como marcador inflamatório, estimulado pela IL-6 aumenta após o exercício, principalmente após o exercício excêntrico e parece estar diretamente ligada ao desequilíbrio entre coagulação e fibrinólise.

2.5 PROTEÍNA C REATIVA E HEMOSTASIA

A Proteína C Reativa (PCR) é uma das moléculas mais estudadas no campo da inflamação. A PCR é um marcador inflamatório usado para identificar risco de evento cardiovascular, por meio de sua interação com os fatores de risco clássicos, o que pode causar alterações do perfil pró-aterosclerótico do paciente (Libby, Ridker et al. 2002). É sintetizada nos hepatócitos sob estímulo primário da IL-6, apresentando traços normalmente detectados no sangue. Em condições inflamatórias agudas, há

elevação de seus níveis no período de 6 a 8 horas iniciais, podendo atingir valores de até 300 mg/dl em 48 horas, sempre se mostrando elevada após a realização de exercícios intensos (Steffel and Luscher 2009).

A PCR além de constituir um biomarcador para o processo endotelial, também faz parte do processo aterosclerótico (Steffel and Luscher 2009). Em altas concentrações pode ser usada como preditora de doença vascular. A PCR tem grande participação na *down regulation* endotelial da enzima óxido nítrico sintase (eNOs) e também na transcrição das células endoteliais, levando assim à desestabilização da eNOS-RNA. Esse processo resulta na redução da liberação de óxido nítrico (NO) além de aumentar a expressão de moléculas de adesão como ET1 (Devaraj, Xu et al. 2003; Tonet, Karnikowski et al. 2008).

Estudos tem demonstrado que a PCR estimula o PAI-1 que é um marcador de aterotrombose por inibir a fibrinólise. A diminuição da fibrinólise é primariamente atribuída ao aumento de PAI-1. Isto tem sido visto em pacientes com doença arterial coronariana que normalmente apresentam altos valores de PAI-1 (Dawson and Henney 1992) que com o aumento da PCR podem diminuir o processo de fibrinólise aumentando o risco para eventos cardiovasculares (Devaraj, Xu et al. 2003).

Além disso, alguns estudos tem mostrado que a PCR pode inibir a atividade do tPA pela via da geração de citocinas pró-inflamatórias, diminuindo ainda mais o processo de fibrinólise e sugerindo um novo dado que coloca a PCR não só como um marcador mas também como um agente pró trombótico (Singh, Devaraj et al. 2005).

Atualmente na literatura estudos demonstram o efeito do exercício agudo sobre o processo de hemostasia e inflamação, entretanto poucos estudos mostram o efeito de um protocolo de exercício de força com diferentes tipos de contração concêntrica e excêntrica sobre os mesmos parâmetros. São raros os dados na literatura que mostram a relação entre a inflamação e a hemostasia em humanos.

Devido a estes fatores o presente estudo analisou o efeito de diferentes tipos de contração na hemostasia e na inflamação e a relação entre estes marcadores.

3 PROBLEMA DE PESQUISA

Quais os efeitos dos exercícios concêntricos e excêntricos sobre as respostas de perda de força, hemostasia e marcadores inflamatórios?

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Comparar as respostas de torque isométrico, hemostasia e marcadores inflamatórios, antes e após exercícios concêntricos e excêntricos, em indivíduos saudáveis não treinados.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Comparar o efeito do exercício realizado de forma excêntrica ou concêntrica nos fatores de coagulação e fibrinólise
- Comparar o efeito do exercício realizado de forma excêntrica ou concêntrica no torque isométrico;
- Comparar o efeito do exercício realizado de forma excêntrica ou concêntrica nos marcadores inflamatórios;
- Identificar a relação entre marcadores inflamatórios, torque, coagulação e fibrinólise.

4.3 HIPÓTESES

- Não existe diferença significativa entre o aumento dos fatores de coagulação causado pelos exercícios realizados de forma concêntrica comparado com os exercícios realizados de forma excêntrica

- O aumento dos fatores fibrinolíticos é maior nos exercícios realizados de forma concêntrica comparado com o exercício realizado de forma excêntrica

- O exercício realizado de forma excêntrica gera um aumento da concentração de marcadores inflamatórios quando comparado ao concêntrico

- O exercício realizado de forma excêntrica gera uma maior perda de torque isométrico quando comparado ao concêntrico

- Existe correlação entre os marcadores inflamatórios com perda de torque e fatores de coagulação e fibrinólise

5 DEFINIÇÃO OPERACIONAL DAS VARIÁVEIS

5.1 VARIÁVEIS INDEPENDENTES

- **Ação Muscular:** (esta variável se subdivide em dois níveis definidos a seguir):

- **Ações musculares concêntricas:** ocorrem quando a tensão total desenvolvida em todas as pontes cruzadas de um músculo é suficiente para superar qualquer resistência a um encurtamento. Durante a fase ascendente de uma rosca bíceps, por exemplo, as pontes cruzadas do bíceps braquial e outros flexores do cotovelo superam a resistência da barra, do braço e da mão (Jones and Round 1997).

- **Ações musculares excêntricas:** ocorrem quando a tensão desenvolvida nas pontes cruzadas é menor que a resistência externa, e o músculo alonga-se apesar do contato entre as cabeças das pontes cruzadas de miosina e os filamentos de actina (Jones and Round 1997).

5.2 VARIÁVEIS DEPENDENTES

- **F VIII:** glicoproteína pró coagulante de estrutura multimérica que é encontrada no plasma, nos α -grânulos de plaquetas e no subendotélio vascular;

- **FvW:** proteína plasmática produzida pelo endotélio vascular utilizada como índice de disfunção endotelial e trombogênico;

- **t-PA:** proteína plasmática produzida pelo endotélio que representa o potencial fibrinolítico;

- **PAI-1:** proteína plasmática produzida pelo endotélio que representa a inibição do potencial fibrinolítico;

- **Força isométrica:** força realizada de forma máxima sem o deslocamento da resistência;

- **PCR:** marcador de fase aguda que se eleva especialmente em processos inflamatórios e infecciosos;

5.3 VARIÁVEIS INTERVENIENTES

- **Tipo sanguíneo:** sistema sanguíneo ABO; apenas participaram do estudo os sujeitos que apresentavam sangue do tipo O

- **Fatores de risco para coronariopatia:** (idade, história familiar, hipertensão, colesterol alto, tabagismo, diabetes, sedentarismo, obesidade)– fatores de risco para doenças coronarianas de acordo com o Colégio Americano de Medicina do Esporte (ACSM) que influenciam a integridade dos vasos sanguíneos.

6 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

6.1 TIPOS DE ESTUDO, POPULAÇÃO E AMOSTRA

O presente estudo segue um delineamento do tipo *ex post facto* utilizando um estudo comparativo. Para isso, foi utilizada uma amostra não probabilística voluntária dos estudantes da Escola de Educação Física (ESEF) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Foram selecionados para participar do estudo, 11 sujeitos jovens do sexo masculino de 20 a 30 anos, sem problemas cardiovasculares, não fumantes, não usuários de medicamentos diuréticos ou anticoagulantes e com sangue do tipo O, o que apresenta prevalência em 45% da população, evitando a interferência dos diferentes tipos sanguíneos AB nos resultados (Ribeiro, Salton et al. 2008).

6.2 DESENHO DO ESTUDO

Após a seleção dos voluntários, os mesmos compareceram ao Laboratório de Pesquisa do Exercício (LAPEX) da UFRGS onde assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (anexo 1) e realizaram um teste para verificação do tipo sanguíneo, além de preencher uma anamnese (anexo 2). Participaram do estudo apenas os portadores de sangue do tipo O e com baixo risco para coronariopatia. Os sujeitos também realizaram uma avaliação de consumo máximo de oxigênio e uma avaliação de composição corporal.

Na primeira visita os sujeitos realizaram uma coleta sanguínea pré-exercício. Após a coleta os sujeitos realizaram um teste de contração voluntária máxima (CVM) e o protocolo para dano muscular concêntrico ou excêntrico no dinamômetro isocinético, definido no dia de realização do protocolo por sorteio. Logo após o exercício, foi realizada uma nova coleta de sangue. Os sujeitos compareceram ao laboratório 24 e

48 horas após o exercício para realização de coletas de sangue e novos testes de CVM (figura 1).

Após a realização do primeiro protocolo os sujeitos tiveram sete dias de recuperação e após isso retornaram ao laboratório para realizar os mesmos procedimentos descritos anteriormente, porém com o tipo de contração diferente a que foi realizada.

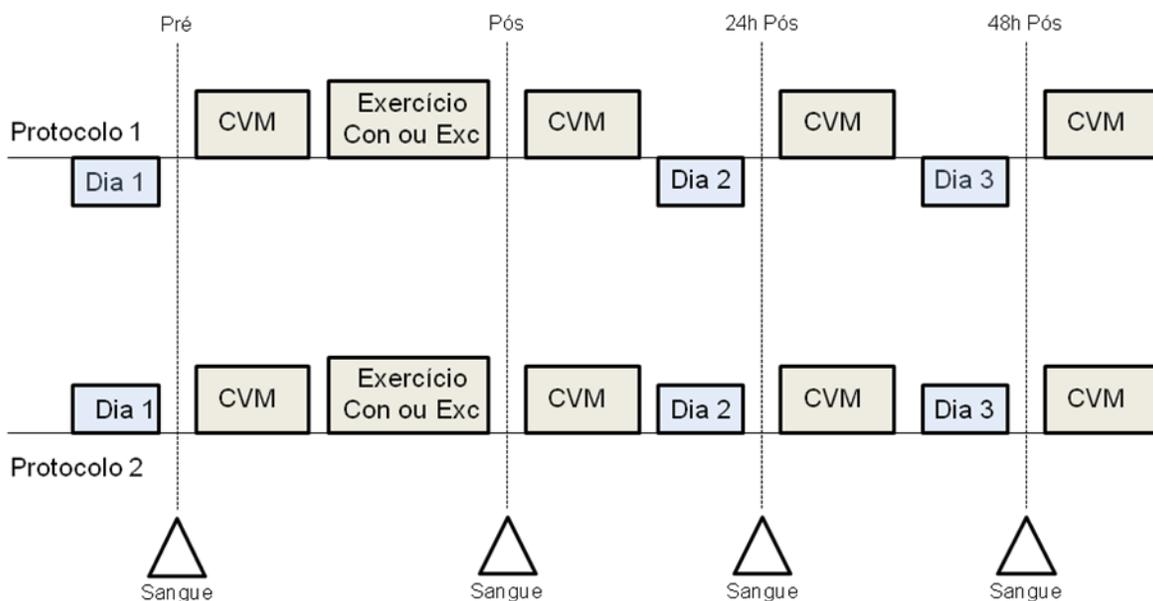


Figura 1. Sequência dos protocolos realizados durante o estudo.

7 INSTRUMENTOS DE MEDIDA E PROCEDIMENTOS DE COLETA

A amostra foi caracterizada pela avaliação de massa corporal, estatura, massa de gordura e consumo máximo de oxigênio $VO_{2\text{max}}$.

O procedimento de coleta consistiu na execução de um teste isocinético dos músculos extensores do joelho. Também foi avaliada a força isométrica dos sujeitos. O exercício excêntrico e concêntrico isocinético e todas as outras medidas de força foram realizados pelo membro dominante. As amostras sanguíneas para análise de FvW, tPA, PAI-1 e PCR foram coletadas antes, logo após, 24 e 48 horas após a realização dos testes como mostram os protocolos a seguir.

7.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

7.1.1 MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS

Para caracterização da amostra foram realizadas as medidas de massa corporal e estatura utilizando balança e estadiômetro da marca Sanny, e avaliação antropométrica utilizando um plicômetro científico da marca Cescorf, sendo as marcações dos locais e a técnica de tomada das dobras seguindo as recomendações da sociedade internacional para o avanço da cineantropometria (ISAK, 2006). O protocolo utilizado foi o de cinco componentes desenvolvido por Kerr e Ross 1982, que leva em consideração 40 variáveis antropométricas (ISAK 2006).

7.1.2 CONSUMO MÁXIMO DE OXIGÊNIO $VO_{2\text{MAX}}$

A determinação do $VO_{2\text{máx}}$ foi realizada a partir do equipamento de análise metabólica automatizado CPX/D (Medical Graphics Corporation, USA), que era ligado

uma hora antes do teste para aquecimento e estabilização das células analisadoras dos gases. Concluída esta etapa, procede-se à calibração do equipamento.

Durante os testes, foram registrados os seguintes parâmetros: consumo de oxigênio (VO_2), produção de CO_2 (VCO_2), ventilação (VE), pressão de O_2 no final da expiração ($PETO_2$), pressão de CO_2 no final da expiração ($PETCO_2$), razão de troca respiratória (RER), frequência cardíaca (FC), tempo e velocidade.

Antes do teste era realizada a colocação de um frequencímetro (POLAR S610, Finlândia), assim como da máscara de coleta de gases acoplada ao ergoespirômetro.

O teste de carga progressiva máxima foi realizado em esteira rolante. Após aquecimento, o protocolo foi constituído de uma velocidade inicial de 7km/h, com incrementos adicionais de 1km/h a cada minuto até a exaustão, e recuperação de 5 minutos a 5km/h. O teste era interrompido quando: voluntariamente solicitado, RER maior que 1,15, FC próxima da máxima prevista ou quando houvesse platô na curva de VO_2 (Cunha, Célia et al. 2008).

7.1.3 TEMPO DE PROTROMBINA TP E TEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ATIVADA TTPa

Foram realizados os testes de TP e TTPa para identificação de possíveis deficiências nos fatores de coagulação previamente ao estudo. Quando o TP ou TTPa se apresenta em valores anormais pode existir algum problema no sistema de coagulação. TP e TTPa forma medidos em um coagulômetro Stago Start 4 através do tempo de coagulação pela inserção de cálcio.

7.2 CONTROLE DIETÉTICO

Na primeira visita, foram entregues e devidamente explicados aos indivíduos três documentos para preenchimento dos Recordatórios Alimentares de 24 horas

(RA24), esse controle é muito importante para garantir que a alimentação não exerceu influência nos resultados. O procedimento de preenchimento do RA24 foi realizado da seguinte forma: cada participante registrou todas as bebidas e alimentos consumidos nas 24 horas antecedentes a cada visita para realização dos protocolos de exercício, durante a primeira semana. As refeições deveriam ser descritas com os alimentos consumidos, os horários, as quantidades em medidas caseiras e, quando necessário, a marca do produto deveria ser preenchida. Para o devido preenchimento, foi entregue um álbum fotográfico de medidas caseiras, cujo conteúdo é um compilado de fotos de utensílios e porções de alimentos, baseado no Registro Fotográfico para Inquéritos Alimentares. Ao final da primeira semana, após o preenchimento dos recordatórios pelos participantes, esse foi entregue a um nutricionista experiente e independente, para que todas as anotações fossem conferidas e não houvesse nenhuma dúvida quanto ao descrito. Na segunda semana de protocolos, os sujeitos receberam outros três documentos e foram instruídos a repetir a mesma alimentação, descrita nos recordatórios da semana anterior, anotar novamente o que fora ingerido e entregar todos os seis documentos preenchidos (RA24). Este procedimento foi previamente utilizado em outros experimentos (Becker, Macedo et al. 2012) de nosso grupo. Todos os participantes foram instruídos a não consumir bebidas alcoólicas durante a primeira e segunda semana de protocolos. Para análise dos dados foi utilizado o software *Dietwin*® (Brubins), versão Profissional (2008).

7.3 AVALIAÇÃO ISOCINÉTICA

Os sujeitos realizaram os protocolos em um equipamento de dinamometria isocinética Biodex System 3 pro (figura 2).

Na primeira sessão os sujeitos realizaram três contrações voluntárias máximas (CVM) e uma familiarização com o protocolo de exercício, respeitando um período de dois minutos de intervalo entre os testes.

No protocolo para dano muscular, os voluntários realizaram protocolos excêntricos em um dia e concêntrico em outro, dando intervalo de sete dias entre a realização de um protocolo e de outro. O tipo de contração foi definido por sorteio e o sujeito só ficou sabendo no dia da realização do protocolo.

Nos protocolos o dano muscular foi induzido através de 75 contrações concêntricas ou excêntricas, divididas em 5 séries com 15 repetições e um tempo de intervalo de 30 segundo entre elas. O exercício foi realizado em uma velocidade angular de $60^{\circ} \text{seg}^{-1}$.

O estímulo verbal foi fornecido aos sujeitos durante todo o protocolo de indução de lesão (Baroni, Leal Junior et al. 2010).



Figura 2. Equipamento para dinamometria isocinética.

7.4 AVALIAÇÃO SANGUÍNEA

As amostras (12ml) foram coletadas a vácuo por um profissional devidamente capacitado, antes, logo após, 24 e 48 horas após a realização de cada teste.

Para coleta das amostras de hemostasia a coleta não foi traumática e o garroteamento não ultrapassou o tempo de 1 minuto.

7.4.1 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Na preparação das amostras para análise de F VIII e FvW, t-PA e PAI-1 o tubo foi do tipo vacutainer contendo citrato de sódio 3,2% tamponado. A proporção de sangue para anticoagulante foi de 9/1, as amostras foram coletadas e imediatamente colocadas em gelo. A centrifugação foi feita a 1700g por 20min. à 4°C. O plasma foi aliquoteado e armazenado à -80° C (Van Mourik, Boertjes et al. 1999).

Para preparação das amostras de PCR o tubo foi do tipo vacutainer contendo ativador de coágulo. O sangue foi centrifugado a 1700g rpm por 10min. e o soro foi armazenado em -80°C para posterior análise (Koenig, Sund et al. 1999) (van den Burg, Hospers et al. 2000).

7.4.2 ANÁLISE DAS AMOSTRAS

Para análise do tipo sanguíneo ABO, foi usado o método de hemoaglutinação usando soro comercial anti A e anti B (Zimmerman, Hoyer et al. 1975).

As análises de F VIII, foram realizadas por tempo de coagulação, utilizando um coagulômetro Stago US Stat 4 (figura 3)

Para análise de FvW, t-PA, PAI 1 e IL-6 foram realizadas pelo método ELISA (figura 4) (*enzyme-linked immunosorbent assay*), usando seus respectivos kits de análise e seguindo as instruções de análise dos fabricantes (Van Mourik, Boertjes et al. 1999) (Vaz, Silva et al. 2011).

Para análise de PCR us foi utilizado o conjunto diagnóstico Biotecnica para Proteína C-Reativa por Turbidimetria utilizando um equipamento Cobas Mira Plus (figura 5), cujo principio analítico é o método turbidimétrico com látex aprimorado, seguindo as instruções fornecidas pelo fabricante (Koenig, Sund et al. 1999).



Figura 3. Coagulômetro Stago US Start 4



Figura 4. Equipamento para análise colorimétrica ELISA



Figura 5. Multianalisador bioquímico COBAS Mira Plus

7.5 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O estudo ofereceu um risco mínimo aos participantes. Os protocolos de exercício de contração concêntrica, mas principalmente o de contração excêntrica, podem causar dores no membro que realizou o exercício até 48 horas após a realização do protocolo. Todos os participantes do estudo assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa desta instituição e estavam livres para desistir do protocolo a qualquer momento.

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS sob número 21817 (ANEXO 3)

7.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores serão apresentados como média \pm DP. A normalidade dos dados foi testada pelo teste Shapiro-Willk. Quando confirmada a normalidade, foi utilizado o teste paramétrico ANOVA para medidas repetidas, seguido de um teste de esfericidade de Mauchly, quando os dados não apresentavam esfericidade assumida era utilizado o fator de correção Epsilon de Greenhouse-Geisser, também foi realizado um teste post hoc de Bonferroni para testar as alterações no fluxo e nos níveis plasmáticos do F VIII, FvW, t-PA, PAI-1, PCR e Força isométrica ao longo do tempo. Para comparação dos grupos foi utilizado o teste ANOVA fatorial com post hoc de Bonferroni. Foi realizado um teste de correlação intra-classe (Prisco, Paniccia et al.) para verificar a variação dos sujeitos ao longo do tempo. A relação entre as variáveis de coagulação e PCR foi verificada através do teste de correlação de Pearson. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. Foi utilizado o software SPSS versão 19.0.

8 RESULTADOS

8.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

Para caracterização da amostra, os dados são apresentados em média \pm DP para todas as variáveis (tabela 1)

Tabela 1: Dados de caracterização da amostra expressos em média \pm DP.

Característica	Média \pm DP	Coef Variação %
Idade (anos)	25,4 \pm 2,8	11
VO _{2 máx} (ml/kg/min ⁻¹)	41,4 \pm 6,5	15,7
MG (Kg)	32,3 \pm 5,2	16
Massa (Kg)	77,1 \pm 8,7	11,2
Estatura (cm)	176,2 \pm 4,4	2,4
TP (seg)	13 \pm 1	7,6
TTPa (seg)	33,2 \pm 1,4	4,2

VO_{2máx} = consumo máximo de oxigênio; MG = massa de gordura; TP = tempo de protrombina; TTPA = tempo de tromboplastina parcial ativada

8.2 RECORDATÓRIOS ALIMENTARES DE 24 HORAS

Os resultados dos recordatórios alimentares nos três diferentes dias e nos dois diferentes protocolos são apresentados abaixo (tabela 2)

Não foram encontradas diferenças significativas em nenhuma das variáveis entre os dias e entre os protocolos.

Tabela 2: Dados dos recordatórios alimentares expressos em média \pm DP.

	Dia 1		Dia 2		Dia 3	
	Con	Exc	Con	Exc	Con	Exc
VET (Kcal)	2253,2 \pm 854,5	2310,5 \pm 714,9	2300,6 \pm 829,3	2339,3 \pm 788	2411,5 \pm 852,4	1969 \pm 389,9
VET/Kg	29,4 \pm 10,2	30,3 \pm 9,4	30,2 \pm 11	30,6 \pm 10,2	31,4 \pm 10,2	26,1 \pm 5,7
CHO (%)	45,8 \pm 7,5	48,6 \pm 11,9	45,8 \pm 7,6	47,8 \pm 12	48,4 \pm 7,6	47,9 \pm 7,9
CHO (g)	255,9 \pm 104,9	260,3 \pm 93,1	250,7 \pm 100,9	268,5 \pm 86,4	289,6 \pm 107,6	237 \pm 63,8
PTN (%)	21,0 \pm 5,9	23,4 \pm 12,1	25,5 \pm 6,4	25,9 \pm 11,3	21,5 \pm 2,5	24,9 \pm 6,3
PTN (g)	123,0 \pm 67,3	142,3 \pm 89,3	151,2 \pm 74,9	157,3 \pm 79,7	130,6 \pm 50,5	124,3 \pm 44,7
LIP (%)	33,1 \pm 7,9	27,9 \pm 4,2	30,1 \pm 9,7	26,2 \pm 5,4	30 \pm 8,5	27 \pm 6,2
LIP (g)	81,9 \pm 32,3	72,8 \pm 27	77,1 \pm 38,4	70,6 \pm 34,8	81,1 \pm 37	58,2 \pm 14
VIT.A (mcg)	293,9 \pm 184,7	562,7 \pm 382,6	462,4 \pm 400,5	396,7 \pm 286,4	550,6 \pm 710,1	598,5 \pm 743,8
VIT.C (mg)	107,3 \pm 117,2	110,6 \pm 92,4	70,8 \pm 98,9	78,9 \pm 71,8	118,7 \pm 103,6	125,1 \pm 152,2
VIT.E (mcg)	14,3 \pm 17,1	14,5 \pm 12,4	3,9 \pm 2,7	5,8 \pm 6,2	13,1 \pm 15,2	7,7 \pm 6,1

VET = valor energético total; CHO = carboidrato; PTN = proteína; LIP = lipídeos; VIT = Vitamina

8.3 CONTRAÇÃO VOLUNTÁRIA MÁXIMA (CVM)

Os resultados dos testes de CVM nos quatro diferentes momentos testados e nos dois diferentes protocolos estão apresentados abaixo.

Não houve diferença significativa entre os grupos em nenhum dos momentos $p > 0,05$. Foram encontradas diferenças significativas entre os momentos, que são demonstradas abaixo (figura 6).

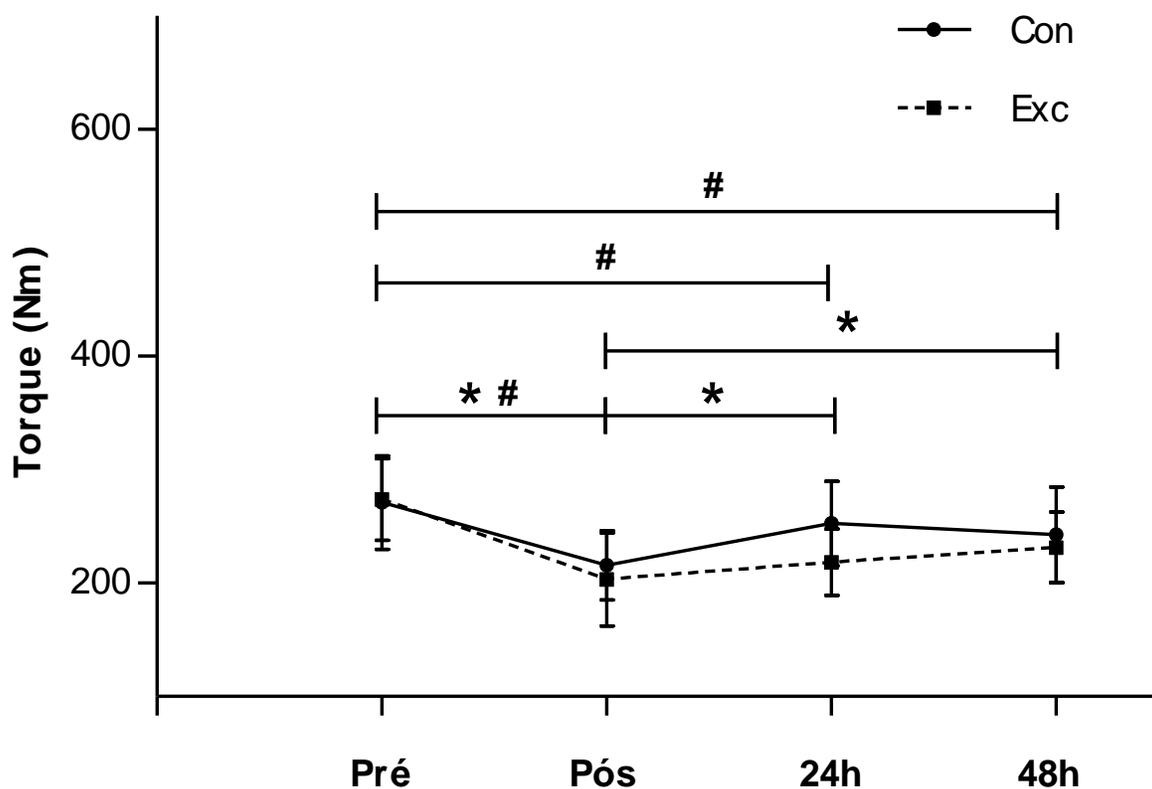


Figura 6. Comportamento do torque isométrico ao longo do tempo após protocolo excêntrico ou concêntrico. # diferença significativa entre os momentos no protocolo excêntrico; * diferença significativa entre os momentos no protocolo concêntrico $p < 0,05$

8.4 DÉFICIT DE FORÇA

Foram encontradas diferenças estatisticamente significativas quando calculado o déficit de torque através do delta. Foram encontradas diferenças entre os grupos e entre os momentos $p < 0,05$, que são demonstradas abaixo (figura 7).

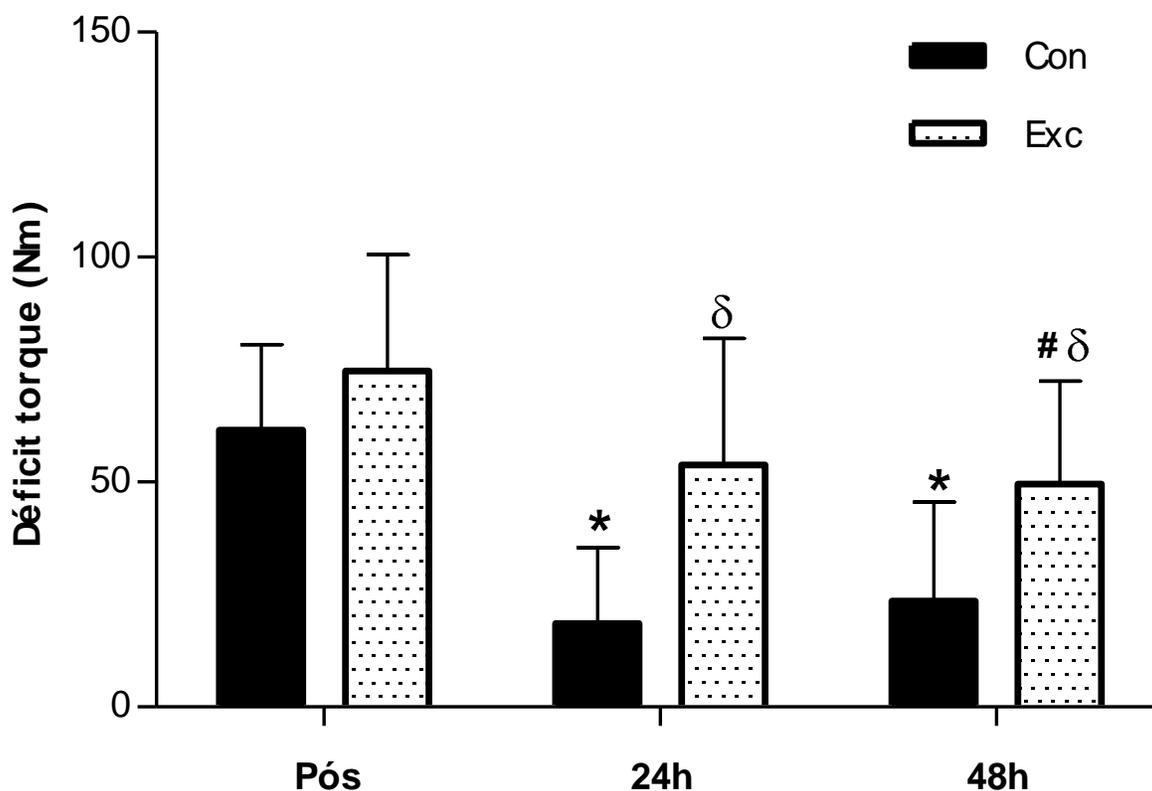


Figura 7. Comportamento do déficit de torque isométrico pelo cálculo do delta de variação. # diferença significativa entre o momento 48h em relação ao pós no protocolo excêntrico; * diferença significativa entre os momentos 24h e 48h em relação ao momento pós no protocolo concêntrico; δ diferença significativa entre os grupos $p < 0,05$.

8.5 FATOR DE VON WILLEBRAND

Os resultados da concentração de FvW durante os quatro diferentes momentos e os dois diferentes protocolos são apresentados abaixo (figura 8).

Não foram encontradas diferenças entre os grupos. Foi encontrada diferença significativa apenas no momento pós em relação ao momento pré no grupo concêntrico $p < 0,05$.

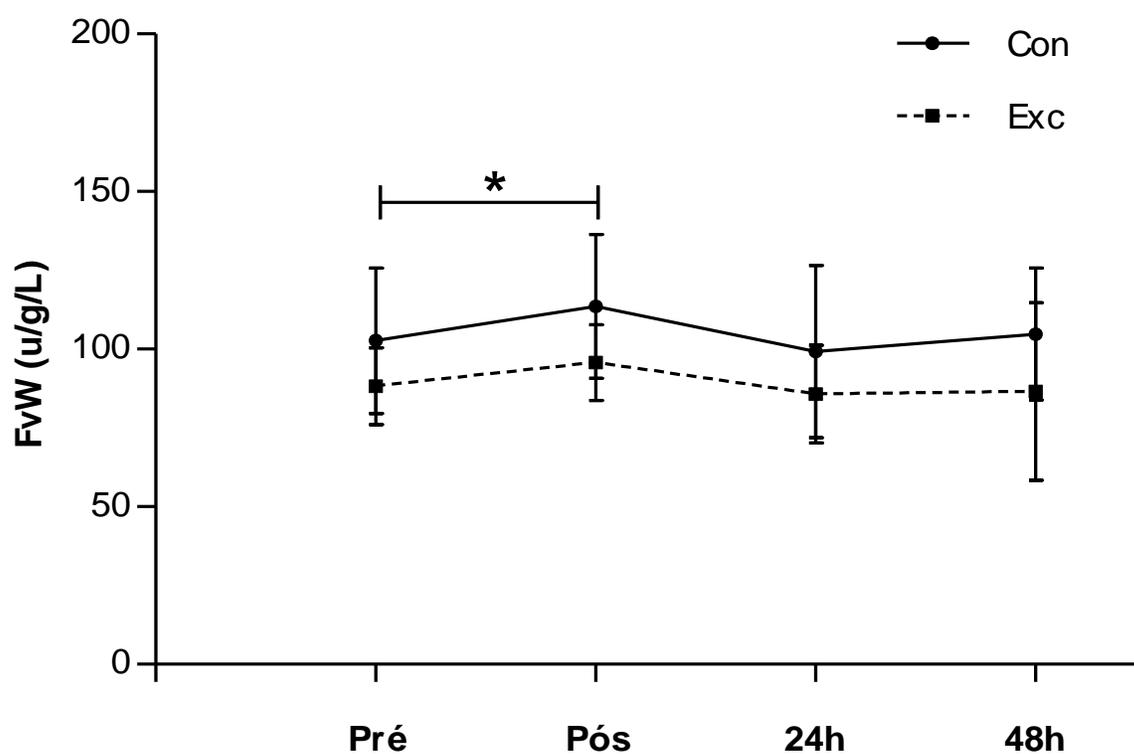


Figura 8. Comportamento das concentrações de Fator Von Willebrand (FvW) durante os momentos após os protocolos excêntrico e concêntrico. * Diferença significativa em relação ao momento Pré no grupo concêntrico $p < 0,05$.

8.6 ATIVADOR DE PLASMINOGÊNIO (t-PA)

Os resultados da concentração de t-PA durante os quatro momentos testados e os dois diferentes protocolos são apresentados abaixo (figura 9).

Houve diferença significativa entre os momentos no grupo concêntrico $p < 0,05$. Não foram encontradas diferenças significativas entre os momentos do grupo excêntrico e entre os dois grupos.

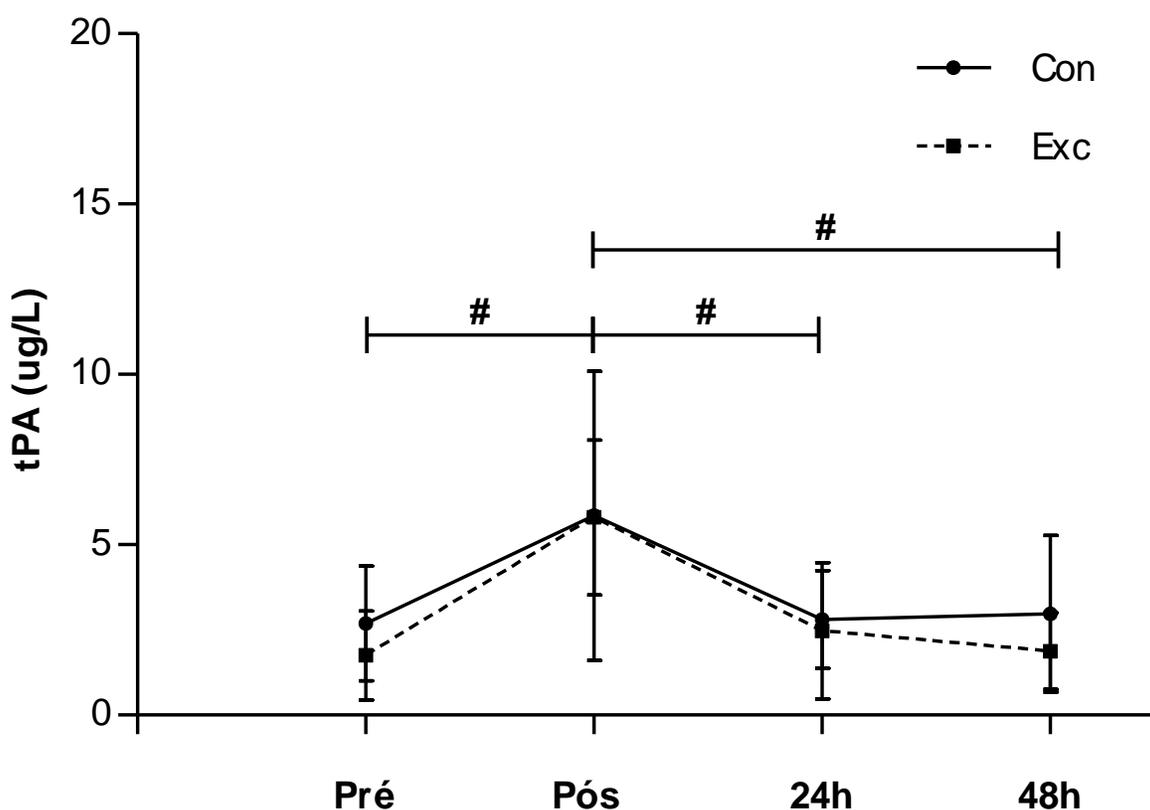


Figura 9. Comportamento das concentrações de Ativador de Plasminogênio (t-PA) durante os quatro momentos após os protocolos excêntrico e concêntrico. # Diferença entre os momentos no protocolo excêntrico $p < 0,05$.

8.7 FATOR VIII DE COAGULAÇÃO

Os resultados da concentração de FVII durante os quatro momentos testados e os dois diferentes protocolos são apresentados abaixo (figura 10).

Foram encontradas diferenças significativas entre os momentos nos protocolos concêntrico e excêntrico $p < 0,05$. Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos.

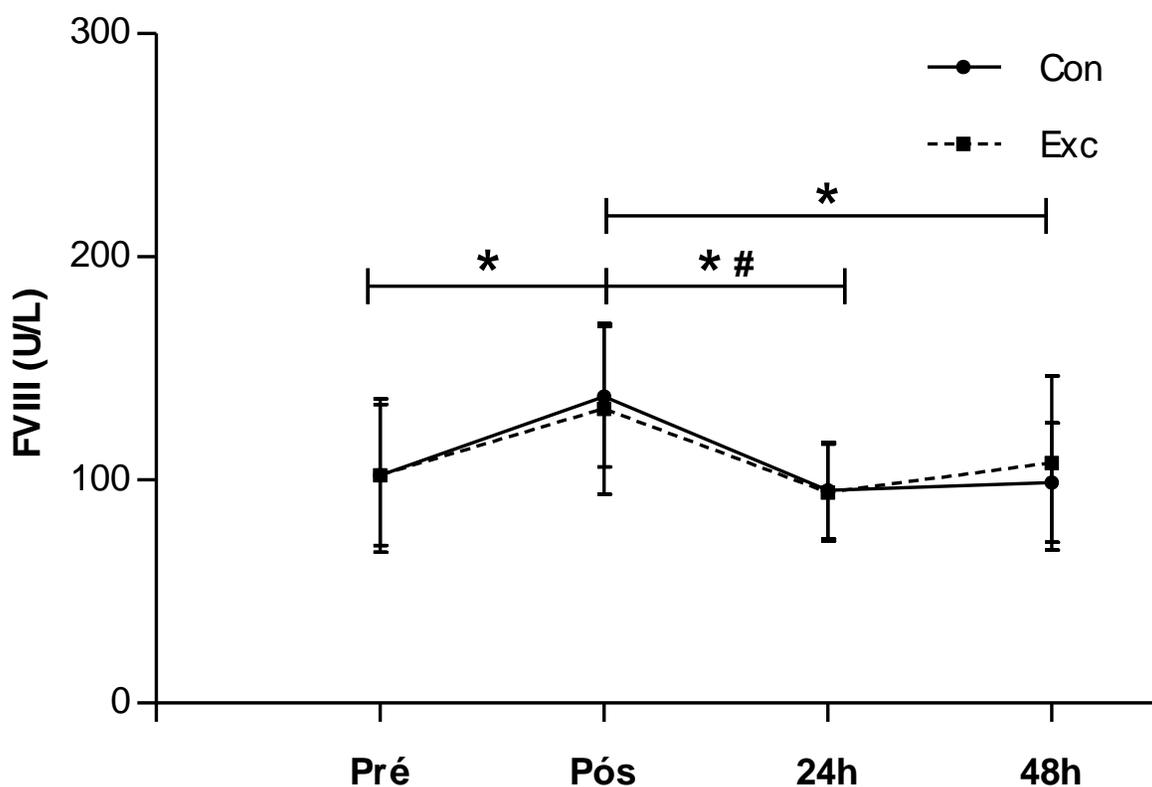


Figura 10. Comportamento das concentrações de fator VIII durante os quatro momentos após os protocolos excêntrico e concêntrico. # Diferença entre os momentos no protocolo excêntrico; * Diferença entre os momentos no protocolo concêntrico $p < 0,05$.

8.8 INIBIDOR DO ATIVADOR DE PLASMINOGÊNIO (PAI-1)

Os resultados da concentração de PAI-1 durante os quatro momentos testados e os dois diferentes protocolos são apresentados abaixo (figura 11).

Foram encontradas diferenças significativas em ambos os grupos e foi encontrada diferença significativa no momento 48h entre os dois grupos $p < 0,05$.

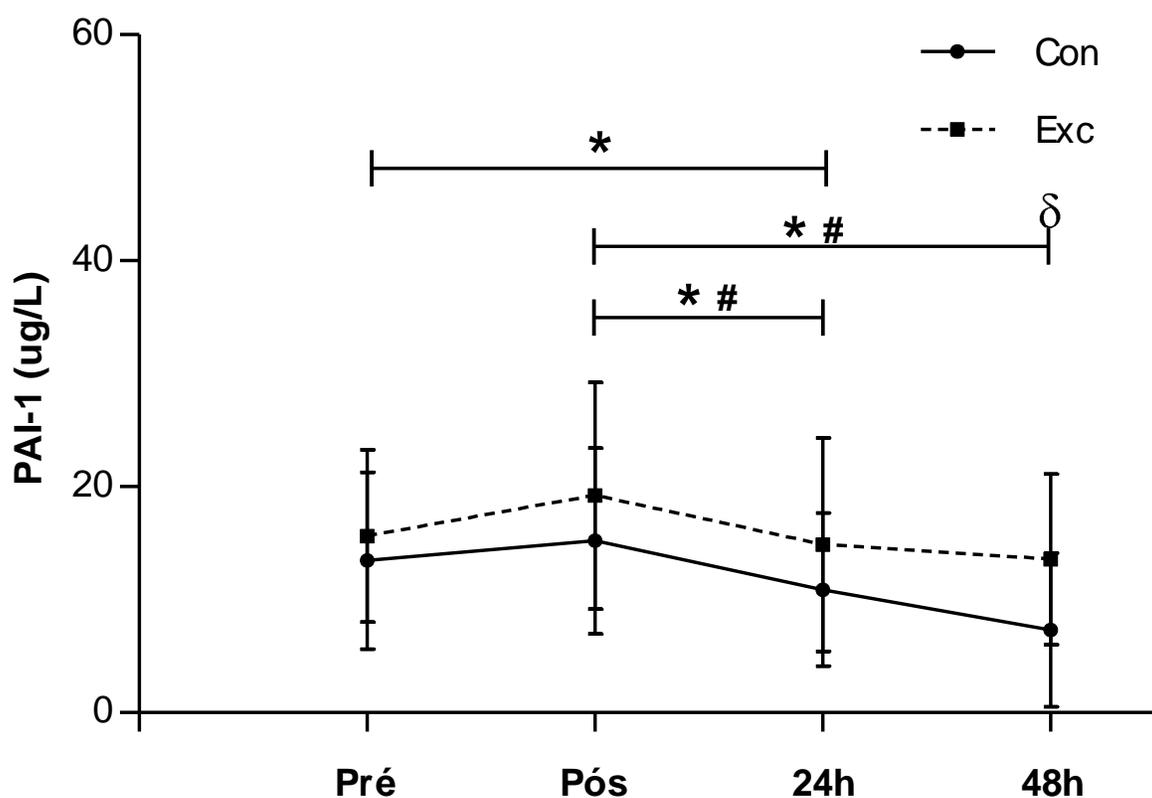


Figura 10. Comportamento das concentrações de inibidor do ativador de plasminogênio (PAI-1) durante os quatro momentos após os protocolos excêntrico e concêntrico. # Diferença entre os momentos no protocolo excêntrico; * Diferença entre os momentos no protocolo concêntrico; δ Diferença entre os grupos $p < 0,05$.

8.9 PROTEÍNA C REATIVA (PCR)

Os resultados da concentração de PCR durante os quatro momentos testados e os dois diferentes protocolos são apresentados abaixo (figura 11).

Houve diferença significativa entre os momentos no protocolo excêntrico $p < 0,05$. Não foram encontradas diferenças significativas entre os momentos no protocolo concêntrico. Foi encontrada diferença significativa entre os dois grupos no momento 48h $p < 0,05$.

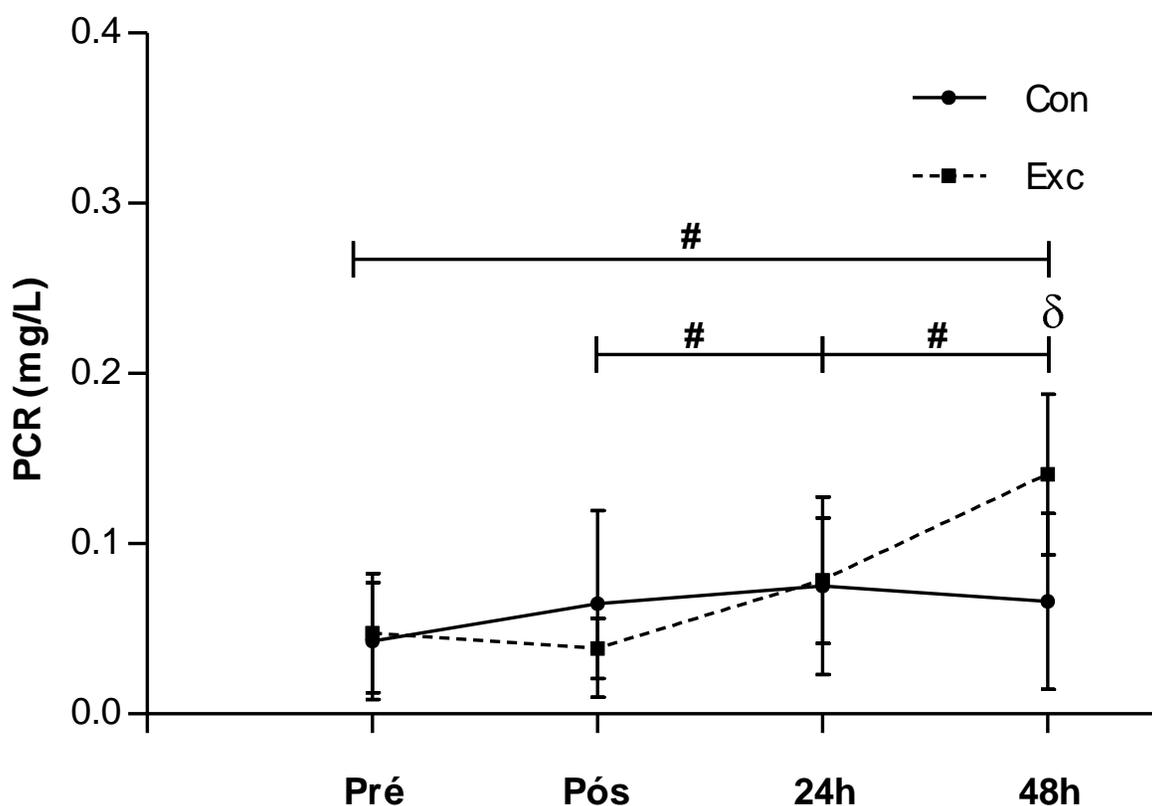


Figura 11. Comportamento das concentrações de proteína c reativa (PCR) durante os quatro momentos após os protocolos excêntrico e concêntrico. # Diferença entre os momentos no protocolo excêntrico; δ Diferença entre os grupos $p < 0,05$.

8.10 PROTEÍNA C REATIVA (PCR) E INIBIDOR DO ATIVADOR DE PLASMINOGÊNIO (PAI-1)

Após a realização do teste de correlação entre as variáveis hemostáticas e inflamatórias, foi encontrada uma correlação positiva entre PCR e PAI-1 no momento 48h do protocolo excêntrico $r = 0,69$; $p < 0,05$ (figura 12).

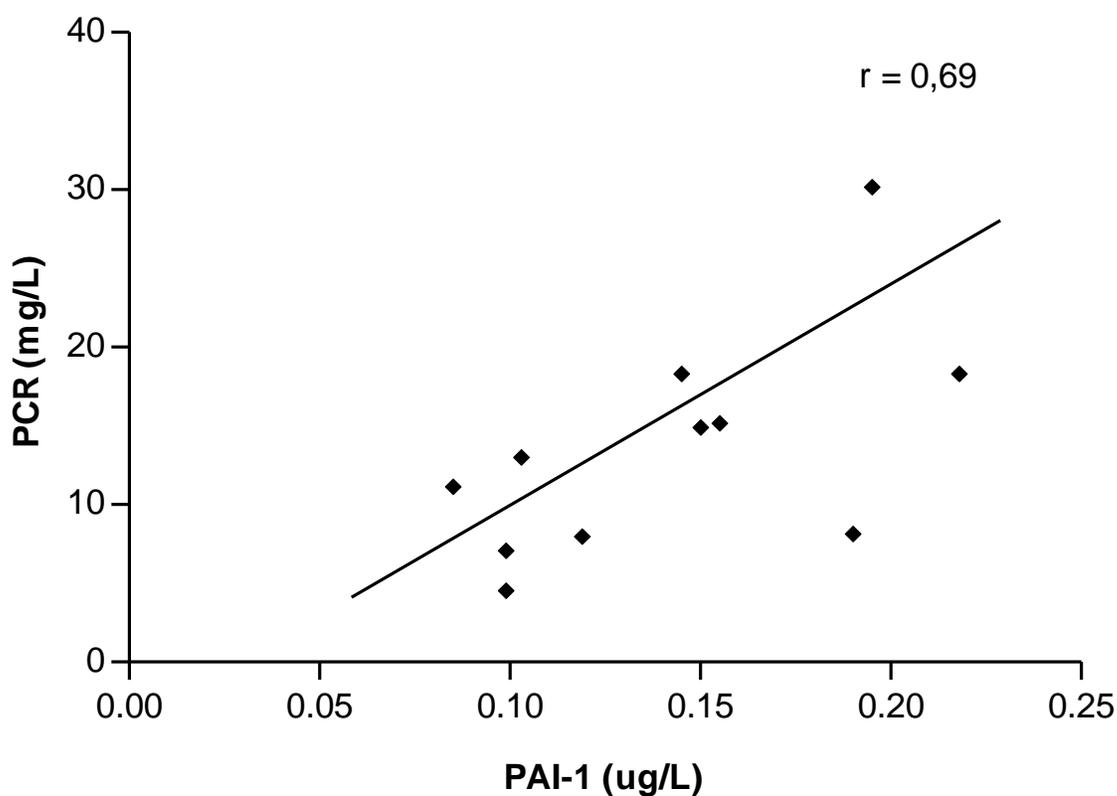


Figura 12. Correlação entre proteína c reativa (PCR) e inibidor do ativador do plasminogênio (PAI-1) no momento 48h do protocolo excêntrico $r = 0,69$; $p < 0,05$.

As concentrações de PCR e PAI-1 não apresentaram uma variabilidade alta entre os mesmos indivíduos, quando realizado o teste de Coeficiente de Correlação Intraclasse (ICC) (Tabela 2). Os resultados foram maiores que 0,4 considerados satisfatórios.

Tabela 3. Teste de Coeficiente de Correlação Intraclasse (ICC)

	Protocolo	ICC	P
PCR	Con	0,44	p<0,05
	Exc	0,47	p<0,05
PAI-1	Con	0,61	p<0,05
	Exc	0,85	p<0,05

PCR = Proteína C Reativa; PAI-1= Inibidor do Ativador de Plasminogênio

9 DISCUSSÃO

Existem poucos trabalhos que relacionam diferentes tipos de contração com parâmetros hemostáticos, inflamação e as suas relações.

Este trabalho não apresentou diferença em nenhuma variável de consumo energético, excluindo a possibilidade de a sua variação interferir nos resultados.

Há consenso que o exercício excêntrico causa maiores danos à musculatura e conseqüentemente maior diminuição da força principalmente 48h após a realização do exercício quando comparado ao concêntrico (Morgan and Allen 1999; Byrne, Twist et al. 2004; Baroni, Leal Junior et al. 2010). Neste trabalho foi encontrado um maior déficit de força no momento 24h e 48h após o protocolo de fadiga no grupo excêntrico quando comparado ao concêntrico, concordando com a literatura. (Bonde-Petersen, Knuttgen et al. 1972; Golden and Dudley 1992; Baroni, Leal Junior et al. 2010).

O presente estudo demonstra a diferença nas respostas hemostáticas e de PCR principalmente quando comparados os protocolos de exercícios concêntricos e excêntricos. Quando se compara o momento pré com pós-protocolo, evidencia-se uma maior atividade de coagulação após o protocolo concêntrico (maior concentração de FvW e FVIII) sem alteração na atividade fibrinolítica, indo ao encontro com a literatura que mostra uma maior resposta de coagulação sanguínea em exercícios mais intensos como o concêntrico que apresenta um maior gasto energético (Ribeiro, Almeida-Dias et al. 2007). Em contrapartida, observamos uma maior atividade fibrinolítica (aumento da concentração de t-PA) pós-protocolo excêntrico sem alteração na coagulação, discordando de dados da literatura que mostram aumento de coagulação e fibrinólise pós exercício em pequena proporção, mesmo em exercícios de menor intensidade (Ferguson, Bernier et al. 1987). O PCR também não sofreu alteração neste período, o que poderia explicar o aumento da fibrinólise, uma vez que o mesmo estimula o PAI-1 (Speidl, Zeiner et al. 2005).

Ao analisar as respostas pós 24h e pós 48h, percebe-se que no protocolo concêntrico a atividade inflamatória também não se alterou enquanto que a atividade

fibrinolítica se mostrou aumentada (diminuição de PAI-1). Ao mesmo tempo, no protocolo excêntrico, a atividade inflamatória se mostrou aumentada (aumento de PCR) enquanto que atividade fibrinolítica mostrou diminuição (diminuição do t-PA e aumento do PAI-1). Portanto, demonstrou-se que nenhum dos dois diferentes protocolos alterou os fatores de coagulação. No entanto o protocolo excêntrico mostra uma concentração maior de PAI-1 e PCR quando comparado ao concêntrico no momento 48h, mostrando que existe uma maior inibição do processo de fibrinólise em conjunto com o aumento da inflamação, corroborando com a hipótese deste trabalho.

Vários estudos têm demonstrado um incremento nos fatores de coagulação, seguido por um aumento da ativação do sistema fibrinolítico pela maior concentração de tPA e diminuição do PAI-1 após o exercício, resposta essa dependente da intensidade do mesmo. Alguns estudos em adultos tem mostrado um incremento de FVIII entre 20% e 336% em qualquer tipo de exercício (Davis, Abildgaard et al. 1976; Andrew, Carter et al. 1986; Ferguson, Bernier et al. 1987; Bourey and Santoro 1988; Rankinen, Vaisanen et al. 1995). Estes dados discordam de nossos resultados nos quais encontramos um aumento nos fatores de coagulação FVIII e FvW apenas no momento logo após o exercício e apenas no grupo concêntrico. Isso pode ter ocorrido devido ao protocolo dos outros estudos não apresentarem componentes puramente excêntricos, e sim uma ênfase, mas também existiam componentes concêntricos, o que pode ter tornado esses protocolos mais desgastantes em relação ao do nosso trabalho que foi puramente excêntrico (Armstrong, Warren et al. 1991; Molz, Heyduck et al. 1993).

Já está bem estabelecido na literatura que o exercício excêntrico é metabolicamente menos exigente e recruta uma quantidade menor de unidades motoras quando comparado ao concêntrico (Bonde-Petersen, Knuttgen et al. 1972; Armstrong, Warren et al. 1991). Essa menor ativação de unidades motoras é responsável por uma maior produção de força em cada fibra muscular, acarretando maior dano e com isso aumentando a concentração de PCR (Faulkner, Brooks et al. 1993; Allen 2001; Baroni, Leal Junior et al. 2010).

Este estudo encontrou um aumento significativo na concentração de PCR 48h após o protocolo excêntrico quando comparado com os momentos anteriores e com o protocolo concêntrico, mostrando que o maior dano gerado ocasionou um aumento inflamatório, corroborando com estudo que avaliou 11 homens antes e após 300 ações excêntricas do músculo quadríceps. Foi acompanhada a resposta de PCR durante sete dias após o exercício. Após o período de acompanhamento foi encontrado o pico de PCR 48h após a realização do protocolo (Paulsen, Benestad et al. 2005).

As células endoteliais reagem a estímulos patogênicos por múltiplas alterações de sua funcionalidade (Vallance 2000; Colman 2001). Entre elas está a liberação de tPA e PAI-1. O presente estudo encontrou aumento de tPA logo após o protocolo excêntrico mas depois os valores voltaram ao normal concordando com resultados prévios de nosso grupo, nos quais mostramos aumento de tPA logo após o exercício e depois o retorno a valores basais (Ribeiro, Almeida-Dias et al. 2007).

Quando analisada a concentração de PAI-1, ambos os grupos tiveram uma redução nos momentos 24 e 48h quando comparados com o momento após o exercício como é mostrado na literatura onde o PAI-1 diminui em contrapartida ao aumento de tPA (Speidl, Zeiner et al. 2005), entretanto no momento 48h pós exercício existe uma diferença significativa onde o PAI-1 se encontra aumentado no grupo excêntrico, o que mostra uma diminuição na capacidade fibrinolítica em resposta a esse protocolo.

Existem evidências de que o aumento de PCR pode desequilibrar o balanço entre coagulação e fibrinólise (Ribeiro, Almeida-Dias et al. 2007; Weil, Greiner et al. 2011). Em um estudo realizado com 54 homens com diferentes concentrações de PCR, o grupo com alta concentração apresentou uma redução na capacidade endotelial de liberar tPA (Weil, Greiner et al. 2011). Em nosso estudo não encontramos diferença na liberação de tPA mesmo no momento 48h onde foi o pico de PCR. Tal diferença pode estar relacionada ao fato do estudo de Weill ter sido desenvolvido em indivíduos com disfunção vascular previamente estabelecida.

Em contrapartida um estudo de nosso grupo (Ribeiro, Almeida-Dias et al. 2007) analisou 20 crianças que realizavam exercícios prioritariamente concêntricos ou excêntricos em *step*. Não foram encontradas diferenças nos fatores de coagulação e no tPA 24h após o protocolo, entretanto, foi encontrado um aumento no PAI-1 no grupo excêntrico mostrando uma inibição da capacidade fibrinolítica, o que corrobora os nossos resultados .

Alguns estudos demonstram que a PCR estimula a liberação de PAI-1 a partir das células endoteliais, alterando o balanço de coagulação e fibrinólise (Fay 2010).

Quando células endoteliais de aorta humana são incubadas com PCR há um incremento tempo e dose dependentes na liberação de PAI-1 (Devaraj, Xu et al. 2003).

No presente estudo foi encontrado um aumento do PAI-1 no grupo excêntrico exatamente no ponto onde o nível de PCR estava aumentado em relação ao concêntrico, concordando com os achados da literatura que mostram a PCR estimulando a liberação de PAI-1 nas células endoteliais, além disso, foi encontrada uma correlação positiva entre PCR e PAI-1 $r = 0,69$ mostrando que quanto maior a concentração de PCR maior também a de PAI-1.

Os achados da literatura mostram que a PCR é um preditor para doenças cardiovasculares, pois interfere diretamente no balanço entre coagulação e fibrinólise (Devaraj, Xu et al. 2003; Fay 2010). Protocolos de exercício como o excêntrico que aumentem o dano muscular, provocam um incremento na concentração de PCR gerando um aumento de PAI-1 e com isso diminuindo o processo de fibrinólise e podendo aumentar a formação de coágulos (Ribeiro, Almeida-Dias et al. 2007).

Alguns estudos ainda mostram que a PCR pode inibir a produção de tPA o que em conjunto com a o estímulo de PAI-1 pode aumentar ainda mais o risco para formação de trombos (Singh, Devaraj et al. 2005).

A análise de outras citocinas pró-inflamatórias pode ser interessante para se avaliar a extensão da resposta inflamatória com o exercício excêntrico, bem como a análise de outras populações que possuam PCR cronicamente aumentada. Neste sentido se torna importante avaliar populações como obesos e diabéticos que possam

estar cronicamente com PAI-1 elevado e com uma alta inibição do processo de fibrinólise, apresentando um risco aumentado para formação de trombos já que pequenas alterações inflamatórias já alteram o processo de fibrinólise.

10 CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou que, como esperado, o exercício excêntrico causa uma maior perda de força e gera uma maior resposta inflamatória quando comparado ao concêntrico. Associado a este fenômeno, ambos os tipos de exercício aumentam o processo de coagulação, entretanto o exercício excêntrico causa inibição da fibrinólise pelo aumento de PAI-1 48h após o protocolo e esse aumento tem correlação com o aumento da inflamação por meio de PCR.

11 LIMITAÇÕES

A principal limitação deste estudo foi a análise de apenas um marcador inflamatório, sendo que poderiam ter sido avaliados diversos outros marcadores tanto pró quanto anti-inflamatórios.

12 REPERCUSSÕES CLÍNICAS E PERSPECTIVAS

O aumento da inflamação gera um desbalanço entre coagulação e fibrinólise, o que pode ocasionar um aumento na formação de trombos em pessoas que fazem exercícios lesivos com frequência ou que apresentam marcadores inflamatórios aumentados cronicamente, como diabéticos ou até mesmo obesos. Isso pode gerar um maior risco para o acontecimento de eventos cardiovasculares.

Algumas perspectivas para a sequência deste estudo seriam trabalhar com populações especiais, como diabéticos e obesos. Outra perspectiva seria submeter os voluntários a um treinamento físico para avaliar as respostas dos mesmos marcadores.

13 REFERÊNCIAS

- Adams, G. R., M. R. Duvoisin, et al. (1992). "Magnetic resonance imaging and electromyography as indexes of muscle function." *J Appl Physiol* **73**(4): 1578-1583.
- Allen, D. G. (2001). "Eccentric muscle damage: mechanisms of early reduction of force." *Acta Physiol Scand* **171**(3): 311-319.
- Andrew, M., C. Carter, et al. (1986). "Increases in factor VIII complex and fibrinolytic activity are dependent on exercise intensity." *J Appl Physiol* **60**(6): 1917-1922.
- Armstrong, R. B., G. L. Warren, et al. (1991). "Mechanisms of exercise-induced muscle fibre injury." *Sports Med* **12**(3): 184-207.
- Baroni, B. M., E. C. Leal Junior, et al. (2010). "Low level laser therapy before eccentric exercise reduces muscle damage markers in humans." *Eur J Appl Physiol* **110**(4): 789-796.
- Becker, G. F., R. C. Macedo, et al. (2012). "Combined effects of aerobic exercise and high-carbohydrate meal on plasma acylated ghrelin and levels of hunger." *Appl Physiol Nutr Metab* **37**(1): 184-192.
- Blair, S. N., H. W. Kohl, 3rd, et al. (1995). "Changes in physical fitness and all-cause mortality. A prospective study of healthy and unhealthy men." *JAMA* **273**(14): 1093-1098.
- Bonde-Petersen, F., H. G. Knuttgen, et al. (1972). "Muscle metabolism during exercise with concentric and eccentric contractions." *J Appl Physiol* **33**(6): 792-795.
- Bouma, B. N. and L. O. Mosner (2004). "Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) at the interface between coagulation and fibrinolysis." *Pathofisiol haemost thromb* **33**: 375 – 381.
- Bourey, R. E. and S. A. Santoro (1988). "Interactions of exercise, coagulation, platelets, and fibrinolysis--a brief review." *Med Sci Sports Exerc* **20**(5): 439-446.
- Brooks, S. V., E. Zerba, et al. (1995). "Injury to muscle fibres after single stretches of passive and maximally stimulated muscles in mice." *J Physiol* **488** (Pt 2): 459-469.
- Byrne, C., C. Twist, et al. (2004). "Neuromuscular function after exercise-induced muscle damage: theoretical and applied implications." *Sports Med* **34**(1): 49-69.
- Cohen, R. J., S. E. Epstein, et al. (1968). "Alterations of fibrinolysis and blood coagulation induced by exercise, and the role of beta-adrenergic-receptor stimulation." *Lancet* **2**(7581): 1264-1266.
- Colman, R. W. (2001). "Role of the light chain of high molecular weight kininogen in adhesion, cell-associated proteolysis and angiogenesis." *Biol Chem* **382**(1): 65-70.
- Cunha, G., T. Lorenzi, et al. (2011). "Effect of biological maturation on maximal oxygen uptake and ventilatory thresholds in soccer players: An allometric approach." *J Sports Sci* **29**(10): 1029-1039.
- Cunha, G. S., F. G. Célia, et al. (2008). "Effects of the biological maturation on maximal oxygen uptake and ventilatory breakpoint of Brazilian soccer players " *Gazz Med Ital - Arch Sci Med* **167**(2): 43-49.
- Davis, G. L., C. F. Abildgaard, et al. (1976). "Fibrinolytic and hemostatic changes during and after maximal exercise in males." *J Appl Physiol* **40**(3): 287-292.

- Dawson, S. and A. Henney (1992). "The status of PAI-1 as a risk factor for arterial and thrombotic disease: a review." Atherosclerosis **95**(2-3): 105-117.
- De Paz, J. A., J. G. Villa, et al. (1995). "Effects of oral contraceptives on fibrinolytic response to exercise." Med Sci Sports Exerc **27**(7): 961-966.
- Devaraj, S., D. Y. Xu, et al. (2003). "C-reactive protein increases plasminogen activator inhibitor-1 expression and activity in human aortic endothelial cells: implications for the metabolic syndrome and atherothrombosis." Circulation **107**(3): 398-404.
- Faulkner, J. A., S. V. Brooks, et al. (1993). "Injury to skeletal muscle fibers during contractions: conditions of occurrence and prevention." Phys Ther **73**(12): 911-921.
- Fay, W. P. (2010). "Linking inflammation and thrombosis: Role of C-reactive protein." World J Cardiol **2**(11): 365-369.
- Ferguson, E. W., L. L. Bernier, et al. (1987). "Effects of exercise and conditioning on clotting and fibrinolytic activity in men." J Appl Physiol **62**(4): 1416-1421.
- Gibala, M. J., J. D. MacDougall, et al. (1995). "Changes in human skeletal muscle ultrastructure and force production after acute resistance exercise." J Appl Physiol **78**(2): 702-708.
- Golden, C. L. and G. A. Dudley (1992). "Strength after bouts of eccentric or concentric actions." Med Sci Sports Exerc **24**(8): 926-933.
- Hansen, J. B., L. Wilsgard, et al. (1990). "Formation and persistence of procoagulant and fibrinolytic activities in circulation after strenuous physical exercise." Thromb Haemost **64**(3): 385-389.
- ISAK, I. S. f. t. A. o. K. (2006). "International standards for anthropometric assessment: a manual for teaching materials for accreditation." **2 nd.Ed.**
- Jern, C., E. Eriksson, et al. (1989). "Changes of plasma coagulation and fibrinolysis in response to mental stress." Thromb Haemost **62**(2): 767-771.
- Jones, D. A. and J. M. Round (1997). "Human muscle damage induced by eccentric exercise or reperfusion injury: a common mechanism." Oxford University Press: 64-75.
- Koenig, W., M. Sund, et al. (1999). "C-Reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men: results from the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992." Circulation **99**(2): 237-242.
- Korsan-Bengtson, K., L. Wilhelmsen, et al. (1973). "Blood coagulation and fibrinolysis in relation to degree of physical activity during work and leisure time. A study based on a random sample of 54-year-old men." Acta Med Scand **193**(1-2): 73-77.
- Leon, A. S., J. Connett, et al. (1987). "Leisure-time physical activity levels and risk of coronary heart disease and death. The Multiple Risk Factor Intervention Trial." JAMA **258**(17): 2388-2395.
- Libby, P., P. M. Ridker, et al. (2002). "Inflammation and atherosclerosis." Circulation **105**(9): 1135-1143.
- Mockel, M., N. V. Ulrich, et al. (1999). "Exhaustive cycle exercise induces P-selectin expression, coagulation, and fibrinolysis activation in ultraendurance athletes." Thromb Res **94**(4): 263-269.
- Molz, A. B., B. Heyduck, et al. (1993). "The effect of different exercise intensities on the fibrinolytic system." Eur J Appl Physiol Occup Physiol **67**(4): 298-304.

- Morgan, D. L. and D. G. Allen (1999). "Early events in stretch-induced muscle damage." J Appl Physiol **87**(6): 2007-2015.
- Nieman, D. C., J. M. Davis, et al. (2005). "Muscle cytokine mRNA changes after 2.5 h of cycling: influence of carbohydrate." Med Sci Sports Exerc **37**(8): 1283-1290.
- Paulsen, G., H. B. Benestad, et al. (2005). "Delayed leukocytosis and cytokine response to high-force eccentric exercise." Med Sci Sports Exerc **37**(11): 1877-1883.
- Prisco, D., R. Paniccia, et al. (1998). "Evaluation of clotting and fibrinolytic activation after protracted physical exercise." Thromb Res **89**(2): 73-78.
- Proske, U. and D. L. Morgan (2001). "Muscle damage from eccentric exercise: mechanism, mechanical signs, adaptation and clinical applications." J Physiol **537**(Pt 2): 333-345.
- Radomski, M. W., R. M. Palmer, et al. (1987). "Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium." Lancet **2**(8567): 1057-1058.
- Rankinen, T., S. Vaisanen, et al. (1995). "Acute dynamic exercise increases fibrinolytic activity." Thromb Haemost **73**(2): 281-286.
- Ribeiro, J., A. Almeida-Dias, et al. (2007). "Exhaustive exercise with high eccentric components induces prothrombotic and hypofibrinolytic responses in boys." Int J Sports Med **28**(3): 193-196.
- Ribeiro, J. L., G. D. Salton, et al. (2008). "The effect of ABO blood group on von Willebrand response to exercise." Clin Appl Thromb Hemost **14**(4): 454-458.
- Rogero, M. M., R. R. Mendes, et al. (2005). "[Neuroendocrine and nutritional aspects of overtraining]." Arq Bras Endocrinol Metabol **49**(3): 359-368.
- Ruggeri, Z. M. (1997). "Perspective Series: Cell adhesion in vascular biology- von Willebrand Factor." J Clin Invest **99**: 559-564.
- Singh, U., S. Devaraj, et al. (2005). "C-reactive protein decreases tissue plasminogen activator activity in human aortic endothelial cells: evidence that C-reactive protein is a procoagulant." Arterioscler Thromb Vasc Biol **25**(10): 2216-2221.
- Speidl, W. S., A. Zeiner, et al. (2005). "An increase of C-reactive protein is associated with enhanced activation of endogenous fibrinolysis at baseline but an impaired endothelial fibrinolytic response after venous occlusion." J Am Coll Cardiol **45**(1): 30-34.
- Steffel, J. and T. F. Luscher (2009). "Predicting the development of atherosclerosis." Circulation **119**(7): 919-921.
- Stratton, J. R., W. L. Chandler, et al. (1991). "Effects of physical conditioning on fibrinolytic variables and fibrinogen in young and old healthy adults." Circulation **83**(5): 1692-1697.
- Stupka, N., S. Lowther, et al. (2000). "Gender differences in muscle inflammation after eccentric exercise." J Appl Physiol **89**(6): 2325-2332.
- Stupka, N., M. A. Tarnopolsky, et al. (2001). "Cellular adaptation to repeated eccentric exercise-induced muscle damage." J Appl Physiol **91**(4): 1669-1678.
- Szymanski, L. M. and R. R. Pate (1994). "Effects of exercise intensity, duration, and time of day on fibrinolytic activity in physically active men." Med Sci Sports Exerc **26**: 1102-1108.
- Tonet, A. C., M. Karnikowski, et al. (2008). "Association between the -174 G/C promoter polymorphism of the interleukin-6 gene and cardiovascular disease risk factors in Brazilian older women." Braz J Med Biol Res **41**(1): 47-53.

- Vallance, P. (2000). "Nitric oxide synthesised from L-arginine mediates endothelium dependent dilatation in human veins in vivo." Cardiovasc Res **45**(1): 143-147.
- van den Burg, P. J., J. E. Hospers, et al. (2000). "Aging, physical conditioning, and exercise-induced changes in hemostatic factors and reaction products." J Appl Physiol **88**(5): 1558-1564.
- van den Burg, P. J., J. E. Hospers, et al. (1997). "Effect of endurance training and seasonal fluctuation on coagulation and fibrinolysis in young sedentary men." J Appl Physiol **82**(2): 613-620.
- Van Mourik, A., R. Boertjes, et al. (1999). "von Willebrand Factor Propeptide in Vascular Disorders: A toll to distinguish between acute and chronic endothelial cell perturbation." Blood Coagul Fibrinolysis **94**: 179-185
- Vaz, A. R., S. L. Silva, et al. (2011). "Pro-inflammatory cytokines intensify the activation of NO/NOS, JNK1/2 and caspase cascades in immature neurons exposed to elevated levels of unconjugated bilirubin." Exp Neurol.
- Venugopal, S. K., S. Devaraj, et al. (2003). "C-reactive protein decreases prostacyclin release from human aortic endothelial cells." Circulation **108**(14): 1676-1678.
- Vlot, A. J., S. J. Koppelman, et al. (1998). "Factor VIII and von Willebrand factor." Thromb Haemost **79**(3): 456-465.
- Weil, B. R., J. J. Greiner, et al. (2011). "Relation of C-reactive protein to endothelial fibrinolytic function in healthy adults." Am J Cardiol **108**(11): 1675-1679.
- Wheeler, M. E., G. L. Davis, et al. (1986). "Physiological changes in hemostasis associated with acute exercise." J Appl Physiol **60**(3): 986-990.
- Zimmerman, T. S., L. W. Hoyer, et al. (1975). "Determination of the von Willebrand's disease antigen (factor VIII-related antigen) in plasma by quantitative immunoelectrophoresis." J Lab Clin Med **86**(1): 152-159.

ANEXO 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado a participar de um estudo que avaliará o efeito de dois diferentes tipos de exercício, concêntrico e excêntrico nas respostas de coagulação, fluxo sanguíneo e sistemas de defesa orgânicos (imunológicos).

Os exercícios concêntricos são aqueles nos quais se realiza uma contração muscular com encurtamento, como quando subimos uma escada, ao passo que os exercícios excêntricos são aqueles nos quais a musculatura estira, como quando descemos uma escada.

Para a sua participação será necessário que você compareça ao Laboratório de Pesquisa do Exercício (LAPEX) da Escola de Educação Física da UFRGS seis vezes ao longo de duas semanas.

A ordem dos exercícios (contrações concêntricas ou excêntricas) será definida por sorteio no primeiro encontro.

No primeiro encontro da semana você será submetido a um protocolo de exercício muscular, com contrações máximas, de acordo com o sorteio realizado. Após cada teste será coletada uma amostra de 12 ml de sangue e, nos dois dias seguintes, você deverá retornar ao laboratório para mais duas coletas de sangue. As coletas serão realizadas por um profissional qualificado e usando material esterilizado, descartável e individual. O material coletado será armazenado em um ultra freezer para posterior análise bioquímica na Escola de Educação Física e no Departamento de Genética da UFRGS. O material remanescente será descartado de acordo com as normas de biossegurança.

No primeiro dia da segunda semana você será submetido ao segundo protocolo de exercício muscular, com contrações máximas (concêntricas ou excêntricas). Todos os procedimentos da semana anterior serão repetidos.

Durante a realização dos testes de força você poderá sentir fadiga, algum desconforto muscular. Além disso, o protocolo de exercício pode causar dores

musculares tardias, principalmente na musculatura utilizada, até 48 após a realização do teste.

Como benefício você terá os resultados de todos os testes sanguíneos que realizar durante o estudo, além dos valores de força obtidos, o que poderá ser futuramente utilizado para a sua prescrição de treinamento.

Ressaltamos que todos os resultados serão mantidos em sigilo e quando divulgados preservarão o anonimato dos participantes.

A participação no estudo é voluntária, e os participantes terão o direito a acessar seus resultados ao longo do estudo. Você é livre para realizar perguntas antes, durante e após o estudo, estando livre para desistir do mesmo em qualquer momento, sem prejuízo algum para as partes.

O pesquisador responsável se compromete a acompanhar os participantes, prestar eventuais informações a qualquer momento do estudo.

Qualquer dúvida, dificuldade ou desconforto relacionado ao estudo, entre em contato com os pesquisadores responsáveis Bruno Costa Teixeira ou Alvaro Reischak de Oliveira pelos telefones 9925-0957 ou 3308-5862 ou se preferir pode tirar suas dúvidas diretamente no comitê de ética em pesquisa da UFRGS, localizado à Av. Paulo Gama, 110 - 7º andar, Porto Alegre – RS, pelo fone 3308.3629.

Este termo de compromisso livre e esclarecido deverá ser preenchido em duas vias, sendo uma mantida com o sujeito da pesquisa (você) e outra mantida arquivada pelo pesquisador.

Data: ___ / ___ / ___

Nome do voluntário: _____

Assinatura: _____

Pesquisador responsável: _____

Este documento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul UFRGS sob número 21817.

ANEXO 2 - ANAMNESE

Identificação:

Nome: _____

Data de nascimento: _____ Ocupação: _____

HISTÓRIA PATOLÓGICA PREGRESSA:

DOENÇAS CRÔNICAS: () Não; () Sim. Quais? _____

TABAGISMO: ATUAL: () Não; () Sim. _____ Cigarros por dia. Há _____ anos. _____

PASSADO: () Não; () Sim. _____ Cigarros por dia. Período: _____

DIABETES: () Não; () Sim. Desde quando? _____

HIPERTENSÃO ARTERIAL: () Não; () Sim. Desde quando? _____

DOENÇA RENAL: () Não; () Sim. Desde quando? _____

DISLIPIDEMIA: () Não; () Sim. Desde quando? _____

CIRURGIA GERAL: () Não; () Sim. Qual / Quando? _____

CIRURGIA ORTOPÉDICA: () Não; () Sim. Qual / Quando? _____

FRATURA: () Não; () Sim. Qual / Quando? _____

RESTRIÇÕES de MOVIMENTOS ARTICULARES: () Não; () Sim. Qual articulação e desde quando?

MEDICAMENTOS DE USO CONTÍNUO: () Não; () Sim. Quais, desde Quando e Frequência (doses)?

HISTÓRIA FAMILIAR:

DOENÇAS CARDIOVASCULARES, AVC ou MORTE SÚBITA PRECOSES:

(parentes de 1º grau com idade inferior a 50 anos): () Não; () Sim. Quais, Quem e Quando?

ATIVIDADES FÍSICAS REGULARES:

ATUAL: () Não; () Sim. Onde, Desde Quando, Quais Atividades e com que Frequência:

NO PASSADO: () Não; () Sim. Onde, Quando, Quais Atividades e com que Frequência:

OBSERVAÇÕES: _____

