



**Facultad de
Ciencias de la Salud
y del Deporte - Huesca
Universidad Zaragoza**

Trabajo Fin de Master

**Modificación de parámetros bioquímicos en orina y
hemograma sanguíneo de serie blanca tras una prueba de larga
distancia por montaña en corredores entrenados**

**Modification of biochemical parameters in urine and white
serum blood hemogram after a test of long distance by
mountain in trained corridors**

Autor

Alberto Calvo Gambau

Directores

**Francisco Pradas: Doctor en Ciencias de la Actividad Física y
del Deporte**

**Carlos Castellar Otín: Doctor en Ciencias de la Actividad Física
y del Deporte**

Fecha de presentación:

3-07-2017

RESUMEN

Introducción: Las carreras de resistencia en montaña se han vuelto cada vez más populares entre los deportistas. Estas pruebas se caracterizan por exigir esfuerzos de más de 8 horas, desniveles acumulados elevados y condiciones meteorológicas complejas.

Objetivo: Analizar el impacto agudo que produce la realización de una prueba de ultra resistencia de montaña en sujetos entrenados analizando diferentes marcadores bioquímicos en orina y en la serie blanca. .

Métodos: Participaron 4 sujetos adultos ($40 \pm 3,9$ años) con experiencia en carreras de montaña ($5,75 \pm 1,26$) que completaron un recorrido de 78,5 km con un desnivel positivo de 3316 metros, una temperatura media de 28°C y una humedad relativa del 65%, y cuyo impacto se determinó mediante las modificaciones bioquímicas en orina. Las variables urinarias analizadas fueron: proteínas, glucosa, densidad de la orina, microalbúmina y leucocitos. Estudio aprobado por el comité ético del gobierno de Aragón (CEICA) con código 18/2015 y consentimiento informado de los sujetos.

Resultados: Los valores de microalbúmina ($0,2470 \pm 0,072$ mg/L vs $0,805 \pm 0,378$ mg/L; $p=0,039$), densidad en orina ($1022,2500 \pm 5,377$ g/ml vs $1026,75 \pm 5,619$ g/ml; $p=0,042$) y leucocitos ($6,850 \pm 0,443 \cdot 10^9/\text{L}$ vs $13,60 \pm 1,416 \cdot 10^9/\text{L}$; $p=0,005$) presentaron incrementos significativos post-carrera con respecto a los valores basales, mientras que la glucosa (0 g/ml vs $170 \pm 229,347$ g/ml; $p=0,235$) y las proteínas (0 mg/dL vs $5 \pm 5,773$ mg/dL; $p=0,181$) no presentaron incrementos significativos.

Conclusiones: Los sujetos sufrieron deshidratación debido al incremento significativo de la densidad, al catabolismo proteico y a las elevadas temperaturas, lesiones musculares debido a una leucocitosis e insuficiencia renal aguda debido a la disminución fisiológica del flujo sanguíneo renal, el cual se ve agravada por el estrés térmico por calor, la deshidratación y la rabdomiolisis.

Palabras clave: carreras de montaña, ultra resistencia, densidad en orina, microalbúmina y leucocitos.

ABSTRACT

Introduction: Mountain resistance races have become increasingly popular with athletes. These tests are characterized by requiring efforts of more than 8 hours, high accumulated unevenness and complex meteorological conditions.

Objective: To analyze the acute impact of an ultra-high resistance test on trained subjects by analyzing different biochemical markers in urine and in the white series.

Methods: Four adult subjects (40 ± 3.9 years) with experience in mountain races (5.75 ± 1.26) participated in a course of 78.5 km with a positive slope of 3316 meters, an average temperature of 28°C and a relative humidity of 65%, and whose impact was determined by biochemical changes in urine. The urinary variables analyzed were: protein, glucose, urine density, microalbumin, and leukocytes. Study approved by the Ethics Committee of the Government of Aragon (CEICA) with code 18/2015 and informed consent of the subjects.

Results: The values of microalbumin (0.2470 ± 0.072 mg / L vs. 0.805 ± 0.378 mg / L, $p = 0.039$), urine density (1022.2500 ± 5.377 g / ml vs 1026.75 ± 5.619 g / ml; $P = 0.042$) and leukocytes (6.850 ± 0.443 10⁹ / L vs 13.60 ± 1.416 10⁹ / L, $p = 0.005$) presented significant post-race increments with respect to baseline values, whereas glucose (0 g / ml vs. 170 ± 229.347 g / ml, $p = 0.235$) and proteins (0 mg / dL vs $5 \pm 5,773$ mg / dL, $p = 0.181$) did not show significant increases.

Conclusions: Subjects suffered dehydration due to significant increase in density, protein catabolism and elevated temperatures, muscle injury due to leukocytosis and acute renal failure due to the physiological decrease of renal blood flow, which is aggravated by stress heat treatment, dehydration and rhabdomyolysis.

Key words: mountain races, ultra-resistance, urine density, microalbumin and leukocytes.

ÍNDICE

| | |
|---|-----------|
| 1. Introducción..... | 5 |
| 2. Marco teórico..... | 5 |
| 3. Material y métodos..... | 8 |
| 3.1 Participantes..... | 8 |
| 3.2 Características de la prueba..... | 8 |
| 3.3 Muestras de orina y sangre..... | 9 |
| 3.4 Análisis estadístico..... | 10 |
| 4. Resultados..... | 10 |
| 5. Discusión..... | 13 |
| 6. Límites y fortalezas del estudio..... | 18 |
| 7. Conclusiones..... | 18 |
| 8. Bibliografía..... | 19 |

ABREVIATURAS

LEU= leucocitos

DEN= densidad en orina

PRO= proteínas

GLU= glucosa

MA= microalbúmina

FG= filtración glomerular

1. INTRODUCCIÓN

En las dos últimas décadas, ha aumentado considerablemente el interés por investigar los efectos que tiene sobre el organismo la práctica de diferentes deportes de resistencia como los 5 000 m, los 10 000 m, el maratón, el cross-country, el remo y el ciclismo [1-4]. En este tipo de pruebas, anualmente participan alrededor de 70.000 corredores en todo el mundo [5,6]. La mayoría de todas estas carreras de larga distancia son carreras continuas de una sola etapa que ocurren en un periodo específico (es decir, de 1 a 2 días). Sin embargo, hay pruebas multietapa que transcurren durante periodos de tiempo muy extensos y que en la actualidad, ha aumentado el número de atletas que quieren participar en ellas, como el triatlón distancia ironman, la carrera de 100 km y la maratón de 24 horas, entre otros.

Es por ello, que en la presente investigación nos centraremos en analizar el impacto que produce la realización de una prueba de larga distancia por montaña en sujetos entrenados.

2. MARCO TEÓRICO

Los eventos de ultra-maratón se definen como carreras que implican recorrer una distancia mayor que el maratón (42,2 km). Las competiciones de ultra-maratón generalmente se realizan en terrenos variados fuera de la carretera, completados incluso durante varios días (ultra maratones de múltiples etapas), o pueden cubrir una distancia especificada durante una sola etapa. En ocasiones se pueden llegar incluso a realizar en condiciones ambientales adversas [7, 8].

Debido al esfuerzo físico prolongado, la participación en pruebas de ultra resistencia se asocia con una inflamación sistémica significativa [9, 10]. La deshidratación, la hemólisis [11, 12] y la leucocitosis [13] son rasgos comunes al ejercicio extenuante prolongado. En este sentido, los cambios hematológicos pueden aumentar la susceptibilidad a la enfermedad y la infección en la población de atletas, por lo que potencialmente interfieren con el rendimiento y la salud [14]. Por otro lado, la información sobre los cambios hematológicos que se produce durante los días consecutivos de ultra-resistencia de ejecución es limitada [15].

En otro orden, el mero desarrollo de una serie de ejercicios corrientes o la práctica de un deporte, producen numerosas respuestas transitorias agudas que permiten al cuerpo hacer frente a las demandas metabólicas y fisiológicas del ejercicio que se está realizando. Estos incluyen aumentos en la velocidad y la profundidad de la respiración, el gasto cardíaco, la priorización del flujo sanguíneo a los músculos que ejercen y los

cambios en las concentraciones circulantes de varias hormonas. Las magnitudes de estas respuestas transitorias son proporcionales a la intensidad del ejercicio que se está llevando a cabo. Es por ello, que con ejercicios de intensidad leve y moderada se provoca respuestas modestas, mientras que los ejercicios más vigorosos como pueden ser las competiciones nombradas anteriormente, provocan respuestas de mayor magnitud [16].

En España las carreras de montaña están viviendo un éxito fulgurante, aumentando cada año el número de competiciones y participantes [17]. Este tipo de pruebas son eventos competitivos que consisten en realizar esfuerzos extremos por senderos de montaña con alto desnivel acumulado y sobre una distancia más larga que la maratón atlética. Además, este tipo de competiciones son agotadoras y generalmente incluyen pendientes negativas, por lo que se realizan distancias largas en descenso. Se ha comprobado que el ejercicio extenuante puede derivar en daño muscular [18], lo que se exacerba especialmente si se realizan contracciones excéntricas [19]. En este sentido, el descenso de la pendiente aumenta el componente excéntrico debido a que los ángulos de flexión son significativamente mayores y es un estímulo mucho más intenso para el daño que el gesto de carrera en subida [20].

También, el ejercicio físico y los deportes son reconocidos por afectar a la condición física, incluyendo el sistema óseo, el sistema muscular y diversos órganos internos, así como el sistema inmunológico [21]. El ejercicio físico moderado parece ser beneficioso para la salud, en particular reduciendo el riesgo de desarrollar una serie de enfermedades y síndromes, como las cardiopatías, la obesidad, la diabetes mellitus, el síndrome metabólico y el cáncer, [22,23] mientras que el ejercicio físico excesivo no es saludable porque da lugar a daños físicos, [24,25] estrés oxidativo y la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS).

Además de las respuestas mencionadas anteriormente, una carrera prolongada puede producir cambios en las concentraciones y/o en la actividad de otros biomarcadores que reflejan las tensiones fisiológicas que se encuentran durante la práctica del ejercicio. De hecho, episodios muy severos de ejercicio de una intensidad poco conocida o de larga duración tienen el potencial de producir cambios excepcionales en los biomarcadores que se asocian comúnmente con la lesión y la patología [16].

Uno de los determinantes de la magnitud del estrés fisiológico en el practicante y las respuestas agudas resultantes, es una combinación de la dificultad del ejercicio y las demandas fisiológicas de la realización de las actividades físicas en relación con las capacidades del individuo [16].

Además, la dificultad y la extenuación del ejercicio será diferente para cada individuo, es decir, para un sujeto cuyas capacidades no estén suficientemente entrenadas, los cambios en algunos biomarcadores pueden ser evidentes después de realizar este tipo de pruebas, mientras que para un corredor regular y bien entrenado, la elevación de los biomarcadores pueden estar asociados con lesiones o patologías. Sin embargo, como los atletas de resistencia bien entrenados exhiben una capacidad metabólica mejorada (VO_2 máx elevado), la cual aumenta y permite la secreción de ciertas hormonas que son capaces y propensas a realizar episodios de ejercicio más severos y más prolongados, es posible que los cambios de algunos biomarcadores pueden ser mayores en los atletas cuando realizan escenarios extremos de ejercicio que en los no atletas que completan ejercicios de menor importancia [16].

Sin embargo, estas formas extremas de realizar ejercicio pueden implicar riesgos para la salud. Después de este tipo de pruebas, la hospitalización o incluso la muerte puede ocurrir [26]. Mathews et al. [27] revelaron 28 muertes que ocurrieron durante la carrera o dentro de las 24 horas después de la finalización de las carreras de maratón organizadas en los Estados Unidos de 2000 a 2009 [28]. Las muertes ocurrieron principalmente entre los participantes jóvenes (<45 años). Es uno de los motivos por los que los científicos están cada vez más interesados en la respuesta del cuerpo al esfuerzo extremo realizado por los aficionados, especialmente la economía del uso de las fuentes de energía [29-32], la relación entre la velocidad de carrera y máxima absorción de oxígeno (VO_{2max}), los cambios de los indicadores bioquímicos en orina y sangre [27, 33-35] que indican daños en el organismo [36-44] y recientemente, las ventajas y amenazas de tal actividad en términos de salud [45-48].

En la actualidad hay pocas evidencias que analicen, a partir del análisis de orina, cómo se ve afectado el organismo tras realizar carreras de ultra resistencia. En este sentido, existen más trabajos sobre las modificaciones en parámetros sanguíneos que aportan más información sobre los cambios que se producen en el organismo al realizar este tipo de pruebas, como pueden ser los parámetros asociados al daño muscular, renal o cardíaco.

La presente investigación tiene como objetivo estudiar el impacto agudo que produce la realización de una prueba de ultra resistencia de montaña en sujetos entrenados analizando diferentes marcadores bioquímicos en orina y en la serie blanca.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Participantes

Participaron 4 sujetos adultos con una experiencia en carreras de montaña de 4-7 años ($5,75 \pm 1,26$) y con un nivel de entrenamiento de $12,5 \pm 2,5$ horas semanales con un desnivel positivo medio acumulado es de $2462,5 \pm 756,5$ m.

A todos los participantes se les evaluó la antropometría, (Tabla 1), se les realizó un chequeo médico y una prueba de esfuerzo previa a la carrera, y recibieron supervisión médica durante el estudio.

El estudio fue aprobado por el comité ético del gobierno de Aragón (CEICA) con código 18/2015 y consentimiento informado de los sujetos.

Tabla 1: Informe cineantropométrico de los participantes.

| Sujetos | Edad | Peso (kg) | Altura (cm) | IMC (kg/m ²) | % Grasa* |
|---------|------|-----------|-------------|--------------------------|----------|
| 1 | 38 | 79,1 | 180,7 | 24,2 | 8,82 |
| 2 | 41 | 60,8 | 172,3 | 20,5 | 8,70 |
| 3 | 42 | 77,3 | 173,9 | 25,6 | 8,15 |
| 4 | 37 | 64,9 | 176,1 | 20,9 | 6,88 |

**El porcentaje de grasa fue calculado con la fórmula de Yuhasz (suma de siete pliegues cutáneos)*

3.2 Características de la prueba

La etapa, consta de un recorrido de 78,5 km que comienza en el cabo de Creus y finaliza en la Jonquera (Figura 1), con un desnivel positivo de 3136 metros, una temperatura media de 28° C y una humedad relativa del 65%. El terreno estaba constituido por pistas de tierra, combinando zonas de monte bajo y bosque con otras zonas más abiertas.



Figura 1: Perfil de la prueba.

3.3 Muestras de orina y sangre

Los sujetos se sometieron a dos sesiones para la recogida de muestras de sangre y orina: la primera (Pre-Carrera) se realizó el día anterior de la prueba y la segunda prueba la inmediata finalización de la misma.

Las muestras de sangre fueron realizadas mediante punción vena antecubital, introducidas en tubos no aditivos y en condiciones estériles donde fueron centrifugadas para ser transportadas al laboratorio médico para su respectiva conservación y análisis. Las muestras se coagularon dejándolas en forma de suero y fueron analizados mediante análisis químicos automatizados.

Las muestras se procesaron en el plazo de 1 h de recogida. Además, se evitó la agitación de la sangre durante el transporte y el procedimiento de aislamiento para evitar que las muestras se contaminaran.

En cuanto, al análisis del perfil bioquímico sanguíneo, la variable analizada fue: leucocitos (LEU).

Por otro lado, se recogieron muestras de orina Pre y Post carrera por micción voluntaria en un recipiente estéril proporcionado a los sujetos. Todas las muestras se almacenaron en múltiples alícuotas a -80°C hasta que se ensayaron. Las muestras se descongelaron sólo una vez antes del análisis, realizado dentro de dos semanas desde la recogida mediante tiras reactiva de orina, las cuales se usaron para determinaciones semicuantitativas de densidad (DEN), proteínas (PRO), glucosa (GLU) y microalbúmina (MA).

3.4 Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó utilizando SPSS paquete de software estadístico versión 23.0. Los resultados se expresan como valores medios y desviaciones estándar.

Para evaluar la homogeneidad, se realizó Respecto a la estadística inferencial, se realizó la prueba de Shapiro-Wilk. Posteriormente, al ver que la distribución era normal, se utilizó el test T para muestras relacionadas con el fin de calcular la significación estadística, que se estableció en $p < 0,05$, entre los valores de la media de cada variable antes y después de la etapa.

4. RESULTADOS

Los resultados obtenidos tras analizar la diferencia de medias entre los valores basales y los valores post carrera están presentes en la tabla 2. De los biomarcadores analizados en esta prueba la microalbúmina ($0,2470 \pm 0,072$ mg/L vs $0,805 \pm 0,378$ mg/L; $p=0,039$), la densidad en orina ($1022,2500 \pm 5,377$ g/ml vs $1026,75 \pm 5,619$ g/ml; $p=0,042$) y los leucocitos ($6,850 \pm 0,443$ 10^9 /L vs $13,60 \pm 1,416$ 10^9 /L; $p=0,005$) presentaron incrementos significativos post-carrera con respecto a los valores basales, mientras que la glucosa (0 g/ml vs $170 \pm 229,347$ g/ml; $p=0,235$) y las proteínas (0 mg/dL vs $5 \pm 5,773$ mg/dL; $p=0,181$) no presentaron incrementos significativos.

Tabla 2: Resultados de los parámetros en orina y de hemograma sanguíneo de serie blanca antes y después de la carrera.

| Biomarcadores | Basal | Post-carrera | Cambio absoluto | p-valor |
|-------------------------|---------------------------|-------------------------|------------------------|----------------|
| Glucosa (mg/dL) | 0 | 170 ($\pm 229,347$) | +170 ($\pm 229,347$) | 0,235 |
| Microalbúmina (mg/L) | 0,247($\pm 0,072$) | 0,805 ($\pm 0,378$) | +0,557 ($\pm 0,316$) | 0,039* |
| Densidad (g/ml) | 1022,2500 ($\pm 5,377$) | 1026,75 ($\pm 5,619$) | +4,5 ($\pm 2,645$) | 0,042* |
| Proteinas (mg/dL) | 0 | 5 ($\pm 5,773$) | +5 ($\pm 5,773$) | 0,181 |
| Leucocitos (10^9 /L) | 6,850 ($\pm 0,443$) | 13,60 ($\pm 1,416$) | +6,75 ($\pm 1,748$) | 0,005* |

* $p < 0,05$

La densidad (DEN) basal presentaba un valor medio de $1022,25 \pm 5,377$ g/ml y tras su finalización, llegó a un valor medio de $1026,75 \pm 5,619$ g/ml, lo cual presento una diferencia significativa de $P=0,042$. Además, estas diferencias se vieron presentes en tres de los cuatro participantes, con la diferencia de uno de ellos cuyo valor basal fue

de 1021 g/ml y el valor post-carrera de 1022 g/ml, lo cual indica que la significatividad fue mayor a 0,05 (Figura 2).

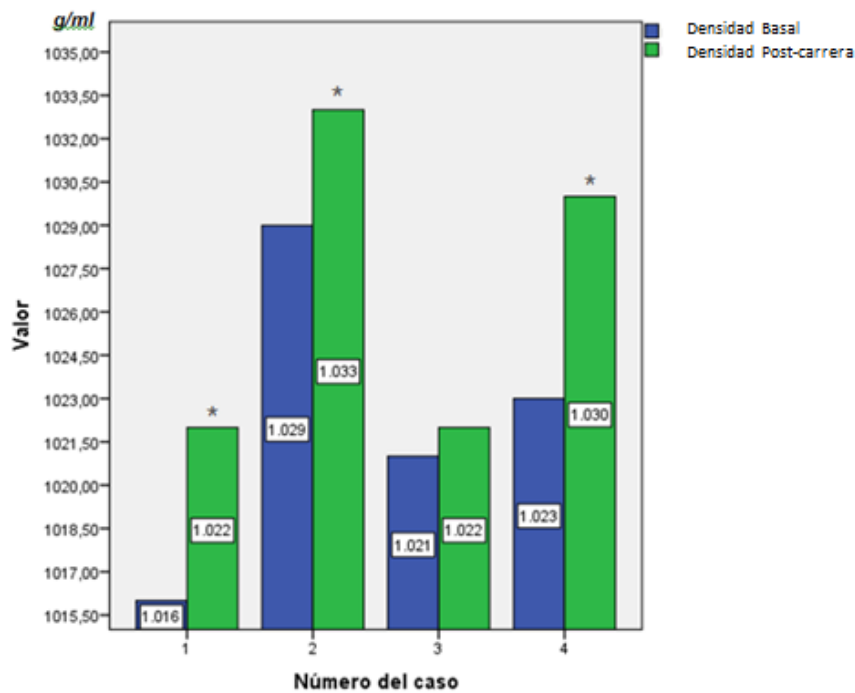


Figura 2: Niveles de DEN antes y después de la prueba en función de los sujetos

La microalbúmina (MA) presentó al inicio de la carrera un valor medio de $0,247 \pm 0,072$ mg/L y tras su finalización, llegó a un valor medio de $0,805 \pm 0,378$ mg/L, lo cual presenta una diferencia significativa. Además, estas diferencias significativas se vieron presentes en cada uno de los participantes, como bien se indica en la figura 2.

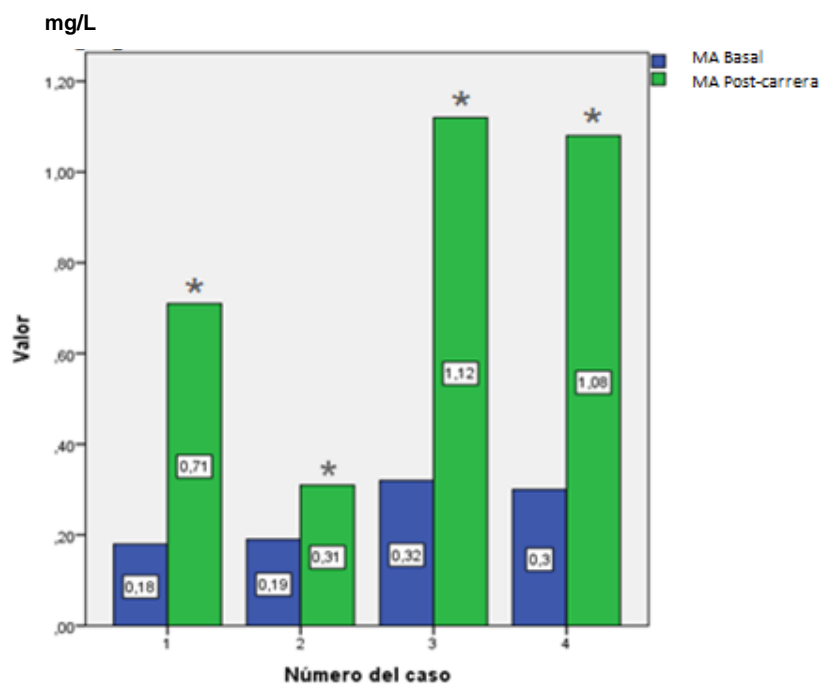


Figura 3: Niveles de MA antes y después de la prueba en función de los sujetos

En cuanto al total de células blancas, hubo una diferencia significativa post-carrea de $p=0,005$. Dentro de las células blancas, los neutrófilos ($3,075 \pm 0,655 \cdot 10^9/L$ vs $10,2 \pm 1,288 \cdot 10^9/L$; $p=0,000$) y los monocitos ($0,5 \pm 0,0811 \cdot 10^9/L$ vs $1,050 \pm 0,311 \cdot 10^9/L$; $p=0,038$) presentaron un incremento significativo post-carrera con respecto a los valores basales, mientras que los linfocitos ($2,575 \pm 0,727 \cdot 10^9/L$ vs $2,225 \pm 0,932 \cdot 10^9/L$; $p=0,337$), los eosinófilos ($0,65 \pm 0,768 \cdot 10^9/L$ vs $0,05 \pm 0,057 \cdot 10^9/L$; $p=0,231$) y los basófilos ($0,025 \pm 0,05 \cdot 10^9/L$ vs $0,1 \pm 0 \cdot 10^9/L$; $p=0,058$) no presentaron incrementos significativos (Tabla 3).

Tabla 3: Resultados total de células blancas antes y después de la carrera.

| Total de células blancas | Basales | Post-carrera | Cambio absoluto | p-valor |
|--------------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------|
| Neutrófilos ($10^9/L$) | $3,075 \pm 0,655$ | $10,2 \pm 1,288$ | $+7,125 \pm 0,708$ | $0,000^{**}$ |
| Monocitos ($10^9/L$) | $0,5 \pm 0,081$ | $1,050 \pm 0,311$ | $+0,550 \pm 0,311$ | $0,038^*$ |
| Linfocitos ($10^9/L$) | $2,575 \pm 0,727$ | $2,225 \pm 0,932$ | $+0,35 \pm 0,613$ | $0,337$ |
| Eosinófilos ($10^9/L$) | $0,65 \pm 0,768$ | $0,05 \pm 0,057$ | $-0,6 \pm 0,8$ | $0,231$ |
| Basófilos ($10^9/L$) | $0,025 \pm 0,05$ | $0,1 \pm 0$ | $+0,075 \pm 0,05$ | $0,058$ |

* $p < 0,05$

** $p < 0,001$

5. DISCUSIÓN

El objetivo de la investigación es estudiar el impacto agudo que produce la realización de una prueba de ultra resistencia de montaña en sujetos entrenados analizando diferentes marcadores bioquímicos en orina y en la serie blanca.

Los resultados de la presente investigación muestran que inmediatamente después de realizar la prueba, los niveles de microalbúmina ($0,2470 \pm 0,072$ mg/L vs $0,805 \pm 0,378$ mg/L; $p < 0,04$), de densidad en orina ($1022,2500 \pm 5,377$ g/ml vs $1026,75 \pm 5,619$ g/ml; $p < 0,05$) y los leucocitos ($6,850 \pm 0,443$ 109/L vs $13,60 \pm 1,416$ 109/L; $p = 0,005$) sufrieron un incremento significativo. Tal incremento sugiere que los sujetos sufrieron deshidratación, lesión muscular e insuficiencia aguda y transitoria de la función renal.

En el caso de la densidad en orina, la cual debe estar comprendida entre 1000 y 1030 g/ml [49-51], se observó cómo los participantes de la investigación finalizaron la prueba con un valor medio de $1026,75 \pm 5,619$ g/ml. Sin embargo, solo dos sujetos finalizaron esta prueba con valores superiores o iguales a 1030. Este dato sugiere que tal aumento puede deberse al agotamiento y la pérdida de agua que genera realizar pruebas de larga distancia [52].

Por otro lado, la densidad es considerada como un indicador fiable del estado de hidratación [53, 54]. En caso de deshidratación durante el transcurso de una ultra maratón, la densidad debe incrementarse después de la carrera en comparación con los niveles basales [55], al igual que sucedió en la prueba analizada, donde la densidad media en orina se incrementó $4,5 \pm 2,645$ g/ml en relación a los niveles basales.

Varios estudios describen que tras la realización de una ultra maratón la densidad en orina sufrió importantes incrementos [56,57], indicando una deshidratación significativa [53], aunque tales cambios eran muy pequeños y ambas mediciones antes y después de la carrera estaban dentro de los límites normales de rango [58]. Algo similar sucede en la investigación, donde dos de los cuatro participantes poseían valores comprendidos en rangos de normalidad [49-51], sin embargo los otros dos participantes presentaban valores que estaban en el límite e incluso superaban dichos rangos.

En esta línea, estudios recientes muestran que la deshidratación producida por las carreras de larga duración, es debida a un catabolismo proteico sustancial, lo que conduce a una disminución de la masa muscular esquelética [55,59] y por tanto, a un aumento de la concentración de urea en la orina. Resultados similares fueron

obtenidos en diferentes modalidades deportivas, como maratones, carreras en bici de larga distancia o la natación [60].

En relación con el presente estudio, no se supo si la masa esquelética disminuye tras realizar la prueba ya que no se dispuso de dichos datos, aunque sí que se observó como la concentración de urea en orina se incrementó tras finalizar dicha prueba ya que los valores de la densidad aumentaron en todos los participantes, siendo en dos de ellos anormales ya que traspasaban el límite superior del rango de normalidad [49-51].

Por otro lado, no hay que olvidar que este tipo de pruebas se realizan en lugares donde las condiciones ambientales son cambiantes y extremas y éstas pueden influir en los cambios que sufre el organismo sobre la ingesta de líquidos. En este sentido, hay que tener en cuenta la temperatura ambiente, ya que es la responsable de la asociación que se encuentra entre la pérdida de masa corporal, la deshidratación y la velocidad de carrera en pruebas de larga distancia [61]. Por tanto, tal afirmación es compatible con este estudio, ya que la temperatura media de la prueba fue de 28°, lo que sugiere que tal temperatura influyó en la deshidratación de los sujetos.

En la misma línea, hay evidencias [62,63] que apoyan la existencia de un umbral de temperatura "óptimo" de 12°C; por encima o por debajo de esta temperatura, el rendimiento está relativamente deteriorado y la deshidratación es significativa [62]. También, hay estudios [64,65] que indican que temperaturas más altas son perjudiciales para el rendimiento de resistencia provocando deshidratación y otras patologías en comparación con temperaturas más bajas. Este es uno de los motivos por los que los sujetos de la muestra analizada, además de la elevada distancia que tenían que recorrer y los desniveles del terreno, había que añadir la elevada temperatura (28° C), aspecto que influye en la deshidratación [64,65], ya que la densidad en orina se incrementó después de la carrera en comparación con los niveles basales [55] y dos de los cuatro participantes poseían niveles de densidad iguales o superiores a los rango de normalidad [49-51].

En cuanto al recuento de glóbulos blancos (leucocitos), se observa cómo tras finalizar la prueba los deportistas analizados sufrieron un incremento significativo en comparación con sus niveles basales. Este suceso, denominado como leucocitosis, es un fenómeno muy común en el deporte y se debe a la realización de un tipo de ejercicio prolongado en donde se produce un aumento de los neutrófilos y los monocitos, con una relativa disminución de los linfocitos [66,67].

Los neutrófilos representan el 50-60% del total de los leucocitos circulantes. Estas células, son parte del sistema inmune innato y son esenciales para la defensa del huésped. Una de las características más pronunciadas de la actividad física en los parámetros inmunes es la neutrofilia prolongada después de un ejercicio agudo a largo plazo [68,69]. Las concentraciones de neutrófilos aumentan durante y después del ejercicio, mientras que las concentraciones de linfocitos aumentan durante el ejercicio y caen por debajo de los valores previos después de un esfuerzo físico de larga duración [68,69]. Los resultados del estudio apoyan que tras la prueba se produjo una neutrofilia ($3,075 \pm 0,655$ $10^9/L$ vs $10,2 \pm 1,288$ $10^9/L$; $p=0,000$) y una monocitosis ($0,5 \pm 0,0811$ $10^9/L$ vs $1,050 \pm 0,311$ $10^9/L$; $p<0,04$) pero no se llegó a desarrollar un incremento significativo de los valores de los linfocitos.

Esta neutrofilia después de una prueba de larga distancia, pudo ser causada por la demarginación de neutrófilos debido al aumento del flujo sanguíneo durante el ejercicio físico [70-72].

Por otro lado, los resultados obtenidos sugieren que la leucocitosis podría ser inducida por las lesiones musculares, las cuales estimulan la movilización de las células inmunitarias en el torrente sanguíneo y la migración al tejido muscular, lo que es consistente con la movilización del conjunto de glóbulos blancos debido estas lesiones [73-75]. Esta teoría se apoya con los resultados obtenidos en el estudio donde la leucocitosis que sufrieron los participantes sugiere que los sujetos tras finalizar la prueba poseyeran lesiones musculares.

Además, se midió el aumento del conjunto de glóbulos blancos junto con los marcadores clásicos de lesión muscular, lo que sugiere un posible papel de señalización de la lesión muscular para promover esta migración temprana del conjunto de glóbulos blancos [73]. Por lo tanto, se puede intuir la relación del aumento del conjunto de glóbulos blancos con el daño del músculo precoz sufrida por los sujetos.

La alta intensidad que se alcanza durante la realización de este tipo de pruebas produce la secreción de diferentes hormonas (catecolamina y cortisol), factores quimiotácticos y aumento de la actividad del sistema nervioso autónomo, los cuales han sido sugeridos para promover la movilización de neutrófilos y monocitos. [71,72, 76,77] Lo cual explica que los sujetos finalizaran la prueba con un incremento positivo de $7,125 \pm 0,708$ $10^9/L$ neutrófilos y de $0,550 \pm 0,311$ $10^9/L$ monocitos.

El efecto del ejercicio físico sobre la función renal varía considerablemente, ya que depende de varios factores. Según la actividad física que se practique y su duración, se desarrollarán diferentes impactos en el estado del volumen y la función renal dentro de sujetos tanto entrenados como aficionados en condiciones climáticas y ambientales cambiantes [78].

En la presente investigación se observa como los sujetos tras finalizar la prueba poseían unos valores medios de $0,805 \pm 0,378$ mg/L y una significación de $p < 0,04$. Los rangos de normalidad de microalbúmina en orina evaluados mediante tiras reactivas, están comprendidos entre 0 y 0,8 mg/L [79]. Por tanto, en la investigación los sujetos poseían niveles anormales, los cuales pueden atribuirse a lo que se conoce como insuficiencia renal aguda, síndrome que usualmente ocurre en la mayoría de sujetos que participan en pruebas de larga distancia [80-83] cuando la disminución fisiológica del flujo sanguíneo renal se ve agravada por el estrés térmico por calor, la deshidratación y la rabdomiolisis [80,81]. Todos estos procesos se desarrollaron en la prueba analizada, empezando por el estrés térmico por calor ya que los sujetos tuvieron que realizar esfuerzos desmesurados con una temperatura media de 28° y una humedad relativa del 65%, lo que hace que el sujeto no se encuentre térmicamente confortable [84]. Otro proceso es la deshidratación, debido a la elevada temperatura que oscilaba entorno los 28° [64,65], al incremento de la densidad en orina después de la carrera en comparación con los niveles basales [55] y que algunos de los participantes poseían niveles de densidad iguales o superiores a los rango de normalidad [49-51]. El último proceso que se desarrolla en la prueba analizada, es la rabdomiolisis, síndrome bioquímico que se manifiesta debido al daño muscular, suceso que se origina en el presente estudio debido a que la leucocitosis podría ser inducida por las lesiones musculares, las cuales estimulan la movilización de las células inmunitarias en el torrente sanguíneo y la migración al tejido muscular, lo que es consistente con la movilización del conjunto de glóbulos blancos debido estas lesiones [73-75].

La rabdomiólisis es el evento clave, asociado con el ejercicio, que precipita la insuficiencia renal. Diferentes estudios [85-87] ponen de manifiesto que la rabdomiólisis por esfuerzo ocurre con frecuencia en corredores de largas distancias y puede ser un factor de riesgo importante de la insuficiencia renal aguda. Esta complicación se caracteriza por la descomposición del músculo esquelético y la fuga de contenido de células musculares en el torrente sanguíneo [80]. Además, la probable insuficiencia puede deberse a la toxicidad renal de la mioglobina, que puede causar obstrucción tubular y reacción tóxica al riñón [80]. Una forma para prevenir

dicho problema es una hidratación constante [81]. Por tanto, se puede decir que los sujetos de la investigación presentaron insuficiencia renal aguda debido a que la leucocitosis que presentaron los participantes tras finalizar la prueba inducía el que hubiera lesiones musculares y estas desarrollaron la rabdomiólisis, el cual, es un factor de riesgo de la insuficiencia renal aguda.

El incremento de microalbúmina en la orina procede de la filtración glomerular [88], mediante el cual se verifica el estado de funcionamiento de los riñones a través de un cálculo aproximado de la cantidad de sangre que pasa a través de los glomérulos (filtros en los riñones que filtran los residuos de la sangre).

En un riñón normal, casi toda la microalbúmina es absorbida o degradada en el túbulo proximal [89]. Por tanto, cuando se produce alguna patología, los glomérulos pueden volverse más permeables a la albúmina debida a anomalías en la membrana basal o por un mal funcionamiento en las células endoteliales [89].

La filtración glomerular es la responsable del incremento de la microalbúmina en orina, sin embargo existe cierta controversia sobre las variaciones inducidas por el ejercicio para el ratio de la filtración glomerular (FG) en atletas entrenados [96]. Por un lado, se mostró una clara asociación entre la actividad física y un mejor FG en sujetos sanos [90]. Sin embargo, también se demostró que el FG, disminuye de manera aguda aunque transitoriamente después de una carrera de montaña de larga distancia [91], una prueba de ciclismo [92,93] y partidos de voleibol [94]. En contraposición a lo anterior, hay estudios donde no se observó ninguna variación significativa en el FG durante una prueba de remo [95]. En la investigación analizada, se muestra como los valores de la microalbúmina son elevados tras finalizar la prueba pero no tenemos datos sobre cuál eran los valores de filtración glomerular de los sujetos tanto basales como posteriores a la prueba. Sí que podemos decir que en función de la literatura consultada, la elevada intensidad que supone estas pruebas produce que los glomérulos se vuelvan más permeables a la microalbúmina [88], y de allí que los valores de microalbúmina sean tan elevados.

En general, estos hallazgos son consistentes con la idea de que una carrera de larga distancia en corredores entrenados, como la analizada, induce a una insuficiencia aguda y transitoria de la función renal que retornará a los niveles basales pasadas las 24 o 48 horas [96,97].

7. LIMITACIONES Y FORTALEZAS DEL ESTUDIO

Una limitación importante del presente estudio es el bajo número de corredores entrenados que han participado en la investigación. El número limitado de sujetos puede haber alterado las posibilidades de alcanzar significados estadísticos en algunas de las comparaciones. Sin embargo, los datos demuestran que los corredores entrenados que participan en ultra maratones de montaña poseen distintas anomalías en los biomarcadores, lo que debe ser considerado en las evaluaciones clínicas de los individuos después de recientes episodios agudos de ejercicio extenuante.

Otra limitación ha sido el control en la alimentación e hidratación durante la prueba. Aunque los corredores disponían de alimentos y líquidos suficientes para todo el recorrido, la regulación consistente del consumo de alimentos y agua por los participantes no fue posible. Además, las elevadas temperaturas y la humedad relativa, fueron un *hándicap* para los participantes ya que debían consumir líquidos y alimentos cada cierto tiempo, lo cual no fue medido por nosotros sino por ellos mismos, desencadenando una posible limitación ya que los sujetos a pesar de la experiencia que tienen en este tipo de pruebas no calcularon adecuadamente dichas ingestas.

Una última limitación fue no poder realizar análisis de orina y de sangre unos días después de finalizar la prueba, ya que de esta manera podríamos observar el tiempo de recuperación que necesitan algunos biomarcadores para volver a los niveles basales y así, proporcionar terreno útil a la comunidad científica ya que permitirá tener mayor conocimiento sobre cómo afecta al organismo de sujetos entrenados realizar este tipo de pruebas y transmitir los resultados obtenidos a todos aquellos sujetos que estén interesados en la práctica de este tipo de pruebas.

8. CONCLUSIONES

En conclusión, una prueba de ultra maratón en montaña como la analizada, es un ejercicio de alta resistencia asociado con una variedad de cambios bioquímicos. Los participantes sufrieron deshidratación debido al incremento de la densidad en orina tras finalizar la prueba en relación a los niveles basales, al catabolismo proteico sustancial que aumento la concentración de urea en la orina y por tanto de la densidad, y debido a las temperaturas elevadas. Igualmente, los participantes sufrieron lesiones musculares debido a una leucocitosis, la cual estimula la movilización de las células inmunitarias en el torrente sanguíneo y la migración al tejido muscular dañado. Finalmente, la muestra sufrió insuficiencia renal aguda ya que

poseían niveles de microalbúmina superiores al rango normal debido a la disminución fisiológica del flujo sanguíneo renal, el cual se ve agravada por el estrés térmico por calor, la deshidratación y la rabdomiolisis.

9. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Nagel D, Seiler D, Franz H. Biochemical, hematological and endocrinological parameters during repeated intense short-term running in comparison to ultra-long-distance running. *Int J Sports Med.* 1992;13:337–343.
- [2] Rama R, Ibanez J, Riera M, Prats MT, Pages T, Palacios L. Hematological, electrolyte, and biochemical alterations after a 100-km run. *Can J Appl Physiol.* 1994;19:411–420.
- [3] Fallon KE, Broad E, Thompson MW, Reull PA. Nutritional and fluid intake in a 100-km ultramarathon. *Int J Sport Nutr.* 1998;8:24–35.
- [4] Thompson PD, Crouse SF, Goodpaster B, Kelley D, Moyna N, Pescatello L. The acute versus the chronic response to exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 2001;33:438–445.
- [5] Krabak BJ, Waite BW, Lipman G. Injury and illnesses prevention for ultra-marathoners. *Curr Sports Med Rep.* 2013;12(3):183–189.
- [6] Khodaei M, Ansari M. Common ultramarathon injuries and illnesses: race day management. *Curr Sports Med Rep.* 2012;11(6):290–297.
- [7] Costa RJ, Crockford MJ, Moore JP, Walsh NP. Heat acclimation responses of an ultra-endurance running group preparing for hot desert-based competition. *Eur J Sport Sci.* 2014;14(1):131–141.
- [8] Millet G, Millet G. Ultramarathon is an outstanding model for the study of adaptive responses to extreme load and stress. *BMC Med.* 2012;10:77-84.
- [9] Klapcinska B, Waskiewicz Z, Chrapusta SJ, Sadowska-Krepa E, Czuba M, Langfort J. Metabolic responses to a 48-h ultra-marathon run in middle-aged male amateur runners. *Eur J Appl Physiol.* 2013;113:2781–2793.
- [10] Shin YO, Lee JB. Leukocyte chemotactic cytokine and leukocyte subset responses during ultra-marathon running. *Cytokine.* 2013;61:364–369.
- [11] Dang CV. Runner's anemia. *JAMA.* 2001;286:714–716.

- [12] Robach P, Boisson RC, Vincent L, Lundby C, Moutereau S, Gergele L, Michel N, Duthil E, Feasson L, Millet GY. Hemolysis induced by an extreme mountain ultra-marathon is not associated with a decrease in total red blood cell volume. *Scand J Med Sci Sports*. 2014;24:18–27.
- [13] Gleeson M, Bishop NC, Stensel DJ, Lindley MR, Mastana SS, Nimmo MA. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. *Nat Rev Immunol*. 2011;11:607–615.
- [14] Borges GF, Rama LM, Pedreiro S, Rosado F, Alves F, Santos AM, Paiva A, Teixeira AM. Hematological changes in elite kayakers during a training season. *Applied physiology, nutrition, and metabolism*. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2012;37:1140–1146.
- [15] Murray A, Costa RJ. Born to run. Studying the limits of human performance. *BMC Med*. 2012;10:76–82.
- [16] Bird R B, Linden M, Hawley A J. Acute changes to biomarkers as a consequence of prolonged strenuous running. *Ann Clin Biochem*. 2014; 51:137–150.
- [17] Hoffman MD, Ong JC, Wang G. Historical analysis of participation in 161 km ultramarathons in North America. *Int J Hist Sport*. 2010;27(11):1877–1891.
- [18] Clarkson PM. Exertional rhabdomyolysis and acute renal failure in marathon runners. *Sports Med*. 2007;37(4–5):361–363.
- [19] Proske U, Allen TJ. Damage to skeletal muscle from eccentric exercise. *Exerc Sport Sci Rev*. 2005;33(2):98–104.
- [20] Eston RG, Mickleborough J, Baltzopoulos V. Eccentric activation and muscle damage: biomechanical and physiological considerations during downhill running. *Br J Sports Med*. 1995;29(2):89–94.
- [21] Nakano S. Illustration: The Merits and Demerits of Physical Exercise on Human Body. 2nded. Tokyo, Japan: Ishiyaku; 1997.58 p.
- [22] Hamer M, Chida Y. Walking and primary prevention: a meta-analysis of prospective studies. *Br J Sports Med*. 2008;42:238–245.
- [23] De Fronzo RA, Ferrannini E. Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care*. 1991;14:173–194.

- [24] Pedersen BK, Hoffman-Goetz L. Exercise and the immune system: regulation, integration, and adaptation. *Physiology Rev.* 2000;80:1055–1081.
- [25] Agawa H, Yamada N, Enomoto Y. Changes of mental stress biomarkers in ultramarathon. *Int J Sports Med.* 2008;29:867–871.
- [26] Ayus JC, Varon J, Arieff AI. Hyponatremia, cerebral edema, and noncardiogenic pulmonary edema in marathon runners. *Ann Intern Med.* 2000;132(9):711–714.
- [27] Mathews SC, Narotsky DL, Bernholt DL, Vogt M, Hsieh Y-H, Pronovost PJ. Mortality among marathon runners in the United States. *Am J Sports Med.* 2012;40(7):1495–1500.
- [28] Brancaccio P, Maffulli N, Limongelli FM. Creatine kinase monitoring in sport medicine. *Br Med Bull.* 2007;81(82):209–230.
- [29] Burr JF, Bredin SS, Phillips A, Foulds H, Cote A, Charlesworth S, et al. Systemic arterial compliance following ultra-marathon. *Int J Sports Med.* 2012;33(3):224–229.
- [30] Castell LM, Poortmans JR, Leclercq R, Brasseur M, Duchateau J, Newsholme EA. Some aspects of the acute phase response after a marathon race, and the effects of glutamine supplementation. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1997;75:47–53.
- [31] Chatzinikolaou A, Fatouros IG, Gourgoulis V, Avloniti A, Jamurtas AZ, Nikolaidis MG. Time course of changes in performance and inflammatory responses after acute plyometric exercise. *J Strength Cond Res.* 2010;24(5):1389–1398.
- [32] Kosinski CM, Schlangen C, Gellerich FN, Gizatullina Z, Deschauer M, Schiefer J. Myopathy as a first symptom of Huntington's disease in a marathon runner. *Mov Disord.* 2007;22(11):1637–1640.
- [33] Kratz A, Lewandrowski KB, Siegel AJ, Chun KY, Flood JG, van Cott EM. Effect of marathon running on hematologic and biochemical laboratory parameters, including cardiac markers. *Am J Clin Pathol.* 2002;118:856–863.
- [34] Lippi G, Schena F, Montagnana M, Salvagno GL, Banfi G, Guidi GC. Significant variation of traditional markers of liver injury after a half-marathon run. *Eur J Intern Med.* 2011;22(5):36–38.

- [35] McKenzie DC, Rhodes EC, Stirling DR, Wiley JP, Dunwoody DW, Filsinger IB, et al. Salbutamol and treadmill performance in non-atopic athletes. *Med Sci Sports Exerc.* 1983;15(6):520–522.
- [36] Miles MP, Andring JM, Pearson SD, Gordon LK, Kasper C, Depner CM. Diurnal variation, response to eccentric exercise, and association of inflammatory mediators with muscle damage variable. *J Appl Physiol.* 2008;104:451–458.
- [37] Noakes TD, Kotzenberg G, McArthur PS, Dykman J. Elevated serum creatine kinase MB and creatine kinase BB-isoenzyme fractions after ultra-marathon running. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1983;52:75–79.
- [38] Nuviala RJ, Roda L, Lapieza MG, Boned B, Giner A. Serum enzymes activities at rest and after a marathon race. *J Sports Med Phys Fitness.* 1992;32(2):180–186.
- [39] Rapoport BI. Metabolic factors limiting performance in marathon runners. *PLoS Comput Biol.* 2010;6(10):1–9.
- [40] Roberts WO, Roberts DM, Lunos S. Marathon related cardiac arrest risk differences in men and women. *Br J Sports Med.* 2013;47(3):168–171.
- [41] Rosales XQ, Chu ML, Shilling C, Wall C, Pastores GM, Mendell JR. Fidelity of gamma-glutamyl transferase (GGT) in differentiating between skeletal muscle from liver damage. *J Child Neurol.* 2008;23:748–751.
- [42] Rumley AG, Pettigrew AR, Colgan ME, Taylor R, Grant S, Manzie A. Serum lactate dehydrogenase and creatine kinase during marathon training. *Br J Sports Med.* 1985;19(3):152–159.
- [43] Sjödén B, Jacobs I. Onset of blood lactate accumulation and marathon running performance. *Int J Sports Med.* 1981;2(1):23–26.
- [44] Shin YO, Lee JB. Leukocyte chemotactic cytokine and leukocyte subset responses during ultra-marathon running. *Cytokine.* 2012;61(2):364–369.
- [45] Skinner ER, Watt C, Maughan RJ. The acute effect of marathon running on plasma lipoproteins in female subjects. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1987;56(4):451–456.
- [46] Wu HJ, Chen KT, Shee BW, Chang HC, Huang YJ, Yang RS. Effects of 24 h ultra-marathon on biochemical and hematological parameters. *World J Gastroenterol.* 2004;10(18):2711–2714.

- [47] Waśkiewicz Z, Kłapcińska B, Sadowska-Krępa E, Czuba M, Kempa K, Kimsa E. Acute metabolic responses to a 24-h ultra-marathon race in male amateur runners. *Eur J Appl Physiol.* 2012;112(5):1679–1688.
- [48] Kłapcińska B, Waśkiewicz Z, Chrapusta SJ, Sadowska- Krępa E, Czuba M, Langfort J. Metabolic responses to a 48-h ultra-marathon run in middle-aged male amateur runners. *Eur J Appl Physiol.* 2013;113(11):2781–2793.
- [49] Ferri FF. *Diabetes insipidus.* 3 ed. Philadelphia: Elsevier Mosby; 2016:409 p.
- [50] Inker LA, Fan L, Levey AS. Assessment of renal function. 5 ed. Philadelphia: J. Comprehensive Clinical Nephrology; 2015:chap 3.
- [51] McPherson RA, Ben-Ezra J. Basic examination of urine. 22 ed. Philadelphia: Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods; 2011:chap 2
- [52] Jablan J, Inića S, Stosnachb H, Hadžiabdića MO, Vujića L, Domijana AM. Level of minerals and trace elements in the urine of the participants of mountain ultra-marathon race. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology.* 2017;25:1–24.
- [53] Kavouras SA. Assessing hydration status. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2002;5:519–524.
- [54] Shirreffs SM. Markers of hydration status. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2003;58:57–:69.
- [55] Knechtle B, Wirth, A., Knechtle, P, Rosemann T, Senn O. Do ultra-runners in a 24-h run really dehydrate? *Ir. J. Med.* 2011;180:129–134.
- [56] Cejka C, Knechtle B, Knechtle P, Rüst CA, Rosemann T. An increased fluid intake leads to feet swelling in 100-km ultra-marathoners - an observational field study. *Journal of the International Society of Sports Nutrition.* 2012;9:11–16.
- [57] Rüst CA, Knechtle B, Knechtle P, Wirth A, Rosemann T. Body mass change and ultraendurance performance: a decrease in body mass is associated with an increased running speed in male 100-km ultramarathoner *Journal of Strength and Conditioning Research.* 2012; 26(6),1505–1516.
- [58] Kratz A, Lewandowski KB. Normal reference laboratory values. *N Engl J Med.* 1998;339:1063–1072.

- [59] Knechtle B, Wirth A, Knechtle P, Rosemann T. Increase of total body water with decrease of body mass while running 100 km nonstop-formation of edema? *Res Q Exerc Sport*. 2009;80:593–603.
- [60] Rüst CA, Knechtle B, Knechtle P, Wirth A, Rosemann T. No case of exercise-associated hyponatraemia in top male ultra-endurance cyclists: the 'Swiss Cycling Marathon'. *Journal of Sports Sciences*. 2012;112:689–697.
- [61] Knechtle B, Knechtle P, Wirth A, Rüst CA, Rosemann T. A faster running speed is associated with a greater body weight loss in 100-km ultra-marathoners. *Journal of Sports Sciences*. 2012;30(11):1131–1140.
- [62] Galloway SD, Maughan RJ. Effects of ambient temperature on the capacity to perform prolonged cycle exercise in man. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 1997;29:1240–1249.
- [63] Zhang S, Meng G, Wang Y, Li J. Study of the relationships between weather conditions and the marathon race, and of meteorotropic effects on distance runners. *International Journal of Biometeorology*. 1992;36:63–68.
- [64] Casa DJ, Stearns RL, Lopez RM, Ganio MS, McDermott B.P, Walker Yeargin S. Influence of hydration on physiological function and performance during trail running in the heat. *Journal of Athletic Training*. 2010;45:147–156.
- [65] Stearns RL, Casa DJ, Lopez RM, McDermott BP, Ganio S, Decher NR. Influence of hydration status on pacing during trail running in the heat. *Journal of Strength and Conditioning Research*. 2009;23:2533–2541.
- [66] Davidson RJ, Robertson JD, Galea G, Maughan RJ. Hematological changes associated with marathon running. *Int J Sports Med*. 1997;8:19–25.
- [67] Kratz A, Lewandrowski KB, Siegel AJ, Chun KY, Flood JG, Van Cott EM. Effect of marathon running on hematologic and biochemical laboratory parameters, including cardiac markers. *Am J Clin Pathol*. 2002;118:856–863.
- [68] McCarthy DA, Dale MM. The leucocytosis of exercise. *A Rev Model Sports Med*. 1988;6:333–336.
- [69] Shin YO, Lee JB. Leukocyte chemotactic cytokine and leukocyte subset responses during ultra-marathon running. *Cytokine*. 2013;61:364–369.

- [70] Jee H, Park J, Oh JG, Lee YH, Shin KA, Kim YJ. Effect of a Prolonged Endurance Marathon on Vascular Endothelial and Inflammation Markers in Runners with Exercise-Induced Hypertension. *Am J Phys Med Rehabil*. 2013;92:513-522.
- [71] Jee H, Jin Y. Effects of prolonged endurance exercise on vascular endothelial and inflammation markers. *Journal of Sports Science and Medicine*. 2012;11:719-726.
- [72] Wu HJ, Chen KT, Shee BG, Chang HG, Huang YJ, Yang RS. Effects of 24 h ultra-marathon on biochemical and hematological parameters. *World J Gastroenterol*. 2004;10:2711-2714.
- [73] Bessa A, Nissenbaum M, Monteiro A, Gandra PG, Nunes LS, Bassini-Cameron A, Werneck-de-Castro JPS, de Macedo D Vaz, Cameron LC. High-intensity ultraendurance promotes early release of muscle injury markers. *British Journal of Sports Medicine*, 2008;42:889–893.
- [74] Nielsen, HG, Lyberg, T. Long-distance running modulates the expression of leucocyte and endothelial adhesion molecules. *Scandinavian Journal of Immunology*. 2004;60:356-362.
- [75] Bartzeliotou AI, Margeli AP, Tsironi M, Skenderi K, Bacoula C, Chrousos GP, Papassotiriou I. Circulating levels of adhesion molecules and markers of endothelial activation in acute inflammation induced by prolonged brisk exercise. *Clinical Biochemistry*. 2007;40:765-770.
- [76] Suzuki K, Totsuka M, Nakaji S. Endurance exercise causes interaction among stress hormones, cytokines, neutrophil dynamics, and muscle damage. *J Appl Physiol*. 1999;87:1360-1367.
- [77] Stuenkel KJ, Fogard K, Hew-Butler T, Winger J, Weiss Robert H. Urine dipstick analysis for identification of runners susceptible to acute kidney injury following an ultramarathon. *Journal of Sports Sciences*. 2012;31:1–12.
- [78] Neumayr G, Pfister R, Hoernagl H, Mitterbauer G, Getzner W, Ulmer H, Gaenger H, Joannidis M. The effect of marathon cycling on renal function. *Int J Sports Med* 2003;24:131–137.
- [79] Bazari H, Goldman L, Ausiello D. Aproximación al paciente con enfermedad renal. 23 ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2007:chap 11.

- [80] Hou SK, Chiu YH, Tsai YF, Tai LC, Hou PC, How CK, Yang CC, Kao WF. Clinical Impact of Speed Variability to Identify Ultramarathon Runners at Risk for Acute Kidney Injury. *PLoS ONE*. 2015;10(7):1-11.
- [81] Kao WF, Hou SK, Chiu YH, Chou SL, Kuo FC, Wang SH, Chen JJ. Effects of 100 km Ultramarathon on Acute Kidney Injury. *Clin J Sport Med*. 2015;25:49–54.
- [82] Lipman GS, Krabak BJ, Waite BL, Logan SB, Menon A, Chan GK. A Prospective Cohort Study of Acute Kidney Injury in Multi-stage Ultramarathon Runners: The Biochemistry in Endurance Runner Study (BIERS). *Research in Sports Medicine*. 2014;22:185–192.
- [83] Hoffman MD, Weiss RH. Does Acute Kidney Injury From an Ultramarathon Increase the Risk for Greater Subsequent Injury?. *Clin J Sport Med*. 2015;0:1–6.
- [84] Blasco R. Acclimatisation to physical exercise to thermal stress. *Archivos de medicina del deporte*. 2012;148:621-631.
- [85] Patel DR, Gyamfi R, Torres A. Exertional rhabdomyolysis and acute kidney injury. *Phys Sportsmed*. 2009;37(1):71–79.
- [86] Clarkson PM. Exertional rhabdomyolysis and acute renal failure in marathon runners. *Sports Med*. 2007;37(4–5):361–363.
- [87] Bosch X, Poch E, Grau JM. Rhabdomyolysis and acute kidney injury. *N Engl J Med*. 2009;361(1):62–72.
- [88] Yoon YE, Lee KS, Choi KH, Kim KH, Yang SC, Han WK, Prospective measurement of urinary microalbumin in living kidney donor nephrectomy: towards understanding the renal functional recovery period. *The Journal of Urology*. 2014; 32(8):171–179.
- [89] Glasscock RJ. Is the presence of microalbuminuria a relevant marker of kidney disease?. *Curr Hypertens*. 2010;12:36–40.
- [90] Finkelstein J, Joshi A, Hise MK. Association of physical activity and renal function in subjects with and without metabolic syndrome: a review of the Third National Health and Nutrition Examination Survey(NHANES III). *Am J Kidney Dis*. 2006;48:372–382.

- [91] Page AJ, Reid SA, Speedy DB, Mulligan GP, Thompson J. Exercise-associated hyponatremia, renal function, and nonsteroidal anti-inflammatory drug use in an ultraendurance mountain run. *Clin J Sport Med*. 2007;17:43–48.
- [92] Neumayr G, Pfister R, Hoertnagl H, Mitterbauer G, Getzner W, Ulmer H, Gaenger H, Joannidis M. The effect of marathon cycling on renal function. *Int J Sports Med*. 2003;24:131–137.
- [93] Neumayr G, Pfister R, Hoertnagl H, Mitterbauer G, Prokop W, Joannidis M. Renal function and plasma volume following ultramarathon cycling. *Int J Sports Med*. 2005;26:2–8.
- [94] Künstlinger U, Ludwig HG, Stegemann J. Metabolic changes during volleyball matches. *Int J Sports Med*. 1987;8:315–322.
- [95] Poortmans JR, Jourdain M, Heyters C, Reardon FD. Postexercise proteinuria in rowers. *Can J Sport Sci*. 1990;15:126–130.
- [96] Lippi G, Schena F, Salvagno GL, Tarperi C, Montagnana M, Gelati M, Banfi G, Guidi GC. Acute variation of estimated glomerular filtration rate following a half-marathon run. *Int J Sports Med*. 2008;29:948–95.
- [97] McCullough PA, Chinnaiyan KM, Gallagher MJ, Colar JM, Geddes T, Gold JM, Trivax JE. Changes in renal markers and acute kidney injury after marathon running. *Nephrology*. 2011;16:194–199.