

DANO MUSCULAR E PERFIL IMUNOLÓGICO NO TRIATLO IRONMAN BRASIL

CLÍNICA MÉDICA DO
EXERCÍCIO E DO ESPORTE



ARTIGO ORIGINAL

MUSCLE DAMAGE AND IMMUNOLOGICAL PROFILE IN THE IRONMAN BRAZIL TRIATHLON

Lourenço Sampaio de Mara¹
Tales de Carvalho¹
Alexandra Amin Lineburger¹
Ricardo Goldfeder¹
Roberto Melo Lemos¹
Leila Brochi¹

1. Universidade do Estado de Santa Catarina – Centro de Saúde e Ciências do Esporte Florianópolis – Florianópolis, SC, Brasil.

Correspondência:

Rua Pascoal Simone,
358, Coqueiros,
88080-350 – Florianópolis,
SC, Brasil.
lousmara@hotmail.com

RESUMO

Introdução: O triatlo *Ironman* se caracteriza por ser uma atividade de longa duração em que alterações orgânicas agudas estão presentes. **Objetivo:** Verificar a ocorrência de dano muscular e sua relação com o perfil imunológico em triatletas do *Ironman* – Brasil. **Métodos:** A amostra de sangue foi obtida de 21 atletas em três momentos: dois dias antes da prova (pré), imediatamente após a prova (pós) e seis dias após a prova (seis dias pós), em que foram analisadas de forma isolada as variáveis creatinoquinase (CK), os leucócitos totais, linfócitos, subtipos de linfócitos CD4+ e CD8+, e relação CD4+/CD8+ e a correlação da CK como marcador de dano muscular, com as demais variáveis. **Resultados:** As diferenças significativas foram observadas nos leucócitos pré (média: 6.242,9 mm³; DP: 1.233,3) e pós (média: 18.398,1 mm³; DP: 3.904,0; p < 0,0001); pós (média: 18.398,1 mm³; DP: 3.904,0) e seis dias pós (média: 6.396,4 mm³; DP: 1.299,8; p < 0,0001); CK pré (média: 173,2 U/l; DP: 103,7) e pós (média: 2.339,4 U/l; DP: 1.729,0; p < 0,0001), CK pré (média: 173,2 U/l; DP: 103,7) e seis dias pós (média: 368,1 U/l; DP: 274,4; p < 0,0053); CK pós (média: 2.339,4 U/l; DP: 1.729,0) e seis dias pós (média: 368,1 U/l; DP: 274,4; p < 0,0003); CD4+/CD8+ pré (média: 1,9; DP: 0,8) e seis dias pós (média: 2,4; DP: 1,1; p < 0,00032). **Conclusão:** Houve dano muscular no período pós-prova imediato e melhora do perfil imunológico após o sexto dia.

Palavras-chave: creatinoquinase, linfócitos, leucócitos, triatlo.

ABSTRACT

Introduction: The Ironman triathlon is characterized as an activity of long duration in which acute organic changes are present. **Objective:** To investigate the relationship between muscle damage and immune system. **Methods:** Blood samples were obtained from 21 athletes at three different times: 2 days before (pre), immediately after (post) and 6 days after the race (6 days post). The creatine kinase (CK), total leukocytes, lymphocytes, lymphocyte subtypes CD4+ and CD8+ variables were independently assessed, as well as the CD4+ / CD8+ ratio. Additionally, the CK correlation as a marker of muscle damage with the others variables was studied. **Results:** Significant results observed were: leukocytes pre (mean: 6,242.9 mm³; SD: 1,233.3) and post (mean: 18,398.1 mm³; SD: 3,904.0; p < 0.0001), post (mean: 18,398.1 mm³; SD: 3,904.0) and 6 days post race (mean: 6,396.4 mm³; SD: 1,299.8; p < 0.0001), CK pre (mean: 173.2 U/l; SD: 103.7) and post (2,339.4 U/l; SD: 1,729.0; p < 0.0001), CK pre (mean: 173.2 U/l; SD: 103.7) and 6 days post (mean: 368.1 U/l; SD: 274.4; p < 0.0053), CK post (mean: 2,339.4 U/l; SD: 1,729.0) and 6 days post (mean: 368.1 U/l; DP: 274.4; p < 0.0003), CD4+ / CD8+ pre (mean: 1.9; SD: 0.8) and 6 days post (mean: 2.4; SD: 1.1; p < 0.00032). **Conclusion:** There was muscle damage immediately after the race and improvement in immune profile on the sixth day after the race.

Keywords: creatine kinase, lymphocytes, leukocytes, triathlon.

Recebido em 06/04/2012, Aprovado em 11/01/2013.

INTRODUÇÃO

O triatlo *Ironman* é uma prova de longa duração de 226 km, composta por 3,8 km de natação, 180 km de ciclismo e 42,195 km de corrida com sua duração variando entre um pouco mais de oito horas, que é o tempo dos primeiros colocados, e 17 horas, tempo máximo permitido para cumprir a prova.

A etapa brasileira do *Ironman* é realizada em Florianópolis, capital do estado de Santa Catarina, desde 2001, quando participaram 498 atletas. Desde então, o evento cresceu exponencialmente, tendo em 2011 o total de 1.822 participantes. Entretanto, o número de vagas não supre a real demanda, uma vez que as 2.000 inscrições disponibilizadas para o ano de 2012 se esgotaram em apenas 14 minutos, inviabilizando a inscrição de muitos atletas.

Em eventos com mais de quatro horas de duração, alterações orgânicas e psicológicas são fatores que apresentam grande influência no desempenho atlético e na ocorrência de problemas de saúde^{1,2}.

Estudos prévios têm demonstrado a influência do exercício físico de longa duração na função imune, incluindo populações de leucócitos, linfócitos T e células *natural killer* (NK)^{3,4}, e indução de dano muscular e resposta inflamatória sistêmica^{5,6}.

O dano muscular, verificado em atividades prolongadas, como o triatlo *Ironman*, está associado ao aumento dos níveis de CK⁷, liberação de interleucinas (IL)s, e consequente modulação do sistema imune. É sugerido que alterações imunológicas e hormonais ocorram em virtude do treinamento de grande volume e intensidade, que, associados ao estresse da competição, podem ser percebidos após o evento⁸. Essas alterações podem causar imunodepressão⁹, com mudanças no número de neutrófilos e mudanças na proporção dos subtipos de linfócitos, podendo ocasionar aumento da suscetibilidade às infecções, comumente no trato respiratório superior⁹. O objetivo deste estudo foi verificar a ocorrência de dano muscular e sua relação com o perfil imunológico em triatletas do triatlo *Ironman* Brasil.

MÉTODOS

Inicialmente, 23 atletas amadores integrantes de uma equipe de triatlo de Florianópolis, sendo dois do sexo feminino e 21 do masculino, foram convidados a participarem do estudo. Durante o período de coleta, dois indivíduos foram excluídos por não terem se submetido a duas das três coletas de sangue programadas.

O presente projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição onde foi realizado o estudo. Foi apresentado aos sujeitos termo de consentimento pós-esclarecido, tendo o protocolo 16/05.

Coletas de sangue – Foi realizada coleta de 10 ml de sangue em três momentos distintos: dois dias antes da prova (pré), imediatamente após o final da prova (pós) e seis dias após a prova (seis dias pós). Dos participantes do estudo, 21 atletas foram submetidos à coleta de sangue apenas no primeiro e segundo momento e 14 atletas nos três momentos.

Punção venosa, armazenamento, transporte e método – A punção venosa foi realizada por meio do sistema de coleta a vácuo na fossa cubital utilizando-se tubos de coleta *Sarstedt* com anticoagulante EDTA K₂ – volume 1,2 ml; tubos de coleta *Sarstedt* sem anticoagulante SST soro gel – volume 4,9 ml; agulhas coleta múltipla – *Sarstedt*. Após a coleta do material biológico e transcorrido o tempo necessário para a coagulação do sangue (no mínimo 30 minutos), os tubos de soro gel foram centrifugados durante 15 minutos a 1.500 rotações por minuto em centrífuga calibrada. Foram, então, acondicionados no refrigerador e transportados em maleta térmica apropriada e com gelo reciclável para serem avaliados no mesmo dia. Para a avaliação dos leucócitos analisou-se o hemograma, através de: amostra – sangue total (com anticoagulante EDTA); equipamento – SYSMEX-2100D, que é um analisador hematológico automático. Nele é empregado o sistema de citometria de fluxo fluorescente que apresenta excelente sistema diferencial da série branca.

Determinação da creatinoquinase total (CK total) – Amostra de soro, pelo método enzimático, por meio do Sistema Advia – 1650 Bayer. Os valores de referência para a CK total a uma temperatura de 37°C para as mulheres é de 25 a 165 U/l, e para os homens é entre 26 e 190 U/l.

Determinação dos níveis de linfócitos CD4⁺ e CD8⁺ – Amostra: sangue total (com anticoagulante EDTA). Por meio do uso de anticorpos monoclonais e por citometria de fluxo, investiga-se a presença de antígenos de membrana celular e intracelular, os quais são importantes para estudar as células e caracterizar as diferentes populações linfocitárias em termos relativos, a função das mesmas, com o objetivo de auxiliar no diagnóstico e acompanhamento de imunodeficiências.

Análise estatística – Consistiu de uma parte descritiva, com a determinação das estatísticas descritivas e de uma parte inferencial, que testou eventual diferença significativa entre os exames realizados. Estatísticas descritivas: determinaram a média aritmética, o desvio padrão. Análise inferencial: verificou eventuais correlações entre alguns parâmetros da análise, através da correlação de Pearson. O nível de significância do teste foi de 95% ($p < 0,05$), e as análises estatísticas foram desenvolvidas com a utilização do programa *Statistica* versão 7.0.

RESULTADOS

A amostra estudada constituiu-se de 21 atletas, dos quais dois eram do sexo feminino e 19 do masculino. A idade média foi de $37,1 \pm 7,9$ anos, com idade mínima de 21 anos e máxima de 51 anos. O tempo médio de prova dos participantes do estudo foi de $12h00' \pm 1h30'$, com menor tempo de $9h36'$ e o maior de $16h36'$.

O comportamento das variáveis creatinoquinase, leucócitos, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ e linfócitos antes, imediatamente após e seis dias

após a competição é apresentado na tabela 1. Os testes estatísticos (teste *t* de *Student*) mediram as diferenças estatisticamente significativas entre as estimativas das médias dos parâmetros comparadas nas três situações de duas a duas. As variações médias dos parâmetros estudados nos diferentes momentos estão ilustradas na figura 1.

Tabela 1. Valores plasmáticos de creatinoquinase, leucócitos, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ e linfócitos.

Variável	n	Pré	Pós	6 dias Pós	Valor p
Creatinoquinase (U/l)	21	173,24 (103,72)	2.339,43 (1.728,99)		<0,0001
	14	179,71 (124,79)		368,07 (274,44)	0,0053
	14		2.103,93 (1.594,65)	368,07 (274,44)	0,0003
Leucócitos (mm ³)	21	6.242,86 (1.666,02)	18.398,10b (3.904,05)		<0,0001
	14	6.464,29 (1.695,91)		6.396,43 (1.299,80)	0,8663
	14		18.185,00 (4.266,31)	6.396,43 (1.299,80)	<0,0001
CD4 ⁺ (mm ³)	21	810,48 (287,27)	766,10 (323,75)		0,5261
	14	877,43 (275,17)		952,79 (209,17)	0,2451
	14		803,79 (292,78)	952,79 (209,17)	0,0729
CD8 ⁺ (mm ³)	21	452,52 (183,44)	378,38 (143,64)		0,0710
	14	483,86 (209,40)		454,07 (161,37)	0,3675
	14		394,36 (154,74)	454,07 (161,37)	0,2207
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	21	1,94 (0,84)	2,11 (0,73)		0,1274
	14	2,02 (0,90)		2,36 (1,06)	0,0032
	14		2,19 (0,78)	2,36 (1,06)	0,3124
Linfócitos (mm ³)	21	1.801,37 (503,78)	1.833,06 (684,79)		0,8105
	14	1.927,30 (417,09)		1.960,32 (299,35)	0,7101
	14		1.938,23 (619,85)	1.960,32 (299,35)	0,9027

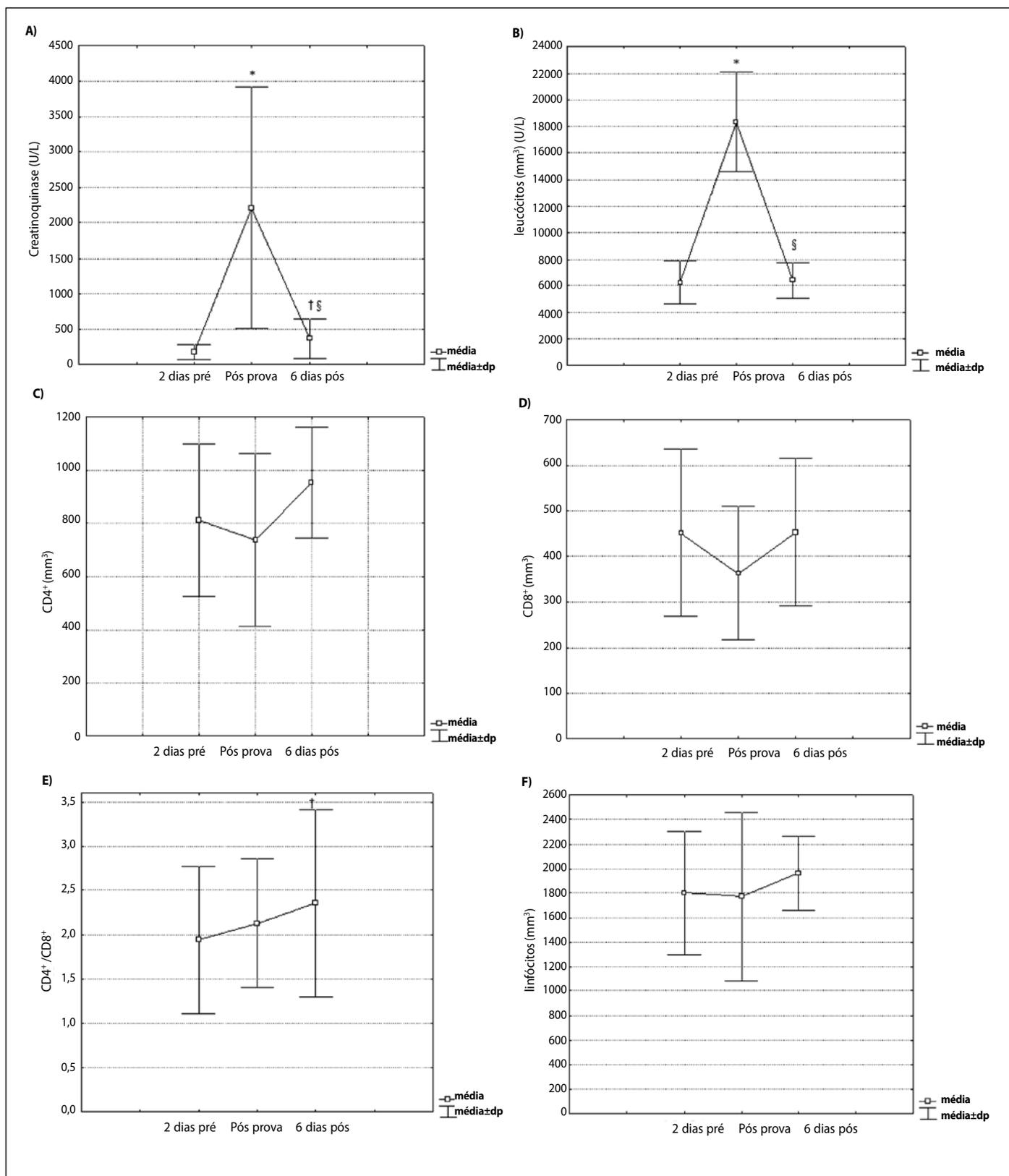
Valores são médias (desvio padrão). Pré = dois dias antes da prova; Pós = imediatamente após a prova; 6 dias Pós = seis dias depois da prova.

Houve diferença estatisticamente significativa na avaliação da CK nas três situações, pré com pós ($p < 0,0001$), pré com seis dias pós ($p = 0,0053$) e pós com seis dias pós ($p = 0,0003$). Os leucócitos apresentaram diferença estatisticamente significativa em duas situações, pré com pós ($p < 0,0001$) e pós com seis dias pós ($p < 0,0001$). A relação CD4⁺/CD8⁺ apresentou diferença estatisticamente significativa entre pré e seis dias pós ($p = 0,0032$).

Os resultados da análise da correlação entre os percentuais de variação da CK com os leucócitos totais, CD4⁺/CD8⁺ e linfócitos estão apresentados na tabela 2.

DISCUSSÃO

A dor muscular, bem como a limitação da marcha, são sintomas referidos que levam o atleta a procurar atendimento na tenda médica após a prova. Tal situação decorre do dano muscular que pode estar associado a diversos fatores¹⁰. Estudos têm avaliado marcadores de dano muscular como dor e enzimas musculares plasmáticas. Acredita-se que estes parâmetros não medem de forma acurada a extensão de lesão



Dois dias Pré = dois dias antes da prova; Pós-prova = imediatamente após prova; 6 dias Pós = seis dias depois da prova. A) Variação da creatinquinase (CK); B) Variação dos leucócitos; C) Variação da atividade do CD4⁺; D) Variação da atividade do CD8⁺; E) Relação CD4⁺/CD8⁺; F) Variação dos linfócitos. * diferenças significativas entre pré com pós-prova; † diferenças significativas entre pré com seis dias após a prova; § diferenças significativas entre pós prova com seis dias após a prova; p < 0,05.

Figura 1. Variações médias dos valores plasmáticos de creatinquinase, leucócitos, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ e linfócitos.

muscular¹¹, e que parâmetros de flexibilidade e potência são métodos mais efetivos para avaliar o dano muscular¹¹, sendo uma limitação do estudo a não aferição destas variáveis. Contudo, a CK, lactato desidrogenase (LDH), troponina-I e mioglobina são frequentemente descritas como marcadores de dano muscular, isso porque essas moléculas citoplasmáticas não têm a capacidade de atravessar a barreira da mem-

brana sarcoplasmática¹². No estudo realizado, utilizou-se a medida da enzima CK por ser considerada como melhor biomarcador indireto de dano ao tecido muscular¹². O dano muscular, por sua vez, estimula o processo inflamatório através da ativação de interleucinas (IL's), que modulam a atividade e distribuição das células imunológicas¹². Em estudo realizado com ultramaratonistas, verificaram-se alterações significativas

Tabela 2. Correlação das variações percentuais da creatinoquinase com leucócitos totais, CD4⁺/CD8⁺ e linfócitos.

		Leucócitos		CD4 ⁺ /CD8 ⁺		Linfócitos		
		Δ% pré pós	Δ% pré 6 pós	Δ% pré pós	Δ% pré 6 pós	Δ% pré pós	Δ% pré 6 pós	
Creatinoquinase	Δ% pré / pós	R	0,33	-0,34	0,05	-0,27	0,09	0,11
		Valor p	0,1490	0,2380	0,8280	0,3500	0,6960	0,7020
	Δ% pré / 6 pós	R	-0,12	-0,48	-0,20	-0,23	0,20	0,24
		Valor p	0,6780	0,0800	0,4830	0,4370	0,4950	0,4180

* p < 0,05.

em biomarcadores como a CK e marcadores de inflamação como a IL-6 e proteína C reativa, sugerindo que o processo inflamatório está associado ao dano muscular¹³; adicionalmente, há evidências de forte correlação positiva entre o aumento de IL-6 e CK plasmático¹⁴. Além disso, é reconhecido que a contração e o dano muscular estimulam a síntese de IL-6¹⁵ e seus efeitos modulam aspectos imunológicos e metabólicos.

Conseqüentemente, acredita-se que a modulação do perfil das células imunológicas sofre influência do processo inflamatório gerado pelo dano muscular. Contudo, outros fatores, associados ou independentes ao dano muscular, como estado nutricional e uso de antioxidantes podem influenciar a resposta das interleucinas¹⁶⁻¹⁹. No estudo vigente, estes fatores não foram controlados; portanto, caracteriza uma limitação deste.

Ao avaliar o dano muscular através da enzima CK, observou-se um aumento significativo dos níveis séricos médios desta enzima imediatamente após a prova (segundo momento) e permaneceu elevado, com significância estatística, no sexto dia após a prova (terceiro momento) em relação aos dois dias anteriores à corrida (primeiro momento) (figura 1A). Tal comportamento enzimático reflete a persistência da injúria tecidual e, conseqüentemente, de atividade inflamatória. Os achados são concordantes com Neubauer *et al*, que investigaram 42 atletas de triatlo *Ironman*, nos seguintes momentos: dois dias antes, imediatamente após, um, cinco e 19 dias após a prova. Este estudo verificou relações significativas entre a dinâmica leucocitária, marcadores de dano muscular e interleucinas. Foi evidenciada uma pronunciada resposta inflamatória inicial, que em geral declina rapidamente, porém uma inflamação sistêmica de baixo grau persiste pelo menos até o quinto dia após a prova, possivelmente refletindo uma recuperação muscular incompleta⁶.

No exercício físico agudo, a resposta inflamatória em conseqüência do dano muscular, alterações hormonais e débito cardíaco promovem a demarginação de leucócitos do leito endotelial e a liberação de células da medula óssea, o que resulta no aumento exponencial da concentração sérica dos leucócitos²⁰. A leucocitose foi observada no presente estudo imediatamente pós prova e seis dias após (figura 1B), apresentando um comportamento semelhante à CK. Isto corrobora outro estudo²¹ em que se observou direta correlação da leucocitose como marcador de dano tecidual muscular. Os níveis dos leucócitos totais no terceiro momento mostraram-se semelhantes aos níveis basais, sendo provável que no sexto dia após a prova estes não sofram influências de alterações hemodinâmicas e neuroendócrinas de forma pronunciada. A correlação entre variação percentual de CK e leucócitos nestes momentos não foi estatisticamente significativa (tabela 2), o que pode ser explicado por momentos diferentes de picos plasmáticos destas variáveis ou por uma amostra de estudo pequena, sendo assim uma limitação do estudo.

Os linfócitos sanguíneos periféricos consistem em subtipos de células T, células B e células NK. As mudanças no número dos linfócitos

circulantes totais e subtipos T CD4⁺ e CD8⁺ apresentam-se com uma característica bifásica em que o aumento dos linfócitos circulantes (linfocitose) ocorre durante ou imediatamente após o esforço físico, seguido de uma diminuição (linfocitopenia) durante o estágio inicial da recuperação e um retorno aos níveis basais de repouso. Tais mudanças são proporcionais à intensidade e à duração do esforço⁸. Os resultados do estudo não verificaram este comportamento, provavelmente em decorrência dos momentos estudados. Por outro lado, os linfócitos totais não apresentaram alterações estatisticamente significativas entre os três momentos investigados (figura 1F), sendo estes achados concordantes com outro estudo²². Além disso, não se observou correlação estatisticamente significativa entre a variação percentual de CK e linfócitos totais nos diferentes momentos, denotando que o dano muscular não influenciou os níveis circulantes de linfócitos.

Os linfócitos T CD4⁺ não apresentaram diferença estatisticamente significativa nos diferentes momentos, mantendo-se inalterados após o esforço de longa duração (figura 1C), o que foi concordante com achados de outros autores^{23,24}.

A mudança desproporcional entre subtipos de células T CD4⁺ e T CD8⁺ resulta em mudança na relação CD4⁺/CD8⁺ que comumente declina durante e após exercício. Esta relação tem sido usada como um índice útil que representa a distribuição relativa dos subtipos de linfócitos T²⁵, sugerindo que a queda da relação CD4⁺/CD8⁺ pode estar associada à supressão da responsividade das células T após o exercício²⁶, conseqüente imunodepressão e suscetibilidade a infecções. Alguns autores constataram que o treino moderado de longa duração não altera a razão CD4⁺/CD8⁺^{27,28}. Em contrapartida, exercício prolongado e mais intenso (75% VO_{2max}) diminuiu a concentração de células CD4⁺, ou mesmo levam a um aumento na concentração de linfócitos CD8⁺²⁹, resultando no decréscimo na razão CD4⁺/CD8⁺. Contudo, apesar de alguns estudos demonstrarem um decréscimo no balanço CD4⁺/CD8⁺, não foi diagnosticado episódio de infecção de vias aéreas superiores (IVAS) nesses atletas³⁰, sugerindo que o organismo encontra-se em potencial estado de alerta contra agressões externas, o que tende a desvalorizar o significado clínico das descidas transitórias da relação CD4⁺/CD8⁺. No presente estudo, verificou-se que não houve uma diferença estatisticamente significativa na relação dos linfócitos T CD4⁺/CD8⁺ entre dois dias antes e imediatamente após prova; contudo, um aumento estatisticamente significativo da relação CD4⁺/CD8⁺ foi observado entre dois dias antes e seis dias após a prova (figura 1E). Isto não denotou uma tendência à imunossupressão no pós-prova imediato, e sugere um aumento do potencial imunológico seis dias após, provavelmente em decorrência da característica do esforço ser de moderada intensidade, apesar de longa duração.

Não houve, ainda, correlação estatisticamente significativa entre o percentual de variações da CK e relação linfócitos T CD4⁺/CD8⁺ e linfócitos totais entre os diferentes momentos (tabela 2), o que

não permite associar, neste estudo, a injúria tecidual muscular com alterações na distribuição e número absoluto de linfócitos circulantes.

Em resumo, o exercício de longa duração de moderada intensidade provocou evidências de dano muscular e de mudanças no perfil imunológico, observados pelo comportamento dos níveis de CK, leucócitos, e razão entre CD4⁺/CD8⁺.

CONCLUSÃO

O estudo evidenciou alterações enzimáticas séricas que permitiram concluir a ocorrência de dano muscular após a prova do triatlo

Ironman Brasil. O dano muscular observado não se correlacionou com as alterações do perfil das células imunes estudadas.

Um estado imunológico de alerta ou potencializado pode se estabelecer seis dias após a prova de triatlo *Ironman*.

Em triatletas de *Ironman*, estudos complementares avaliando o dano muscular, mediadores inflamatórios e modulação das células imunes em diferentes momentos são necessários.

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

REFERÊNCIAS

- Noakes TD, Goodwin N, Rayner BL, Branken T, Taylor RK. Water intoxication: a possible complication during endurance exercise, 1985. *Wilderness Environ Med* 2005;16:221-7.
- Burger-Mendonca M, Bielavsky M, Barbosa FC. Liver overload in Brazilian triathletes after half-ironman competition is related muscle fatigue. *Ann Hepatol* 2008;7:245-8.
- Pedersen BK. Influence of physical activity on the cellular immune system: mechanisms of action. *Int J Sports Med* 1991;12 Suppl 1:S23-9.
- Nieman DC, Henson DA, Sampson CS, Herring JL, Suttles J, Conley M, et al. The acute immune response to exhaustive resistance exercise. *Int J Sports Med* 1995;16:322-8.
- Neubauer O, Reichhold S, Nersesyan A, Konig D, Wagner KH. Exercise-induced DNA damage: is there a relationship with inflammatory responses? *Exerc Immunol Rev* 2008;14:51-72.
- Neubauer O, Konig D, Wagner KH. Recovery after an Ironman triathlon: sustained inflammatory responses and muscular stress. *Eur J Appl Physiol* 2008;104:417-26.
- Machado CNea. Efeito do exercício nas concentrações séricas de creatina cinase em triatletas de ultradistância. *Rev Bras Med Esporte* 2010;16:378-81.
- Walsh NP, Gleeson M, Shephard RJ, Woods JA, Bishop NC, Flesher M, et al. Position statement. Part one: Immune function and exercise. *Exerc Immunol Rev* 2011;17:6-63.
- Gleeson M. Immune system adaptation in elite athletes. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2006;9:659-65.
- Gleeson M, Bishop NC. Special feature for the Olympics: effects of exercise on the immune system: modification of immune responses to exercise by carbohydrate, glutamine and anti-oxidant supplements. *Immunol Cell Biol* 2000;78:554-61.
- Warren GL, Lowe DA, Armstrong RB. Measurement tools used in the study of eccentric contraction-induced injury. *Sports Med* 1999;27:43-59.
- Lavender AP, Nosaka K. Changes in markers of muscle damage of middle-aged and young men following eccentric exercise of the elbow flexors. *J Sci Med Sport* 2008;11:124-31.
- Kim HJ, Lee YH, Kim CK. Biomarkers of muscle and cartilage damage and inflammation during a 200 km run. *Eur J Appl Physiol* 2007;99:443-7.
- Bruunsgaard H, Galbo H, Halkjaer-Kristensen J, Johansen TL, MacLean DA, Pedersen BK. Exercise-induced increase in serum interleukin-6 in humans is related to muscle damage. *J Physiol* 1997;499:833-41.
- Steensberg A, Keller C, Starkie RL, Osada T, Febbraio MA, Pedersen BK. IL-6 and TNF-alpha expression in, and release from, contracting human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002;283:E1272-8.
- Pinho RA, Silva LA, Pinho CA, Scheffer DL, Souza CT, Benetti M, et al. Oxidative stress and inflammatory parameters after an Ironman race. *Clin J Sport Med* 2010;20:306-11.
- Davison G, Gleeson M, Phillips S. Antioxidant supplementation and immunoendocrine responses to prolonged exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2007;39:645-52.
- Cox AJ, Pyne DB, Cox GR, Callister R, Gleeson M. Influence of chronic dietary carbohydrate supplementation on plasma cytokine responses to exercise. *Int J Sports Med* 2010;31:207-12.
- Cox AJ, Pyne DB, Cox GR, Callister R, Gleeson M. Pre-exercise carbohydrate status influences carbohydrate-mediated attenuation of post-exercise cytokine responses. *Int J Sports Med* 2008;29:1003-9.
- Pannan BH, Robotham JL. The acute-phase response. *New Horiz* 1995;3:183-97.
- Kayashima S, Ohno H, Fujioka T, Taniguchi N, Nagata N. Leucocytosis as a marker of organ damage induced by chronic strenuous physical exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1995;70:413-20.
- Kratz A, Lewandrowski KB, Siegel AJ, Chun KY, Flood JG, Van Cott EM, et al. Effect of marathon running on hematologic and biochemical laboratory parameters, including cardiac markers. *Am J Clin Pathol* 2002;118:856-63.
- Gmunder FK, Lorenzi G, Bechler B, Joller P, Muller J, Ziegler WH, et al. Effect of long-term physical exercise on lymphocyte reactivity: similarity to spaceflight reactions. *Aviat Space Environ Med* 1988;59:146-51.
- Nieman DC, Berk LS, Simpson-Westerberg M, Arabatzis K, Youngberg S, Tan SA, et al. Effects of long-endurance running on immune system parameters and lymphocyte function in experienced marathoners. *Int J Sports Med* 1989;10:317-23.
- Bishop NC, Walker GJ, Gleeson M, Wallace FA, Hewitt CR. Human T lymphocyte migration towards the supernatants of human rhinovirus infected airway epithelial cells: influence of exercise and carbohydrate intake. *Exerc Immunol Rev* 2009;15:127-44.
- Nieman DC, Miller AR, Henson DA, Warren BJ, Gusewicz G, Johnson RL, et al. Effect of high- versus moderate-intensity exercise on lymphocyte subpopulations and proliferative response. *Int J Sports Med* 1994;15:199-206.
- Shore S, Shinkai S, Rhind S, Shephard RJ. Immune responses to training: how critical is training volume? *J Sports Med Phys Fitness* 1999;39:1-11.
- Pedersen BK, Hoffman-Goetz L. Exercise and the immune system: regulation, integration, and adaptation. *Physiol Rev* 2000;80:1055-81.
- Haaland DA, Sabljic TF, Baribeau DA, Mukovozov IM, Hart LE. Is regular exercise a friend or foe of the aging immune system? A systematic review. *Clin J Sport Med* 2008;18:539-48.
- Santos JA, Candeias J, Magalhães MC. Alterações imunológicas e antropométricas induzidas por uma ultramaratona em Kayak. *Rev Port Cien Desp* 2006;6:143-53.