



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS, TECNOLOGIAS E SAÚDE - CAMPUS ARARANGUÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA REABILITAÇÃO

Viviane José de Oliveira Bristot

O efeito do exercício físico agudo nos níveis circulantes de endocanabinoides em humanos saudáveis: uma revisão sistemática e meta-análise

Araranguá
2021

Viviane José de Oliveira Bristot

O efeito do exercício físico agudo nos níveis circulantes de endocanabinoides em humanos saudáveis: uma revisão sistemática e meta-análise

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de mestre em Ciências da Reabilitação.

Orientador: Prof. Aderbal Silva Aguiar Junior, Dr.

Araranguá

2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Bristot, Viviane José de Oliveira
O efeito do exercício físico agudo nos níveis circulantes
de endocanabinoides em humanos saudáveis: uma revisão
sistemática e meta-análise / Viviane José de Oliveira
Bristot; orientador, Aderbal Silva Aguiar Junior, 2021.
186 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Campus Araranguá, Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Reabilitação, Araranguá, 2021.

Inclui referências.

1. Ciências da Reabilitação. 2. Exercício. 3.
Endocanabinoides. 4. Revisão sistemática. 5. Meta-análise.
I. Aguiar Junior, Aderbal Silva. II. Universidade Federal
de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciências da
Reabilitação. III. Título.

Viviane José de Oliveira Bristot

O efeito do exercício físico agudo nos níveis circulantes de endocanabinoides em humanos saudáveis: uma revisão sistemática e meta-análise

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Alessandro Haupenthal, Dr.

Instituição Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Pablo Pandolfo, Dr.

Instituição Universidade Federal Fluminense

Profa. Melina Hauck, Dra.

Instituição Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Ciências da Reabilitação obtido pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Prof. Aderbal Silva Aguiar Junior, Dr.

Orientador

Araranguá, 2021.

Este trabalho é dedicado ao meu marido Silvano Bristot e à
minha filha Laura de Oliveira Bristot.

AGRADECIMENTOS

À Deus acima de todas as coisas, pela saúde, sabedoria e discernimento para as decisões tomadas até aqui.

Ao meu marido Silvano Bristot e à minha filha Laura de Oliveira Bristot, pelo amor e incentivo em todos os momentos.

À minha família, em especial minha mãe Noeci e meus irmãos Fabiano, Valdirene e Vandréia pelo apoio, orações e carinho que me fizeram mais forte todos os dias.

Ao Professor Aderbal Silva Aguiar Junior, pela orientação.

Agradeço ao Labioex e aos meus colegas pela oportunidade de convívio, pelos ensinamentos e por ter proporcionado boas experiências.

Agradeço à Melina Hauck pela dedicação, paciência, competência e responsabilidade. Muito obrigada pela colaboração, foi fundamental para conclusão deste trabalho.

À banca examinadora pela atenção dedicada e considerações que contribuíram para este trabalho.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação, pelos conhecimentos que contribuíram para formação científica.

A todos os funcionários da UFSC pela prestatividade, pelo auxílio técnico e convivência amigável.

Ao CNPq, CAPES e FAPESC pelo apoio financeiro.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Os efeitos dos endocanabinoides circulantes estão relacionados aos benefícios das adaptações agudas do exercício. O principal objetivo deste estudo foi determinar o efeito do exercício agudo sobre os níveis circulantes de endocanabinoides em humanos saudáveis. PubMed, EMBASE, Web of Science, CINAHL, SPORTDiscus e Scopus foram as bases de dados. As estratégias de pesquisa combinaram termos *Medical Subject Headings* (MeSH) e palavras de texto livre, incluindo "exercise", "exercise, physical", "exercise training", "physical activity", "endocannabinoids", "2-arachidonoyl-glycerol", "glyceryl 2-arachidonate", "2-AG", "anandamide", "AEA", "n-arachidonylethanolamide", "adult", "young adult" e "middle aged". Selecionamos estudos experimentais ou quase experimentais publicados até março de 2021. O protocolo foi registrado no registro prospectivo internacional de revisões sistemáticas em andamento (*International Prospective Register of Ongoing Systematic Reviews*, PROSPERO) (número de registro: CRD420202886). A seleção dos estudos, a extração dos dados e a avaliação do risco de viés foram realizadas de forma pareada e independente, e o coeficiente de concordância Kappa (k) foi avaliado no SPSS. A qualidade metodológica foi avaliada através da *Revised Cochrane risk of bias tool for randomized trials* (RoB 2), *Joanna Briggs Institute Critical Appraisal Checklist for Case Series* e *Risk Of Bias In Nonrandomized Studies of Interventions* (ROBINS-I). A partir da homogeneidade entre os estudos, os dados foram analisados por meta-análise considerando uma significância estatística de $p < 0,05$ e o método de efeitos aleatórios. As estimativas do efeito combinado estão apresentadas como uma diferença ponderada das médias e um intervalo de confiança (IC) de 95%. A heterogeneidade estatística dos estudos foi avaliada por meio do teste Q de Cochran e do teste de inconsistência (I^2). Essa revisão sistemática com meta-análise sugere que o exercício agudo pode aumentar os níveis circulantes de endocanabinoides em humanos saudáveis. Considerando as particularidades de cada análise, i) não encontramos aumento significativo nos níveis circulantes de AEA na comparação entre exercício físico e repouso, porém, parece haver uma tendência positiva para o exercício físico do tipo corrida e ciclismo; ii) na síntese entre duas intervenções de exercício do tipo corrida, observamos que a intensidade prescrita, leve e moderada é superior à corrida preferida e intensa ou caminhada para aumentar AEA e 2-AG; iii) além disso, verificamos na comparação entre os valores basais e pós-exercício que todas as intervenções de exercício aumentaram os níveis circulantes de endocanabinoides, exceto caminhada e corrida intensa para AEA e ciclismo moderado mais intenso e leg press leve e intenso para 2-AG. Contudo, os estudos incluídos apresentaram algumas preocupações ou moderado risco de viés e considerável heterogeneidade estatística. Essa revisão sistemática com meta-análise mostrou que o exercício físico agudo moderado aumentam os níveis circulantes de endocanabinoides, com exceção do exercício do tipo caminhada ou corrida intensa, ciclismo moderado ou intenso e leg press leve e intenso. Porém, o exercício físico não aumentou os níveis circulantes do endocanabinoide AEA após exercício físico em relação ao repouso. A partir disso, pesquisas adicionais são recomendadas para confirmar esses achados usando um desenho randomizado controlado, amostras maiores e empregando estratégias para minimizar a influência de fatores de confusão.

Palavras-chave: Exercício. Atividade física. Endocanabinoides. Gliceril 2-araquidonato. 2-araquidonilglicerol. Anandamida. N-araquidoniletanolamida. Sistema endocanabinoide. Nível de endocanabinoide no sangue. Revisão sistemática.

ABSTRACT

The effects of circulating endocannabinoids are related to the benefits of acute exercise adaptations. The main objective of this study was to determine the effect of acute exercise on circulating levels of endocannabinoids in healthy humans. PubMed, EMBASE, Web of Science, CINAHL, SPORTDiscus and Scopus were the databases. The search strategies combined Medical Subject Headings (MeSH) terms and free text words, including "exercise", "exercise, physical", "exercise training", "physical activity", "endocannabinoids", "2-arachidonoyl-glycerol", "glyceryl 2-arachidonate", "2-AG", "anandamide", "AEA", "n-arachidonylethanolamide", "adult", "young adult" and "middle aged". We selected experimental or quasi-experimental studies published up to March 2021. The protocol was registered in the International Prospective Register of Ongoing Systematic Reviews, PROSPERO (registry number: CRD42020202886). Study selection, data extraction and assessment of the risk of bias were carried out in a paired and independent manner, and the Kappa coefficient of agreement (k) was evaluated in the SPSS. Methodological quality was assessed using the Revised Cochrane risk of bias tool for randomized trials (RoB 2), Joanna Briggs Institute Critical Appraisal Checklist for Case Series, and Risk Of Bias In Nonrandomized Studies of Interventions (ROBINS-I). From the homogeneity between the studies, the data were analyzed by meta-analysis considering a statistical significance of $p < 0.05$ and the random effects method. Estimates of the combined effect are presented as a weighted difference of means and a 95% confidence interval (CI). The statistical heterogeneity of the studies was assessed using the Cochran Q test and the inconsistency test (I^2). This systematic review with meta-analysis suggests that acute exercise can increase circulating levels of endocannabinoids in healthy humans. Considering the particularities of each analysis, i) we did not find a significant increase in AEA circulating levels in the comparison between physical exercise and rest, however, there seems to be a positive trend towards running and cycling physical exercise; ii) in the synthesis between two running-type exercise interventions, we observed that the prescribed intensity, light and moderate, is superior to the preferred and intense running or walking to increase AEA and 2-AG; iii) in addition, when comparing baseline and post-exercise values, we found that all exercise interventions increased circulating levels of endocannabinoids, except intense walking and running for AEA and more intense moderate cycling and light and intense leg press for 2-AG. However, the included studies had some concerns or moderate risk of bias and considerable statistical heterogeneity. This systematic review with meta-analysis showed that moderate acute physical exercise increases circulating levels of endocannabinoids, with the exception of intense walking or running, moderate or intense cycling, and light and intense leg press exercise. However, physical exercise did not increase circulating levels of endocannabinoid AEA after physical exercise compared to rest. From this, further research is recommended to confirm these findings using a randomized controlled design, larger samples and employing strategies to minimize the influence of confounding factors.

Keywords: Exercise. Physical activity. Endocannabinoids. Glyceryl 2-arachidonate. 2-arachidonoylglycerol. Anandamide. N arachidonylethanolamine. Endocannabinoid system. Endocannabinoid blood level. Systematic review.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática simplificada das principais vias de síntese e degradação dos endocanabinoides, AEA e 2-AG.....	22
Figura 2 - Principais vias de sinalização celular modulada por CB1R e CB2R.	24
Figura 3 - Ligantes endocanabinoides e seus receptores canabinoides e não canônicos.	27
Figura 4 - Esquema representando os estímulos e fontes potenciais de endocanabinoides presentes na circulação.	29
Figura 5 - O papel dos endocanabinoides na resposta do músculo esquelético ao exercício.....	31
Figura 6 - Fluxograma do processo de seleção dos estudos incluídos nesta revisão sistemática e meta-análise.	46
Figura 7 - Resultados da avaliação do risco de viés dos estudos incluídos usando a ferramenta da Cochrane de avaliação de risco de viés para estudos randomizados (<i>Revised Cochrane risk of bias tool for randomized trials, RoB 2</i>) com o resultado avaliado AEA.	61
Figura 8 - Resultados da avaliação do risco de viés dos estudos incluídos usando a ferramenta da Cochrane de avaliação de risco de viés para estudos randomizados (<i>Revised Cochrane risk of bias tool for randomized trials, RoB 2</i>) com o resultado avaliado 2-AG. ...	63
Figura 9 – Resultados da avaliação do risco de viés dos estudos incluídos usando a ferramenta de risco de viés em estudos de intervenção não randomizados (<i>Risk Of Bias In Nonrandomized Studies of Interventions, ROBINS-I</i>).	66
Figura 10 – Forest plot dos resultados da meta-análise da comparação entre os efeitos do exercício aeróbico e repouso sobre os níveis circulantes de AEA.	67
Figura 11 - Forest plot dos resultados da meta-análise da comparação de duas intervenções concorrentes de exercício aeróbico sobre os níveis circulantes de AEA.	68
Figura 12 - Forest plot dos resultados da meta-análise da comparação dos valores basais e pós-exercício aeróbico sobre os níveis circulantes de AEA.	69
Figura 13 - Forest plot dos resultados da meta-análise com análise de sensibilidade por modalidade, comparação dos valores basais e pós-exercício aeróbico sobre os níveis circulantes de AEA.....	69
Figura 14 - Forest plot dos resultados da meta-análise da comparação de duas intervenções concorrentes de exercício sobre os níveis circulantes de 2-AG.	71

Figura 15 - Forest plot dos resultados da meta-análise da comparação dos valores basais e pós-exercício sobre os níveis circulantes de 2-AG.	71
Figura 16 - Forest plot dos resultados da meta-análise de sensibilidade por modalidade e tipo de exercício, comparação dos valores basais e pós-exercício sobre os níveis circulantes de 2-AG.	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Formulário de extração de dados dos estudos incluídos na revisão sistemática e meta-análise.	41
Tabela 2 - Características dos participantes dos estudos incluídos na revisão sistemática, estratificado por tipo de intervenção e em ordem alfabética.	49
Tabela 3 - Características das intervenções dos estudos incluídos na revisão sistemática, estratificado por tipo de intervenção e em ordem alfabética.	52
Tabela 4 – Resultados da avaliação do risco de viés dos estudos incluídos usando a ferramenta do Joanna Briggs Institute (JBI) para séries de casos / estudos não controlados (<i>JBI Critical Appraisal Checklist for Case Series</i>).	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1RM	Uma repetição máxima
2-AG	2-araquidonilglicerol
2-LG	2-linoleoil-glicerol
2-OG	2-oleoil-glicerol
ABHD	Alpha/beta hydrolase domain
AC	Adenilato ciclase
AEA	N-araquidoniletanolamida
AFMV	Atividade física moderada-vigorosa
Akt	Proteína quinase B
AMPc	3',5'-adenosina monofosfato cíclico
BDNF	Brain-derived neurotrophic fator
bpm	Batimentos por minuto
CB1R	Receptor canabinoide tipo 1
CB2R	Receptor canabinoide tipo 2
CINAHL	Cumulative index to nursing and allied health literature
CMV	Contração máxima voluntária
COX-2	Ciclooxigenase-2
D2	Receptor de dopamina
DAGL	Diacilglicerol lipase
DP	Desvio padrão
ECR	Ensaio clínico randomizado controlado
EMT	Endocannabinoid membrane transporter
ERK	Extracellular signal-regulated kinase
FAAH	Fatty acid amide hydrolase
FC	Frequência cardíaca
FCmáx	Frequência cardíaca máxima
GABA	Gamma aminobutyric acid
GIRK	G protein-sensitive inward-rectifying potassium
GPCR	G protein-coupled membrane receptor
GPR55	G protein-coupled receptor 55
IC	Intervalo de confiança
IMC	Índice de massa corporal

JBI	Joanna Briggs Institute
JNK	c-Jun N-terminal quinase
LEA	N-linoleoil-etanolamina
LV	Limiar ventilatório
MAG	Monoacilglicerol
MAGL	Monoacilglicerol lipase
MAPK	Mitogen-activated protein kinase
MeSH	Medical subject headings
mGluR	Receptor metabotrópico de glutamato
NAAA	N-acylethanolamine acid amidase
NAE	N-aciletanolamina
NAPE-PLD	N-acil-fosfatidiletanolamina fosfolipase D
OEA	N-oleoil etanolamina
PEA	Palmitoil-etanolamina
PI3K	Fosfatidilinosítideo-3-quinase
PICOS	Population-Intervention-Comparison-Outcomes-Study
PKA	Proteína quinase A
PPAR γ	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma
PRISMA	Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyse
PROSPERO	International prospective register of ongoing systematic reviews
PubMed	US National Library of Medicine
PUFAs	Polyunsaturated fatty acids
RNA	Ribonucleic acid
RoB 2	Revised cochrane risk of bias tool for randomized trials
ROBINS-I	Risk of bias in nonrandomized studies of interventions
RVD-Hp	Hemopressina RVD
SNC	Sistema nervoso central
SPSS	Statistical package for the social sciences
TRPV1	Transient receptor potential vanilloid member 1
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
VO2	Volume de oxigênio
VO2máx	Volume de oxigênio máximo
W	Watt

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
1.1	OBJETIVOS	19
1.1.1	Objetivo Geral.....	19
1.1.2	Objetivos Específicos	20
1.2	ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO	20
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	21
2.1	SISTEMA ENDOCANABINOIDE	21
2.1.1	Os endocanabinoides e seu metabolismo	21
2.1.2	Vias de sinalização e alvos moleculares	24
2.1.3	Moduladores alostéricos.....	28
2.2	ENDOCANABINOIDES CIRCULANTES E EXERCÍCIO	29
3	MATERIAL E MÉTODOS	35
3.1	CRITÉRIO DE ELEGIBILIDADE	35
3.1.1	População	35
3.1.2	Intervenção	36
3.1.3	Comparação	36
3.1.4	Resultados.....	37
3.1.5	Tipo de estudo	37
3.2	ESTRATÉGIA DE PESQUISA	37
3.3	SELEÇÃO DE ESTUDOS	38
3.4	EXTRAÇÃO DE DADOS	39
3.5	AVALIAÇÃO DE RISCO DE VIÉS	42
3.6	SÍNTESE E ANÁLISE DE DADOS.....	43
4	RESULTADOS	45
4.1	ESTUDOS INCLUÍDOS	45
4.2	AVALIAÇÃO DE RISCO DE VIÉS	61

4.2.1	Estudos experimentais.....	61
4.2.2	Estudos quase experimentais.....	65
4.3	ESTUDOS INCLUÍDOS NA META-ANÁLISE	67
4.3.1	Efeitos do exercício agudo.....	67
<i>4.3.1.1</i>	<i>AEA.....</i>	<i>67</i>
<i>4.3.1.2</i>	<i>2-AG.....</i>	<i>70</i>
4.3.2	Ensaio clínico não incluído na meta-análise	73
5	DISCUSSÃO	74
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	79
	REFERÊNCIAS.....	80
	APÊNDICE A – Protocolo de revisão sistemática e meta-análise.....	89
	APÊNDICE B – Dissertação formatada para publicação	134
	APÊNDICE C – Estratégia de busca adaptada de acordo com cada base de dados	183

1 INTRODUÇÃO

A anandamida ou n-araquidoniletanolamida (AEA) e o 2-araquidonilglicerol (2-AG) são lipídios bioativos derivados de precursores fosfolipídios de membrana e ácido araquidônico, denominados ligantes canabinoides endógenos ou endocanabinoides (MECHOULAM; HANUŠ; PERTWEE; HOWLETT, 2014; MORENO; CAVIC; CANELA, 2021). A AEA e o 2-AG, seus receptores e proteínas implicadas em sua síntese, liberação, transporte e degradação pertencem a um sistema de sinalização complexo denominado sistema endocanabinoide (BIRINGER, 2021; DI MARZO, 2018; HILLARD, 2018; WATKINS, 2019b). A síntese de AEA e 2-AG são principalmente dependentes de n-acil-fosfatidiletanolamina fosfolipase D (NAPE-PLD) e diacilglicerol lipase (DAGL), respectivamente (DI MARZO, 2018; LU; MACKIE, 2016). A degradação de AEA envolve a enzima hidrolase de amidas ácidos graxos (*fatty acid amide hydrolase*, FAAH), e monoacilglicerol lipase (MAGL) para inativação de 2-AG (DI MARZO, 2018; DI SCALA; FANTINI; YAHY; BARRANTES et al., 2018). O receptor canabinoide tipo 1 (CB1R) e tipo 2 (CB2R) são receptores acoplados à proteína G (*G protein-coupled membrane receptor*, GPCR), principalmente à proteína G inibitória (G i/o) cuja ativação modula as vias da adenilato ciclase (AC), fosfatidilinositídeo-3-quinase (PI3K) e várias proteínas quinases ativadas por mitógenos (*mitogen-activated protein kinase*, MAPK) (ZOU; KUMAR, 2018). Esses são considerados componentes clássicos e vias de sinalizações amplamente estudadas, porém outros integrantes do sistema endocanabinoide foram identificados nos últimos anos (DI MARZO, 2018). Estas vias de sinalização ativadas pelos endocanabinoides culminam na supressão da liberação de neurotransmissores e modulação da expressão gênica, constituindo a base dos efeitos mediados pelos receptores canabinoides (HUA; LI; WU; ILIOPOULOS-TSOUTSOUVAS et al., 2020). A AEA e o 2-AG se ligam aos receptores canabinoides com afinidade e eficácia distintas e exercem seus efeitos biológicos conforme o estímulo, o local em que são encontrados e a distribuição desses receptores (HILLARD, 2018). Por exemplo, o estresse, a inflamação e o exercício são potenciais estímulos que modulam os níveis de endocanabinoides na circulação sanguínea, órgãos e tecidos; sendo o CB1R predominantemente expresso no cérebro e o CB2R, em células do sistema imunológico (HASPULA; CLARK, 2020; HILLARD, 2018).

O exercício agudo regula a síntese de endocanabinoides, geralmente aumentando os níveis circulantes e de modo intensidade-dependente (SCHONKE; MARTINEZ-TELLEZ;

RENSSEN, 2020). O músculo esquelético é a principal fonte dos endocanabinoides presentes na circulação, sendo que o mecanismo fisiológico é precedido da regulação da expressão gênica muscular dos componentes do sistema endocanabinoide (HILLARD, 2018; SCHONKE; MARTINEZ-TELLEZ; RENSEN, 2020). Particularmente, a expressão gênica de FAAH é regulada para baixo e CB2R é regulado positivamente em resposta ao exercício agudo em humanos (SCHONKE; MARTINEZ-TELLEZ; RENSEN, 2020). Dessa forma, os níveis circulantes de AEA e 2-AG aumentados agudamente podem mediar respostas transitórias para manter ou restabelecer o funcionamento fisiológico e a homeostase. Por exemplo, os endocanabinoides circulantes no músculo esquelético aumentam a captação de glicose, melhoram a ação da insulina e biogênese mitocondrial, resultando no aumento do desempenho e capacidade de exercício (HEYMAN; GAMELIN; AUCOUTURIER; DI MARZO, 2012b). Além disso, esses endocanabinoides regulam a ativação e migração de células imunes e citocinas relacionadas ao exercício e à regeneração muscular (SCHONKE; MARTINEZ-TELLEZ; RENSEN, 2020).

Os endocanabinoides circulantes também têm efeitos centrais devido à sua natureza lipofílica que permite a passagem através da barreira hemato-encefálica (HIND; TUFARELLI; NEOPHYTOU; ANDERSON et al., 2015; MACCARRONE; FIORI; BARI; GRANATA et al., 2006). O *barato do corredor* é um dos efeitos centrais em destaque, caracterizado por um estado mental de euforia, ansiedade reduzida, hipoalgesia e sedação, experimentado por corredores de longa distância (SIEBERS; BIEDERMANN; BINDILA; LUTZ et al., 2021). Esse efeito está relacionado à influência central dos endocanabinoides no sistema de recompensa e periférica no sistema de nocicepção (SIEBERS; BIEDERMANN; BINDILA; LUTZ et al., 2021). A síntese aumentada de fator neurotrófico derivado do cérebro (*brain-derived neurotrophic factor*, BDNF) estimulada pelos elevados níveis circulantes de endocanabinoides, mediando benefícios na cognição e efeito antidepressivo também é outro exemplo dos efeitos dos endocanabinoides (HEYMAN; GAMELIN; GOEKINT; PISCITELLI et al., 2012). Em suma, estes são alguns dos efeitos da modulação dos endocanabinoides circulantes pelo exercício agudo que podem representar uma influência promissora nos aspectos da neurofisiologia.

No entanto, os resultados da literatura apresentam algumas inconsistências da influência do exercício agudo nos níveis circulantes dos endocanabinoides. Alguns estudos relataram redução nos níveis circulantes de AEA em resposta ao exercício aeróbico de braço, enquanto o 2-AG permaneceu inalterado durante exercício de resistência muscular com

restrição do fluxo sanguíneo, em indivíduos saudáveis (HUGHES; PATTERSON, 2020; STENSSON; GRIMBY-EKMAN, 2019). Estas controvérsias revelam que o sistema endocanabinoide ainda é pouco explorado dentro da fisiologia do exercício, especialmente em humanos. Algumas revisões de literatura abordaram o efeito da atividade física ou exercício nos componentes do sistema endocanabinoide com foco em distúrbios neurológicos e neurodegenerativos, bem como, funções centrais (cognição, humor, apetite, sistema de recompensa) e periféricas (regulação de glicose, sensibilidade à insulina, lipogênese) (CHARYTONIUK; ZYWNO; KONSTANTYNOWICZ-NOWICKA; BERK et al., 2020; DI LIEGRO; SCHIERA; PROIA; DI LIEGRO, 2019; LOPRINZI; ZOU; LI, 2019). Outros estudos constituem uma interpretação e análise crítica pessoal do autor sobre as investigações do sistema endocanabinoide durante atividade física, incluindo os níveis circulantes de endocanabinoides (CHARYTONIUK; ZYWNO; KONSTANTYNOWICZ-NOWICKA; BERK et al., 2020; HEYMAN; GAMELIN; AUCOUTURIER; DI MARZO, 2012a; HILLARD, 2018; TANTIMONACO; CECI; SABATINI; CATANI et al., 2014). Contudo, nenhum estudo anterior estabeleceu uma revisão sistemática e meta-análise sobre os efeitos do exercício físico nos níveis circulantes de endocanabinoides em humanos saudáveis.

Neste contexto, é concebível que os efeitos dos endocanabinoides circulantes estão relacionados aos benefícios das adaptações agudas do exercício. Porém, alguns aspectos permanecem indefinidos e não se sabe: i) se o exercício agudo contribui para o aumento nos níveis circulantes de endocanabinoides; e ii) como os efeitos de diferentes tipos de exercício [aeróbico (prolongado ou de longa duração), resistência muscular (curta duração)], modalidades (caminhada, corrida, ciclismo, pesos livres), e duração da sessão (minutos) estão descritos nesta literatura. Dessa forma, este estudo pretende considerar uma abordagem que supere obstáculos técnicos das revisões de literatura com uma metodologia que irá reunir e revisar sistematicamente com imparcialidade os estudos individuais para um resultado confiável e reprodutível. Sendo considerada a revisão sistemática e meta-análise, o estudo com o mais alto nível de evidência.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Determinar o efeito do exercício físico agudo nos níveis circulantes de endocanabinoides em humanos saudáveis.

1.1.2 Objetivos Específicos

Preparar um protocolo de revisão sistemática e meta-análise para investigar o efeito do exercício físico agudo nos níveis circulantes de endocanabinoides em humanos saudáveis através de uma metodologia padronizada.

Sintetizar sistematicamente as evidências que avaliaram endocanabinoides circulantes em resposta ao exercício agudo em humanos saudáveis, de forma pareada, independente e cega.

Avaliar o risco de viés das evidências que avaliaram endocanabinoides circulantes em resposta ao exercício agudo em humanos saudáveis através de ferramentas recomendadas para cada tipo de estudo.

Aplicar técnicas estatísticas para comparação dos dados de resultados de evidências que avaliaram endocanabinoides circulantes em resposta ao exercício agudo em humanos saudáveis.

1.2 ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO

Esta dissertação contempla o “Modelo Alternativo” para elaboração de dissertações, do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação, Centro de Ciências, tecnologias e Saúde – Campus Araranguá, da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) conforme Norma 04/PPGCR/2018.

A dissertação apresenta os seguintes tópicos principais: **1)** Introdução teórica apresentando o assunto objeto de estudo; **2)** Revisão da literatura sobre o tema proposto; **3)** Materiais e Métodos descrevendo os procedimentos empregados no estudo; **4)** Resultados da revisão sistemática contemplando os objetivos geral e específico; **5)** Discussão; e **6)** Considerações finais.

Além disso, o protocolo e a revisão sistemática (formato artigo científico) submetida para publicação estão apresentados no Apêndice A e B, respectivamente, como parte dos resultados desta dissertação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 SISTEMA ENDOCANABINOIDE

O sistema endocanabinoide é um sistema biológico de sinalização celular composto principalmente por ligantes endógenos denominados endocanabinoides (anandamida ou n-araquidoniletanolamida – AEA e 2-araquidonilglicerol – 2-AG), receptores canabinoides tipo 1 (CB1R) e tipo 2 (CB2R) e enzimas envolvidas na síntese e degradação (DEVANE; HANUS; BREUER; PERTWEE et al., 1992; MATSUDA; LOLAIT; BROWNSTEIN; YOUNG et al., 1990; MECHOULAM; BEN-SHABAT; HANUS; LIGUMSKY et al., 1995; MUNRO; THOMAS; ABU-SHAAR, 1993; SUGIURA; KONDO; SUKAGAWA; NAKANE et al., 1995). No entanto, o sistema endocanabinoide é caracterizado por uma grande complexidade, de modo que outros compostos lipídicos e peptídicos, proteínas de transporte, enzimas, vias de sinalização e receptores são muito mais variados do que os originalmente estabelecidos.

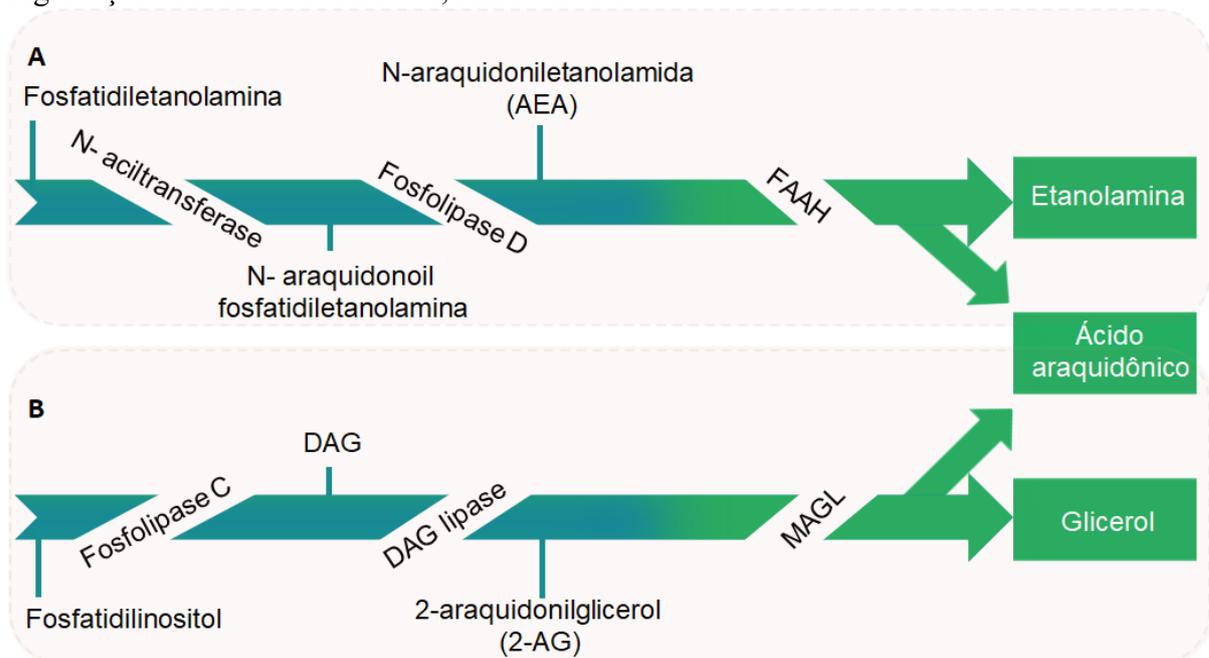
2.1.1 Os endocanabinoides e seu metabolismo

A AEA e o 2-AG são lipídios bioativos de natureza hidrofóbica, pertencentes às subclasses denominadas n-aciletanolamina (NAE) e monoacilglicerol (MAG), respectivamente (DI MARZO, 2018). Os endocanabinoides são produzidos e liberados sob demanda por condições físicas (dependente da atividade) ou de maneira constitutiva (basal) (RIQUELME-SANDOVAL; DE SÁ-FERREIRA; MIYAKOSHI; HEDIN-PEREIRA, 2020). O nível constitutivo de endocanabinoides é denominado de tônus endocanabinoide (TOCZEK; MALINOWSKA, 2018). Contudo, evidências consideram o potencial acúmulo de endocanabinoides por organelas *pools* de armazenamento (MACCARRONE, 2017; MACCARRONE; GUZMÁN; MACKIE; DOHERTY et al., 2014).

A síntese de endocanabinoides se dá em resposta à ativação de receptores metabotrópicos específicos [receptor metabotrópico de glutamato (mGluR), receptor de dopamina (D2) e receptores muscarínicos], despolarização pós-sináptica pelo influxo de Ca^{2+} ou estimulação de aferentes excitatórios (LUCHICCHI; PISTIS, 2012). Conseqüentemente, os endocanabinoides são sintetizados a partir de ácidos graxos poli-insaturados (*polyunsaturated fatty acids*, PUFAs), especificamente o ácido araquidônico e precursores

lipídicos da membrana celular, sendo fosfatidiletanolamina para AEA e fosfatidilinositol para 2-AG (FREITAS; ISAAC; MALCHER-LOPES; DIAZ et al., 2018; PIOMELLI, 2003). Em geral, a via bioquímica para síntese de AEA mais bem compreendida é dependente de n-acil-fosfatidiletanolamina fosfolipase D (NAPE-PLD) (OKAMOTO; MORISHITA; TSUBOI; TONAI et al., 2004; PIOMELLI, 2003), enquanto o 2-AG é sintetizado por duas isoformas de diacilglicerol lipase (DAGL) – DAGL α e DAGL β (BISOGLNO; HOWELL; WILLIAMS; MINASSI et al., 2003). Outras vias alternativas foram identificadas e são catalisadas por diferentes enzimas (BLANKMAN; CRAVATT, 2013). A NAPE-PLD e a DAGL são enzimas sensíveis ao Ca²⁺ que age como estímulo fisiológico para síntese de endocanabinoides (BLANKMAN; CRAVATT, 2013). A Figura 1 ilustra as principais vias de síntese de AEA e 2-AG, bem como, as vias de degradação que serão descritas adiante.

Figura 1 - Representação esquemática simplificada das principais vias de síntese e degradação dos endocanabinoides, AEA e 2-AG.



Fonte: Figura adaptada de Riquelme-Sandoval et al. (2020) (RIQUELME-SANDOVAL; DE SÁ-FERREIRA; MIYAKOSHI; HEDIN-PEREIRA, 2020). A) A síntese de n-araquidoniletanolamida (AEA) inclui: primeiro, a formação de n-araquidonoil-fosfatidiletanolamina através da transferência de um grupo araquidonoil para fosfatidiletanolamina catalisada pela enzima n-aciltransferase; em segundo lugar, a clivagem de n-araquidonoil-fosfatidiletanolamina para produzir AEA, catalisada pela n-acil-fosfatidiletanolamina fosfolipase D (NAPE-PLD). A degradação de AEA em etanolamina e ácido araquidônico ocorrem principalmente pela hidrolase de amidas ácidos graxos (fatty acid amide hydrolase, FAAH). B) A síntese de 2-araquidonilglicerol (2-AG) é através da clivagem de fosfatidilinositol em diacilglicerol (DAG) pela fosfolipase C. O DAG, por sua vez, é convertido em 2-AG através da ação de uma das duas isoenzimas diacilglicerol lipase (DAGL), DAGL α e DAGL β . A degradação de 2-AG em glicerol e ácido araquidônico ocorrem principalmente através da monoacilglicerol lipase (MAGL).

A AEA e o 2-AG são sintetizados em neurônios pós-sinápticos e atuam retrogradamente ativando os receptores pré-sinápticos (PIOMELLI, 2003). Isso permite que os endocanabinoides modulem diretamente a liberação de neurotransmissores, incluindo glutamato, ácido gama aminobutírico (*gamma aminobutyric acid*, GABA), e possivelmente, dopamina, noradrenalina, acetilcolina e serotonina (RIQUELME-SANDOVAL; DE SÁ-FERREIRA; MIYAKOSHI; HEDIN-PEREIRA, 2020). A ativação retrógrada é particularmente importante no caso das sinapses glutamatérgicas e GABAérgicas, pois, está subjacente a formas de plasticidade sináptica, sendo considerado a base da maioria dos efeitos mediados pelos endocanabinoides através de CB1R (PIOMELLI, 2003).

Adicionalmente, os endocanabinoides ainda sinalizam de forma autócrina e parácrina, bem como, a AEA pode ser sintetizada pré-sinápticamente e, portanto, apresentar ação em receptores pós-sinápticos caracterizando uma função não-retrógrada (HASPULA; CLARK, 2020). Mas, a produção dessas moléculas de sinalização não se restringe aos neurônios e ao sistema nervoso central (SNC). Os endocanabinoides são produzidos em astrócitos, micróglia e células-tronco neurais / progenitoras e, em vários tecidos e tipos de células na periferia como músculo, células do sangue, coração, intestino, fígado, tecido adiposo e pâncreas (CARRERA; TOMBERLIN; KURTZ; KARAKAYA et al., 2020; HILLARD, 2018; ODDI; SCIPIONI; MACCARRONE, 2020).

Após a síntese, os endocanabinoides são liberados no espaço intracelular e o transporte através da membrana celular e no meio extracelular é importante para atuação nas células adjacentes e no processo de degradação. O movimento de entrada e saída através da membrana plasmática pode ser mediado por difusão passiva, transporte facilitado por meio de um transportador específico denominado transportador endocanabinoide de membrana (*endocannabinoid membrane transporter*, EMT), e endocitose mediada por proteínas específicas como caveolina e clatrina (FLETCHER-JONES; HILDICK; EVANS; NAKAMURA et al., 2020; FOWLER, 2013). No meio extracelular, o transporte de endocanabinoides pode ser facilitado por proteínas de ligação como as lipocalinas no cérebro e a albumina sérica na corrente sanguínea para atingir alvos celulares (PIOMELLI, 2003). Em seguida, a atividade biológica dos endocanabinoides é encerrada através da recaptação e degradação.

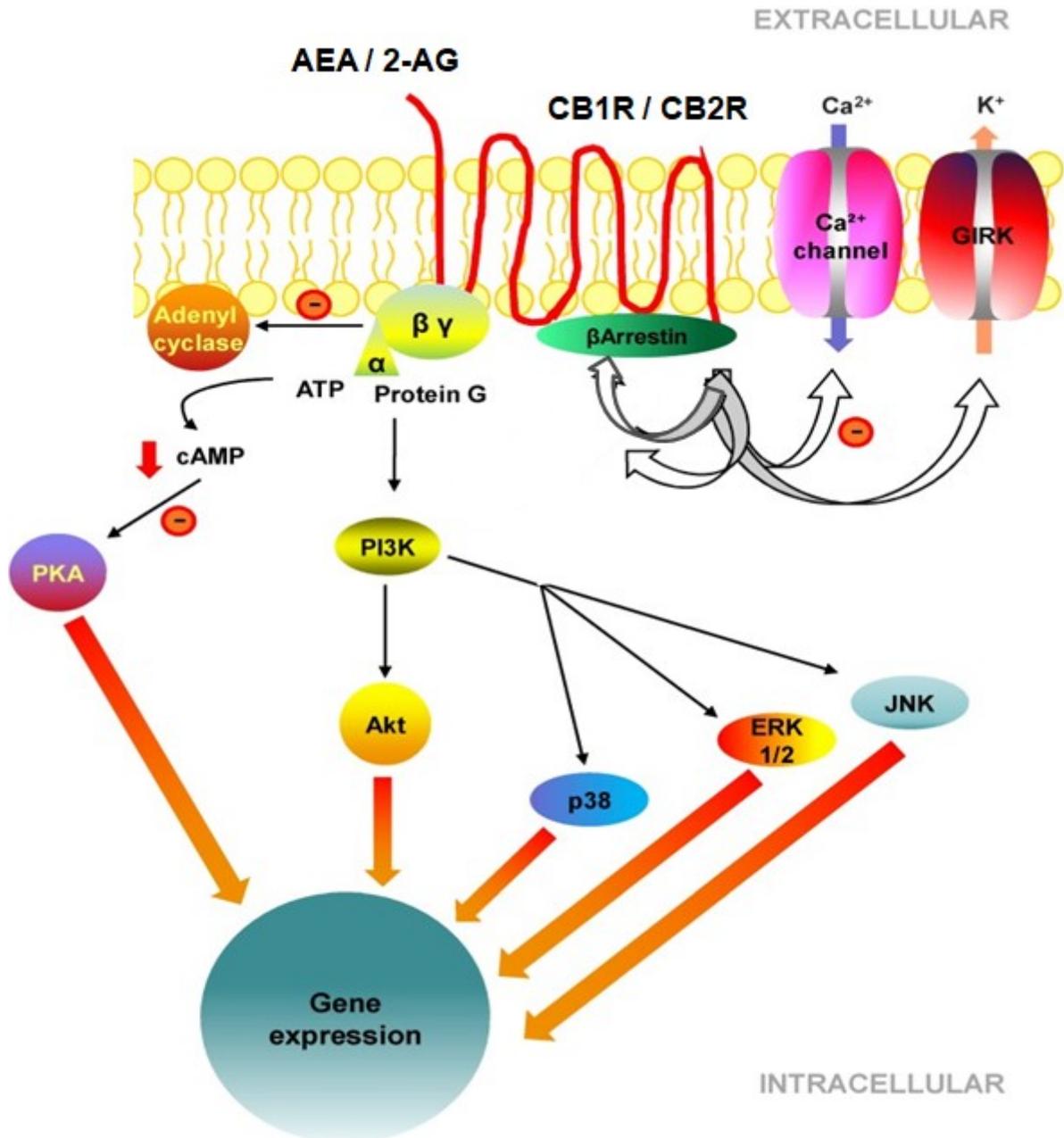
A degradação dos endocanabinoides envolve hidrólise e oxidação (MACCARRONE, 2017). A AEA é degradada pela hidrolase de amidas ácidos graxos (*fatty acid amide hydrolase*, FAAH) e amidase ácida de n-aciletanolamina (*n-acylethanolamine acid amidase*,

NAAA) em ácido araquidônico e etanolamina (MACCARRONE, 2017; PIOMELLI; SCALVINI; FOTIO; LODOLA et al., 2020). Para atingir a FAAH que normalmente está localizada no retículo endoplasmático, a AEA requer transporte intracelular por proteínas incluindo proteínas de ligação de ácidos graxos (*fatty acid-binding protein*, FABP) (KACZOCHA; GLASER; DEUTSCH, 2009). Por outro lado, o 2-AG é convertido em ácido araquidônico e glicerol pela monoacilglicerol lipase (MAGL), α/β -hidrolase domínio (*alpha/beta hydrolase domain*, ABHD) 6 e 12 e em algumas condições por FAAH (DI MARZO, 2018; DI SCALA; FANTINI; YAHY; BARRANTES et al., 2018). A MAGL é encontrada em níveis pré-sinápticos mais altos, enquanto a ABHD6 é encontrada principalmente em dendritos, sugerindo que estas enzimas têm funções particularmente distintas (LU; MACKIE, 2020). Várias outras enzimas podem estar envolvidas nestes processos. Por fim, a oxidação de AEA e 2-AG podem incluir a ação de lipoxigenases, ciclooxigenase-2 (COX-2) e citocromo P450 (MACCARRONE, 2017).

2.1.2 Vias de sinalização e alvos moleculares

Os endocanabinoides evocam vias de sinalização em paralelo e/ou sequencialmente, tanto em nível central quanto periférico, dependente estritamente do receptor envolvido, de fatores específicos do tecido e do tipo de célula (YE; CAO; WANG; ZHOU, 2019). Por exemplo, os endocanabinoides exibem o potencial de ativar receptores acoplados à proteína G Classe A (*G protein-coupled membrane receptor*, GPCR), CB1R e CB2R, preferencialmente subunidades inibitórias ($G_{\alpha i/o}$), um fenômeno denominado agonismo tendencioso ou seletividade funcional (HUA; LI; WU; ILIOPOULOS-TSOUTSOUVAS et al., 2020; LI; HUA; VEMURI; HO et al., 2019; YE; CAO; WANG; ZHOU, 2019). A ativação das vias associadas com $G_{\alpha i/o}$ resulta na inibição 1) da adenilato ciclase (AC), 2) do acúmulo de 3',5'-adenosina monofosfato cíclico (AMPC), 3) da proteína quinase A (PKA), 4) dos canais de Ca^{2+} do tipo L, P, Q e N e, eventualmente 4) na ativação dos canais de potássio retificador de entrada associado à proteínas G (*G protein-sensitive inward-rectifying potassium [channel]*, GIRK) (Figura 2) (PIOMELLI, 2003).

Figura 2 - Principais vias de sinalização celular modulada por CB1R e CB2R.



Fonte: Figura adaptada de Melgar-Lesmes et al. (2019) (MELGAR-LESME; PERRAMON; JIMÉNEZ, 2019). A ativação dos receptores canabinoídes acoplados principalmente à G i/o inibe a atividade da adenilil ciclase (AC), a formação de 3',5'-adenosina monofosfato cíclico (AMPC), a atividade da proteína quinase A (PKA). Também suprime o influxo de cálcio e induz canais de potássio retificador de entrada associado à proteínas G (*G protein-sensitive inward-rectifying potassium [channel]*, GIRK). Outras vias de segundo mensageiros jusante a ativação dos receptores canabinoídes são fosfatidilinosítideo-3-quinase (PI3K)/ proteína quinase B (Akt) que ativa várias proteínas quinases ativadas por mitógenos (*mitogen-activated protein kinase*, MAPK), incluindo p38, quinase regulada por sinal extracelular (*Extracellular signal-regulated kinase*, ERK) 1 e 2 e c-Jun N-terminal quinase (JNK). CB1R pode sinalizar de uma maneira independente de proteína G através da associação com outras moléculas como a β-arrestina que medeia vias de sinalização. As ações celulares dos endocanabinoídes inibem a liberação de neurotransmissores e alteram a expressão gênica.

A inibição da entrada de Ca²⁺ e hiperpolarização em função do aumento da condutividade de potássio resultam na inibição da liberação de neurotransmissores, um

importante papel fisiológico do sistema endocanabinoide (PIOMELLI, 2003). Em contraste com CB1R, o CB2R não modula os canais iônicos (TURCOTTE; BLANCHET; LAVIOLETTE; FLAMAND, 2016). Em algumas condições, os receptores canabinoides também podem acoplar com proteínas G s e G q e sinalizar através de β -arrestina, uma proteína que medeia dessensibilização e internalização contínua do receptor formando compartimentos endossômicos e lisossomais (FLETCHER-JONES; HILDICK; EVANS; NAKAMURA et al., 2020; HUA; LI; WU; ILIOPOULOS-TSOUTSOUVAS et al., 2020; ZOU; KUMAR, 2018). Além da modulação de neurotransmissores, a sinalização intracelular também altera a expressão gênica através da ativação das vias do fosfatidilinosítido-3-quinase (PI3K) e proteína quinase ativada por mitógenos (*mitogen-activated protein kinase*, MAPK) (RIQUELME-SANDOVAL; DE SÁ-FERREIRA; MIYAKOSHI; HEDIN-PEREIRA, 2020). A ativação de CB1R e CB2R da via PI3K / proteína quinase B (Akt) regula fatores de transcrição nuclear, como famílias MAPK [por exemplo, p38, quinase regulada por sinal extracelular (*extracellular signal-regulated kinase*, ERK) 1 e 2 e c-Jun N-terminal quinase (JNK)] (RIQUELME-SANDOVAL; DE SÁ-FERREIRA; MIYAKOSHI; HEDIN-PEREIRA, 2020). Estas vias desempenham importantes funções celulares como controle do ciclo celular, metabolismo e sobrevivência celular.

Os endocanabinoides tem capacidade de ligação aos receptores canabinoides com diferenças na afinidade e eficácia intrínseca, ou seja, a tendência de se ligar aos receptores e a ativação máxima de uma determinada via de sinalização (MACCARRONE, 2017). A AEA é um agonista parcial (de baixa eficácia) de alta afinidade para CB1R e um agonista de eficácia muito baixa para CB2R; o 2-AG atua como um agonista completo (de alta eficácia) em ambos os receptores canabinoides para CB1R e CB2R com afinidade moderada a baixa (LU; MACKIE, 2016). Essas características e a distribuição dos receptores auxiliam na compreensão dos potenciais efeitos dos endocanabinoides.

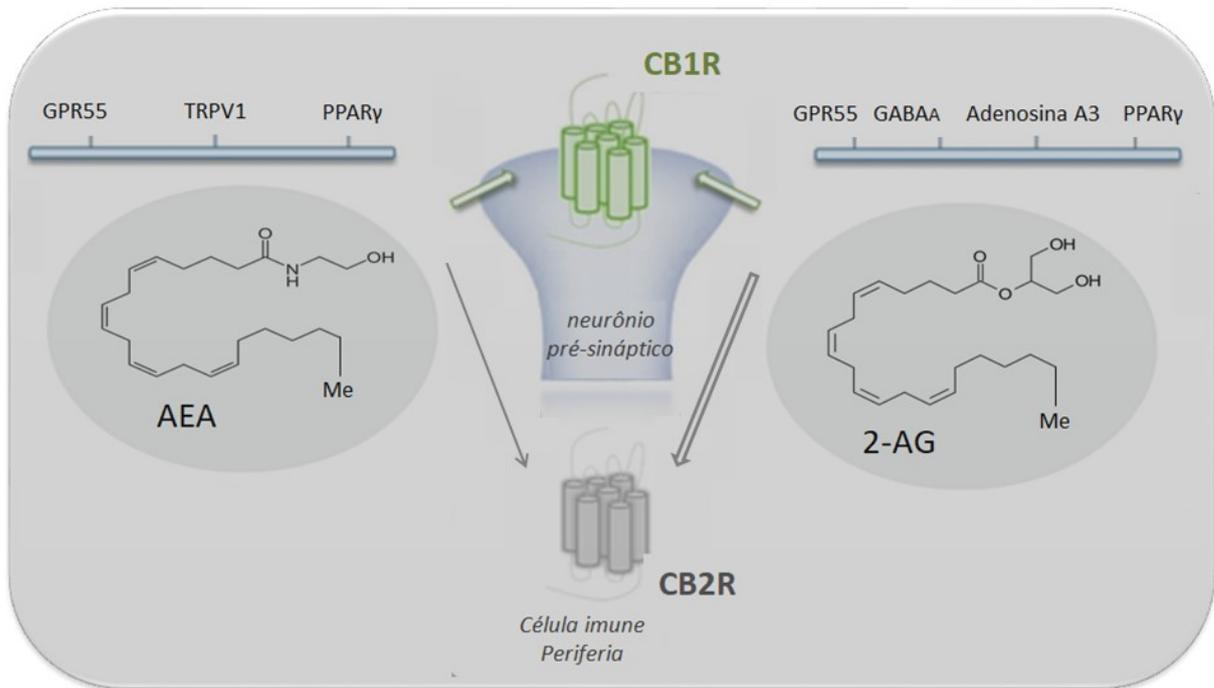
O CB1R é o GPCR mais abundante no SNC, com níveis mais altos de expressão no hipocampo, hipotálamo, córtex cerebral, gânglios da base e cerebelo (MACKIE, 2005). Em nível celular, os CB1R são altamente expressos em terminais pré-sinápticos, refletindo seu papel na inibição da liberação de neurotransmissores (MACKIE, 2005). No entanto, CB1R também é expresso em locais pós-sinápticos, na região do corpo neuronal e dendritos (somatodendrítica), bem como, em células da glia (ZOU; KUMAR, 2018). Da mesma forma que os endocanabinoides, os CB1R estão presentes em compartimentos subcelulares como nas mitocôndrias (ZOU; KUMAR, 2018). Nos CB1R mitocondriais, os endocanabinoides

atuam para recrutar fatores de transcrição nuclear implicando na alteração da expressão genica e também modulam a respiração celular mitocondrial regulando o metabolismo celular (ZOU; KUMAR, 2018). Além disso, os CB1R são expressos no sistema nervoso periférico em níveis mais baixos, principalmente em terminais nervosos simpáticos, músculo, glândula adrenal, medula óssea e fígado (ZOU; KUMAR, 2018). Curiosamente, a proporção de CB1R mitocondriais nos músculos é maior do que no cérebro.

CB2R é expresso principalmente em órgãos periféricos, tecidos e células do sistema imunológico, como amígdalas, baço, timo, macrófagos, linfócitos e monócitos circulantes; e é expresso em níveis funcionalmente relevantes no miocárdio, intestino, endotélio e músculo liso vascular (TURCOTTE; BLANCHET; LAVIOLETTE; FLAMAND, 2016). O CB2R também é distribuído no SNC, na micróglia, elementos vasculares no cérebro, e recentemente foi encontrado em neurônios (CARRERA; TOMBERLIN; KURTZ; KARAKAYA et al., 2020; QURAIISHI; PALADINI, 2016). No entanto, os CB2R são expressos principalmente em áreas neuronais somatodendríticas (pós-sinápticas), enquanto CB1R são predominantemente expressos em terminais neuronais pré-sinápticos, sugerindo um papel oposto de CB1R e CB2R na modulação de neurotransmissores (QURAIISHI; PALADINI, 2016).

Os endocanabinoides são considerados mediadores promíscuos devido à capacidade de interação com receptores não canônicos (DI MARZO, 2018). Estes alvos adicionais são altamente heterogêneos incluindo o receptor acoplado a proteína G 55 (*G protein-coupled receptor 55*, GPR55), receptor potencial transitório de vaniloide tipo-1 (*transient receptor potential vanilloid member 1*, TRPV1), receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama (*peroxisome proliferator-activated receptor gamma*, PPAR γ), o receptor GABA A e receptor de adenosina A3 (Figura 3) (LANE; BEUKERS; MULDER-KRIEGER; IJZERMAN, 2010; MARICHAL-CANCINO; FAJARDO-VALDEZ; RUIZ-CONTRERAS; MENDEZ-DÍAZ et al., 2017; O'SULLIVAN, 2016; ZYGMUNT; ERMUND; MOVAHED; ANDERSSON et al., 2013).

Figura 3 - Ligantes endocanabinoides e seus receptores canabinoides e não canônicos.



Fonte: Figura adaptada de Maramai e Brindisi (2020) (MARAMAI; BRINDISI, 2020). Além dos receptores canabinoides tipo 1 (CB1R) e tipo 2 (CB2R), a n-araquidoniletanolamida (AEA) se liga ao receptor acoplado a proteína G 55 (*G protein-coupled receptor 55*, GPR55), receptor potencial transitório de vaniloide tipo-1 (*transient receptor potential vanilloid member 1*, TRPV1), e receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama (*peroxisome proliferator-activated receptor gamma*, PPAR γ). Ao passo que, o e 2-araquidilglicerol (2-AG) pode ativar os receptores GPR55, o receptor GABA A, receptor de adenosina A3 e PPAR γ . As setas representam a interação de AEA e 2-AG com eficácia e afinidades diferentes aos receptores canabinoides. As setas verdes representam a alta afinidade de AEA e a alta eficácia de 2-AG por CB1R. A seta cinza vazada representa a alta eficácia de 2-AG por CB2R; e a seta sólida, representa a eficácia muito baixa de AEA em CB2R.

Além disso, o sistema endocanabinoide inclui congêneres da AEA e do 2-AG, que consiste em outros metabólitos derivados de ácidos graxos pertencentes às NAE, como n-palmitoil-, n-oleoil e n-linoleoil-etanolamina (PEA, OEA e LEA), e aos MAG, como 2-oleoil- e 2-linoleoil-glicerol (2-OG e 2-LG) (TOCZEK; MALINOWSKA, 2018). Estes compostos podem intensificar a ação dos endocanabinoides, chamado efeito entourage, reduzindo sua degradação (MACCARRONE, 2017; TOCZEK; MALINOWSKA, 2018). Além de compartilhar vias sintéticas, enzimas e, em parte os receptores canabinoides e não canônicos.

2.1.3 Moduladores alostéricos

Os endocanabinoides interagem com CB1R e CB2R em locais ortostéricos, porém outras moléculas podem afetar a ligação dos ligantes endógenos e a eficiência da ativação do receptor, sendo denominados moduladores alostéricos (YE; CAO; WANG; ZHOU, 2019). Os moduladores alostéricos dos receptores canabinoides incluem hemopressinas e peptídios

relacionados, que são produtos da α -hemoglobina, e alguns lipídeos previamente descobertos, como lipoxina A4 e pregnenolona (MORALES; GOYA; JAGEROVIC; HERNANDEZ-FOLGADO, 2016). Por exemplo, a hemopressina RVD (RVD-Hp) é um peptídeo de aminoácidos de 12 resíduos considerado o principal endocanabinoide de peptídeo, o mais abundante desses peptídeos no cérebro, também encontrado na periferia (HOFER; RALVENIUS; GACHET; FRITSCHY et al., 2015; PETRUCCI; CHICCA; GLASMACHER; PALOCZI et al., 2017). A RVD-Hp foi caracterizada como um agonista do receptor CB1 e, posteriormente, como um modulador alostérico negativo do CB1R e positivo do CB2R (PETRUCCI; CHICCA; GLASMACHER; PALOCZI et al., 2017). Outras moléculas endógenas são a lipoxina A4 que é um derivado do ácido araquidônico conhecido como modulador alostérico positivo do CB1R e a pregnenolona, um hormônio identificado como modulador alostérico negativo do CB1R (PAMPLONA; FERREIRA; MENEZES DE LIMA; DUARTE et al., 2012; YE; CAO; WANG; ZHOU, 2019).

2.2 ENDOCANABINOIDES CIRCULANTES E EXERCÍCIO

Os ligantes endocanabinoides são encontrados na circulação sanguínea, provenientes de células circulantes, órgãos e tecidos, incluindo cérebro, músculo e tecido adiposo (HILLARD, 2018). As concentrações séricas de AEA e 2-AG variam em indivíduos saudáveis no repouso. A maioria dos estudos relataram concentrações médias entre 1 e 5 nM de AEA e 1-400 nM de 2-AG, sendo maiores no soro do que no plasma (HILLARD; WEINLANDER; STUHR, 2012). Estas variações podem ser explicadas pelas diferenças metodológicas entre os estudos (SCHONKE; MARTINEZ-TELLEZ; RENSEN, 2020). Por exemplo, o tempo entre a coleta de sangue e a separação do plasma ou soro, pode determinar o conteúdo de endocanabinoides, dado que as próprias células sanguíneas podem degradar os endocanabinoides (SCHONKE; MARTINEZ-TELLEZ; RENSEN, 2020). A Figura 4 ilustra alguns fatores que colaboram para o aumento de endocanabinoides na circulação sanguínea incluindo o estresse, a inflamação e o exercício/ atividade física.

Figura 4 - Esquema representando os estímulos e fontes potenciais de endocanabinoides presentes na circulação.



Fonte: Figura adaptada de Hillard (2018) (HILLARD, 2018).

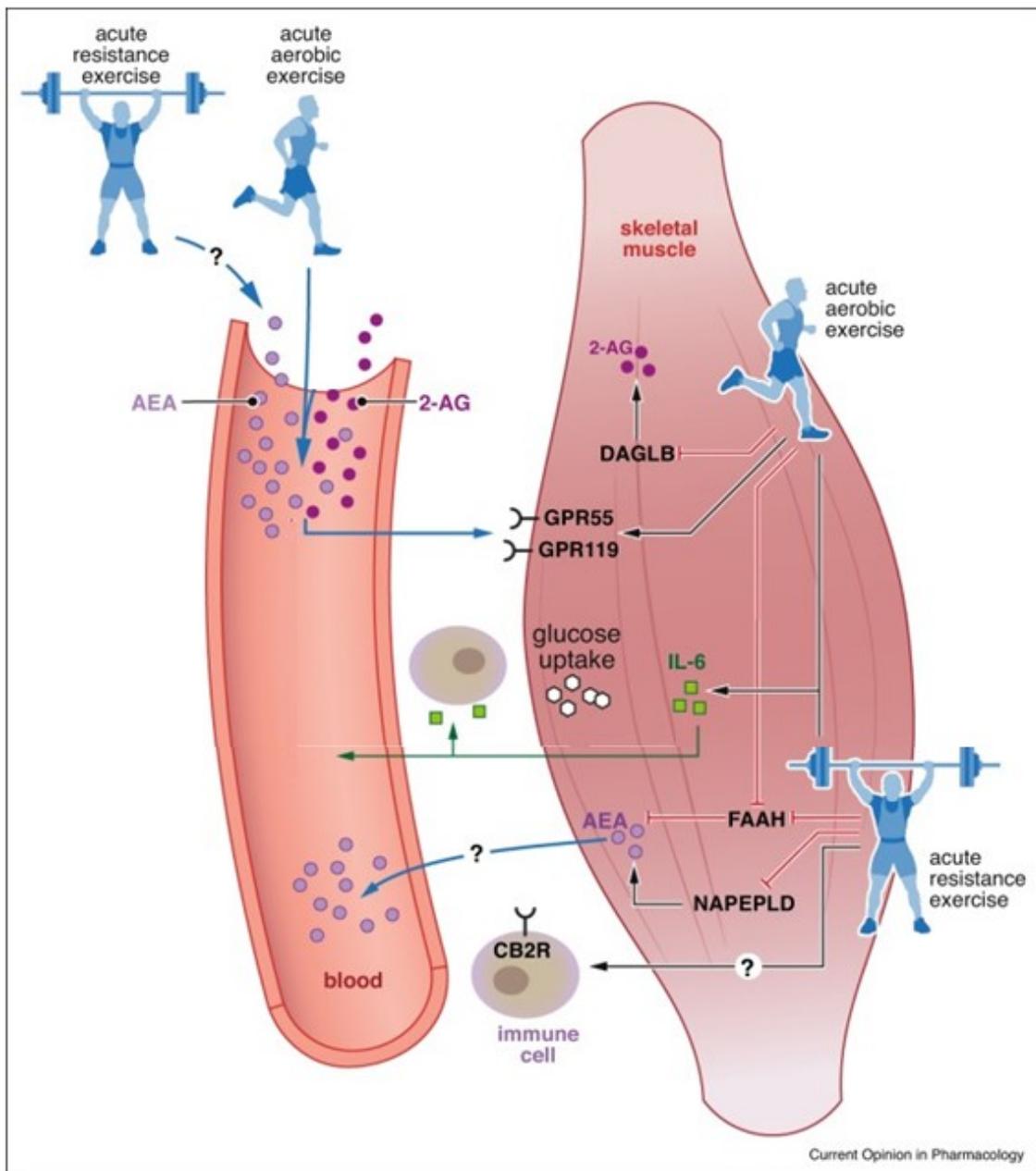
No cenário do exercício/ atividade física, algumas particularidades são consideradas fundamentais para contextualizar a ligação ao sistema endocanabinoide, especialmente aos níveis de endocanabinoides circulantes. A Organização Mundial da Saúde (2018) define atividade física como "movimentos produzidos por músculos esqueléticos que requerem gasto de energia" (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018). O exercício é definido como uma atividade física planejada, estruturada e regular com o objetivo de melhorar ou manter a aptidão física (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018). Uma visão geral do metabolismo do exercício compreende que a intensidade e duração são fatores importantes que determinam as vias metabólicas e processos celulares para fornecer energia e sustentar a contração muscular (HARGREAVES; SPRIET, 2020). Resumidamente, o protocolo de exercício pode ativar vias de fosforilação oxidativa (ou aeróbica) e fosforilação em nível de substrato (ou anaeróbica), distinguindo-se em: 1) exercício aeróbico de intensidades baixas e moderadas (~50-70% do volume de oxigênio máximo, $VO_{2m\acute{a}x}$) que utilizam predominantemente ácidos graxos como fonte de energia, criticamente dependente dos sistemas respiratório e cardiovascular, normalmente de longa duração; e 2) exercício intenso (80-100% do $VO_{2m\acute{a}x}$) de curta duração que utilizam o glicogênio muscular e a degradação da fosfocreatina como principais combustíveis (HARGREAVES; SPRIET, 2020). O exercício

ainda pode ser definido como exercício agudo compreendendo uma única sessão de exercício (as respostas a essa sessão são denominadas respostas agudas) ou, repetidas sessões de exercício, como no treinamento físico regular que ocorrem as adaptações crônicas ou efeitos do treinamento (HAWLEY; HARGREAVES; JOYNER; ZIERATH, 2014). No caso do exercício agudo, as vias bioquímicas subjacentes às respostas agudas são amplamente discutidas, e a ativação do sistema endocanabinoide tem sido um foco crescente nas pesquisas para explicar os benefícios terapêuticos.

Nesta perspectiva, as moléculas liberadas pelo exercício incluindo os endocanabinoides, são importantes mecanismos pelos quais o músculo, se comunica com outros tecidos e órgãos, mediando os efeitos benéficos do exercício sobre saúde e desempenho (HAWLEY; HARGREAVES; JOYNER; ZIERATH, 2014). As novas abordagens de estudo das ciências ômicas como a transcriptômica (conjunto total de ácidos ribonucleicos transcritos, do inglês *ribonucleic acid*, RNA) tem sido usado para fornecer novos *insights* sobre os endocanabinoides e a regulação molecular das adaptações agudas do exercício (HARGREAVES; SPRIET, 2020).

O exercício aeróbico agudo tem sido proposto para regular a síntese de endocanabinoides, geralmente resultando no incremento de AEA e 2-AG na circulação sanguínea (SCHONKE; MARTINEZ-TELLEZ; RENSEN, 2020). Durante e imediatamente após o exercício, o músculo esquelético é considerado a principal fonte para mobilização desses compostos (HILLARD, 2018). Recentemente, uma análise transcriptômica do músculo demonstrou que o exercício agudo pode elevar os níveis de endocanabinoides através da modulação da expressão gênica dos componentes do sistema endocanabinoide (Figura 5) (SCHONKE; MARTINEZ-TELLEZ; RENSEN, 2020). Por exemplo, a expressão gênica de FAAH, enzima envolvida na degradação de AEA, é regulada para baixo em resposta a intervenções agudas de exercício apoiando o aumento de endocanabinoides circulantes (SCHONKE; MARTINEZ-TELLEZ; RENSEN, 2020). Neste contexto, um dos alvos desses endocanabinoides é o próprio músculo para produzir respostas metabólicas positivas incluindo aumento da captação de glicose, melhora da ação da insulina e biogênese mitocondrial (HEYMAN; GAMELIN; AUCOUTURIER; DI MARZO, 2012b); embora haja controvérsias (JOURDAN; GODLEWSKI; KUNOS, 2016). Funcionalmente, essas respostas melhoram o desempenho e a capacidade de exercício.

Figura 5 - O papel dos endocanabinoides na resposta do músculo esquelético ao exercício.



Fonte: Figura adaptada de Schönke, Martinez-Tellez e Rensen (2020) (SCHONKE; MARTINEZ-TELLEZ; RENSEN, 2020). O exercício agudo aumenta n-araquidoniletanolamida (AEA) e 2-araquidonilglicerol (2-AG) no sangue. A expressão dos receptores acoplados a proteína G (*G protein-coupled receptor*, GPR) 55 e 119, e do receptor canabinoide tipo 2 (CB2R) é aumentada enquanto a expressão das enzimas diacilglicerol lipase β (DAGL β), n-acil-fosfatidiletanolamina fosfolipase D (NAPE-PLD) e hidrolase de amidas ácidos graxos (*fatty acid amide hydrolase*, FAAH) são reguladas negativamente. Dessa forma, o músculo esquelético pode contribuir para o acúmulo de endocanabinoides circulantes.

Além disso, a expressão de CB2R é modificada agudamente pelo exercício intermediando a ação dos endocanabinoides (SCHONKE; MARTINEZ-TELLEZ; RENSEN, 2020). O CB2R é expresso principalmente em células do sistema imunológico, o aumento da expressão induzido pelo exercício agudo reflete o aumento do influxo de células inflamatórias no músculo (SCHONKE; MARTINEZ-TELLEZ; RENSEN, 2020). Conseqüentemente, a

ação dos endocanabinoides se baseia na regulação da ativação e migração de células imunes, e citocinas relacionadas ao exercício e à regeneração. Dessa forma, o efeito dos endocanabinoides circulantes favorece a resposta imune do músculo e reparação de danos musculares causados pela adaptação fisiológica ao estímulo (SCHONKE; MARTINEZ-TELLEZ; RENSEN, 2020). É interessante notar que, a expressão da DAGL β e NAPE-PLD, enzimas envolvidas na síntese de endocanabinoides, é regulada negativamente sugerindo um mecanismo de equilíbrio para o tônus endocanabinoide (SCHONKE; MARTINEZ-TELLEZ; RENSEN, 2020).

Os endocanabinoides circulantes são compostos lipofílicos que podem cruzar a barreira hemato-encefálica facilmente contribuindo para interações cérebro- exercício (HIND; TUFARELLI; NEOPHYTOU; ANDERSON et al., 2015). Especificamente, o exercício de longa duração é frequentemente motivado por recompensas neurobiológicas para condicionar o aprimoramento da aptidão. Comumente essas recompensas são chamadas de “barato do corredor” o qual está relacionado aos efeitos centrais dos endocanabinoides circulantes como sinal hedônico no sistema de recompensa do cérebro, conhecido por incentivar o exercício aeróbico habitual (ANTUNES, H. K. M.; LEITE, G. S. F.; LEE, K. S.; BARRETO, A. T. et al., 2016; RAICHLEN; FOSTER; GERDEMAN; SEILLIER et al., 2012; SIEBERS; BIEDERMANN; BINDILA; LUTZ et al., 2021). É um fenômeno caracterizado por euforia, ansiedade reduzida, hipoalgesia e sedação (SIEBERS; BIEDERMANN; BINDILA; LUTZ et al., 2021). Em relação aos efeitos analgésicos, destaca-se o envolvimento do 2-AG nos processos modulatórios da dor na hipoalgesia induzida por exercício, descrito quando um estímulo nocivo é percebido como menos doloroso após uma sessão de exercício (CROMBIE; BRELLENTHIN; HILLARD; KOLTYN, 2018a). Surpreendentemente, os corredores de longa distância também apresentam diminuição da temperatura corporal pós-corrida, um dos constituintes da tétrede canabinoide (hipolocomoção, catalepsia, analgesia e hipotermia), sobretudo investigada em estudos pré-clínicos (HICKS; JACOB; PEREZ; BAFFUTO et al., 2019). Sugere-se que este efeito pode ser atribuído à atuação central dos endocanabinoides circulantes na região do hipotálamo, um tema pouco explorado e importante para compreensão do papel dos endocanabinoides nos mecanismos fisiológicos da termorregulação induzida pelo exercício (HICKS; JACOB; PEREZ; BAFFUTO et al., 2019). O aumento nos níveis de endocanabinoides durante o exercício também pode ser um elemento-chave no incremento de, BDNF, mediando benefícios na cognição, como na neurogênese e plasticidade sináptica e nos efeitos antidepressivos (HEYMAN; GAMELIN; GOEKINT; PISCITELLI et

al., 2012). Visto que, os níveis de endocanabinoides circulantes estão relacionados à suas concentrações no cérebro, sugere-se um novo papel como biomarcadores do tônus endocanabinoide do SNC medido periféricamente (DIETRICH; MCDANIEL, 2004; HILLARD; WEINLANDER; STUHR, 2012). Em resumo, estes são os efeitos da modulação dos endocanabinoides circulantes na periferia e no cérebro induzidos pelo exercício agudo.

Contudo, também foi relatado que o exercício agudo aumentou exclusivamente as concentrações séricas de 2-AG, à medida que AEA permaneceu inalterada (CEDERNAES; FANELLI; FAZZINI; PAGOTTO et al., 2016). Este aumento pode estar relacionado ao ritmo circadiano, em virtude do aumento de 2-AG ao longo da manhã, com pico no início da tarde (HANLON; TASALI; LEPROULT; STUHR et al., 2015). O oposto foi demonstrado em outro estudo, o exercício agudo resultou em níveis aumentados de AEA no sangue, enquanto as concentrações séricas de 2-AG tiveram apenas uma tendência de aumentou, mas não alcançaram significância estatística (SPARLING; GIUFFRIDA; PIOMELLI; ROSSKOPF et al., 2003).

Portanto, investigamos o efeito agudo do exercício nos níveis circulantes de endocanabinoides em humanos saudáveis e descrevemos as principais características dos protocolos empregados nos estudos individuais.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Esta revisão segue a declaração dos itens de relatório preferidos para revisões sistemáticas e meta-análises (*Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyse*, PRISMA) (PAGE; MCKENZIE; BOSSUYT; BOUTRON et al., 2021) e o manual da Cochrane para intervenções sistemáticas (*Cochrane Handbook for Systematic of Interventions*, Versão 6, 2019) (HIGGINS; THOMAS; CHANDLER; CUMPSTON; LI; PAGE; WELCH, 2019). A lista de verificação do PRISMA pode ser encontrada no Anexo A. O protocolo foi registrado no registro prospectivo internacional de revisões sistemáticas em andamento (*International Prospective Register of Ongoing Systematic Reviews*, PROSPERO) (número de registro: CRD42020202886) e submetido para publicação como parte dos resultados desta dissertação (Apêndice A).

3.1 CRITÉRIO DE ELEGIBILIDADE

Os critérios de elegibilidade foram delineados para uma avaliação mais ampla de múltiplas intervenções com o objetivo de ser útil para os usuários finais, pois a tomada de decisão envolve a seleção de uma série de opções de intervenção. Sobretudo, considerando a aplicabilidade da análise das pesquisas primárias e das intervenções revisadas. Segue os critérios de elegibilidade conforme a população, intervenção, comparação, resultados e tipo de estudo (*Population-Intervention-Comparison-Outcomes-Study*, PICOS):

3.1.1 População

Foram incluídos estudos com humanos saudáveis, adultos maiores de 18 anos, treinados ou não (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018). Inclusive, indivíduos submetidos à medicação placebo ou pertencentes a grupos controle de estudos intervencionistas sobre doenças / fatores de risco, uma vez que tanto o grupo placebo quanto o controle podem ser considerados semelhantes o suficiente para serem combinados para síntese (MCKENZIE; BRENNAN; RYAN; THOMSON; JOHNSTON; THOMAS, 2020). Indivíduos expostos a testes prévios no desenho experimental foram incluídos apenas se a condição não interferiu no resultado de interesse. Nenhuma restrição de gênero ou etnia foi aplicada.

Quando mais de um estudo forneceu dados da mesma amostra, consideramos apenas o estudo que apresentou os resultados mais detalhados quanto à sua elegibilidade.

Os estudos realizados com sujeitos não saudáveis ou com fatores que podem interferir na confiabilidade dos resultados, como o uso de substâncias psicotrópicas nos últimos sete dias (por exemplo, canabinoides fitoterápicos / sintéticos, cocaína, meta-anfetamina, ecstasy e outros) e a ausência de orientações relevantes antes do dia do teste e / ou intervenção sobre alimentação e exercícios foram excluídos.

3.1.2 Intervenção

Foi incluído qualquer intervenção, atividade física ou exercício agudo (incluindo uma única sessão), independentemente do seu tipo [aeróbico (prolongado ou de longa duração), resistência muscular (curta duração)], modalidade (caminhada, corrida, ciclismo, pesos livres), duração (semana, meses), frequência (dias / semana), duração da sessão (minutos), número de sessões, métodos de prescrição ou intensidade [lactato, porcentagens da frequência cardíaca de pico (FC de pico), FC de reserva (Karvonen), limiares ventilatórios no teste cardiopulmonar, potência (Watt, W) e uma repetição máxima (1RM), sensação subjetiva de esforço (Borg), outros] (REGNAUX; LEFEVRE-COLAU; TRINQUART; NGUYEN et al., 2015).

Não foram impostas restrições quanto à supervisão (presencial ou não), ao local da intervenção (clínica / posto de saúde, hospital, universidade, outros), ao tipo de atuação (individual, grupal) ou à especialização dos profissionais que prestaram a atividade física ou exercício (fisioterapeuta, instrutor de exercício, cientista do exercício, outros).

As intervenções que apresentaram recursos combinados (por exemplo, estratégias de mudança de estilo de vida, como educação em saúde ou dieta / suplementação nutricional) foram excluídas.

3.1.3 Comparação

Foram incluídas as condições de controle, contemplando um grupo controle formado por indivíduos que não participaram de nenhuma forma de intervenção, ou foi identificado uma das intervenções do estudo como experimental (por conveniência) e tratado a outra como comparador (comparação de duas intervenções concorrentes). Ainda, o resultado basal foi

considerado controle em comparações dos resultados obtidos entre a linha de base e imediatamente após o período de intervenção ou recuperação. As condições de controle que não foram relatadas ou não puderam ser calculadas foram excluídas.

3.1.4 Resultados

Os estudos que avaliaram os níveis circulantes de endocanabinoides (AEA e 2-AG), antes e imediatamente após o término da intervenção, foram incluídos, sem restrição a desfechos primários ou secundários. Essas medidas são consideradas uma resposta fisiológica ou efeito agudo da atividade física ou exercício. Estudos com medições de endocanabinoides salivares ou outros ligantes endógenos foram excluídos.

3.1.5 Tipo de estudo

Foram incluídos estudos experimentais (ensaios clínicos randomizados controlados (ECR) ou não controlados) ou quase experimentais e excluídos, estudos observacionais e revisões sistemáticas. Os estudos quase experimentais e não randomizados foram incluídos para fornecer evidências adicionais às disponíveis nos ensaios experimentais, visto que são essenciais para muitas áreas da avaliação da saúde (STERNE; HERNÁN; REEVES; SAVOVIĆ et al., 2016).

3.2 ESTRATÉGIA DE PESQUISA

Uma pesquisa abrangente foi realizada nas seguintes bases de dados eletrônica: *US National Library of Medicine* (PubMed), EMBASE, Web of Science, *Cumulative Index to Nursing and Allied Health Literature* (CINAHL), SPORTDiscus e Scopus, sem limitações de idioma e publicado até março 2021. As buscas foram realizadas novamente antes da análise final. As pesquisas de estudos não publicados (literatura cinza) foram conduzidas usando OPEN GREY, Biblioteca Digital em Rede de Teses e Dissertações e ProQuest para identificar qualquer informação adicional. As listas de referência dos estudos incluídos e revisões relevantes também foram analisadas manualmente, e especialistas no assunto também foram identificados e consultados para identificar potenciais estudos adicionais não incluídos nas pesquisas iniciais. A estratégia de pesquisa incluiu diferentes combinações com base em

termos de cabeçalhos de assuntos médicos (*Medical Subject Headings*, MeSH) e palavras de texto livre e operadores booleanos para garantir a captura máxima de artigos, incluindo: "exercise", "exercise, physical", "exercise training", "physical activity", "endocannabinoids", "2-arachidonoyl-glycerol", "glyceryl 2-arachidonate", "2-AG", "anandamide", "AEA", "n-arachidonylethanolamide", "adult", "young adult" e "middle aged". As estratégias de busca preliminar foram desenvolvidas e testadas em um piloto, adaptado de acordo com cada base de dados (Apêndice C). A descrição da estratégia de busca inclui todas as modificações planejadas para os termos de indexação e palavras de texto livre que podem variar entre os bancos de dados. Uma bibliotecária documental (DMRP) corrigiu e implementou a estratégia de pesquisa e auxiliou nas ferramentas de seleção e avaliação dos estudos mencionados abaixo.

3.3 SELEÇÃO DE ESTUDOS

Os estudos identificados foram importados para o software de gerenciamento de referência (EndNote Web) e os registros duplicados foram excluídos. Os títulos e resumos foram avaliados e rotulados como concordâncias / discordâncias em uma plataforma específica para autores de revisões sistemáticas (Rayyan) (OUZZANI; HAMMADY; FEDOROWICZ; ELMAGARMID, 2016). Este processo de seleção de estudos foi realizado de forma independente com cegamento por dois revisores (VB e GP) familiarizados com o tema de interesse para identificar estudos elegíveis. Não houve cegamento para autores, instituições ou periódicos dos artigos revisados durante a seleção dos estudos. Os resumos que não forneceram informações suficientes sobre os critérios de elegibilidade foram selecionados para uma avaliação mais detalhada por meio da leitura do texto completo do artigo. Os revisores, então, examinaram os artigos a serem incluídos de forma pareada, independente e cega, no formato original em texto completo e disponível na íntegra em cada base de dados. Nesta fase, os estudos considerados não relevantes (de acordo com os critérios de elegibilidade listados acima) foram excluídos, e registramos o motivo correspondente no fluxograma de seleção dos artigos. Eventuais inconsistências entre os revisores quanto à seleção foram resolvidas por um terceiro pesquisador (ASAJr) que decidiu. O processo de seleção dos estudos elegíveis apresentados no fluxograma PRISMA (Figura 6) fornece uma ideia sobre o escopo da estratégia de busca e aumenta a validade interna da revisão.

3.4 EXTRAÇÃO DE DADOS

Um formulário de extração de dados elaborado no Microsoft Excel foi especificamente desenvolvido para esta revisão (Tabela 1). Os dados extraídos foram preenchidos por dois revisores de forma independente com cegamento, incluindo detalhes sobre a publicação, desenho do estudo, características da população / intervenção e os resultados. Após a leitura dos artigos incluídos, foram extraídos dados adicionais quando considerados essenciais para a interpretação e aplicabilidade dos resultados; por exemplo, os métodos usados para analisar os endocanabinoides.

Tabela 1 - Formulário de extração de dados dos estudos incluídos na revisão sistemática e meta-análise.

Detalhes publicação	Título, primeiro autor, país de investigação, ano publicação, periódico, linguagem publicada.
Design do estudo Grupo/Intervenção analisado	Estudos experimentais ou quase experimentais Grupo controle de estudos intervencionistas de doenças ou fatores de risco/grupo intervenção.
Características população	<ul style="list-style-type: none"> • Fonte, tamanho amostral, critério elegibilidade, orientações pré-teste, sexo (%), idade [anos, média e desvio padrão (total amostral e/ou por grupo)], índice de massa corporal (IMC, kg/m²). • Nível de atividade física (treinado/não treinado), condição de saúde.
Mensuração Endocanabinoide	<ul style="list-style-type: none"> • Endocanabinoide, unidade de medida, parte do sangue (plasma/soro), estado alimentado ou jejum. • Tempo coleta de sangue pós-exercício (min) e técnica extração e quantificação 2-AG e AEA.
Características intervenção e Desenho experimental	<ul style="list-style-type: none"> • Número de participantes em cada grupo, tipo de intervenção (aeróbico, resistência muscular), modalidade/ equipamento utilizado intervenção/ Método para determinar intensidade. • Protocolo [método de prescrição e intensidade (lactato, % frequência cardíaca de pico (FC de pico), FC de reserva (Karvonen), limiares ventilatórios no teste cardiopulmonar, potência (Watt) e uma repetição máxima (1RM), sensação subjetiva de esforço (Borg), outros), duração sessão (min), número de sessões experimentais, intervalo entre as sessões/período <i>wash-out</i>].
Comparador	Repouso, intervenção concorrente ou linha de base.
Resultados	Níveis circulantes endocanabinoides Dados resumidos para cada grupo, diferença entre os grupos e/ou basal e pós-intervenção (média e desvio padrão, valores de <i>P</i> , intervalo interquartil, erro padrão, intervalo de confiança).

Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Em caso de falta de dados, os autores dos estudos foram contatados por e-mail. Quando nenhuma resposta foi recebida, o estudo foi excluído.

3.5 AVALIAÇÃO DE RISCO DE VIÉS

Os ensaios clínicos randomizados foram avaliados usando a ferramenta da Cochrane de avaliação de risco de viés para estudos randomizados (*Revised Cochrane risk of bias tool for randomized trials*, RoB 2), versão para estudos paralelos e *crossover*, conforme o delineamento do estudo (STERNE; SAVOVIĆ; PAGE; ELBERS et al., 2019). Esta ferramenta avalia o risco de viés dos estudos para cada desfecho de interesse e abrange os seguintes domínios: processo de randomização, desvios das intervenções pretendidas, dados de resultados ausentes, mensuração do resultado, seleção do resultado relatado e viés geral. Cada domínio integra uma série de perguntas de sinalização que visam obter informações sobre as características do estudo que são relevantes para o risco de viés. Os julgamentos podem ser baixo risco, algumas preocupações ou alto risco de viés. Após, o julgamento decorrente de cada domínio, há geração de um algoritmo geral para o desfecho avaliado (baixo risco, algumas preocupações ou alto risco de viés). Para o desenvolvimento das figuras da avaliação do risco de viés, foi usada a ferramenta do Excel para implementar o RoB2.

Os estudos clínicos não controlados foram avaliados pela ferramenta crítica para série de casos do Joanna Briggs Institute (*critical appraisal checklist for case series the Joanna Briggs Institute*, JBI), uma organização semelhante à Cochrane de pesquisa em saúde baseada em evidência (MOOLA; MUNN; TUFANARU; AROMATARIS; SEARS; SFETCU; CURRIE; LISY; QURESHI; MATTIS; MU, 2020). Na ferramenta, o estudo de série de casos é definido por um estudo que faz observações em uma série de indivíduos, geralmente todos recebendo a mesma intervenção, sem grupo controle. Os itens da ferramenta estão relacionados ao risco de viés, garantia de relatórios e análises estatísticas adequadas. Uma resposta “não” a qualquer uma das questões reflete negativamente a qualidade geral do estudo, sendo desaconselhadas pontuações de corte para avaliação, e os próprios revisores tomam a decisão de incluir o estudo (MUNN; BARKER; MOOLA; TUFANARU et al., 2020). Assim como recomendado, os resultados da avaliação crítica para todas as questões foram apresentados por meio de uma tabela, em vez de resumir com uma pontuação.

A ferramenta de risco de viés em estudos de intervenção não randomizados (*Risk Of Bias In Nonrandomized Studies of Interventions*, ROBINS-I) foi utilizada para avaliar o risco de viés em estudos não randomizados/ quase experimentais (STERNE; HERNÁN; REEVES; SAVOVIĆ et al., 2016). Os domínios compreendem questões antes do início das intervenções, classificação das próprias intervenções e problemas pós-intervenção, entre eles: confusão, seleção dos participantes do estudo, classificação das intervenções, desvios das intervenções pretendidas, dados faltantes, medição dos resultados e seleção do resultado relatado. Sendo classificado como sem informação, baixo risco, moderado, grave ou crítico para um entendimento completo dos pontos fortes e fracos das evidências. As possíveis fontes de heterogeneidade foram estendidas para complementar o conceito de confundidores da ferramenta ROBINS-I como fatores prognósticos que predizem se um indivíduo recebe uma ou outra intervenção de interesse. Deste modo, a consideração preliminar de confundidores dos estudos em geral e suas variáveis medidas são: tamanho amostral (cálculo amostral), sexo (homem/mulher), idade (anos de idade), princípio de sobrecarga (intensidade, volume), nível de atividade física (questionário, acelerômetro, autorelatado) e outros adicionais. As co-intervenções da ferramenta ROBINS-I foram definidas como recursos combinados descritos nos critérios de elegibilidade, entre eles: qualquer modificação no consumo de alimentos e uso de medicamentos; e prática de atividade física ou exercício excessivo 24h antes do teste/intervenção. Os testes realizados previamente ou após o exercício não foram considerados co-intervenção, uma vez que não influenciaram na intervenção de interesse, não diferiram em sua implementação, gestão, adesão, comportamento ou desfechos do estudo. O robvi, um aplicativo da web da colaboração Cochrane, foi usado para projetar as figuras de acordo com a ferramenta de avaliação de risco de viés ROBINS-I (MCGUINNESS; HIGGINS, 2020).

No RoB2 e ROBINS-I, o efeito da intervenção de interesse quantificado em cada estudo foi sobre a atribuição à intervenção na linha de base também referido como o efeito de “intenção de tratar”.

A avaliação do risco de viés foi realizada por dois avaliadores independentemente, e quaisquer diferenças foram resolvidas por discussão e consenso.

3.6 SÍNTESE E ANÁLISE DE DADOS

Os estudos incluídos foram estratificados por tipo de intervenção e organizados por ordem alfabética. O nível de concordância entre os dois autores na etapa de seleção dos estudos foi mensurado pelo teste de concordância Kappa (k) no *Statistical Package for the Social Sciences*, IBM SPSS Statistics versão 28.0.0.0 (190). Quando mais próximo de 1 o teste k, maior é o indicativo de que existe uma concordância entre os revisores. Os estudos incluídos foram resumidos em uma tabela *Ad Hoc* para comparação e assistência na interpretação crítica. Sempre que possível, usamos os resultados de uma análise por intenção de tratamento.

A partir da homogeneidade entre os estudos, os dados foram analisados por meta-análise considerando uma significância estatística de $p < 0,05$ e o método de efeitos aleatórios. As estimativas do efeito combinado estão apresentadas como uma diferença ponderada das médias e um intervalo de confiança (IC) de 95%. A heterogeneidade estatística dos estudos foi avaliada por meio do teste Q de Cochran e do teste de inconsistência (I^2) em que valores acima de 50% e 75% foram considerados indicativos de heterogeneidade intermediária e alta, respectivamente. Análises de sensibilidade foram realizadas considerando a heterogeneidade estatística e as peculiaridades em relação às intervenções dos estudos incluídos, como intensidade, nível e tipo de atividade física. O viés de publicação não foi avaliado, pois as meta-análises não incluíram o mínimo de 10 estudos. Todos os estudos das meta-análises foram analisados utilizando o software estatístico RStudio Desktop version 1.4.1106.

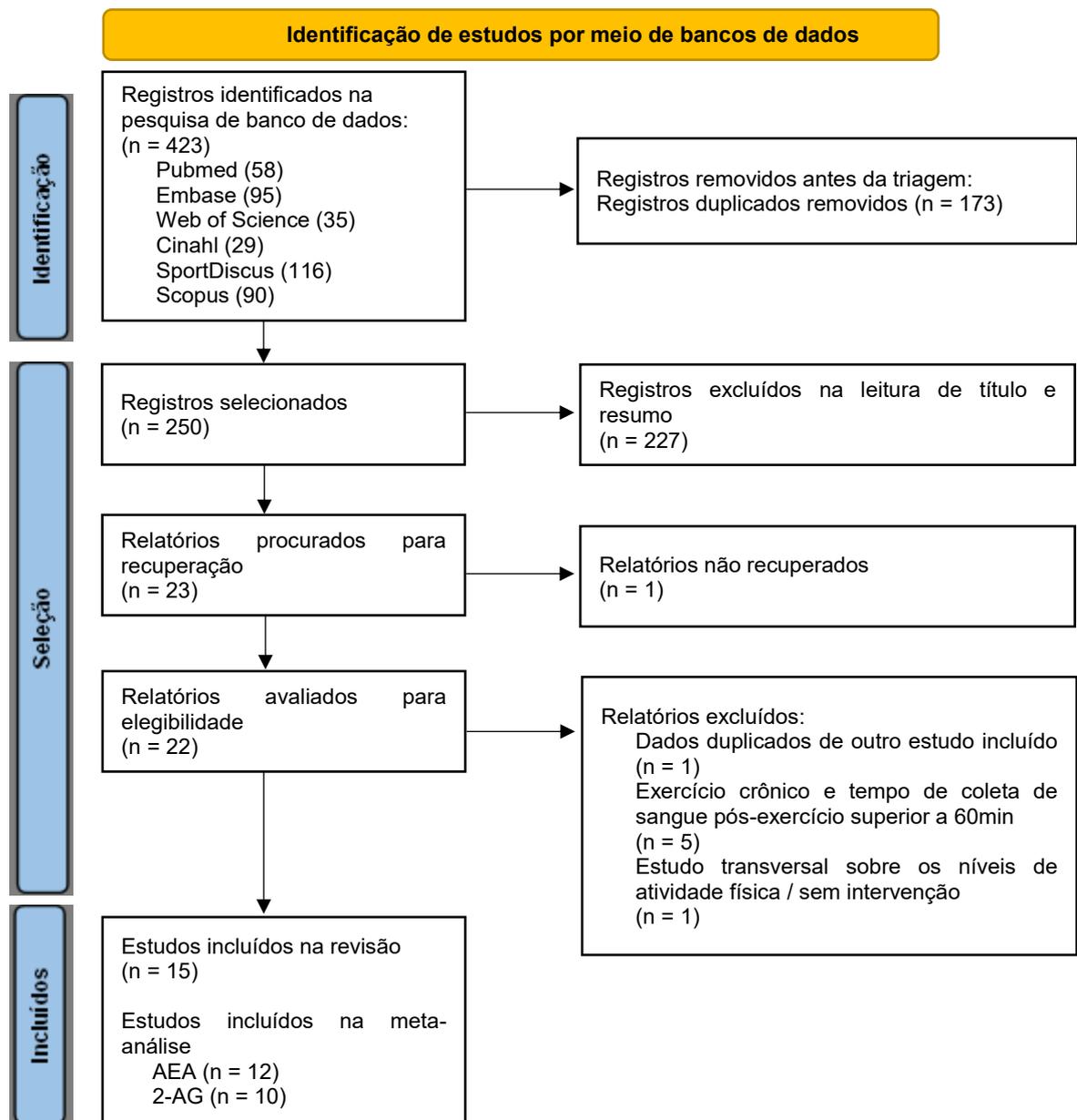
4 RESULTADOS

4.1 ESTUDOS INCLUÍDOS

Quinze artigos originais foram incluídos para análise (ANTUNES, H. K. M.; LEITE, G. S. F.; LEE, K. S.; BARRETO, A. T. et al., 2016; BOSCH; BRINGARD; LOGRIECO; LAUER et al., 2020; BRELLENTHIN; CROMBIE; HILLARD; KOLTYN, 2017; CEDERNAES; FANELLI; FAZZINI; PAGOTTO et al., 2016; CROMBIE; BRELLENTHIN; HILLARD; KOLTYN, 2018b; CROMBIE; CISLER; HILLARD; KOLTYN, 2020; CROMBIE; LEITZELAR; BRELLENTHIN; HILLARD et al., 2019; HEYMAN; GAMELIN; GOEKINT; PISCITELLI et al., 2012; HUGHES; PATTERSON, 2020; KOLTYN; BRELLENTHIN; COOK; SEHGAL et al., 2014; RAICHLEN; FOSTER; GERDEMAN; SEILLIER et al., 2012; RAICHLEN; FOSTER; SEILLIER; GIUFFRIDA et al., 2013; SIEBERS; BIEDERMANN; BINDILA; LUTZ et al., 2021; SPARLING; GIUFFRIDA; PIOMELLI; ROSSKOPF et al., 2003; STONE; MILLAR; HERROD; BARRETT et al., 2018), 12 na meta-análise para AEA (ANTUNES, H. K.; LEITE, G. S.; LEE, K. S.; BARRETO, A. T. et al., 2016; BRELLENTHIN; CROMBIE; HILLARD; KOLTYN, 2017; CEDERNAES; FANELLI; FAZZINI; PAGOTTO et al., 2016; CROMBIE; BRELLENTHIN; HILLARD; KOLTYN, 2018b; CROMBIE; CISLER; HILLARD; KOLTYN, 2020; CROMBIE; LEITZELAR; BRELLENTHIN; HILLARD et al., 2019; HEYMAN; GAMELIN; GOEKINT; PISCITELLI et al., 2012; KOLTYN; BRELLENTHIN; COOK; SEHGAL et al., 2014; RAICHLEN; FOSTER; GERDEMAN; SEILLIER et al., 2012; RAICHLEN; FOSTER; SEILLIER; GIUFFRIDA et al., 2013; SIEBERS; BIEDERMANN; BINDILA; LUTZ et al., 2021; SPARLING; GIUFFRIDA; PIOMELLI; ROSSKOPF et al., 2003), e 10 estudos na meta-análise para 2-AG (BRELLENTHIN; CROMBIE; HILLARD; KOLTYN, 2017; CEDERNAES; FANELLI; FAZZINI; PAGOTTO et al., 2016; CROMBIE; BRELLENTHIN; HILLARD; KOLTYN, 2018b; CROMBIE; CISLER; HILLARD; KOLTYN, 2020; CROMBIE; LEITZELAR; BRELLENTHIN; HILLARD et al., 2019; HEYMAN; GAMELIN; AUCOUTURIER; DI MARZO, 2012b; HUGHES; PATTERSON, 2020; KOLTYN; BRELLENTHIN; COOK; SEHGAL et al., 2014; RAICHLEN; FOSTER; GERDEMAN; SEILLIER et al., 2012; SIEBERS; BIEDERMANN; BINDILA; LUTZ et al., 2021). O valor do teste concordância de Kappa (k) entre avaliadores foi de 0,93 (P<0,001).

Um estudo foi relatado em duas publicações (CROMBIE; BRELENTHIN; HILLARD; KOLTYN, 2018a; KOLTYN; BRELENTHIN; COOK; SEHGAL et al., 2014), o estudo com resultados e métodos mais detalhados foi selecionado (KOLTYN; BRELENTHIN; COOK; SEHGAL et al., 2014). Todos os estudos incluídos foram publicados após 2003, com oito publicados após 2016.

Figura 6 - Fluxograma do processo de seleção dos estudos incluídos nesta revisão sistemática e meta-análise.



Fonte: Fluxograma baseado no PRISMA (PAGE; MCKENZIE; BOSSUYT; BOUTRON et al., 2021).

Um total de 271 indivíduos saudáveis foram incluídos na revisão sistemática (Tabela 2), 56% (n=153) treinado ou ativo, faixa etária de 21 a 61 anos, índice de massa corporal (IMC) de 22 a 26 e as mulheres representaram 38,7% (n=105) dos participantes. O tamanho da amostra variou de 6 a 58 (média de 12), com apenas um estudo com mais de 50 participantes (KOLTYN; BRELENTHIN; COOK; SEHGAL et al., 2014). Cinco estudos (BOSCH; BRINGARD; LOGRIECO; LAUER et al., 2020; BRELENTHIN; CROMBIE; HILLARD; KOLTYN, 2017; HEYMAN; GAMELIN; GOEKINT; PISCITELLI et al., 2012; RAICHLEN; FOSTER; SEILLIER; GIUFFRIDA et al., 2013; SPARLING; GIUFFRIDA; PIOMELLI; ROSSKOPF et al., 2003) investigaram exclusivamente exercícios em uma amostra composta por pessoas saudáveis e 10 estudos (ANTUNES, H. K. M.; LEITE, G. S. F.; LEE, K. S.; BARRETO, A. T. et al., 2016; CEDERNAES; FANELLI; FAZZINI; PAGOTTO et al., 2016; CROMBIE; BRELENTHIN; HILLARD; KOLTYN, 2018b; CROMBIE; CISLER; HILLARD; KOLTYN, 2020; CROMBIE; LEITZELAR; BRELENTHIN; HILLARD et al., 2019; HUGHES; PATTERSON, 2020; KOLTYN; BRELENTHIN; COOK; SEHGAL et al., 2014; RAICHLEN; FOSTER; GERDEMAN; SEILLIER et al., 2012; SIEBERS; BIEDERMANN; BINDILA; LUTZ et al., 2021; STONE; MILLAR; HERROD; BARRETT et al., 2018) incluíram grupos com indivíduos saudáveis e grupos com condições diversas (sintomas de dependência de exercício, restrição de tempo de sono, transtorno de estresse pós-traumático, outros mamíferos, outras atividades recreacionais, administração de antagonista opioide ou restrição de fluxo sanguíneo). Destes, foram considerados para análise qualitativa e quantitativa apenas os grupos com indivíduos saudáveis.

Em relação ao tipo de estudo, 10 estudos incluídos são experimentais, controlado (BOSCH; BRINGARD; LOGRIECO; LAUER et al., 2020; CROMBIE; CISLER; HILLARD; KOLTYN, 2020; SPARLING; GIUFFRIDA; PIOMELLI; ROSSKOPF et al., 2003) e não controlado (BRELENTHIN; CROMBIE; HILLARD; KOLTYN, 2017; CEDERNAES; FANELLI; FAZZINI; PAGOTTO et al., 2016; CROMBIE; LEITZELAR; BRELENTHIN; HILLARD et al., 2019; HUGHES; PATTERSON, 2020; KOLTYN; BRELENTHIN; COOK; SEHGAL et al., 2014; RAICHLEN; FOSTER; SEILLIER; GIUFFRIDA et al., 2013; SIEBERS; BIEDERMANN; BINDILA; LUTZ et al., 2021); e 5 estudos quase experimentais (não randomizados) (ANTUNES, H. K. M.; LEITE, G. S. F.; LEE, K. S.; BARRETO, A. T. et al., 2016; CROMBIE; BRELENTHIN; HILLARD; KOLTYN, 2018b; HEYMAN; GAMELIN; GOEKINT; PISCITELLI et al., 2012;

RAICHLIN; FOSTER; GERDEMAN; SEILLIER et al., 2012; STONE; MILLAR;
HERROD; BARRETT et al., 2018).

Tabela 2 - Características dos participantes dos estudos incluídos na revisão sistemática, estratificado por tipo de intervenção e em ordem alfabética.

Autor, ano [país de investigação]	Intervenção	N amostral, sexo	média ± DP idade, anos	IMC (kg/m²)	Nível de atividade física
Aeróbico/Longa duração					
Antunes, 2016 [Brasil]	Corrida	N=6 homens	32,9 ± 4,7	23,4 ± 2,79	Fisicamente ativo (modalidades aeróbicas por pelo menos 2 anos, 5 × / semana)
Bosch, 2020 [Suíça]	Ciclismo moderado Ciclismo intenso Repouso	N=15 homens	23,699 ± 4,024	NI	Treinados (VO ₂ máx entre 40 e 65 mL.kg.min ⁻¹)
Brellenthin, 2017 [Estados Unidos]	Corrida prescrita Corrida preferida	N=36, 18 homens 18 mulheres	21,1 ± 3,8	23,4 ± 3,4	n= 11, baixo (≤60min AFMV/ semana); n= 12, moderado (150-299 min AFMV/ semana); n= 13, alto (≥300 min AFMV/ semana)
Cedernaes, 2016 [Suécia]	Ciclismo	N=16 homens	22,9 ± 0,66	22,9 ± 0,46	NI
Crombie, 2018 [Estados Unidos]	Corrida	N=12, 3 homens	22 ± 4,7	22,5 ± 2,9	NI

		9 mulheres				
Crombie, 2019 [Estados Unidos]	Corrida	N=10, 3 homens 7 mulheres	22,2 ± 6,1	24,0 ± 4,8	NI	
Crombie, 2020 [Estados Unidos]	Corrida Repouso	N=12 mulheres	21,42 ± 3,88	23,04 ± 3,07	NI	
Heyman, 2012 [Bélgica]	Ciclismo	N=11 homens	23,3 ± 5,1	NI	Treinados	
Raichlen, 2012 [Estados Unidos]	Corrida Caminhada	N=10 indivíduos	NI	NI	Boa forma recreativa (capacidade de corrida por 30 minutos contínuos)	
Raichlen, 2013 [Estados Unidos]	Caminhada moderada Corrida leve Corrida moderada Corrida intensa	N=10, 6 homens 4 mulheres	31,91 ± 12,08	NI	Treinados	
Siebers, 2021 [Alemanha]	Corrida Caminhada	N=31, 15 homens 16 mulheres	26,52 ± 1	22,26 ± 0,4	Regularmente ativos	

Sparling, 2003 [Estados Unidos]	Corrida Ciclismo Repouso	N=24 homens	23,7 ± 9,4	NI	Treinados
Stone, 2018 [Inglaterra]	Ciclismo	N=8 mulheres	61	NI	Acostumados a se exercitar
Anaeróbico (Resistência muscular/curta duração)					
Hughes, 2020 [Inglaterra]	<i>Leg press</i> leve <i>Leg press</i> intenso	N=12, 10 homens 2 mulheres	29 ± 6	26,07 ± 3,29	Recreacionalmente ativos
Koltyn, 2014 [Estados Unidos]	Isométrico membro superior	N=58, 29 homens 29 mulheres	21 ± 3	NI	NI

Fonte: Elaborada pela autora (2020). Legenda: AFMV= atividade física moderada-vigorosa; DP= desvio padrão; IMC= índice de massa corporal; VO2máx= volume de oxigênio máximo.

Treze estudos investigaram exercício aeróbico agudo, incluindo as modalidades corrida, ciclismo e caminhada de 30 a 45min de duração, exceto dois estudos que ajustaram o tempo da sessão de 15min e 60min devido à intensidade (Tabela 3) (ANTUNES, H. K.; LEITE, G. S.; LEE, K. S.; BARRETO, A. T. et al., 2016; BOSCH; BRINGARD; LOGRIECO; LAUER et al., 2020). A maioria dos estudos (9 de 13) utilizou um ergômetro de esteira, com uma intensidade moderada de 70-85% da frequência cardíaca máxima (FCmáx) atingida no teste ergoespirométrico incremental ou ajustada pela idade (ANTUNES, H. K. M.; LEITE, G. S. F.; LEE, K. S.; BARRETO, A. T. et al., 2016;

BRELLENTHIN; CROMBIE; HILLARD; KOLTYN, 2017; CROMBIE; BRELLENTHIN; HILLARD; KOLTYN, 2018b; CROMBIE; CISLER; HILLARD; KOLTYN, 2020; CROMBIE; LEITZELAR; BRELLENTHIN; HILLARD et al., 2019; RAICHLEN; FOSTER; GERDEMAN; SEILLIER et al., 2012; RAICHLEN; FOSTER; SEILLIER; GIUFFRIDA et al., 2013; SIEBERS; BIEDERMANN; BINDILA; LUTZ et al., 2021; SPARLING; GIUFFRIDA; PIOMELLI; ROSSKOPF et al., 2003). Nos estudos tipo controlado e randomizado *crossover*, o intervalo entre as intervenções (período *wash-out*) variou de 48-72 horas a 30 dias, tempo justificado em cada estudo para evitar o efeito de um tratamento anterior sobre outro subsequente (efeito *carry-over*) (BOSCH; BRINGARD; LOGRIECO; LAUER et al., 2020; BRELLENTHIN; CROMBIE; HILLARD; KOLTYN, 2017; CEDERNAES; FANELLI; FAZZINI; PAGOTTO et al., 2016; CROMBIE; CISLER; HILLARD; KOLTYN, 2020; RAICHLEN; FOSTER; SEILLIER; GIUFFRIDA et al., 2013; SIEBERS; BIEDERMANN; BINDILA; LUTZ et al., 2021).

Outros dois estudos investigaram o exercício de resistência muscular (anaeróbico), no aparelho de *leg press* (HUGHES; PATTERSON, 2020) e dinamômetro de mão (KOLTYN; BRELLENTHIN; COOK; SEHGAL et al., 2014). O tempo da sessão foi descrito pelo volume de exercício [repetição x carga de exercício (kg)] (HUGHES; PATTERSON, 2020) e tempo de duração de contração (KOLTYN; BRELLENTHIN; COOK; SEHGAL et al., 2014), com período *wash-out* mínimo de 72h (HUGHES; PATTERSON, 2020) e 1 dia (KOLTYN; BRELLENTHIN; COOK; SEHGAL et al., 2014).

Tabela 3 - Características das intervenções dos estudos incluídos na revisão sistemática, estratificado por tipo de intervenção e em ordem alfabética.

Autor, ano [país de investigação]	Método e protocolo para determinar intensidade	Protocolo intervenção	Resultados
Aeróbico/Longa duração			
Antunes, 2016 [Brasil]	Teste ergoespirométrico incremental máximo Protocolo: 7km/h / 3min + 1km/h a cada min até exaustão, inclinação 1%.	Corrida <u>Intensidade:</u> VO2 LV1= 39,79 ± 5,41 mL.kg.min ⁻¹ e Velocidade LV1= 11,6 ± 1,17km/h <u>Volume:</u> 60min	↑AEA imediatamente pós-corrida (P≤0,05)

Bosch, 2020 [Suíça]	Teste ergoespirométrico incremental máximo Protocolo: 50W/4min + 25W a cada 2 min até atingir 80% FCmáx predita, seguido de + 25W a cada 1min até exaustão. Mantido 60-80 ciclos /min durante teste	Ciclismo moderado <u>Intensidade:</u> 153,0 ± 21,4 W (70% FCmáx, correspondente a 60% VO2máx) <u>Volume:</u> 30min Ciclismo intenso <u>Intensidade:</u> 199,3 ± 28,7 W (80% FCmáx, correspondente a 75% VO2máx) <u>Volume:</u> 15min (3min aquecimento + 15min ciclismo + 3min resfriamento) Repouso Posição sentada com opção de revistas selecionadas	↑AEA imediatamente pós-ciclismo moderado e intenso (P<0,001) e em comparação ao repouso (P<0,001), nenhuma diferença entre as duas condições de exercício (P=0,080)
Brellenthin, 2017 [Estados Unidos]	Teste ergoespirométrico incremental submáximo Protocolo de Bruce: até atingir 85% FCmáx ajustada para a idade	Corrida prescrita <u>Intensidade:</u> 70 a 75% VO2máx estimado Baixa AFMV: 75,3 ± 8,6 Moderada AFMV: 72,1 ± 6,5 Alta AFMV: 68,6 ± 8,4 <u>Volume:</u> 45min [10min aquecimento (40% a 60%VO2máx estimado), 45min (70% a 75%VO2máx estimado), 5min resfriamento]	↑AEA e 2-AG 5min pós-corrida prescrita e preferida (P<0,01), com ↑AEA maior na condição prescrita (P<0,05)

Corrida preferida

Intensidade e duração preferidas

Intensidade (% VO₂máx estimado):

Baixa AFMV: 74,7 ± 7,8

Moderada AFMV: 80,4 ± 7,6

Alta AFMV: 74,6 ± 15,5

Volume: 10min aquecimento (40% a 60%VO₂máx estimado), intensidade e duração preferidos do exercício, após indicar o término, 5min de resfriamento

Baixa AFMV: 26,5 ± 7,2min

Moderada AFMV: 25,4 ± 5,0min

Alta AFMV: 36,1 ± 12,3min

Cedernaes, 2016
[Suécia]Teste ergoespirométrico
incremental
Protocolo: método do
nomograma de Åstrands-
Ryhming**Ciclismo**Intensidade: 117 ± 10W(75% VO₂ de reserva)Volume: 30min [5min aquecimento (25%
da carga subsequente) + 30min (75%
VO₂ de reserva)]↑2-AG 15min pós-
ciclismo
(P<0,05)↔AEA com tendência
de aumentoCrombie, 2018
[Estados Unidos]Escala de esforço percebido de
Borg**Corrida**Intensidade: 78,90 ± 1,29% FCmáx

predita; 7,56 ± 1,29 km/h

(70 a 75% FCmáx predita; 12 a 15 na

↑AEA e 2-AG
imediatamente pós-
corrida (PS=0,000 a
0,050)

		escala de esforço percebido de Borg) <u>Volume:</u> 30min [10min aquecimento (40 a 60% FCmáx) + 30min (70 a 75%Fcmáx) + 5min de resfriamento]	
Crombie, 2019 [Estados Unidos]	Escala de esforço percebido de Borg	Corrida <u>Intensidade:</u> 160,7 ± 16,9 FC atingida no teste; 8,5 ± 1,7 km/h (70 a 75% FCmáx predita; 12 a 15 na escala de esforço percebido de Borg) <u>Volume:</u> 30min [5min aquecimento (40 a 60% FCmáx) + 30min (70 a 75%Fcmáx) + 5min de resfriamento]	↑AEA e 2-AG imediatamente pós-corrida (P<0,05)
Crombie, 2020 [Estados Unidos]	FCmáx ajustada para a idade	Corrida <u>Intensidade:</u> 73,82 ± 2,01% FCmáx predita; 6,82 ± 0,6 km/h (70 a 75% FCmáx predita) <u>Volume:</u> 30min [5min aquecimento (40 a 60% Fcmáx predita) + 30min (70 a 75%Fcmáx predita) + 5min de resfriamento]	↔AEA e 2-AG imediatamente pós-corrida, com tendência de aumento pós-corrida, mas não após repouso
		Repouso: posição sentada em silêncio por 40min em uma câmara com isolamento acústico	

Heyman, 2012 [Bélgica]	Teste ergométrico incremental máximo Protocolo: 80W + 40W a cada 3 min até atingir exaustão	Ciclismo <u>Intensidade:</u> 55%W _{máx} (moderado) + 75%W _{máx} (intenso) (média amostral W _{máx} = 330,7 ± 19,7) <u>Volume:</u> 15min repouso + 60min (55%W _{máx}) + 30min (75%W _{máx}) + 15min repouso	↑AEA imediatamente pós-ciclismo (P<0,01) e 15min após (P<0,001) ↔2-AG imediatamente pós-ciclismo
Raichlen, 2012 [Estados Unidos]	Velocidade selecionada pelo cálculo de Froude correspondente a determinada %FC _{máx} ajustada para a idade	Corrida moderada <u>Intensidade:</u> 2,5 ms ⁻¹ , 72,5 ± 2,54% FC _{máx} predita <u>Volume:</u> 30min Caminhada leve <u>Intensidade:</u> 1,25ms ⁻¹ , 44,6 ± 1,25% FC _{máx} predita <u>Volume:</u> 30min	↑AEA imediatamente pós-corrida (P<0,05) ↔AEA pós-caminhada com tendência de diminuir ↔2-AG em ambas as condições
Raichlen, 2013 [Estados Unidos]	FC _{máx} ajustada para a idade	Caminhada moderada <u>Intensidade:</u> 44,6 ± 4,16% FC _{máx} predita (<50% FC _{máx} predita) <u>Volume:</u> 30min Corrida leve	↑AEA imediatamente pós-corrida leve e moderada (P<0,05) ↔AEA pós-caminhada e corrida

		<p><u>Intensidade:</u> 72,48 ± 8,43% FCmáx predita (70% FCmáx predita) <u>Volume:</u> 30min</p> <p>Corrida moderada <u>Intensidade:</u> 83,23 ± 7,48% FCmáx predita (80% FCmáx predita) <u>Volume:</u> 30min</p> <p>Corrida intensa <u>Intensidade:</u> 92,1 ± 6,47% FCmáx predita (90% FCmáx predita) <u>Volume:</u> 30min</p>	<p>intensa com tendência de diminuir</p> <p>↔2-AG em todas as condições</p>
Siebers, 2021 [Alemanha]	FCmáx ajustada para a idade	<p>Corrida <u>Intensidade:</u> 70-85% FCmáx predita <u>Volume:</u> 45min (opção de 5min aquecimento)</p> <p>Caminhada <u>Intensidade:</u> <50% FCmáx predita <u>Volume:</u> 45min</p>	<p>↑AEA e 2-AG imediatamente pós-corrida e caminhada, com aumento maior na condição corrida (P<0,001)</p>
Sparling, 2003 [Estados Unidos]	FCmáx ajustada para a idade	<p>Corrida <u>Intensidade:</u> 70-80% FCmáx (140-</p>	<p>↑AEA imediatamente pós-corrida (P<0,01) e</p>

		160bpm) <u>Volume:</u> 45min [5min aquecimento + 45min (70-80% FCmáx)]	ciclismo (P<0,05) ↔AEA após repouso com tendência de diminuir ↔2-AG em todas as condições
		Ciclismo <u>Intensidade:</u> 70-80% FC máx (140-160bpm) <u>Volume:</u> 45min [5min aquecimento + 45min (70-80% FCmáx)]	
		Repouso: Posição sentada por 50min em uma sala com temperatura controlada	
Stone, 2018 [Inglaterra]	FCmáx ajustada para a idade	Ciclismo <u>Intensidade:</u> <70-80% FCmáx (FC média de 102 bpm) <u>Volume:</u> 30min (5min aquecimento + 30min ciclismo)	↔AEA imediatamente pós-ciclismo com tendência de aumento
Anaeróbico (Resistência muscular/curta duração)			
Hughes, 2020 [Inglaterra]	Teste de 1RM; volume de exercício (kg) calculado pela repetição x carga de exercício (kg).	Leg press leve <u>Intensidade:</u> 30% 1RM (47 ± 16kg) <u>Volume:</u> 3516 ± 1168 kg 4 séries (30, 15, 15 e 15 repetições) com intervalos de 30s Leg press intenso <u>Intensidade:</u> 70% 1RM (109 ± 36kg) <u>Volume:</u> 4375 ± 1454 kg	↔2-AG após 5min de <i>leg press</i> leve e intenso, com tendência de diminuir após <i>leg press</i> intenso

4 a 10 repetições com intervalos de 53s

Koltyn, 2014
[Estados Unidos]

Teste de CMV

Isométrico membro superior

Intensidade: 25%CMV braço dominante

Volume: 3min

↑AEA e 2-AG
imediatamente após
exercício isométrico
(P<0,05)

Fonte: Elaborada pela autora (2020). Legenda: AFMV= atividade física moderada-vigorosa; bpm= batimentos por minuto; CMV= contração máxima voluntária; FC= frequência cardíaca; FCmáx= frequência cardíaca máxima; LV= limiar ventilatório; VO2= volume de oxigênio; VO2máx= volume de oxigênio máximo; W= watt; 1RM= uma repetição máxima; ↑= aumento; ↔= sem efeito.

A AEA e o 2-AG foram as medidas de desfecho nesta revisão. Todos os estudos mensuraram os endocanabinoides por meio da coleta de sangue periférico, a maioria dos estudos combinou cromatografia líquida e espectrometria de massa para separação e quantificação dos compostos determinados a partir do plasma, exceto um estudo que usou kit de imunoenensaio enzimático comercial (HUGHES; PATTERSON, 2020). As orientações antes da sessão experimental incluíram nenhuma prática de exercício, consumo de cafeína, nicotina e álcool por 24h, além de jejum mínimo de 2h ou café padronizado no laboratório antes da coleta de sangue, geralmente pela manhã antes da sessão de exercícios, a fim de medir os níveis basais de AEA e 2-AG. Após o exercício, a medida dos endocanabinoides circulantes foi imediatamente após e/ou nos tempos de recuperação de 5 e 15min. Contudo, os estudos incluídos não limitaram a hora do dia para avaliar os endocanabinoides circulantes.

A maioria dos estudos (11 de 14) observou aumento significativo após exercício na AEA (ANTUNES, H. K.; LEITE, G. S.; LEE, K. S.; BARRETO, A. T. et al., 2016; BOSCH; BRINGARD; LOGRIECO; LAUER et al., 2020; BRELLENTHIN; CROMBIE; HILLARD; KOLTYN, 2017; CROMBIE; BRELLENTHIN; HILLARD; KOLTYN, 2018b; CROMBIE; LEITZELAR; BRELLENTHIN; HILLARD et al., 2019; HEYMAN; GAMELIN; GOEKINT; PISCITELLI et al., 2012; KOLTYN; BRELLENTHIN; COOK; SEHGAL et al., 2014; RAICHLEN; FOSTER; GERDEMAN; SEILLIER et al., 2012; RAICHLEN; FOSTER; SEILLIER; GIUFFRIDA et al., 2013; SIEBERS; BIEDERMANN; BINDILA; LUTZ et al., 2021; SPARLING; GIUFFRIDA; PIOMELLI; ROSSKOPF et al., 2003), enquanto menos evidências (6 de 12) mostraram aumento nos níveis de 2-AG (BRELLENTHIN; CROMBIE; HILLARD; KOLTYN, 2017; CEDERNAES; FANELLI; FAZZINI; PAGOTTO et al., 2016; CROMBIE; BRELLENTHIN; HILLARD; KOLTYN, 2018b; CROMBIE; LEITZELAR; BRELLENTHIN; HILLARD et al., 2019; KOLTYN; BRELLENTHIN; COOK; SEHGAL et al., 2014; SIEBERS; BIEDERMANN; BINDILA; LUTZ et al., 2021). Alguns estudos (7 de 15) também analisaram outros endocanabinoides como PEA, OEA e 2-OG (BRELLENTHIN; CROMBIE; HILLARD; KOLTYN, 2017; CEDERNAES; FANELLI; FAZZINI; PAGOTTO et al., 2016; CROMBIE; BRELLENTHIN; HILLARD; KOLTYN, 2018b; CROMBIE; CISLER; HILLARD; KOLTYN, 2020; CROMBIE; LEITZELAR; BRELLENTHIN; HILLARD et al., 2019; HEYMAN; GAMELIN; AUCOUTURIER; DI MARZO, 2012b; STONE; MILLAR; HERROD; BARRETT et al., 2018).

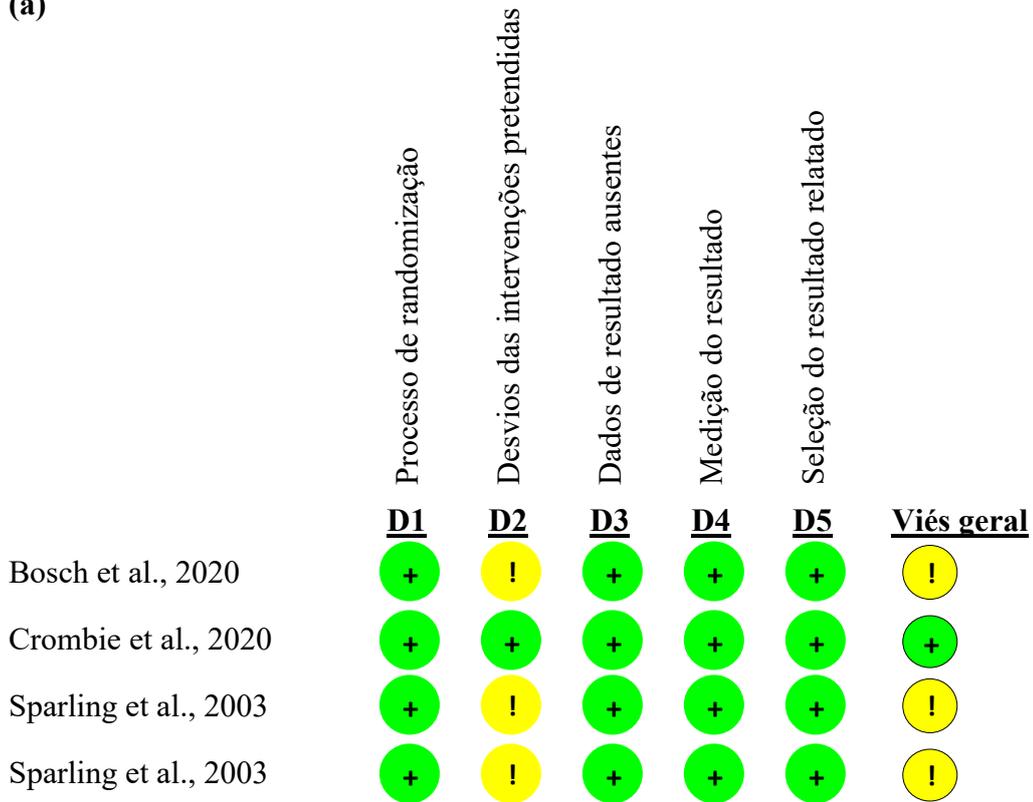
4.2 AVALIAÇÃO DE RISCO DE VIÉS

4.2.1 Estudos experimentais

Três estudos do tipo ECR foram avaliados quanto à qualidade metodológica pela ferramenta RoB 2.0, mas dois estudos mostraram algumas preocupações no domínio “desvios das intenções pretendidas”(Figura 7). No estudo de Bosch et al. foi considerado ter algumas preocupações porque alguns participantes não aderiram à intervenção indicando falha na implementação das intervenções protocolares (BOSCH; BRINGARD; LOGRIECO; LAUER et al., 2020). No entanto, o número de participantes que interromperam a intervenção por não conformidade ou dificuldade técnica é suficientemente pequeno e não apresenta nenhuma diferença importante para o efeito estimado da intervenção. No estudo de Sparling et al., as intervenções (corrida e ciclismo avaliados separadamente) sugerem algumas preocupações referente à ausência de análise estatística para estimar o efeito da atribuição à intervenção, conseqüentemente, pode não ter sido apropriada (SPARLING; GIUFFRIDA; PIOMELLI; ROSSKOPF et al., 2003). O viés geral dos estudos do tipo ensaio clínico randomizado que avaliaram a AEA variou de “baixo risco de viés” (um estudo) a “algumas considerações” (três estudos).

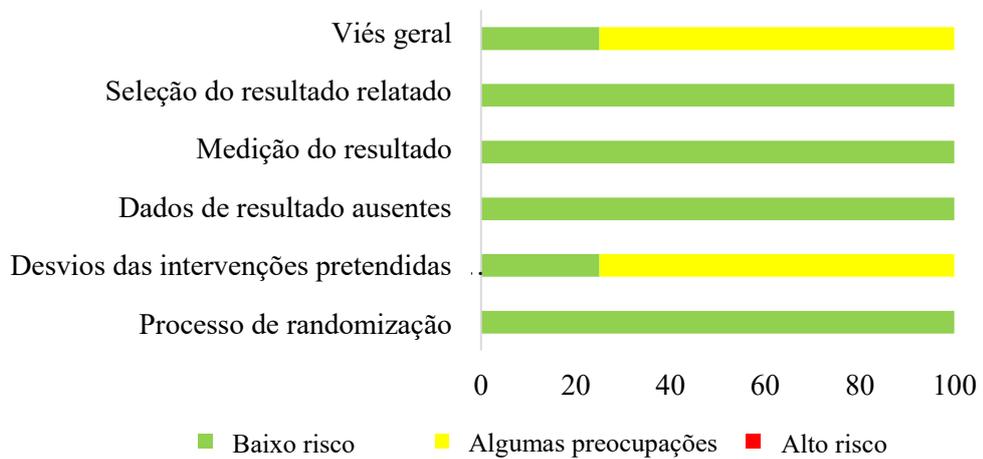
Figura 7 - Resultados da avaliação do risco de viés dos estudos incluídos usando a ferramenta da Cochrane de avaliação de risco de viés para estudos randomizados (*Revised Cochrane risk of bias tool for randomized trials, RoB 2*) com o resultado avaliado AEA.

(a)



(b)

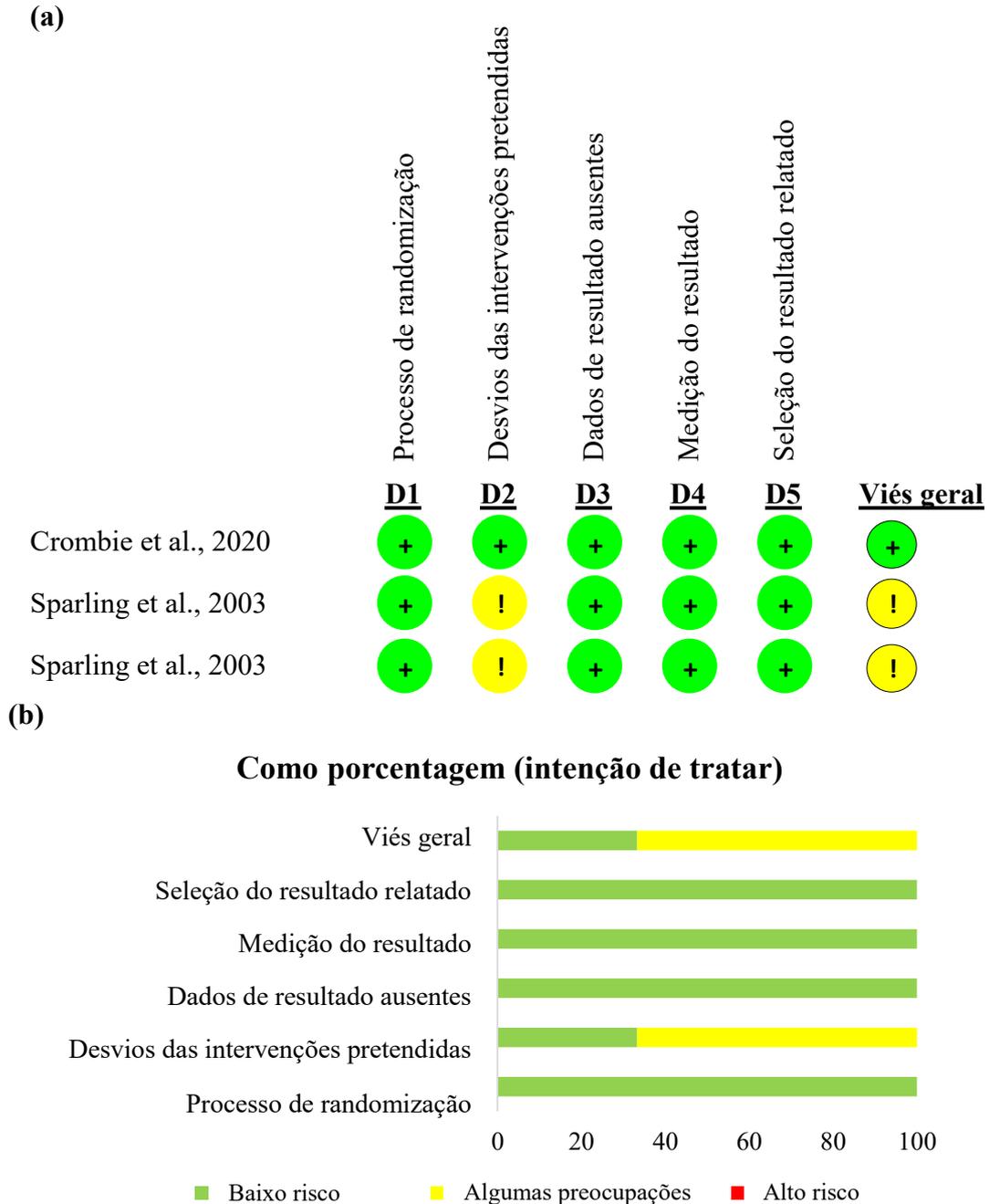
Como porcentagem (intenção de tratar)



Fonte: Elaborada pela autora (2020). A ferramenta da colaboração Cochrane para avaliar o risco de viés dentro e entre os ensaios randomizados. (a) Risco de viés nos estudos; (b) Risco de viés entre os estudos.

Os ECR que avaliaram o 2-AG também apresentaram baixo risco de viés na maioria dos domínios (Figura 8), apenas o estudo de Sparling et al. que investigou corrida e ciclismo, mostrou algumas preocupações nos desvios das intenções pretendidas devido à ausência de análise estatística para estimar o efeito da atribuição à intervenção (SPARLING; GIUFFRIDA; PIOMELLI; ROSSKOPF et al., 2003).

Figura 8 - Resultados da avaliação do risco de viés dos estudos incluídos usando a ferramenta da Cochrane de avaliação de risco de viés para estudos randomizados (*Revised Cochrane risk of bias tool for randomized trials, RoB 2*) com o resultado avaliado 2-AG.



Fonte: Elaborada pela autora (2020). A ferramenta da colaboração Cochrane para avaliar o risco de viés dentro e entre os ensaios randomizados. (a) Risco de viés nos estudos; (b) Risco de viés entre os estudos.

A Tabela 4 apresenta os resultados de cada estudo do tipo experimental não controlado para cada questão da ferramenta de avaliação do risco de viés JBI. A maioria dos estudos foi nomeada com “Y” de sim para cada questão específica, com exceção às questões:

- i. **Q1** referente à clareza dos critérios de inclusão. No estudo de Hughes et al. não está claro os critérios de elegibilidade dos participantes, foi relatado ser não fumantes, livres de algumas doenças e lesões músculoesqueléticas, da mesma forma, Raichlen et al., não relatou, somente incluiu homens e mulheres saudáveis, corredores regulares e aptos (HUGHES; PATTERSON, 2020; RAICHLEN; FOSTER; SEILLIER; GIUFFRIDA et al., 2013).
- ii. **Q4** referente à inclusão consecutiva dos participantes. Todos os estudos avaliados não relataram de forma consecutiva ou alguma descrição similar, contudo, os desenhos experimentais indicam e é usual na prática de pesquisas científicas realizarem a inclusão consecutiva num período coerente de tempo;
- iii. **Q5** referente à total inclusão dos participantes. Cedernaes et al. e Raichlen et al. relataram o N de indivíduos incluídos, porém, não especificaram se foi o total do recrutamento inicial (CEDERNAES; FANELLI; FAZZINI; PAGOTTO et al., 2016; RAICHLEN; FOSTER; SEILLIER; GIUFFRIDA et al., 2013).
- iv. **Q7** referente ao relato clínico dos pacientes. Considerando o nível de atividade física dos participantes, Cedernaes et al., Crombie et al. e Koltyn et al. não relataram estas informações clínicas (CEDERNAES; FANELLI; FAZZINI; PAGOTTO et al., 2016; CROMBIE; LEITZELAR; BRELLENTHIN; HILLARD et al., 2019; KOLTYN; BRELLENTHIN; COOK; SEHGAL et al., 2014).

Tabela 4 – Resultados da avaliação do risco de viés dos estudos incluídos usando a ferramenta do Joanna Briggs Institute (JBI) para séries de casos / estudos não controlados (*JBI Critical Appraisal Checklist for Case Series*).

Estudo	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Q7	Q8	Q9	Q10
Brellenthin, 2017	Y	Y	Y	U	Y	Y	Y	Y	Y	Y
Cedernaes, 2016	Y	Y	Y	U	U	Y	N	Y	Y	Y
Crombie, 2019	Y	Y	Y	U	Y	Y	N	Y	Y	Y
Hughes, 2020	U	Y	Y	U	Y	Y	Y	Y	Y	Y
Koltyn, 2014	Y	Y	Y	U	Y	Y	N	Y	Y	Y
Raichlen, 2013	N	Y	Y	U	U	Y	Y	Y	Y	Y
Siebers, 2021	Y	Y	Y	U	Y	Y	Y	Y	Y	Y

Fonte: Elaborada pela autora (2020). Questões do instrumento do JBI, o *Critical Appraisal Checklist for Case Series*: Q1. *Were there clear criteria for inclusion in the case series?* Q2. *Was the condition measured in a standard, reliable way for all participants included in the case series?* Q3. *Were valid methods used for identification of the condition for all participants included in the case series?* Q4. *Did the case series have consecutive inclusion of participants?* Q5. *Did the case series have complete inclusion of participants?* Q6. *Was there clear reporting of the demographics of the participants in the study?* Q7. *Was there clear reporting of clinical information of the participants?* Q8. *Were the outcomes or follow up results of cases clearly reported?* Q9. *Was there clear reporting of the presenting site(s)/clinic(s) demographic information?* Q10. *Was statistical analysis appropriate?* Legenda: Y= yes (sim); N= no (não); U= unclear (confuso/pouco claro); NA= not applicable (não aplicável).

4.2.2 Estudos quase experimentais

Cinco estudos não randomizados foram avaliados pela ferramenta ROBINS-I e apresentaram grandes limitações. Todos os estudos apresentaram fatores de confusão “sério” (seis artigos) ou “moderado” (dois artigos). Todos os outros itens apresentaram baixo risco de viés para os itens, conforme ilustrado na Figura 9 (a-b). Na sequência, os confundidores estão detalhados para uma interpretação transparente e esclarecedora. No estudo de Antunes et al. foi julgado sério risco de viés geral devido ao domínio confusão, em todos os outros domínios o estudo é comparável a um ensaio randomizado bem realizado (ANTUNES, H. K. M.; LEITE, G. S. F.; LEE, K. S.; BARRETO, A. T. et al., 2016). Os confundidores relevantes para a configuração do estudo incluem tamanho amostral, intensidade e volume, nível de atividade física, adiposidade e dependência de exercício. Dentre estes, o tamanho da amostra não foi apropriadamente controlado pelo cálculo amostral, os outros confundidores foram controlados e medidos de forma válida e confiável: intensidade e volume através de teste ergoespirométrico e conceito clássico de LV1; nível de atividade física através de autorelato e avaliação por médico especialista; adiposidade através de peso, altura, IMC e composição corporal por pletismografia de deslocamento de ar; dependência de exercício através de uma escala validada em português.

No estudo de Crombie et al. foi considerado risco moderado de viés considerando os confundidores identificados pelos próprios autores como idade, sexo e nível de atividade física, todos controlados pelos critérios de elegibilidade e pareamento para ajustar o fator de confusão (CROMBIE; BRELLENTHIN; HILLARD; KOLTYN, 2018b). A atividade física foi quantificada por sete dias através de acelerômetro, autorelato e apresentado o tempo sedentário e em atividade física leve e moderada. A adiposidade também foi controlada por meio do IMC. O viés geral do estudo de Heyman et al. foi julgado como sério risco de viés porque pelo menos dois domínios de confusão, tamanho amostral e nível de atividade física, não foram medidos (HEYMAN; GAMELIN; AUCOUTURIER; DI MARZO, 2012b). O processo de recrutamento, seleção dos participantes e critérios de elegibilidade também não foram descritos. A intensidade e volume foram baseados em um teste ergométrico e estudos anteriores, além disso, a adiposidade foi medida através de peso e altura. No estudo de Raichlen et al. o julgamento implicou em sério risco de viés, dado que, os confundidores tamanho amostral, sexo, idade, nível de atividade física e adiposidade não foram medidos e controlados; apenas, intensidade e volume foram medidos, determinados pelo número de

Froude e estudos anteriores (RAICHLLEN; FOSTER; GERDEMAN; SEILLIER et al., 2012). No estudo de Stone et al. não são relatadas medidas de nível de atividade física, adiposidade e intensidade, porém foram controlados sexo e idade sendo assim avaliado como sério risco de viés (STONE; MILLAR; HERROD; BARRETT et al., 2018).

Figura 9 – Resultados da avaliação do risco de viés dos estudos incluídos usando a ferramenta de risco de viés em estudos de intervenção não randomizados (*Risk Of Bias In Nonrandomized Studies of Interventions, ROBINS-I*).

(a)

	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	Overall
Antunes et al., 2016								
Crombie et al., 2018								
Heyman et al., 2012								
Raichlen et al., 2012								
Stone et al., 2018								

(b)

	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	Overall
Crombie et al., 2018								
Heyman et al., 2012								
Raichlen et al., 2012								

Domínios:

D1: Viés devido à confusão.

D2: Viés devido à seleção dos participantes.

D3: Viés na classificação das intervenções.

D4: Viés devido à desvios das intervenções pretendidas.

D5: Viés devido à dados faltantes.

D6: Viés na medição dos resultados.

D7: Viés na seleção do resultado relatado.

Julgamento:

Sério

Moderado

Baixo

Fonte: Elaborada pela autora (2020). A ferramenta da colaboração Cochrane para avaliar o risco de viés nos ensaios não randomizados. (a) Risco de viés nos estudos sobre o resultado avaliado AEA; (b) Risco de viés nos estudos sobre o resultado avaliado 2-AG.

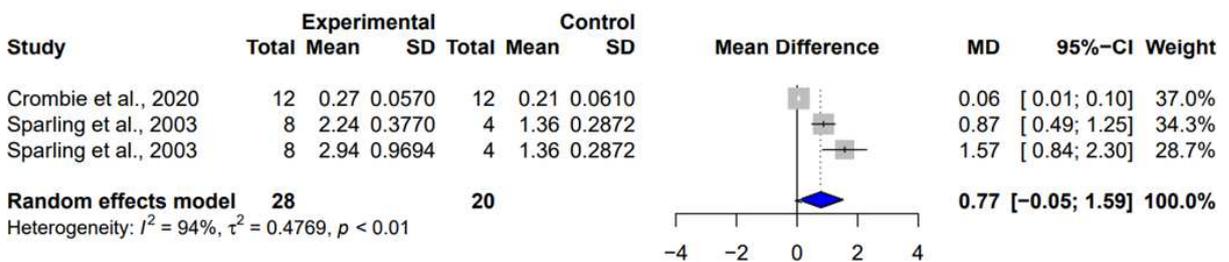
4.3 ESTUDOS INCLUÍDOS NA META-ANÁLISE

4.3.1 Efeitos do exercício agudo

4.3.1.1 AEA

Doze estudos avaliaram a AEA (ANTUNES, H. K.; LEITE, G. S.; LEE, K. S.; BARRETO, A. T. et al., 2016; BRELLENTHIN; CROMBIE; HILLARD; KOLTYN, 2017; CEDERNAES; FANELLI; FAZZINI; PAGOTTO et al., 2016; CROMBIE; BRELLENTHIN; HILLARD; KOLTYN, 2018b; CROMBIE; CISLER; HILLARD; KOLTYN, 2020; CROMBIE; LEITZELAR; BRELLENTHIN; HILLARD et al., 2019; HEYMAN; GAMELIN; GOEKINT; PISCITELLI et al., 2012; KOLTYN; BRELLENTHIN; COOK; SEHGAL et al., 2014; RAICHLEN; FOSTER; GERDEMAN; SEILLIER et al., 2012; RAICHLEN; FOSTER; SEILLIER; GIUFFRIDA et al., 2013; SIEBERS; BIEDERMANN; BINDILA; LUTZ et al., 2021; SPARLING; GIUFFRIDA; PIOMELLI; ROSSKOPF et al., 2003). A meta-análise para o nível circulante de AEA incluiu dois estudos com três intervenções que avaliaram grupo exercício aeróbico comparado ao grupo controle repouso (CROMBIE; CISLER; HILLARD; KOLTYN, 2020; SPARLING; GIUFFRIDA; PIOMELLI; ROSSKOPF et al., 2003). Não houve diferença significativa entre os grupos exercício e repouso [AEA= 0,77 pmol/mL (IC 95%: -0,05 a 1,59; I²: 94%); P=0,0667; N=48 - Figura 10].

Figura 10 – Forest plot dos resultados da meta-análise da comparação entre os efeitos do exercício aeróbico e repouso sobre os níveis circulantes de AEA.



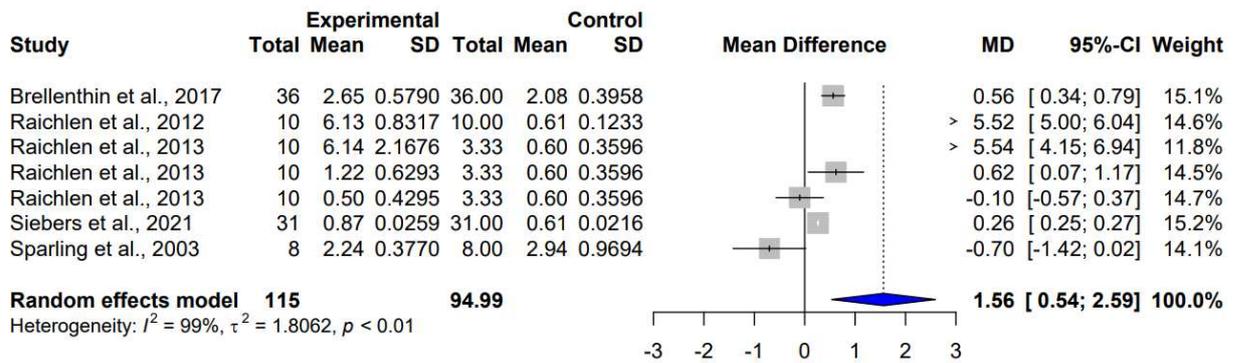
Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Para explorar os estudos que investigaram exercício aeróbico - intervenção A versus intervenção B - uma meta-análise foi realizada considerando uma das intervenções do estudo como experimental e outra como comparador (BRELLENTHIN; CROMBIE; HILLARD; KOLTYN, 2017; RAICHLEN; FOSTER; GERDEMAN; SEILLIER et al., 2012; RAICHLEN; FOSTER; SEILLIER; GIUFFRIDA et al., 2013; SIEBERS; BIEDERMANN;

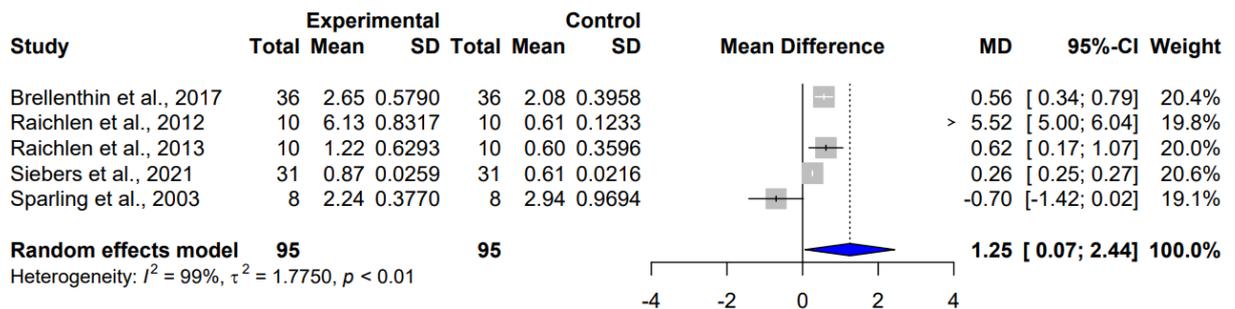
BINDILA; LUTZ et al., 2021; SPARLING; GIUFFRIDA; PIOMELLI; ROSSKOPF et al., 2003). O exercício corrida prescrita, leve ou moderada é superior à corrida preferida e intensa, caminhada leve, moderada ou ciclismo moderado para alterar os níveis circulantes de AEA, com heterogeneidade considerável [AEA= 1,56 pmol/mL (IC 95%: 0,54 a 2,59; I^2 : 99%); $P=0,0028$; $N=210$ - Figura 11 (a)]. Uma análise de sensibilidade com corrida prescrita moderada versus corrida preferida e intensa foi realizada, porém não demonstrou modificações no resultado [AEA= 1,25 pmol/mL (IC 95%: 0,07 a 2,44; I^2 : 99%); $P=0,0383$; $N=190$ - Figura 11 (b)].

Figura 11 - Forest plot dos resultados da meta-análise da comparação de duas intervenções concorrentes de exercício aeróbico sobre os níveis circulantes de AEA.

(a)



(b)

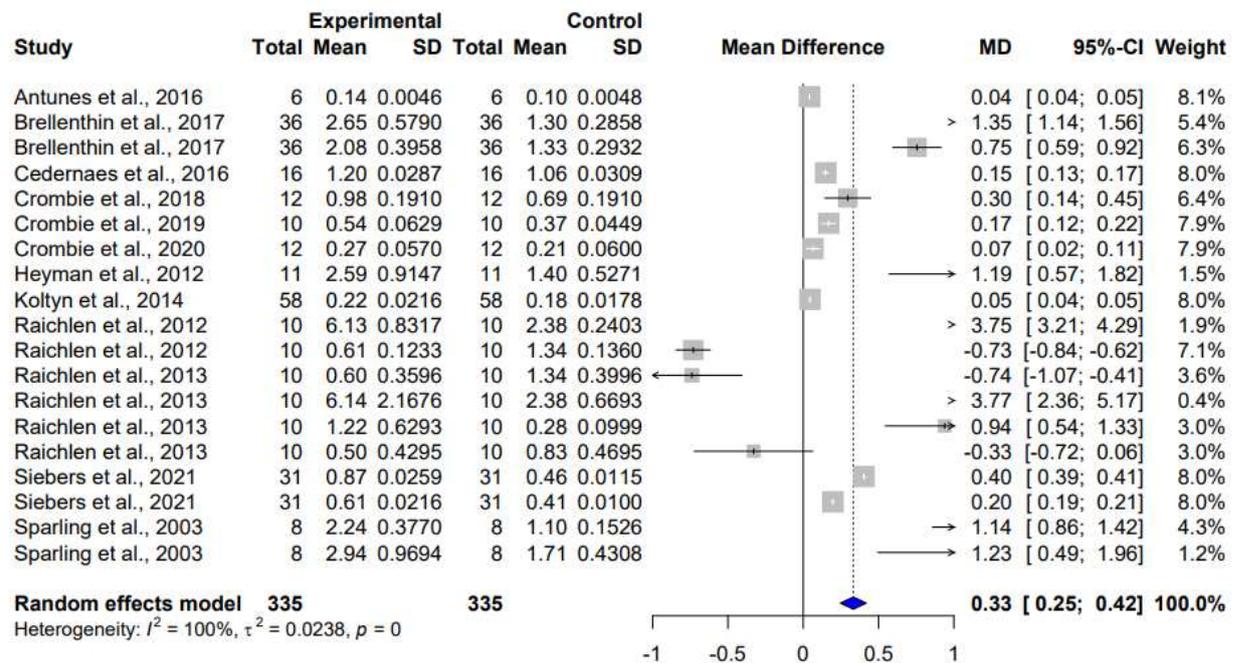


Fonte: Elaborada pela autora (2020). (a) exercício aeróbico intensidade leve, moderada e intensa; (b) exercício aeróbico apenas intensidade moderada no grupo experimental.

A meta-análise para AEA foi realizada entre os valores basais versus valores imediatamente pós-exercício (ANTUNES, H. K.; LEITE, G. S.; LEE, K. S.; BARRETO, A. T. et al., 2016; BRELLENTHIN; CROMBIE; HILLARD; KOLTYN, 2017; CEDERNAES; FANELLI; FAZZINI; PAGOTTO et al., 2016; CROMBIE; BRELLENTHIN; HILLARD; KOLTYN, 2018b; CROMBIE; CISLER; HILLARD; KOLTYN, 2020; CROMBIE; LEITZELAR; BRELLENTHIN; HILLARD et al., 2019; HEYMAN; GAMELIN; GOEKINT;

PISCITELLI et al., 2012; KOLTYN; BRELLENTHIN; COOK; SEHGAL et al., 2014; RAICHLEN; FOSTER; GERDEMAN; SEILLIER et al., 2012; RAICHLEN; FOSTER; SEILLIER; GIUFFRIDA et al., 2013; SIEBERS; BIEDERMANN; BINDILA; LUTZ et al., 2021; SPARLING; GIUFFRIDA; PIOMELLI; ROSSKOPF et al., 2003), o resultado mostrou que o exercício agudo aumentou a AEA quando comparado ao basal, no entanto, com heterogeneidade considerável [AEA= 0,33 pmol/mL (IC 95%: 0,25 a 0,42; I^2 : 100%); $P=0,0001$; $N=670$ - Figura 12]. Para explorar as diferenças nos protocolos de exercício aeróbico, uma análise de sensibilidade foi realizada considerando a modalidade (corrida, caminhada, ciclismo). A corrida aumentou a AEA circulante, mas, com heterogeneidade considerável [AEA= 0,59 pmol/mL (IC 95%: 0,42 a 0,77; I^2 : 100%); $P=0,0001$; $N=191$ - Figura 13 (a)], enquanto a caminhada [AEA= -0,41 pmol/mL (IC 95%: -1,16 a 0,35; I^2 : 99%); $P=0,2879$; $N=51$ - Figura 13 (b)] e o ciclismo [AEA= 0,75 pmol/mL (IC 95%: -0,11 a 1,61; I^2 : 79%); $P=0,0884$; $N=35$ - Figura 13 (c)] não alteraram significativamente os níveis de AEA.

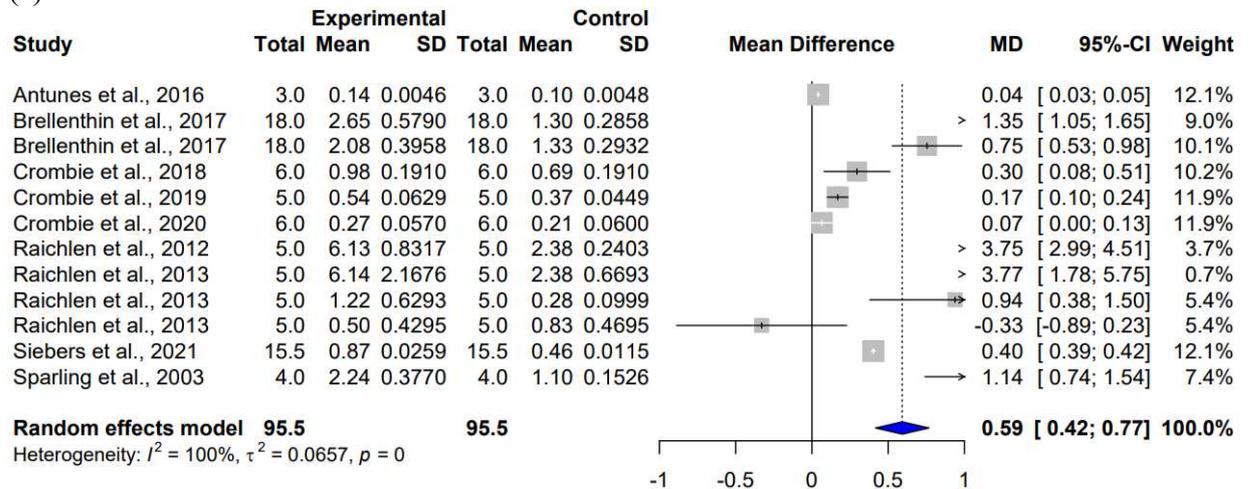
Figura 12 - Forest plot dos resultados da meta-análise da comparação dos valores basais e pós-exercício aeróbico sobre os níveis circulantes de AEA.



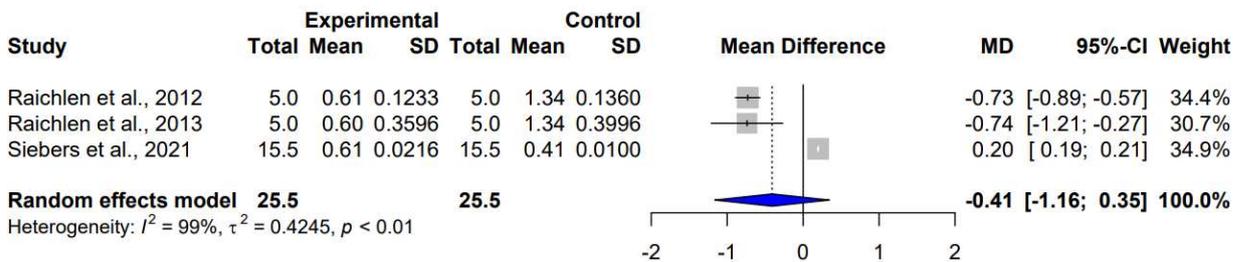
Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Figura 13 - Forest plot dos resultados da meta-análise com análise de sensibilidade por modalidade, comparação dos valores basais e pós-exercício aeróbico sobre os níveis circulantes de AEA.

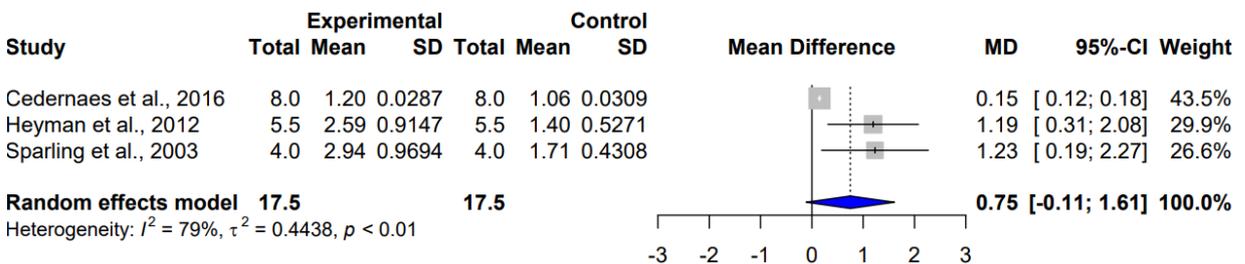
(a)



(b)



(c)



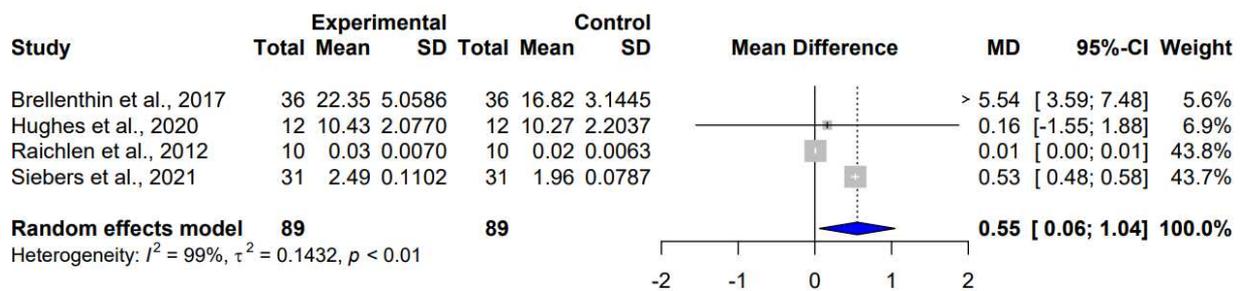
Fonte: Elaborada pela autora (2020). (a) exercício aeróbico corrida; (b) exercício aeróbico caminhada; (c) exercício aeróbico ciclismo.

4.3.1.2 2-AG

Dez estudos avaliaram o 2-AG (BRELENTHIN; CROMBIE; HILLARD; KOLTYN, 2017; CEDERNAES; FANELLI; FAZZINI; PAGOTTO et al., 2016; CROMBIE; BRELENTHIN; HILLARD; KOLTYN, 2018b; CROMBIE; CISLER; HILLARD; KOLTYN, 2020; CROMBIE; LEITZELAR; BRELENTHIN; HILLARD et al., 2019; HEYMAN; GAMELIN; AUCOUTURIER; DI MARZO, 2012b; HUGHES; PATTERSON, 2020; KOLTYN; BRELENTHIN; COOK; SEHGAL et al., 2014; RAICHLEN; FOSTER; GERDEMAN; SEILLIER et al., 2012; SIEBERS; BIEDERMANN; BINDILA; LUTZ et al.,

2021). Os estudos incluídos possibilitaram a meta-análise para 2-AG considerando uma das intervenções do estudo como experimental e outra como comparador (BRELENTHIN; CROMBIE; HILLARD; KOLTYN, 2017; HUGHES; PATTERSON, 2020; RAICHLIN; FOSTER; GERDEMAN; SEILLIER et al., 2012; SIEBERS; BIEDERMANN; BINDILA; LUTZ et al., 2021). A corrida prescrita, moderada ou leg press leve é superior à corrida preferida, caminhada leve, moderada ou leg press intenso para alterar os níveis circulantes de 2-AG, com heterogeneidade considerável [2-AG= 0,55 pmol/mL (IC 95%: 0,06 a 1,04; I²: 99%); P=0,0273; N=178 - Figura 14]. A análise do efeito do exercício agudo comparado ao repouso sobre os níveis circulantes de 2-AG não foi realizada porque apenas um estudo incluído investigou grupo intervenção e grupo controle repouso.

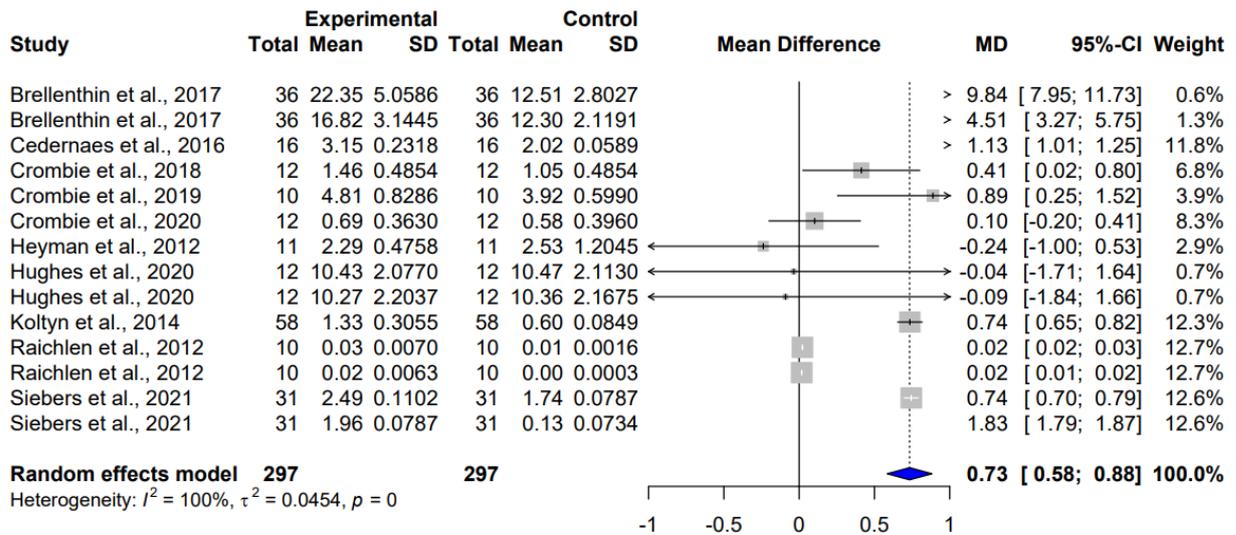
Figura 14 - Forest plot dos resultados da meta-análise da comparação de duas intervenções concorrentes de exercício sobre os níveis circulantes de 2-AG.



Fonte: Elaborada pela autora (2020).

A meta-análise do 2-AG entre resultados basais versus resultados imediatamente pós-exercício (BRELENTHIN; CROMBIE; HILLARD; KOLTYN, 2017; CEDERNAES; FANELLI; FAZZINI; PAGOTTO et al., 2016; CROMBIE; BRELENTHIN; HILLARD; KOLTYN, 2018b; CROMBIE; CISLER; HILLARD; KOLTYN, 2020; CROMBIE; LEITZELAR; BRELENTHIN; HILLARD et al., 2019; HEYMAN; GAMELIN; AUCOUTURIER; DI MARZO, 2012b; HUGHES; PATTERSON, 2020; KOLTYN; BRELENTHIN; COOK; SEHGAL et al., 2014; RAICHLIN; FOSTER; GERDEMAN; SEILLIER et al., 2012; SIEBERS; BIEDERMANN; BINDILA; LUTZ et al., 2021) mostrou que o exercício agudo aumentou a 2-AG, mas, com heterogeneidade considerável [2-AG= 0,73 pmol/mL (IC 95%: 0,58 a 0,88; I²: 100%); P<0,0001; N=594 - Figura 15].

Figura 15 - Forest plot dos resultados da meta-análise da comparação dos valores basais e pós-exercício sobre os níveis circulantes de 2-AG.

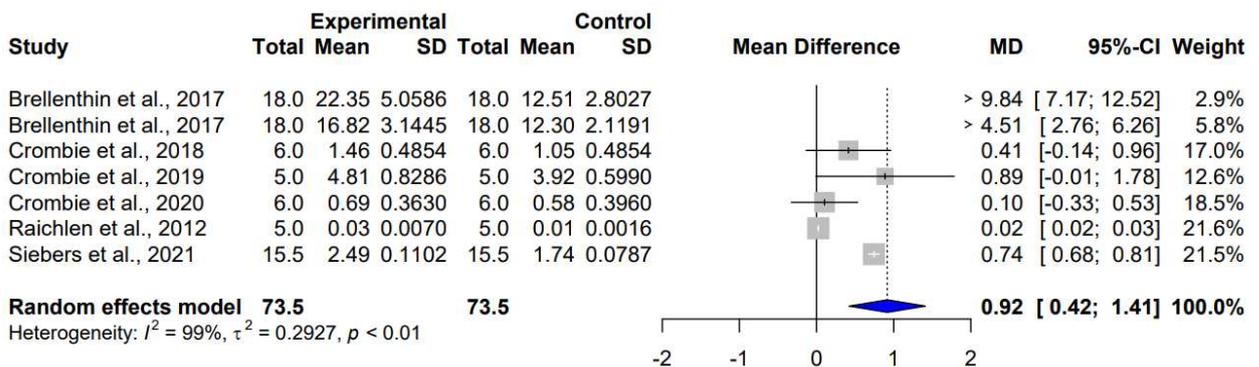


Fonte: Elaborada pela autora (2020).

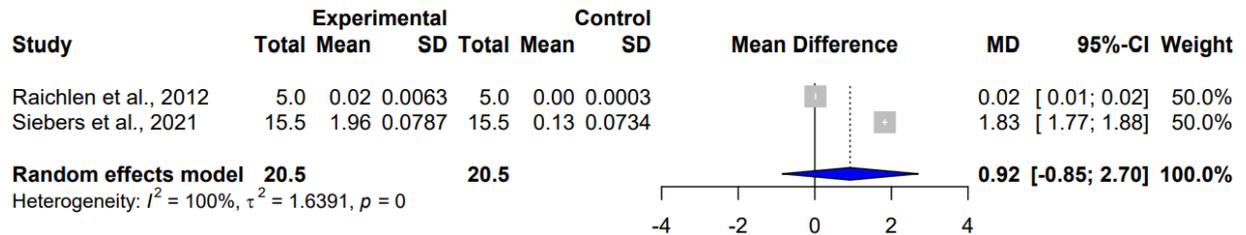
Uma análise de sensibilidade foi realizada considerando a modalidade (corrida, caminhada, ciclismo, pesos livres) e o tipo de exercício (aeróbico e de resistência muscular) para investigar as diferenças nos protocolos. O exercício aeróbico corrida [2-AG= 0,92 pmol/mL (IC 95%: 0,42 a 1,41; I^2 : 99%); $P=0,0003$; $N=147$ - Figura 16 (a)] aumentou o 2-AG circulante com heterogeneidade considerável; o exercício de resistência muscular (curta duração) [2-AG= 0,73 pmol/mL (IC 95%: 0,62 a 0,85; I^2 : 0%); $P<0,0001$; $N=82$ - Figura 16 (d)] também aumentou o 2-AG circulante, porém, sem heterogeneidade. A caminhada [2-AG= 0,92 pmol/mL (IC 95%: -0,85 a 2,70; I^2 : 100%); $P=0,3084$; $N=41$ - Figura 16 (b)] e o ciclismo [2-AG= 0,55 pmol/mL (IC 95%: 0,77 a 1,88; I^2 : 83%); $P=0,4112$; $N=27$ - Figura 16 (c)] não alteraram significativamente os níveis de 2-AG.

Figura 16 - Forest plot dos resultados da meta-análise de sensibilidade por modalidade e tipo de exercício, comparação dos valores basais e pós-exercício sobre os níveis circulantes de 2-AG.

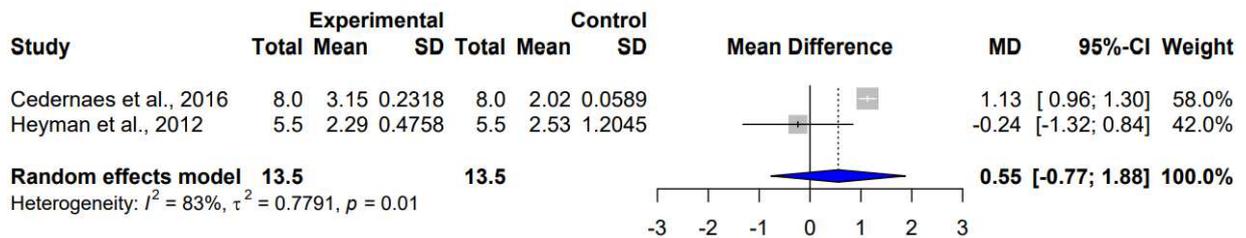
(a)



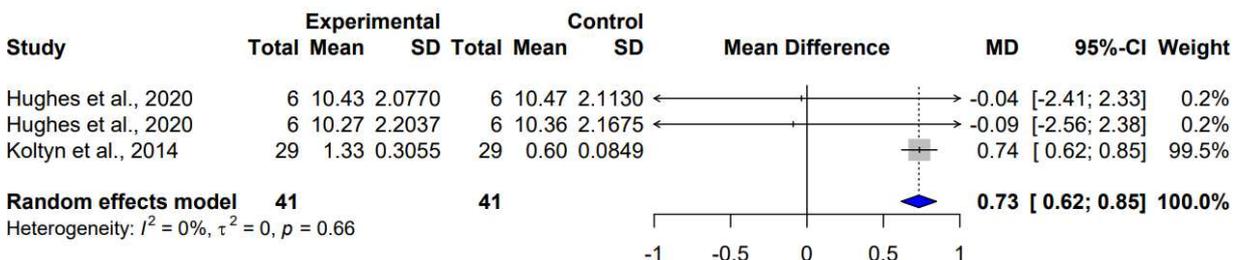
(b)



(c)



(d)



Fonte: Elaborada pela autora (2020). (a) exercício aeróbico corrida; (b) exercício aeróbico caminhada; (c) exercício aeróbico ciclismo; (d) exercício de resistência muscular (curta duração).

4.3.2 Ensaios clínicos não incluídos na meta-análise

O estudo de Bosch et al. (2020) aumentou a AEA circulante imediatamente pós-ciclismo moderado e intenso comparado ao repouso ($P < 0,001$), mas não foi incluído na meta-análise porque apresentou os dados em delta como diferença entre o pós-exercício e valores basais (BOSCH; BRINGARD; LOGRIECO; LAUER et al., 2020). Os resultados de Raichlen et al. (2013), Sparling et al. (2003) e Stone et al. (2018) não foram incluídos na meta-análise porque não apresentaram os valores numéricos do resultado avaliado 2-AG, nem meios para imputar ou extrair os dados faltantes. Os autores informaram somente que não houve efeito significativo do 2-AG circulante pós-intervenção (RAICHLLEN; FOSTER; SEILLIER; GIUFFRIDA et al., 2013; SPARLING; GIUFFRIDA; PIOMELLI; ROSSKOPF et al., 2003; STONE; MILLAR; HERROD; BARRETT et al., 2018). Portanto, os estudos fizeram parte somente da análise qualitativa.

5 DISCUSSÃO

Esta revisão é a primeira a identificar e analisar sistematicamente as evidências sobre os efeitos do exercício agudo sobre os níveis circulantes de endocanabinoides em humanos saudáveis. Considerando as particularidades de cada análise, i) não encontramos aumento significativo nos níveis circulantes de AEA na comparação entre exercício físico e repouso, porém, parece haver uma tendência positiva para o exercício físico do tipo corrida e ciclismo; ii) na síntese entre duas intervenções de exercício do tipo corrida, observamos que a intensidade prescrita, leve e moderada é superior à corrida preferida e intensa ou caminhada para aumentar AEA e 2-AG; iii) além disso, verificamos na comparação entre os valores basais e pós-exercício que todas as intervenções de exercício aumentaram os níveis circulantes de endocanabinoides, exceto caminhada e corrida intensa para AEA e ciclismo moderado mais intenso e leg press leve e intenso para 2-AG. Contudo, os estudos incluídos apresentaram algumas preocupações ou moderado risco de viés e considerável heterogeneidade estatística, o que sugere a necessidade de cautela na interpretação desses resultados. As características metodológicas como desvios das intervenções pretendidas, a falta de clareza dos critérios de inclusão e os potenciais confundidores podem influenciar diretamente nos resultados do estudo.

No presente estudo, não houve alteração significativa nos níveis circulantes de AEA e 2-AG induzida pelo exercício agudo comparado ao repouso. É importante identificar as semelhanças entre os estudos analisados, principalmente em relação ao tipo de exercício (aeróbico), a intensidade (70-80% FC_{máx}), a duração da sessão (45 e 30min) e os grupos controle (ambos em posição sentada por 40-50min). Em contraste, o estudo com maior peso (CROMBIE; CISLER; HILLARD; KOLTYN, 2020) investigou mulheres e não obteve resultado significativo na AEA circulante e o outro estudo (SPARLING; GIUFFRIDA; PIOMELLI; ROSSKOPF et al., 2003) investigou homens e resultou no aumento significativo pós-corrida ($P < 0,01$) e ciclismo ($P < 0,05$), mostrando que o exercício pode alterar o resultado avaliado em comparação ao grupo controle. Nesse contexto, as diferenças entre os sexos pode ter sido determinante no resultado e ser uma das explicações da heterogeneidade nos estudos. Estudos em humanos demonstram que os níveis plasmáticos de AEA variam ao longo do ciclo menstrual normal e período pós-menopausa com picos maiores na fase folicular

(proliferativa) do que na fase lútea (secretora) (CUI; WANG; WANG; ZHANG et al., 2017; EL-TALATINI; TAYLOR; KONJE, 2010). Além disso, a AEA circulante está associada aos níveis de gonadotrofina e esteróides sexuais, sugerindo que os hormônios podem estar envolvidos na regulação dos níveis de AEA durante o ciclo menstrual (CUI; WANG; WANG; ZHANG et al., 2017). No entanto, No entandos, as evidências atuais sobre as diferenças sexuais na expressão e na função do sistema endocanabinoide é baseada, em sua maioria, apenas em dados pré-clínicos. Uma revisão recente identificou que o sexo e os hormônios sexuais afetam a expressão do receptor canabinoide e a afinidade e eficácia dos endocanabinoides, particularmente em roedores fêmeas (BLANTON; BARNES; MCHANN; BILBREY et al., 2021). Neste sentido, os estudos que incluíram mulheres deveriam ter controlado a fase do ciclo menstrual a fim de gerar uma menor influência sobre a função do sistema endocanabinoide. Portanto, a condução de novos estudos com maior rigor metodológico em relação às variáveis estudadas, como por exemplo, o sexo dos indivíduos, pode alterar os resultados desta revisão.

Ao compararmos duas intervenções concorrentes para o resultado avaliado AEA e 2-AG, o grupo experimental composto por intervenções de intensidade moderada foi superior ao comparador, caminhada com intensidade leve. Este resultado sugere que o exercício agudo tem impacto diferencial nos endocanabinoides circulantes dependente da intensidade. Os grupos intervenção são dignos de nota, consistem em intensidade moderada (70 a 85% FC_{máx} ajustada ou 70 a 75% VO₂ estimado), enquanto os grupos controle exibem intensidade leve (<50% FC_{máx}), ambos com sessões de 30 a 45 min incluindo participantes homens e mulheres. Diferentemente, o resultado 2-AG também incluiu o exercício de resistência muscular (curta duração) e apresentou o grupo experimental *leg press* leve superior ao *leg press* intenso, no entanto, comparado ao basal houve uma tendencia de diminuição dos níveis de 2-AG. Em relação a estes resultados, observou-se nos estudos disparidade no nível de atividade física (baixo, moderado, alto ou referido como boa forma recreativa e regularmente ativos) que pode explicar a heterogeneidade dos estudos. Indivíduos com níveis variados de atividade física possivelmente possuem diferenças fisiológicas no sistema endocanabinoide (ANTUNES, H. K.; LEITE, G. S.; LEE, K. S.; BARRETO, A. T. et al., 2016). Por exemplo, indivíduos atletas praticantes de exercício físico em excesso que possuem sintomas de dependência de exercício apresentam níveis de AEA mais baixos após o exercício aeróbico (ANTUNES, H. K.; LEITE, G. S.; LEE, K. S.; BARRETO, A. T. et al., 2016). A expressão gênica da NAPE-PLD, principal enzima envolvida na síntese de AEA, é

regulada para baixo em atletas (SCHONKE; MARTINEZ-TELLEZ; RENSEN, 2020). No entanto, a evidência de diferenças nos níveis circulantes de endocanabinoides dependente do nível de atividade física permanece ambígua. Algumas investigações não encontraram diferenças nos níveis de endocanabinoides basais ou após a realização de exercício entre ativos e sedentários ou de baixo, moderado e alto nível de atividade física (BRELENTHIN; CROMBIE; HILLARD; KOLTYN, 2017; GASPERI; CECI; TANTIMONACO; TALAMONTI et al., 2014). Os resultados desta revisão podem indicar que de acordo com o nível de atividade física, alguns indivíduos podem ter consequências negativas ou uma deficiência potencial, pois o estímulo pode não ser suficiente para promover mudanças no sistema endocanabinoide que está associado à emoção, cognição e recompensa.

Ademais, nossa revisão sistemática com meta-análise mostrou que todos os tipos de intervenções alteraram os níveis circulantes de endocanabinoides em relação aos níveis basais, destacando-se um maior efeito com intensidade moderada e menor efeito com intensidade baixa e alta, por exemplo, caminhada e corrida intensa. Este resultado parece apresentar uma relação em forma de sino ou em U invertido, entre os níveis de endocanabinoide e a intensidade do exercício. Esta curva típica de dose-resposta é similar a outros efeitos biológicos do exercício, no qual uma intensidade moderada aumenta a função fisiológica de diferentes órgãos, a tolerância ao estresse oxidativo, o desempenho cognitivo, a taxa de prevenção contra doenças e melhora a qualidade de vida (RADAK; ISHIHARA; TEKUS; VARGA et al., 2017; SMITH; TALLIS; MILLER; CLARKE et al., 2016). Em contraste, a inatividade física, exercícios extenuantes e *overtraining* aumentam o risco de doenças e diminuem a função fisiológica (RADAK; ISHIHARA; TEKUS; VARGA et al., 2017).

Nossos resultados mostraram, também, diferentes níveis circulantes basais de endocanabinoides, e embora não fosse esperado, podem estar relacionados à idade, dieta, IMC e outros. Por exemplo, o perfil plasmático de AEA, 2-AG e seus congeneres variam ao longo da vida e a ligação aos receptores canabinoides aumenta com a idade em homens e mulheres, inclusive estão associados à longevidade em octogenários (MANCA; CARTA; MURRU; ABOLGHASEMI et al., 2021; VAN LAERE; GOFFIN; CASTEELS; DUPONT et al., 2008). Esta regulação positiva pode ser atribuída ao papel homeostático e modulatório do sistema endocanabinoide, relacionado à compensação de perdas funcionais em outros sistemas de monoaminas (VAN LAERE; GOFFIN; CASTEELS; DUPONT et al., 2008). Também há estudos conflitantes relatando diminuição ou nenhuma mudança nos níveis de AEA durante o

envelhecimento em camundongos do tipo selvagem e nocaute para CB1R (MANCA; CARTA; MURRU; ABOLGHASEMI et al., 2021). A ausência de CB1R e diminuição de AEA acelera o aparecimento de indicadores de envelhecimento incluindo perda neuronal e neuroinflamação crônica (DI MARZO; STELLA; ZIMMER, 2015; WATKINS, 2019b). Esses dados parecem indicar o envolvimento da sinalização endocanabinoide no controle do processo de envelhecimento em funções fisiológicas importantes.

Os estudos incluídos nesta revisão podem ser considerados homogêneos quanto ao IMC ou composição de gordura corporal, além de controlar a dieta consumida através de orientações antes da intervenção ou teste. Esses fatores podem alterar os níveis de AEA e 2-AG e a ação do sistema endocanabinoide (CASTONGUAY-PARADIS; LACROIX; ROCHEFORT; PARENT et al., 2020). A suplementação de PUFAs dietéticos durante 6 meses alterou a produção de endocanabinoides nas células e tecidos (WATKINS, 2019a). Notavelmente, tais ligantes endógenos participam da regulação do comportamento alimentar e do metabolismo de lipídios e carboidratos ao assumir um papel na preferência pelo consumo de certos alimentos (MORENO; CAVIC; CANELA, 2021). Por exemplo, a presença de gordura na cavidade oral ou apresentação dos alimentos (antes do consumo), induz a produção de AEA circulante (mas não 2-AG) seguido por uma redução pós-refeição (HILLARD, 2018), bem como, aumenta a percepção do sabor e ingestão de gordura (MORENO; CAVIC; CANELA, 2021). Ainda, os endocanabinoides circulantes se correlacionam com o IMC e estão significativamente aumentados em indivíduos com adiposidade visceral apontando que a obesidade e outros componentes da síndrome metabólica estão associados à desregulação do sistema endocanabinoide (HILLARD; WEINLANDER; STUHR, 2012). Portanto, é fundamental que os estudos considerem a dieta e medidas de adiposidade precedente à intervenção para minimizar os possíveis efeitos nos resultados estudados.

As respostas psicológicas prévias à exposição ao exercício como o estresse precoce ao exercício em um ambiente de laboratório e pesquisa também podem influenciar nas diferenças dos níveis basais de endocanabinoides. Os endocanabinoides podem ser alterados previamente ao exercício aumentando principalmente os níveis circulantes de 2-AG para inibir respostas agudas ao estresse resultante da ativação do sistema simpático e do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) (DEROON-CASSINI; STOLLENWERK; BEATKA; HILLARD, 2020; HILLARD, 2018). Em geral, a sinalização do sistema endocanabinoide precoce ao exercício é uma resposta normal e benéfica para regular reações psicológicas e

fisiológicas, particularmente os efeitos no processamento de informações da amígdala que é responsável pelo reconhecimento de estímulos no ambiente e respostas comportamentais (CROMBIE; LEITZELAR; BRELLENTHIN; HILLARD et al., 2019; HILL; CAMPOLONGO; YEHUDA; PATEL, 2018), e a restauração da homeostase após o exercício (HILL; MCLAUGHLIN; BINGHAM; SHRESTHA et al., 2010). Outra explicação bem fundamentada para a variação nos níveis basais de endocanabinoides refere-se a um polimorfismo no gene humano FAAH 385A. A presença desse polimorfismo está associada à maiores níveis de AEA no sangue (HILLARD; WEINLANDER; STUHR, 2012). Nenhum estudo incluído realizou teste genético, mas a randomização dos participantes do estudo pode minimizar esse efeito.

As limitações dos estudos incluídos nesta revisão sistemática com meta-análise devem ser consideradas. Os estudos incluídos nesta revisão não padronizaram a hora do dia para avaliar os endocanabinoides circulantes; e isso pode ter influenciado nos resultados visto que o ritmo circadiano pode influenciar na sinalização endocanabinoide através da modulação da síntese, degradação e mecanismos de transportes. Alguns estudos examinaram as variações dos níveis circulantes de endocanabinoides circulantes em um período de 24h e observaram que a AEA apresenta dois picos, noturno no início do sono e diurno no meio da tarde, enquanto o perfil de 2-AG é caracterizado por um único pico no início da tarde (HANLON, 2020; HANLON; LEPROULT; STUHR; DONCHECK et al., 2020; HANLON; TASALI; LEPROULT; STUHR et al., 2015). A relevância funcional dessas flutuações ainda não está clara, mas do meio da manhã ao meio da tarde, as concentrações de ambos endocanabinoides parecem aumentar em conjunto, embora muito mais rapidamente para 2-AG do que para AEA (HANLON, 2020). Além disso, nem todos os estudos incluídos relataram dados que poderiam ser usados na meta-análise, e os autores não responderam às solicitações desses dados dificultando a realização de mais análises.

Os pontos fortes dessa revisão consistem na busca ampla nas principais bases de dados e na literatura cinzenta, bem como, na avaliação de risco de viés em ferramentas recomendadas para cada tipo de estudo. Por outro lado, o risco de viés e a heterogeneidade estatística dos estudos disponíveis podem ser considerados limitações dessa revisão.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta revisão sistemática com meta-análise fornece evidências de que o exercício agudo moderado é um contribuinte para o aumento dos níveis de endocanabinoides circulantes, porém, o risco de viés e a heterogeneidade estatística dos estudos disponíveis podem limitar as conclusões. A partir disso, pesquisas adicionais são recomendadas para complementar esses achados usando um desenho randomizado controlado, amostras maiores e empregando estratégias para minimizar a influência de fatores de confusão como sexo, idade e nível de atividade física.

REFERÊNCIAS

- ANTUNES, H. K.; LEITE, G. S.; LEE, K. S.; BARRETO, A. T. *et al.* Exercise deprivation increases negative mood in exercise-addicted subjects and modifies their biochemical markers. **Physiol Behav**, 156, p. 182-190, Mar 15 2016.
- ANTUNES, H. K. M.; LEITE, G. S. F.; LEE, K. S.; BARRETO, A. T. *et al.* Exercise deprivation increases negative mood in exercise-addicted subjects and modifies their biochemical markers. **Physiology & Behavior**, 156, p. 182-190, Mar 2016.
- BIRINGER, R. G. The rise and fall of anandamide: processes that control synthesis, degradation, and storage. **Mol Cell Biochem**, Mar 2021.
- BISOGNO, T.; HOWELL, F.; WILLIAMS, G.; MINASSI, A. *et al.* Cloning of the first sn1-DAG lipases points to the spatial and temporal regulation of endocannabinoid signaling in the brain. **J Cell Biol**, 163, n. 3, p. 463-468, Nov 2003.
- BLANKMAN, J. L.; CRAVATT, B. F. Chemical probes of endocannabinoid metabolism. **Pharmacol Rev**, 65, n. 2, p. 849-871, Apr 2013.
- BLANTON, H. L.; BARNES, R. C.; MCHANN, M. C.; BILBREY, J. A. *et al.* Sex differences and the endocannabinoid system in pain. **Pharmacol Biochem Behav**, 202, p. 173107, Mar 2021.
- BOSCH, B. M.; BRINGARD, A.; LOGRIECO, M. G.; LAUER, E. *et al.* Effect of acute physical exercise on motor sequence memory. **Scientific Reports**, 10, n. 1, Sep 2020.
- BRELLENTHIN, A. G.; CROMBIE, K. M.; HILLARD, C. J.; KOLTYN, K. F. Endocannabinoid and Mood Responses to Exercise in Adults with Varying Activity Levels. **Med Sci Sports Exerc**, 49, n. 8, p. 1688-1696, Aug 2017.
- CARRERA, J.; TOMBERLIN, J.; KURTZ, J.; KARAKAYA, E. *et al.* Endocannabinoid Signaling for GABAergic-Microglia (Mis)Communication in the Brain Aging. **Front Neurosci**, 14, p. 606808, 2020.
- CASTONGUAY-PARADIS, S.; LACROIX, S.; ROCHEFORT, G.; PARENT, L. *et al.* Dietary fatty acid intake and gut microbiota determine circulating endocannabinoidome signaling beyond the effect of body fat. **Sci Rep**, 10, n. 1, p. 15975, 09 2020.
- CEDERNAES, J.; FANELLI, F.; FAZZINI, A.; PAGOTTO, U. *et al.* Sleep restriction alters plasma endocannabinoids concentrations before but not after exercise in humans. **Psychoneuroendocrinology**, 74, p. 258-268, Dec 2016.
- CHARYTONIUK, T.; ZYWNO, H.; KONSTANTYNOWICZ-NOWICKA, K.; BERK, K. *et al.* Can Physical Activity Support the Endocannabinoid System in the Preventive and Therapeutic Approach to Neurological Disorders? **Int J Mol Sci**, 21, n. 12, Jun 2020.

CROMBIE, K. M.; BRELLENTHIN, A. G.; HILLARD, C. J.; KOLTYN, K. F. Endocannabinoid and Opioid System Interactions in Exercise-Induced Hypoalgesia. **Pain Med**, 19, n. 1, p. 118-123, Jan 1 2018a.

CROMBIE, K. M.; BRELLENTHIN, A. G.; HILLARD, C. J.; KOLTYN, K. F. Psychobiological Responses to Aerobic Exercise in Individuals With Posttraumatic Stress Disorder. **J Trauma Stress**, 31, n. 1, p. 134-145, Feb 2018b.

CROMBIE, K. M.; CISLER, J. M.; HILLARD, C. J.; KOLTYN, K. F. Aerobic exercise reduces anxiety and fear ratings to threat and increases circulating endocannabinoids in women with and without PTSD. **Mental Health and Physical Activity**, 2020. Article in Press.

CROMBIE, K. M.; LEITZELAR, B. N.; BRELLENTHIN, A. G.; HILLARD, C. J. *et al.* Loss of exercise- and stress-induced increases in circulating 2-arachidonoylglycerol concentrations in adults with chronic PTSD. **Biol Psychol**, 145, p. 1-7, Jul 2019.

CUI, N.; WANG, L.; WANG, W.; ZHANG, J. *et al.* The correlation of anandamide with gonadotrophin and sex steroid hormones during the menstrual cycle. **Iran J Basic Med Sci**, 20, n. 11, p. 1268-1274, Nov 2017.

DEROON-CASSINI, T. A.; STOLLENWERK, T. M.; BEATKA, M.; HILLARD, C. J. Meet Your Stress Management Professionals: The Endocannabinoids. **Trends Mol Med**, 26, n. 10, p. 953-968, 10 2020.

DEVANE, W. A.; HANUS, L.; BREUER, A.; PERTWEE, R. G. *et al.* Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. **Science**, 258, n. 5090, p. 1946-1949, Dec 1992.

DI LIEGRO, C. M.; SCHIERA, G.; PROIA, P.; DI LIEGRO, I. Physical activity and brain health. **Genes**, 10, n. 9, 2019. Review.

DI MARZO, V. New approaches and challenges to targeting the endocannabinoid system. **Nat Rev Drug Discov**, 17, n. 9, p. 623-639, 09 2018.

DI MARZO, V.; STELLA, N.; ZIMMER, A. Endocannabinoid signalling and the deteriorating brain. **Nat Rev Neurosci**, 16, n. 1, p. 30-42, Jan 2015.

DI SCALA, C.; FANTINI, J.; YAHI, N.; BARRANTES, F. J. *et al.* Anandamide Revisited: How Cholesterol and Ceramides Control Receptor-Dependent and Receptor-Independent Signal Transmission Pathways of a Lipid Neurotransmitter. **Biomolecules**, 8, n. 2, 05 2018.

DIETRICH, A.; MCDANIEL, W. F. Endocannabinoids and exercise. **Br J Sports Med**, 38, n. 5, p. 536-541, Oct 2004.

EL-TALATINI, M. R.; TAYLOR, A. H.; KONJE, J. C. The relationship between plasma levels of the endocannabinoid, anandamide, sex steroids, and gonadotrophins during the menstrual cycle. **Fertil Steril**, 93, n. 6, p. 1989-1996, Apr 2010.

FLETCHER-JONES, A.; HILDICK, K. L.; EVANS, A. J.; NAKAMURA, Y. *et al.* Protein Interactors and Trafficking Pathways That Regulate the Cannabinoid Type 1 Receptor (CB1R). **Front Mol Neurosci**, 13, p. 108, 2020.

FOWLER, C. J. Transport of endocannabinoids across the plasma membrane and within the cell. **FEBS J**, 280, n. 9, p. 1895-1904, May 2013.

FREITAS, H. R.; ISAAC, A. R.; MALCHER-LOPES, R.; DIAZ, B. L. *et al.* Polyunsaturated fatty acids and endocannabinoids in health and disease. **Nutr Neurosci**, 21, n. 10, p. 695-714, Dec 2018.

GASPERI, V.; CECI, R.; TANTIMONACO, M.; TALAMONTI, E. *et al.* The fatty acid amide hydrolase in lymphocytes from sedentary and active subjects. **Med Sci Sports Exerc**, 46, n. 1, p. 24-32, Jan 2014.

HANLON, E. C. Impact of circadian rhythmicity and sleep restriction on circulating endocannabinoid (eCB) N-arachidonylethanolamine (anandamide). **Psychoneuroendocrinology**, 111, p. 104471, 2020.

HANLON, E. C.; LEPROULT, R.; STUHR, K. L.; DONCHECK, E. M. *et al.* Circadian Misalignment of the 24-hour Profile of Endocannabinoid 2-Arachidonoylglycerol (2-AG) in Obese Adults. **J Clin Endocrinol Metab**, 105, n. 3, 03 2020.

HANLON, E. C.; TASALI, E.; LEPROULT, R.; STUHR, K. L. *et al.* Circadian rhythm of circulating levels of the endocannabinoid 2 arachidonoylglycerol. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, 100, n. 1, p. 220-226, 2015. Article.

HARGREAVES, M.; SPRIET, L. L. Skeletal muscle energy metabolism during exercise. **Nat Metab**, 2, n. 9, p. 817-828, 09 2020.

HASPULA, D.; CLARK, M. A. Cannabinoid Receptors: An Update on Cell Signaling, Pathophysiological Roles and Therapeutic Opportunities in Neurological, Cardiovascular, and Inflammatory Diseases. **Int J Mol Sci**, 21, n. 20, Oct 2020.

HAWLEY, J. A.; HARGREAVES, M.; JOYNER, M. J.; ZIERATH, J. R. Integrative biology of exercise. **Cell**, 159, n. 4, p. 738-749, Nov 2014.

HEYMAN, E.; GAMELIN, F. X.; AUCOUTURIER, J.; DI MARZO, V. The role of the endocannabinoid system in skeletal muscle and metabolic adaptations to exercise: Potential implications for the treatment of obesity. **Obesity Reviews**, 13, n. 12, p. 1110-1124, 2012a. Review.

HEYMAN, E.; GAMELIN, F. X.; AUCOUTURIER, J.; DI MARZO, V. The role of the endocannabinoid system in skeletal muscle and metabolic adaptations to exercise: potential implications for the treatment of obesity. **Obes Rev**, 13, n. 12, p. 1110-1124, Dec 2012b.

HEYMAN, E.; GAMELIN, F. X.; GOEKINT, M.; PISCITELLI, F. *et al.* Intense exercise increases circulating endocannabinoid and BDNF levels in humans-Possible implications for reward and depression. **Psychoneuroendocrinology**, 37, n. 6, p. 844-851, Jun 2012.

HICKS, S. D.; JACOB, P.; PEREZ, O.; BAFFUTO, M. *et al.* The Transcriptional Signature of a Runner's High. **Med Sci Sports Exerc**, 51, n. 5, p. 970-978, May 2019.

HIGGINS JPT, THOMAS J, CHANDLER J, CUMPSTON M, LI T, PAGE MJ, WELCH VA. Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions version 6.0 (updated July 2019). Cochrane, 2019.

HILL, M. N.; CAMPOLONGO, P.; YEHUDA, R.; PATEL, S. Integrating Endocannabinoid Signaling and Cannabinoids into the Biology and Treatment of Posttraumatic Stress Disorder. **Neuropsychopharmacology**, 43, n. 1, p. 80-102, Jan 2018.

HILL, M. N.; MCLAUGHLIN, R. J.; BINGHAM, B.; SHRESTHA, L. *et al.* Endogenous cannabinoid signaling is essential for stress adaptation. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 107, n. 20, p. 9406-9411, May 2010.

HILLARD, C. J. Circulating Endocannabinoids: From Whence Do They Come and Where are They Going? **Neuropsychopharmacology**, 43, n. 1, p. 155-172, Jan 2018.

HILLARD, C. J.; WEINLANDER, K. M.; STUHR, K. L. Contributions of endocannabinoid signaling to psychiatric disorders in humans: genetic and biochemical evidence. **Neuroscience**, 204, p. 207-229, Mar 2012.

HIND, W. H.; TUFARELLI, C.; NEOPHYTOU, M.; ANDERSON, S. I. *et al.* Endocannabinoids modulate human blood-brain barrier permeability in vitro. **Br J Pharmacol**, 172, n. 12, p. 3015-3027, Jun 2015.

HOFER, S. C.; RALVENIUS, W. T.; GACHET, M. S.; FRITSCHY, J. M. *et al.* Localization and production of peptide endocannabinoids in the rodent CNS and adrenal medulla. **Neuropharmacology**, 98, p. 78-89, Nov 2015.

HUA, T.; LI, X.; WU, L.; ILIOPOULOS-TSOUTSOUVAS, C. *et al.* Activation and Signaling Mechanism Revealed by Cannabinoid Receptor-G. **Cell**, 180, n. 4, p. 655-665.e618, 02 2020.

HUGHES, L.; PATTERSON, S. D. The effect of blood flow restriction exercise on exercise-induced hypoalgesia and endogenous opioid and endocannabinoid mechanisms of pain modulation. **J Appl Physiol (1985)**, 128, n. 4, p. 914-924, Apr 1 2020.

JOURDAN, T.; GODLEWSKI, G.; KUNOS, G. Endocannabinoid regulation of β -cell functions: implications for glycaemic control and diabetes. **Diabetes Obes Metab**, 18, n. 6, p. 549-557, 06 2016.

KACZOCHA, M.; GLASER, S. T.; DEUTSCH, D. G. Identification of intracellular carriers for the endocannabinoid anandamide. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 106, n. 15, p. 6375-6380, Apr 2009.

KOLTYN, K. F.; BRELLENTHIN, A. G.; COOK, D. B.; SEHGAL, N. *et al.* Mechanisms of exercise-induced hypoalgesia. **J Pain**, 15, n. 12, p. 1294-1304, Dec 2014.

- LANE, J. R.; BEUKERS, M. W.; MULDER-KRIEGER, T.; IJZERMAN, A. P. The endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol is a negative allosteric modulator of the human A3 adenosine receptor. **Biochem Pharmacol**, 79, n. 1, p. 48-56, Jan 2010.
- LI, X.; HUA, T.; VEMURI, K.; HO, J. H. *et al.* Crystal Structure of the Human Cannabinoid Receptor CB2. **Cell**, 176, n. 3, p. 459-467.e413, 01 2019.
- LOPRINZI, P. D.; ZOU, L. Y.; LI, H. The Endocannabinoid System as a Potential Mechanism through which Exercise Influences Episodic Memory Function. **Brain Sciences**, 9, n. 5, May 2019.
- LU, H. C.; MACKIE, K. An Introduction to the Endogenous Cannabinoid System. **Biol Psychiatry**, 79, n. 7, p. 516-525, Apr 2016.
- LU, H. C.; MACKIE, K. Review of the Endocannabinoid System. **Biol Psychiatry Cogn Neurosci Neuroimaging**, Aug 2020.
- LUCHICCHI, A.; PISTIS, M. Anandamide and 2-arachidonoylglycerol: pharmacological properties, functional features, and emerging specificities of the two major endocannabinoids. **Mol Neurobiol**, 46, n. 2, p. 374-392, Oct 2012.
- MACCARRONE, M. Metabolism of the Endocannabinoid Anandamide: Open Questions after 25 Years. **Front Mol Neurosci**, 10, p. 166, 2017.
- MACCARRONE, M.; FIORI, A.; BARI, M.; GRANATA, F. *et al.* Regulation by cannabinoid receptors of anandamide transport across the blood-brain barrier and through other endothelial cells. **Thromb Haemost**, 95, n. 1, p. 117-127, Jan 2006.
- MACCARRONE, M.; GUZMÁN, M.; MACKIE, K.; DOHERTY, P. *et al.* Programming of neural cells by (endo)cannabinoids: from physiological rules to emerging therapies. **Nat Rev Neurosci**, 15, n. 12, p. 786-801, Dec 2014.
- MACKIE, K. Distribution of cannabinoid receptors in the central and peripheral nervous system. **Handb Exp Pharmacol**, n. 168, p. 299-325, 2005.
- MANCA, C.; CARTA, G.; MURRU, E.; ABOLGHASEMI, A. *et al.* Circulating fatty acids and endocannabinoidome-related mediator profiles associated to human longevity. **Geroscience**, Mar 2021.
- MARAMAI, S.; BRINDISI, M. Targeting Endocannabinoid Metabolism: an Arrow with Multiple Tips Against Multiple Sclerosis. **ChemMedChem**, 15, n. 21, p. 1985-2003, Nov 2020.
- MARICHAL-CANCINO, B. A.; FAJARDO-VALDEZ, A.; RUIZ-CONTRERAS, A. E.; MENDEZ-DÍAZ, M. *et al.* Advances in the Physiology of GPR55 in the Central Nervous System. **Curr Neuropharmacol**, 15, n. 5, p. 771-778, 2017.

- MATSUDA, L. A.; LOLAIT, S. J.; BROWNSTEIN, M. J.; YOUNG, A. C. *et al.* Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. **Nature**, 346, n. 6284, p. 561-564, Aug 1990.
- MCGUINNESS, LA, HIGGINS, JPT. Risk-of-bias VISualization (robvis): An R package and Shiny web app for visualizing risk-of-bias assessments. *Res Syn Meth.* 2020; 1- 7. <https://doi.org/10.1002/jrsm.1411>.
- MCKENZIE JE, BRENNAN SE, RYAN RE, THOMSON HJ, JOHNSTON RV, THOMAS J. Chapter 3: Defining the criteria for including studies and how they will be grouped for the synthesis. In: Higgins JPT, Thomas J, Chandler J, Cumpston M, Li T, Page MJ, Welch VA (editors). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions version 6.1 (updated September 2020)*. Cochrane, 2020. Available from www.training.cochrane.org/handbook.
- MECHOULAM, R.; BEN-SHABAT, S.; HANUS, L.; LIGUMSKY, M. *et al.* Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. **Biochem Pharmacol**, 50, n. 1, p. 83-90, Jun 1995.
- MECHOULAM, R.; HANUŠ, L. O.; PERTWEE, R.; HOWLETT, A. C. Early phytocannabinoid chemistry to endocannabinoids and beyond. **Nat Rev Neurosci**, 15, n. 11, p. 757-764, 11 2014.
- MELGAR-LESMES, P.; PERRAMON, M.; JIMÉNEZ, W. Roles of the Hepatic Endocannabinoid and Apelin Systems in the Pathogenesis of Liver Fibrosis. **Cells**, 8, n. 11, 10 2019.
- MOOLA S, MUNN Z, TUFANARU C, AROMATARIS E, SEARS K, SFETCU R, CURRIE M, LISY K, QURESHI R, MATTIS P, MU P. Chapter 7: Systematic reviews of etiology and risk. In: Aromataris E, Munn Z (Editors). *JBI Manual for Evidence Synthesis*. JBI, 2020. Available from <https://synthesismanual.jbi.global>. <https://doi.org/10.46658/JBIMES-20-08>.
- MORALES, P.; GOYA, P.; JAGEROVIC, N.; HERNANDEZ-FOLGADO, L. Allosteric Modulators of the CB. **Cannabis Cannabinoid Res**, 1, n. 1, p. 22-30, 2016.
- MORENO, E.; CAVIC, M.; CANELA, E. I. Functional Fine-Tuning of Metabolic Pathways by the Endocannabinoid System-Implications for Health and Disease. **Int J Mol Sci**, 22, n. 7, Apr 2021.
- MUNN, Z.; BARKER, T. H.; MOOLA, S.; TUFANARU, C. *et al.* Methodological quality of case series studies: an introduction to the JBI critical appraisal tool. **JBI Evid Synth**, 18, n. 10, p. 2127-2133, 10 2020.
- MUNRO, S.; THOMAS, K. L.; ABU-SHAAR, M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. **Nature**, 365, n. 6441, p. 61-65, Sep 1993.
- O'SULLIVAN, S. E. An update on PPAR activation by cannabinoids. **Br J Pharmacol**, 173, n. 12, p. 1899-1910, 06 2016.

ODDI, S.; SCIPIONI, L.; MACCARRONE, M. Endocannabinoid system and adult neurogenesis: a focused review. **Curr Opin Pharmacol**, 50, p. 25-32, 02 2020.

OKAMOTO, Y.; MORISHITA, J.; TSUBOI, K.; TONAI, T. *et al.* Molecular characterization of a phospholipase D generating anandamide and its congeners. **J Biol Chem**, 279, n. 7, p. 5298-5305, Feb 2004.

OUZZANI, M.; HAMMADY, H.; FEDOROWICZ, Z.; ELMAGARMID, A. Rayyan-a web and mobile app for systematic reviews. **Syst Rev**, 5, n. 1, p. 210, 12 2016.

PAGE, M. J.; MCKENZIE, J. E.; BOSSUYT, P. M.; BOUTRON, I. *et al.* The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. **Syst Rev**, 10, n. 1, p. 89, Mar 2021.

PAMPLONA, F. A.; FERREIRA, J.; MENEZES DE LIMA, O.; DUARTE, F. S. *et al.* Anti-inflammatory lipoxin A4 is an endogenous allosteric enhancer of CB1 cannabinoid receptor. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 109, n. 51, p. 21134-21139, Dec 2012.

PETRUCCI, V.; CHICCA, A.; GLASMACHER, S.; PALOCZI, J. *et al.* Peppan-12 (RVD-hemopressin) is a CB2 receptor positive allosteric modulator constitutively secreted by adrenals and in liver upon tissue damage. **Sci Rep**, 7, n. 1, p. 9560, 08 2017.

PIOMELLI, D. The molecular logic of endocannabinoid signalling. **Nat Rev Neurosci**, 4, n. 11, p. 873-884, Nov 2003.

PIOMELLI, D.; SCALVINI, L.; FOTIO, Y.; LODOLA, A. *et al.* -Acylethanolamine Acid Amidase (NAAA): Structure, Function, and Inhibition. **J Med Chem**, 63, n. 14, p. 7475-7490, 07 2020.

QURAIISHI, S. A.; PALADINI, C. A. A Central Move for CB2 Receptors. **Neuron**, 90, n. 4, p. 670-671, 05 2016.

RADAK, Z.; ISHIHARA, K.; TEKUS, E.; VARGA, C. *et al.* Exercise, oxidants, and antioxidants change the shape of the bell-shaped hormesis curve. **Redox Biol**, 12, p. 285-290, 08 2017.

RAICHLLEN, D. A.; FOSTER, A. D.; GERDEMAN, G. L.; SEILLIER, A. *et al.* Wired to run: exercise-induced endocannabinoid signaling in humans and cursorial mammals with implications for the 'runner's high'. **J Exp Biol**, 215, n. Pt 8, p. 1331-1336, Apr 15 2012.

RAICHLLEN, D. A.; FOSTER, A. D.; SEILLIER, A.; GIUFFRIDA, A. *et al.* Exercise-induced endocannabinoid signaling is modulated by intensity. **Eur J Appl Physiol**, 113, n. 4, p. 869-875, Apr 2013.

REGNAUX, J. P.; LEFEVRE-COLAUX, M. M.; TRINQUART, L.; NGUYEN, C. *et al.* High-intensity versus low-intensity physical activity or exercise in people with hip or knee osteoarthritis. **Cochrane Database Syst Rev**, n. 10, p. CD010203, Oct 2015.

- RIQUELME-SANDOVAL, A.; DE SÁ-FERREIRA, C. O.; MIYAKOSHI, L. M.; HEDIN-PEREIRA, C. New Insights Into Peptide Cannabinoids: Structure, Biosynthesis and Signaling. **Front Pharmacol**, 11, p. 596572, 2020.
- SCHONKE, M.; MARTINEZ-TELLEZ, B.; RENSEN, P. C. N. Role of the endocannabinoid system in the regulation of the skeletal muscle response to exercise. **Current Opinion in Pharmacology**, 52, p. 52-60, Jun 2020.
- SIEBERS, M.; BIEDERMANN, S. V.; BINDILA, L.; LUTZ, B. *et al.* Exercise-induced euphoria and anxiolysis do not depend on endogenous opioids in humans. **Psychoneuroendocrinology**, 126, 2021. Article.
- SMITH, M.; TALLIS, J.; MILLER, A.; CLARKE, N. D. *et al.* The effect of exercise intensity on cognitive performance during short duration treadmill running. **J Hum Kinet**, 51, p. 27-35, Jun 2016.
- SPARLING, P. B.; GIUFFRIDA, A.; PIOMELLI, D.; ROSSKOPF, L. *et al.* Exercise activates the endocannabinoid system. **Neuroreport**, 14, n. 17, p. 2209-2211, Dec 2 2003.
- STENSSON, N.; GRIMBY-EKMAN, A. Altered relationship between anandamide and glutamate in circulation after 30 min of arm cycling: A comparison of chronic pain subject with healthy controls. **Molecular Pain**, 15, 2019. Article.
- STERNE, J. A.; HERNÁN, M. A.; REEVES, B. C.; SAVOVIĆ, J. *et al.* ROBINS-I: a tool for assessing risk of bias in non-randomised studies of interventions. **BMJ**, 355, p. i4919, Oct 2016.
- STERNE, J. A. C.; SAVOVIĆ, J.; PAGE, M. J.; ELBERS, R. G. *et al.* RoB 2: a revised tool for assessing risk of bias in randomised trials. **BMJ**, 366, p. 14898, 08 2019.
- STONE, N. L.; MILLAR, S. A.; HERROD, P. J. J.; BARRETT, D. A. *et al.* An Analysis of Endocannabinoid Concentrations and Mood Following Singing and Exercise in Healthy Volunteers. **Front Behav Neurosci**, 12, p. 269, 2018.
- SUGIURA, T.; KONDO, S.; SUKAGAWA, A.; NAKANE, S. *et al.* 2-Arachidonoylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. **Biochem Biophys Res Commun**, 215, n. 1, p. 89-97, Oct 1995.
- TANTIMONACO, M.; CECI, R.; SABATINI, S.; CATANI, M. V. *et al.* Physical activity and the endocannabinoid system: an overview. **Cell Mol Life Sci**, 71, n. 14, p. 2681-2698, Jul 2014.
- TOCZEK, M.; MALINOWSKA, B. Enhanced endocannabinoid tone as a potential target of pharmacotherapy. **Life Sci**, 204, p. 20-45, Jul 2018.
- TURCOTTE, C.; BLANCHET, M. R.; LAVIOLETTE, M.; FLAMAND, N. The CB. **Cell Mol Life Sci**, 73, n. 23, p. 4449-4470, 12 2016.

VAN LAERE, K.; GOFFIN, K.; CASTEELS, C.; DUPONT, P. *et al.* Gender-dependent increases with healthy aging of the human cerebral cannabinoid-type 1 receptor binding using [(18)F]MK-9470 PET. **Neuroimage**, 39, n. 4, p. 1533-1541, Feb 2008.

WATKINS, B. A. Diet, endocannabinoids, and health. **Nutr Res**, 70, p. 32-39, Oct 2019a.

WATKINS, B. A. Diet, endocannabinoids, and health. **Nutrition Research**, 70, p. 32-39, 2019b. Review.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Physical activity. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/physical-activity> (2018) Accessed 16 october 2020.

YE, L.; CAO, Z.; WANG, W.; ZHOU, N. New Insights in Cannabinoid Receptor Structure and Signaling. **Curr Mol Pharmacol**, 12, n. 3, p. 239-248, 2019.

ZOU, S.; KUMAR, U. Cannabinoid Receptors and the Endocannabinoid System: Signaling and Function in the Central Nervous System. **Int J Mol Sci**, 19, n. 3, Mar 2018.

ZYGMUNT, P. M.; ERMUND, A.; MOVAHED, P.; ANDERSSON, D. A. *et al.* Monoacylglycerols activate TRPV1--a link between phospholipase C and TRPV1. **PLoS One**, 8, n. 12, p. e81618, 2013.

APÊNDICE A – Protocolo de revisão sistemática e meta-análise

OS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO NOS NÍVEIS CIRCULANTES DE ENDOCANABINOIDES - UM PROTOCOLO PARA UMA REVISÃO SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE

Revista sugerida para publicação: Systematic Reviews

Qualis (2013-2016): B3

Fator de impacto (2019): 2.479

Autores: Viviane Bristot¹, Giorgio Poletto¹, Débora Maria Russiano Pereira², Ione Jayce Ceola Schneider³, Aderbal S Aguiar Jr¹

Afiliação institucional

1 LABIOEX-Laboratório de Biologia do Exercício, Departamento de Ciências da Saúde, UFSC-Universidade Federal de Santa Catarina, Araranguá, SC, Brasil

2 Bibliotecário-documentalista, Biblioteca Setorial do Campus Araranguá, UFSC-Universidade Federal de Santa Catarina, Araranguá, SC, Brasil

3 LABEPI-Laboratório de Epidemiologia, Departamento de Ciências da Saúde e Programa de Pós-Graduação em Reabilitação, UFSC-Universidade Federal de Santa Catarina, Araranguá, Santa Catarina, Brasil

Autor correspondente: Prof. Aderbal S Aguiar Jr, Departamento de Ciências da Saúde, UFSC-Universidade Federal de Santa Catarina, 88905-120, Araranguá - SC, Brasil. Tel.: +55 (48) 99647-3639. <https://labioex.ufsc.br>

RESUMO

Introdução: O exercício aumenta os endocanabinoides circulantes. Esse fenômeno está associado ao barato do corredor, um estado de euforia e bem-estar experimentado após exercícios longos. Forneceremos neste protocolo uma metodologia transparente e padronizada para a realização de uma revisão sistemática e meta-análise para sintetizar as evidências disponíveis sobre os efeitos do exercício físico nos níveis circulantes de endocanabinoides em indivíduos saudáveis. **Métodos:** PubMed, EMBASE, Web of Science, CINAHL, SPORTDiscus e Scopus serão as bases de dados. As estratégias de pesquisa combinarão termos *Medical Subject Headings* (MeSH) e palavras de texto livre, incluindo "exercise", "exercise, physical", "exercise training", "physical activity", "endocannabinoids", "2-arachidonoyl-glycerol", "glyceryl 2-arachidonate", "2-AG", "anandamide", "AEA", "n-arachidonylethanolamide", "adult", "young adult" e "middle aged". Selecionaremos estudos experimentais ou quase experimentais publicados até março de 2021. A seleção dos estudos, a extração dos dados, a avaliação do risco de viés e a qualidade das evidências serão realizadas de forma pareada e independente, e a consistência será avaliada pela estatística de Cohen Kappa. A qualidade metodológica será avaliada através da *Revised Cochrane risk of bias tool for randomized trials* (RoB 2) e a *Risk Of Bias In Nonrandomized Studies of Interventions* (ROBINS-I). Usaremos o *Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation* (GRADE) para avaliar a qualidade das evidências. A heterogeneidade será medida pelos testes χ^2 e I^2 . Avaliaremos o viés de publicação através do gráfico de funil e o teste de Egger. Uma meta-análise para cada comparação de dados será realizada quando possível para determinar o efeito do exercício físico sobre os níveis circulantes dos endocanabinoides.

Palavras-chave: Exercício. Atividade física. Endocanabinoides. Gliceril 2-araquidonato. 2-araquidonilglicerol. Anandamida. N-araquidoniletanolamida. Sistema endocanabinoide. Nível de endocanabinoide no sangue. Revisão sistemática.

ABSTRACT

Introduction: Exercise increases the circulating endocannabinoids. This phenomenon is associated with runner's high, a state of euphoria and well-being experienced after long exercise. We will provide in this protocol a transparent and standardized methodology for conducting a systematic review and meta-analysis for synthesizing the available evidence on the effects of physical exercise on the circulating levels of endocannabinoids in healthy subjects. **Methods:** PubMed, EMBASE, Web of Science, CINAHL, SPORTDiscus, and Scopus will be the databases. Search strategies will combine medical subject headings (MeSH) terms and free text words, including "exercise" "exercise, physical," "exercise training," "physical activity," "endocannabinoids," "2-arachidonoyl-glycerol," "glyceryl 2-arachidonate," "2-AG," "anandamide," "AEA," "n-arachidonylethanolamide," "adult," "young adult," and "middle-aged." We will select experimental or quasi-experimental studies published through March 2021. The selection of studies, data extraction, assessment of the risk of bias, and the quality of evidence will be carried out in a paired and independent manner, and the consistency will be assessed using the statistics of Cohen Kappa. Methodological quality will be assessed using the Revised Cochrane risk of bias tool for randomized trials (RoB 2) and the Risk Of Bias In Nonrandomized Studies of Interventions (ROBINS-I) risk tool. We will use the Grading of Recommendations Assessment, Development, and Evaluation (GRADE) to assess the evidence's quality, χ^2 and I^2 tests for heterogeneity, funnel plots and Egger test for publication bias. A meta-analysis for each data comparison will be performed whenever possible to determine the effect of physical exercise on the circulating levels of endocannabinoids.

Keywords: Exercise. Physical activity. Endocannabinoids. Glyceryl 2-arachidonate. 2 arachidonoylglycerol. Anandamide. N arachidonylethanolamine. Endocannabinoid system. Endocannabinoid blood level. Systematic review.

INTRODUÇÃO

Anandamida ou n-araquidoniletanolamida (AEA) e 2-araquidonilglicerol (2-AG) são ligantes canabinoides endógenos para os receptores canabinoides tipo 1 (CB1R) e tipo 2 (CB2R) (1). O sistema endocanabinoide desempenha um papel crucial na manutenção da homeostase na termorregulação e controle motor (2), metabolismo energético (3), função da pele (formação de barreira, regeneração) (4), apetite e digestão (5), aprendizagem e memória (6), dor crônica (7), inflamação e outras respostas do sistema imunológico (8). A corrida de resistência e o ciclismo aumentam AEA e 2-AG circulantes produzidos pela contração dos músculos (9-12). Durante / após uma corrida longa, AEA e 2-AG induzem um estado de euforia, conhecido como barato do corredor (13). No entanto, existem controvérsias a respeito da intensidade de exercício necessária para produzir esse efeito (12, 14, 15). Além disso, esses efeitos são diferentes para exercícios de membros superiores. Longas durações de exercícios de braço reduzem a AEA circulante, e exercícios resistidos não afetam o 2-AG (14, 15).

As revisões da literatura têm se concentrado no efeito da atividade física no sistema endocanabinoide e seu impacto na patologia de doenças neurológicas e neurodegenerativas, como depressão, ansiedade, esclerose múltipla, epilepsia, doença de Parkinson e Alzheimer, em modelos animais e humanos (9, 16, 17). Eles também abordaram os benefícios das alterações endocanabinoides induzidas por exercícios sobre a função cerebral (cognição, humor, apetite, sistema de recompensa), o tecido músculo esquelético e adiposo (regulador de glicose sensibilidade à insulina, lipogênese) e estresse (18-20). Além disso, Hillard (11) compilou informações sobre os níveis circulantes de endocanabinoides e regulação metabólica, sono, inflamação e exercícios. Essas foram revisões das adaptações do sistema endocanabinoide à atividade física com implicações para a saúde e o bem-estar.

No entanto, não há revisões sobre os efeitos agudos do exercício físico sobre os endocanabinoides circulantes, um efeito transitório com efeitos biológicos significativos. Os efeitos agudos e de treinamento (adaptações) do exercício físico são os dois objetivos principais da fisiologia do exercício. Uma revisão sistemática utiliza uma metodologia que visa reunir todas as evidências relevantes, com base em critérios de elegibilidade predefinidos, para responder a uma questão específica de pesquisa (21). O uso de técnicas estatísticas, como a meta-análise, pode combinar e resumir os resultados para fornecer estimativas mais precisas dos efeitos dos estudos individuais (21). Neste contexto, este protocolo implica em documentação prévia que permite antecipar possíveis problemas e

melhorar o planejamento antes da revisão. Uma abordagem metódica e analítica será empregada. O objetivo deste protocolo de estudo é fornecer uma metodologia transparente e padronizada para a realização de uma revisão sistemática e meta-análise a fim de sintetizar as evidências disponíveis e determinar os efeitos do exercício físico agudo sobre os níveis circulantes de endocanabinoides em indivíduos saudáveis.

MÉTODOS E ANÁLISES

Este protocolo segue os itens de relatório preferidos para protocolos de revisões sistemáticas e meta-análises (*Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyse protocols*, PRISMA-P) (21) e o manual da Cochrane para intervenções sistemáticas (*Cochrane Handbook for Systematic of Interventions*, Versão 6, 2019) (22). A lista de verificação do PRISMA-P pode ser encontrada no arquivo adicional 1. O protocolo foi registrado no registro prospectivo internacional de revisões sistemáticas em andamento (*International Prospective Register of Ongoing Systematic Reviews*, PROSPERO) (número de registro: CRD42020202886). Quaisquer alterações a este protocolo serão descritas na revisão final.

Critério de elegibilidade

Os critérios de elegibilidade foram delineados conforme a população, intervenção, comparação, resultados e tipo de estudo (*Population-Intervention-Comparison-Outcomes-Study*, PICOS):

População

Incluiremos estudos com humanos saudáveis, adultos maiores de 18 anos, treinados ou não (23). Serão incluídos indivíduos submetidos à medicação placebo ou pertencentes a grupos controle de estudos intervencionistas sobre doenças / fatores de risco, uma vez que tanto o grupo placebo quanto o controle podem ser considerados semelhantes o suficiente para serem combinados para síntese (24). Nenhuma restrição de gênero ou etnia deve ser aplicada. Quando mais de um estudo fornecer dados da mesma amostra, consideraremos apenas o estudo que apresentar os resultados mais detalhados quanto à sua elegibilidade.

Estudos realizados com sujeitos não saudáveis ou com fatores que podem interferir na confiabilidade dos resultados, como o uso de substâncias psicotrópicas nos últimos sete dias (por exemplo, canabinoides fitoterápicos / sintéticos, cocaína, meta-anfetamina, ecstasy e outros) e a ausência de orientações relevantes antes do dia do teste e / ou intervenção sobre alimentação e exercícios será excluída.

Intervenção

Os estudos serão elegíveis se apresentados como uma intervenção, atividade física ou exercício (incluindo uma única sessão), independentemente do seu tipo (aeróbio, resistência muscular), modalidade (caminhada, corrida, ciclismo, pesos livres), duração (semana, meses), frequência (dias / semana), duração da sessão (minutos), número de sessões, métodos de prescrição ou intensidade [lactato, porcentagens da frequência cardíaca de pico (FC de pico), FC de reserva (Karvonen), limiares ventilatórios no teste cardiopulmonar, potência (Watt, W) e uma repetição máxima (1RM), sensação subjetiva de esforço (Borg), outros] (25).

Não serão impostas restrições quanto à supervisão (presencial ou não), ao local da intervenção (clínica / posto de saúde, hospital, universidade, outros), ao tipo de atuação (individual, grupal) ou à especialização dos profissionais que prestaram a atividade física ou exercício (fisioterapeuta, instrutor de fitness, cientista do exercício, outros).

As intervenções que apresentam recursos combinados (por exemplo, estratégias de mudança de estilo de vida, como educação em saúde ou dieta / suplementação nutricional) serão excluídas.

Comparação

Serão incluídas as condições de controle, contemplando um grupo controle formado por indivíduos que não participaram de nenhuma forma de intervenção, ou comparações dos resultados obtidos entre a linha de base e imediatamente após o período de intervenção ou recuperação. As condições de controle que não são relatadas ou não podem ser calculadas serão excluídas.

Resultados

Incluiremos estudos que avaliaram os níveis circulantes de endocanabinoides (AEA e 2-AG), imediatamente após o término da intervenção, sem restrição a desfechos primários ou secundários.

Essas medidas são consideradas uma resposta fisiológica ou efeito agudo da atividade física ou exercício. Estudos com medições de endocanabinoides salivares ou outros ligantes endógenos não serão incluídos.

Tipo de estudo

Serão incluídos estudos experimentais (ensaios clínicos randomizados ou controlados) ou quase experimentais e excluídos, estudos observacionais e revisões sistemáticas.

Estratégia de pesquisa

Uma pesquisa abrangente será realizada nas seguintes bases de dados eletrônica: *US National Library of Medicine (PubMed)*, *EMBASE*, *Web of Science*, *Cumulative Index to Nursing and Allied Health Literature (CINAHL)*, *SPORTDiscus* e *Scopus*, sem limitações de idioma e publicado até março 2021. As buscas serão realizadas novamente antes da análise final. As pesquisas de estudos não publicados (literatura cinza) serão conduzidas usando *OPEN GREY*, *Biblioteca Digital em Rede de Teses e Dissertações* e *ProQuest* para identificar qualquer informação adicional. As listas de referência dos estudos incluídos e revisões relevantes também serão analisadas manualmente, e especialistas no assunto também serão identificados e consultados para identificar potenciais estudos adicionais não incluídos nas pesquisas iniciais. A estratégia de pesquisa incluirá diferentes combinações com base em termos de cabeçalhos de assuntos médicos e palavras de texto livre e operadores booleanos para garantir a captura máxima de artigos, incluindo: "exercise", "exercise, physical", "exercise training", "physical activity", "endocannabinoids", "2-arachidonoyl-glycerol", "glyceryl 2-arachidonate", "2-AG", "anandamide", "AEA", "n-arachidonylethanolamide", "adult", "young adult" e "middle aged". As estratégias de busca preliminar foram desenvolvidas e testadas em um piloto, adaptado de acordo com cada base de dados. A descrição da estratégia de busca inclui todas as modificações planejadas para os termos de indexação e palavras de texto livre que podem variar entre os bancos de dados. Uma bibliotecária documental (DMRP) corrigiu e implementou a estratégia de pesquisa e auxiliou nas ferramentas de seleção e avaliação dos estudos mencionados abaixo.

Seleção de estudos

Os estudos identificados serão importados para o software de gerenciamento de referência (EndNote Web) e os registros duplicados serão excluídos. Os títulos e resumos serão avaliados e rotulados como concordâncias / discordâncias em uma plataforma específica para autores de revisões sistemáticas (Rayyan) (26). Este processo de seleção de estudos será realizado de forma independente com cegamento por dois revisores (VB e GP) familiarizados com o tema de interesse para identificar estudos elegíveis. Não haverá cegamento para autores, instituições ou periódicos dos artigos revisados durante a seleção dos estudos. Os resumos que não fornecerem informações suficientes sobre os critérios de elegibilidade serão selecionados para uma avaliação mais detalhada por meio da leitura do texto completo do artigo. Os revisores, então, examinarão os artigos a serem incluídos de forma pareada, independente e cega, no formato original em texto completo e disponível na íntegra em cada base de dados. Nesta fase, os estudos considerados não relevantes (de acordo com os critérios de elegibilidade listados acima) serão excluídos, e iremos registrar o motivo correspondente no fluxograma de seleção dos artigos. Eventuais inconsistências entre os revisores quanto à seleção serão resolvidas por um terceiro pesquisador (ASAJr) que decidirá. O processo de seleção dos estudos elegíveis apresentados no fluxograma PRISMA fornecerá uma ideia sobre o escopo da estratégia de busca, o que aumenta a validade interna da revisão.

Extração de dados

Um formulário de extração de dados elaborado no Microsoft Excel foi especialmente desenvolvido para esta revisão. Os dados extraídos serão preenchidos por dois revisores de forma independente com cegamento, incluindo detalhes sobre a publicação, desenho do estudo, características da população / intervenção e os resultados. Após a leitura dos artigos incluídos, serão extraídos dados adicionais quando considerados essenciais para a interpretação e aplicabilidade dos resultados; por exemplo, os métodos usados para analisar os endocanabinoides. Em caso de falta de dados, os autores dos estudos serão contatados por e-mail. Se nenhuma resposta for recebida, o estudo será excluído. Os dados dos resultados que atenderem aos critérios de inclusão serão extraídos, incluindo os valores basais, imediatamente após o período de intervenção e / ou recuperação do exercício, e os valores médios e desvio padrão pós-intervenção. Os valores de P, intervalo interquartil, erro padrão e intervalo de confiança serão extraídos, se disponíveis.

Avaliação de risco de viés

Os ensaios clínicos randomizados serão avaliados usando a ferramenta da Cochrane de avaliação de risco de viés para estudos randomizados (*Revised Cochrane risk of bias tool for randomized trials, RoB 2*) (27). Esta ferramenta abrange os seguintes critérios: processo de randomização, desvios das intervenções pretendidas, dados de resultados ausentes, mensuração do resultado, seleção do resultado relatado e viés geral. Cada critério será avaliado e pontuado como baixo risco, algumas preocupações ou alto risco de viés.

A ferramenta de risco de viés em estudos de intervenção não randomizados (*Risk Of Bias In Nonrandomized Studies of Interventions, ROBINS-I*) avaliará o risco de viés em estudos não randomizados e quase experimentais (28). Os domínios compreendem confusão, seleção dos participantes do estudo, classificação das intervenções, desvios das intervenções pretendidas, dados faltantes, medição dos resultados e seleção do resultado relatado. Pode ser classificado como sem informação, baixo risco, moderado, grave ou crítico. A avaliação do risco de viés será realizada por dois avaliadores independentemente, e quaisquer diferenças serão resolvidas por discussão e consenso.

Síntese e análise de dados

Os estudos incluídos serão estratificados por tipo de intervenção e medidas de resultados e analisados separadamente, com base no desenho do estudo. O nível de concordância entre os dois autores em cada etapa da revisão (seleção dos estudos, extração de dados, avaliação do risco de viés e qualidade da evidência) será avaliado por meio da estatística Cohen Kappa. Quanto mais próxima de 1 essa estatística, maior será a concordância entre os revisores. Os estudos incluídos serão resumidos em uma tabela Ad Hoc para comparação e assistência na interpretação crítica. Sempre que possível, usaremos os resultados de uma análise de intenção de tratar.

Com os dados dos resultados registrados, a meta-análise pode ser calculada para cada comparação de dados, se aplicável. Os resultados serão registrados em tabelas e / ou gráficos que descrevem dados como média e desvio padrão (dos dados obtidos nos estudos ou calculados), o tamanho do efeito como uma diferença média padronizada com IC de 95% e

ponderação do estudo. Os gráficos forest plot serão criados usando o software Review Manager (RevMan 5.4) (29) para ilustrar os tamanhos de efeito individuais e agrupados. A diferença média padronizada será calculada como a diferença nas médias entre os valores (linha de base / pós-intervenção e / ou intervenção / controle) dividida pelo desvio padrão agrupado das medidas. Para este estudo, o tamanho do efeito será categorizado da seguinte forma: pequeno (variando de 0 a 0,2), moderado (variando de 0,2 a 0,5) e grande (variando de 0,5 a 0,8). O efeito de ponderação dos estudos será calculado usando o método de variância inversa (tamanhos de efeito individuais multiplicados pelo inverso de seu erro quadrado padrão) para refletir a contribuição dos estudos individuais para a estimativa do efeito total.

A avaliação da heterogeneidade incluirá o teste χ^2 para verificar a heterogeneidade, com nível de significância de $p < 0,10$. A magnitude da heterogeneidade de cada meta-análise será quantificada pela estatística I^2 , interpretada da seguinte forma: pode não ser essencial (0% - 40%), moderada (30% - 60%), substancial (50% - 90%) e considerável (75% - 100%). Se I^2 for $\leq 50\%$, o modelo de efeitos fixos (método de Mantel-Haenszel) será usado para a meta-análise. Embora um $I^2 > 50\%$ seja considerado representativo, indicando heterogeneidade significativa, o modelo de efeitos aleatórios (método DerSimonian e Laird) coletará os resultados. Considerando a possibilidade de alta heterogeneidade, analisaremos suas possíveis fontes para obter uma conclusão objetiva.

A análise da fonte de heterogeneidade (análise de sensibilidade, subgrupo e / ou metarregressão) será definida apenas durante o processo de revisão, onde serão identificadas as peculiaridades dos estudos incluídos, como tamanho da amostra, sexo, idade, princípio de sobrecarga (intensidade versus volume), adaptação ao exercício, randomização, dados faltantes e outras situações relevantes.

O gráfico do funil será usado para avaliar o viés de publicação, e o teste de Egger verificará a assimetria do gráfico do funil. Os gráficos de funil assimétricos indicam viés de publicação, que é um viés de relatório, mas também implica que pode haver outras causas, como diferenças na qualidade metodológica ou efeitos heterogêneos da intervenção. Revisaremos as possíveis razões e explicaremos qualquer gráfico de funil assimétrico.

Avaliação da qualidade da evidência

A análise da qualidade das evidências será conduzida de forma pareada e independente, usando a classificação de recomendações, avaliação, desenvolvimento e

análises (*Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation*, GRADE) (30, 31). A ferramenta GRADE consiste nos seguintes critérios: limitações metodológicas (risco de viés), resultados inconsistentes, evidências indiretas, imprecisão e viés de publicação. Para cada resultado analisado, a qualidade da evidência será classificada como muito baixa, baixa, moderada ou alta usando o *GRADE profiler* (GRADEpro) (32). As divergências serão resolvidas por discussão e consenso. Os resultados serão apresentados em uma tabela "Resumo das constatações".

DISCUSSÃO

Esta revisão será a primeira a identificar e analisar sistematicamente as evidências sobre os efeitos agudos da atividade física nos níveis circulantes de endocanabinoides. A avaliação do risco de viés, da qualidade das evidências e da heterogeneidade, com particular referência às características da amostra, é um ponto destacado nesta revisão. Esse protocolo apresenta uma metodologia explícita e replicável por meio da estratégia de busca, seleção de estudos e extração de dados, além de sintetizar os dados por meio de meta-análises. Este estudo fornecerá uma visão geral das evidências disponíveis para evitar a duplicação de pesquisas. Também irá identificar possíveis lacunas de conhecimento e informar protocolos experimentais no campo da atividade física e pesquisa de endocanabinoides. Ele orientará as recomendações sobre a eficácia da atividade física no sistema endocanabinoide para melhorar pesquisas futuras. Acima de tudo, os resultados deste estudo fornecerão o mais alto nível de evidência que pode ser potencialmente transferido para médicos, profissionais de saúde e legisladores para orientar sua tomada de decisão.

Lista de abreviações

AEA - n-araquidoniletanolamida

2-AG - 2-araquidnilglicerol

CB1 - Receptor canabinoide tipo 1

CB2 - Receptor canabinoide tipo 2

PRISMA-P - Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analysis Protocols

PROSPERO - International prospective register of systematic reviews

PICOS - Population-Intervention-Comparison-Outcomes-Study type

FC - Frequência cardíaca

PubMed - US National Library of Medicine

CINAHL - Cumulative Index to Nursing and Allied Health Literature

RoB2 - Revised Cochrane risk-of-bias tool for randomized trials

ROBINS-1 - Risk Of Bias In Non-randomized Studies of Interventions

RevMan - Review Manager

GRADE - Grading of Recommendations Assessment, Development, and Evaluation

GRADEpro - Grading of Recommendations Assessment, Development, and Evaluation profiler

Aprovação ética e consentimento para participar

Não aplicável.

Consentimento para publicação

Não aplicável.

Disponibilidade de dados e materiais

Não aplicável.

Interesses competitivos

Os autores declaram que não têm interesses conflitantes

Financiamento

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Código Financeiro 1, o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC) apoiaram financeiramente a produção deste protocolo. O financiamento apoiará a coleta de dados, gestão e análise de dados realizada por pesquisadores por meio de bolsas e capital. Os financiadores não se envolverão em nenhum outro aspecto do estudo, como desenho de protocolo, interpretação ou publicação de resultados.

Contribuições dos autores

VB e ASAJr projetaram e redigiram o protocolo. VB e DMRP desenvolveram a estratégia de busca e definiram as ferramentas de avaliação dos estudos. VB e GP conduziram a busca piloto nas bases de dados auxiliadas pelo DMRP. O VB desenvolveu o formulário de extração de dados e os procedimentos adotados para a síntese dos dados e análise dos resultados. ASAJr e IJCS realizaram uma revisão crítica do manuscrito, análise estatística e síntese dos dados. A GP possibilitou a inclusão do software RevMan na metodologia. ASAJr coordenou o estudo. Todos os autores contribuíram com a revisão / edição do protocolo e concordaram com a versão final deste protocolo de revisão. A VB é a avalista da revisão.

Agradecimentos

Agradecemos a Karyn Munik Lehmkuhl (UFSC) pelo apoio à metodologia.

Referências

1. Watkins BA. Endocannabinoids, exercise, pain, and a path to health with aging. *Mol Aspects Med.* 2018;64:68-78.
2. Hodges EL, Ashpole NM. Aging circadian rhythms and cannabinoids. *Neurobiol Aging.* 2019;79:110-8.
3. Watkins BA. Diet, endocannabinoids, and health. *Nutrition Research.* 2019;70:32-9.
4. Tóth KF, Ádám D, Bíró T, Oláh A. Cannabinoid Signaling in the Skin: Therapeutic Potential of the "C(ut)annabinoid" System. *Molecules.* 2019;24(5).
5. Forte N, Fernández-Rilo AC, Palomba L, Di Marzo V, Cristino L. Obesity Affects the Microbiota-Gut-Brain Axis and the Regulation Thereof by Endocannabinoids and Related Mediators. *Int J Mol Sci.* 2020;21(5).
6. Wang HQ, Han J. The endocannabinoid system regulates the moderate exercise-induced enhancement of learning and memory in mice. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness.* 2020;60(2):320-8.
7. Storozhuk MV, Zholos AV. TRP Channels as Novel Targets for Endogenous Ligands: Focus on Endocannabinoids and Nociceptive Signalling. *Curr Neuropharmacol.* 2018;16(2):137-50.
8. Cani PD, Plovier H, Van Hul M, Geurts L, Delzenne NM, Druart C, et al. Endocannabinoids--at the crossroads between the gut microbiota and host metabolism. *Nat Rev Endocrinol.* 2016;12(3):133-43.

9. Di Liegro CM, Schiera G, Proia P, Di Liegro I. Physical activity and brain health. *Genes*. 2019;10(9).
10. Dietrich A, McDaniel WF. Endocannabinoids and exercise. *Br J Sports Med*. 2004;38(5):536-41.
11. Hillard CJ. Circulating Endocannabinoids: From Whence Do They Come and Where are They Going? *Neuropsychopharmacology*. 2018;43(1):155-72.
12. Raichlen DA, Foster AD, Seillier A, Giuffrida A, Gerdeman GL. Exercise-induced endocannabinoid signaling is modulated by intensity. *Eur J Appl Physiol*. 2013;113(4):869-75.
13. Hicks SD, Jacob P, Perez O, Baffuto M, Gagnon Z, Middleton FA. The Transcriptional Signature of a Runner's High. *Med Sci Sports Exerc*. 2019;51(5):970-8.
14. Hughes L, Patterson SD. The effect of blood flow restriction exercise on exercise-induced hypoalgesia and endogenous opioid and endocannabinoid mechanisms of pain modulation. *J Appl Physiol (1985)*. 2020;128(4):914-24.
15. Stensson N, Grimby-Ekman A. Altered relationship between anandamide and glutamate in circulation after 30 min of arm cycling: A comparison of chronic pain subject with healthy controls. *Molecular Pain*. 2019;15.
16. Bisogno T, Di Marzo V. The role of the endocannabinoid system in Alzheimer's disease: facts and hypotheses. *Curr Pharm Des*. 2008;14(23):2299-3305.
17. Charytoniuk T, Zywno H, Konstantynowicz-Nowicka K, Berk K, Bzdega W, Chabowski A. Can Physical Activity Support the Endocannabinoid System in the Preventive and Therapeutic Approach to Neurological Disorders? *Int J Mol Sci*. 2020;21(12).
18. Loprinzi PD, Zou LY, Li H. The Endocannabinoid System as a Potential Mechanism through which Exercise Influences Episodic Memory Function. *Brain Sciences*. 2019;9(5).
19. Silvestri C, Di Marzo V. The endocannabinoid system in energy homeostasis and the etiopathology of metabolic disorders. *Cell Metab*. 2013;17(4):475-90.
20. Tantimonaco M, Ceci R, Sabatini S, Catani MV, Rossi A, Gasperi V, et al. Physical activity and the endocannabinoid system: an overview. *Cell Mol Life Sci*. 2014;71(14):2681-98.
21. Moher D, Shamseer L, Clarke M, Ghersi D, Liberati A, Petticrew M, et al. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Syst Rev*. 2015;4:1.

22. Higgins JPT, Thomas J, Chandler J, Cumpston M, Li T, Page MJ, Welch VA. Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions version 6.0 (updated July 2019). Cochrane, 2019. www.training.cochrane.org/handbook. Accessed 16 October 2020.
23. World Health Organization. Physical activity. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/physical-activity> (2018) Accessed 16 October 2020.
24. McKenzie JE, Brennan SE, Ryan RE, Thomson HJ, Johnston RV, Thomas J. Chapter 3: Defining the criteria for including studies and how they will be grouped for the synthesis. In: Higgins JPT, Thomas J, Chandler J, Cumpston M, Li T, Page MJ, Welch VA (editors). Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions version 6.1 (updated September 2020). Cochrane, 2020. Available from www.training.cochrane.org/handbook.
25. Regnaud JP, Lefevre-Colau MM, Trinquart L, Nguyen C, Boutron I, Brosseau L, et al. High-intensity versus low-intensity physical activity or exercise in people with hip or knee osteoarthritis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015(10):CD010203.
26. Ouzzani M, Hammady H, Fedorowicz Z, Elmagarmid A. Rayyan-a web and mobile app for systematic reviews. *Syst Rev.* 2016;5(1):210.
27. Sterne JAC, Savović J, Page MJ, Elbers RG, Blencowe NS, Boutron I, et al. RoB 2: a revised tool for assessing risk of bias in randomised trials. *BMJ.* 2019;366:14898.
28. Sterne JA, Hernán MA, Reeves BC, Savović J, Berkman ND, Viswanathan M, et al. ROBINS-I: a tool for assessing risk of bias in non-randomised studies of interventions. *BMJ.* 2016;355:i4919.
29. Review Manager (RevMan) [Computer program]. Version 5.4, The Cochrane Collaboration, 2020
30. Schünemann H, Brožek J, Guyatt G, Oxman A, editors. GRADE handbook for grading quality of evidence and strength of recommendations. Updated October 2013. The GRADE Working Group, 2013. Available from guidelinedevelopment.org/handbook.
31. Balshem H, Helfand M, Schünemann HJ, Oxman AD, Kunz R, Brozek J, et al. GRADE guidelines: 3. Rating the quality of evidence. *J Clin Epidemiol.* 2011;64(4):401-6.
32. GRADEpro GDT: GRADEpro Guideline Development Tool [Software]. McMaster University, 2015 (developed by Evidence Prime, Inc.). Available from gradepr.org.

Arquivo adicional

Nome do arquivo: Arquivo adicional 1.

Formato do arquivo: Microsoft Word (DOC)

Título dos dados: Lista de verificação PRISMA-P

Descrição dos dados: A lista de verificação PRISMA-P adaptada para uso com submissões de protocolo de revisão sistemática para periódicos da BioMed Central.

ARQUIVO ADICIONAL 1 - Lista de verificação PRISMA-P

PRISMA-P 2015 Checklist

This checklist has been adapted for use with systematic review protocol submissions to BioMed Central journals from Table 3 in Moher D et al: Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Systematic Reviews* 2015 4:1

An Editorial from the Editors-in-Chief of *Systematic Reviews* details why this checklist was adapted - Moher D, Stewart L & Shekelle P: Implementing PRISMA-P: recommendations for prospective authors. *Systematic Reviews* 2016 5:15

Section/topic	#	Checklist item	Information reported		Line number(s)
			Yes	No	
ADMINISTRATIVE INFORMATION					
Title					
Identification	1a	Identify the report as a protocol of a systematic review	X	<input type="checkbox"/>	2,3
Update	1b	If the protocol is for an update of a previous systematic review, identify as such	<input type="checkbox"/>	X	Not applicable
Registration	2	If registered, provide the name of the registry (e.g., PROSPERO) and registration number in the Abstract	X	<input type="checkbox"/>	64
Authors					
Contact	3a	Provide name, institutional affiliation, and e-mail address of all protocol authors; provide physical mailing address of corresponding author	X	<input type="checkbox"/>	6-27
Contributions	3b	Describe contributions of protocol authors and identify the guarantor of the review	X	<input type="checkbox"/>	344-351
Amendments	4	If the protocol represents an amendment of a previously completed or published protocol, identify as such and list changes; otherwise, state plan for documenting important protocol amendments	X	<input type="checkbox"/>	114,115
Support					
Sources	5a	Indicate sources of financial or other support for the review	X	<input type="checkbox"/>	335-338
Sponsor	5b	Provide name for the review funder and/or sponsor	X	<input type="checkbox"/>	335-338
Role of	5c	Describe roles of funder(s), sponsor(s), and/or institution(s), if any, in developing the	X	<input type="checkbox"/>	338-341

Section/topic	#	Checklist item	Information reported		Line number(s)
			Yes	No	
sponsor/funder		protocol			
INTRODUCTION					
Rationale	6	Describe the rationale for the review in the context of what is already known	X	<input type="checkbox"/>	72-106
Objectives	7	Provide an explicit statement of the question(s) the review will address with reference to participants, interventions, comparators, and outcomes (PICO)	X	<input type="checkbox"/>	102-106
METHODS					
Eligibility criteria	8	Specify the study characteristics (e.g., PICO, study design, setting, time frame) and report characteristics (e.g., years considered, language, publication status) to be used as criteria for eligibility for the review	X	<input type="checkbox"/>	118-163
Information sources	9	Describe all intended information sources (e.g., electronic databases, contact with study authors, trial registers, or other grey literature sources) with planned dates of coverage	X	<input type="checkbox"/>	166-174
Search strategy	10	Present draft of search strategy to be used for at least one electronic database, including planned limits, such that it could be repeated	X	<input type="checkbox"/>	174-181 (Additional file 2)
STUDY RECORDS					
Data management	11a	Describe the mechanism(s) that will be used to manage records and data throughout the review	X	<input type="checkbox"/>	187-190;205
Selection process	11b	State the process that will be used for selecting studies (e.g., two independent reviewers) through each phase of the review (i.e., screening, eligibility, and inclusion in meta-analysis)	X	<input type="checkbox"/>	206,207; 232,233; 277,278
Data collection process	11c	Describe planned method of extracting data from reports (e.g., piloting forms, done independently, in duplicate), any processes for obtaining and confirming data from investigators	X	<input type="checkbox"/>	205,208
Data items	12	List and define all variables for which data will be sought (e.g., PICO items, funding sources), any pre-planned data assumptions and simplifications	X	<input type="checkbox"/>	210 (Table 1)

Section/topic	#	Checklist item	Information reported		Line number(s)
			Yes	No	
Outcomes and prioritization	13	List and define all outcomes for which data will be sought, including prioritization of main and additional outcomes, with rationale	X	<input type="checkbox"/>	215-219
Risk of bias in individual studies	14	Describe anticipated methods for assessing risk of bias of individual studies, including whether this will be done at the outcome or study level, or both; state how this information will be used in data synthesis	X	<input type="checkbox"/>	222,227
DATA					
Synthesis	15a	Describe criteria under which study data will be quantitatively synthesized	X	<input type="checkbox"/>	236,237
	15b	If data are appropriate for quantitative synthesis, describe planned summary measures, methods of handling data, and methods of combining data from studies, including any planned exploration of consistency (e.g., I^2 , Kendall's tau)	X	<input type="checkbox"/>	256-264
	15c	Describe any proposed additional analyses (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression)	X	<input type="checkbox"/>	265-269
	15d	If quantitative synthesis is not appropriate, describe the type of summary planned	X	<input type="checkbox"/>	240-242
Meta-bias(es)	16	Specify any planned assessment of meta-bias(es) (e.g., publication bias across studies, selective reporting within studies)	X	<input type="checkbox"/>	270-274
Confidence in cumulative evidence	17	Describe how the strength of the body of evidence will be assessed (e.g., GRADE)	X	<input type="checkbox"/>	277-284

Systematic Reviews

A description of the effects of exercise on circulating endocannabinoid levels – a protocol for a systematic review and meta-analysis

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:							
Full Title:	A description of the effects of exercise on circulating endocannabinoid levels – a protocol for a systematic review and meta-analysis						
Article Type:	Protocol						
Funding Information:	<table border="1"> <tr> <td>CAPES (DS)</td> <td>Mrs Viviane Bristot</td> </tr> <tr> <td>CNPq (PIBIC)</td> <td>Mr Giorgio Poletto</td> </tr> <tr> <td>CNPq (310635/2020-9)</td> <td>Dr Aderbal S Aguiar Jr</td> </tr> </table>	CAPES (DS)	Mrs Viviane Bristot	CNPq (PIBIC)	Mr Giorgio Poletto	CNPq (310635/2020-9)	Dr Aderbal S Aguiar Jr
CAPES (DS)	Mrs Viviane Bristot						
CNPq (PIBIC)	Mr Giorgio Poletto						
CNPq (310635/2020-9)	Dr Aderbal S Aguiar Jr						
Abstract:	<p>Background</p> <p>Exercise increases circulating endocannabinoid levels. This phenomenon is associated with a runner's high, a state of euphoria and well-being experienced after a long exercise. We will provide in this review a transparent and standardized methodology for conducting a systematic review and meta-analysis for synthesizing the available evidence on the effects of physical activity on the circulating levels of endocannabinoids in healthy subjects.</p> <p>Methods</p> <p>This protocol was developed by a multidisciplinary team representing the basic and clinical sciences of the exercise. PubMed, EMBASE, Web of Science, CINAHL, SPORTDiscus, and Scopus will be the databases. Search strategies will combine medical subject headings terms and free text words, including "exercise" "exercise, physical," "exercise training," "physical activity," "endocannabinoids," "2-arachidonoyl-glycerol," "glyceryl 2-arachidonate," "2-AG," "anandamide," "AEA," "n-arachidonylethanolamide," "adult," "young adult," and "middle-aged." We will select experimental or quasi-experimental studies published through March 2021. The selection of studies, data extraction, assessment of the risk of bias, and the quality of evidence will be carried out in a paired and independent manner, and the consistency will be assessed using the statistics of Cohen Kappa. Methodological quality will be assessed using the Revised Cochrane risk of bias tool for randomized trials (RoB 2) and the Risk Of Bias In Nonrandomized Studies of Interventions (ROBINS-I) risk tool. We will use the Grading of Recommendations Assessment, Development, and Evaluation to assess the evidence's quality, x2 and I2 tests for heterogeneity, funnel plots, and Egger test for publication bias. A meta-analysis for each data comparison will be performed whenever possible to determine the effect of physical activity on endocannabinoids' circulating levels.</p> <p>Discussion</p> <p>This systematic review and meta-analysis will provide an overview of the evidence in physical activity and endocannabinoid research, including comparability of variables between studies, critical interpretation of results, and use of accurate statistical techniques. Thus, this study will determine the acute effect of physical exercise on circulating levels of endocannabinoids in healthy individuals. The results of this study will potentially be transferred to doctors, health professionals, and legislators to guide their decision making, as well as will improve future research</p> <p>Systematic review registration</p> <p>PROSPERO CRD420202886.</p>						
Corresponding Author:	Aderbal S Aguiar Jr, Ph.D. Universidade Federal de Santa Catarina						

Powered by Editorial Manager® and Prodxion Manager® from Aries Systems Corporation

	BRAZIL
Corresponding Author E-Mail:	aderbal.aguiar@ufsc.br
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Universidade Federal de Santa Catarina
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Viviane Bristot
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Viviane Bristot
	Giorgio Poletto
	Débora Maria Russiano Pereira
	Ione Jayce Ceola Schneider, Ph.D.
	Aderbal S Aguiar Jr, Ph.D.
Order of Authors Secondary Information:	
Opposed Reviewers:	
Additional Information:	
Question	Response
Covering letter concerning your manuscript	<p>Araranguá-Brazil, February 22, 2021 Dear Dr. Craig Lockwood Editor-in-Chief – Systematic Reviews</p> <p>We should like to submit our protocol entitled 'A description of the effects of exercise on circulating endocannabinoid levels – a protocol for a systematic review and meta-analysis as a Short Communication to the Purinergic Signaling. Endocannabinoid signaling is still little explored in the exercise sciences, and this protocol aims to assess a paramount exercise phenomenon: the feeling of well-being after exercise. This phenomenon is signaled by endocannabinoids produced during exercise, and we intend to perform a meta-analysis to assess the size of this effect. All authors have read the protocol and have participated in the protocol preparation to merit authorship. The protocol has not been previously published, and it is not under simultaneous consideration by another journal.</p> <p>Previously, I wrote to the Springer Nature Waivers (ticket #5225122) about a waiver, as we are currently going through an anti-scientific political crisis in Brazil under the Bolsonaro government that cut these funds. I request support from Springer.</p> <p>Best regards, Dr. Aderbal Aguiar</p>

Main text

[Click here to access/download;Manuscript;Protocol.docx](#) 

[Click here to view linked References](#)

Title

A description of the effects of exercise on circulating endocannabinoid levels – a protocol for a systematic review and meta-analysis

Authors

Viviane Bristot¹, Giorgio Poletto¹, Débora Maria Russiano Pereira², Ione Jayce Ceola Schneider³, Aderbal S Aguiar Jr^{1*}

Institutional affiliation

1 LABIOEX-Exercise Biology Lab, Department of Health Sciences, UFSC-Federal University of Santa Catarina, Araranguá, SC, Brazil

2 Librarian-documentalist, Sectorial Library of Campus Araranguá, UFSC-Federal University of Santa Catarina, Araranguá, SC, Brazil

3 LABEPI-Epidemiology Lab, Health Science Department and Rehabilitation Post-graduate Program, UFSC-Federal University of Santa Catarina, Araranguá, Santa Catarina, Brazil

Viviane Bristot, E-mail: viviane.bristot@gmail.com

Giorgio Poletto, E-mail: giorgio.fisioterapia@gmail.com

Débora Maria Russiano Pereira, E-mail: deborarussiano@gmail.com

Ione Jayce Ceola Schneider: Email: ione.schneider@ufsc.br

Aderbal S Aguiar Jr, Email: aderbal.aguiar@ufsc.br

***Corresponding author:** Prof. Aderbal S Aguiar Jr, Department of Health Sciences, UFSC-Federal University of Santa Catarina, 88905-120, Araranguá – SC, Brazil. Tel.: +55 (48) 99647-3639. E-mail aderbal.aguiar@ufsc.br

ABSTRACT

Background: Exercise increases circulating endocannabinoid levels. This phenomenon is associated with a runner's high, a state of euphoria and well-being experienced after a long exercise. We will provide in this review a transparent and standardized methodology for conducting a systematic review and meta-analysis for synthesizing the available evidence on the effects of physical activity on the circulating levels of endocannabinoids in healthy subjects.

Methods: This protocol was developed by a multidisciplinary team representing the basic and clinical sciences of the exercise. PubMed, EMBASE, Web of Science, CINAHL, SPORTDiscus, and Scopus will be the databases. Search strategies will combine medical subject headings terms and free text words, including "exercise" "exercise, physical," "exercise training," "physical activity," "endocannabinoids," "2-arachidonoyl-glycerol," "glyceryl 2-arachidonate," "2-AG," "anandamide," "AEA," "n-arachidonylethanolamide," "adult," "young adult," and "middle-aged." We will select experimental or quasi-experimental studies published through March 2021. The selection of studies, data extraction, assessment of the risk of bias, and the quality of evidence will be carried out in a paired and independent manner, and the consistency will be assessed using the statistics of Cohen Kappa. Methodological quality will be assessed using the Revised Cochrane risk of bias tool for randomized trials (RoB 2) and the Risk Of Bias In Nonrandomized Studies of Interventions (ROBINS-I) risk tool. We will use the Grading of Recommendations Assessment, Development, and Evaluation to assess the evidence's quality, x2 and I2 tests for heterogeneity, funnel plots, and Egger test for publication bias. A meta-analysis for each data comparison will be performed whenever possible to determine the effect of physical activity on endocannabinoids' circulating levels.

Discussion: This systematic review and meta-analysis will provide an overview of the

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

1 evidence in physical activity and endocannabinoid research, including comparability of
2 variables between studies, critical interpretation of results, and use of accurate statistical
3 techniques. Thus, this study will determine the acute effect of physical exercise on circulating
4 levels of endocannabinoids in healthy individuals. The results of this study will potentially be
5 transferred to doctors, health professionals, and legislators to guide their decision making, as
6 well as will improve future research
7
8
9
10
11
12
13

14 **Systematic review registration:** PROSPERO CRD42020202886.
15

16 **Keywords:** exercise; physical activity; endocannabinoids; glyceryl 2-arachidonate; 2
17 arachidonoylglycerol; anandamide; n arachidonylethanolamine; endocannabinoid system;
18 endocannabinoid blood level; systematic review.
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

BACKGROUND

1
2 Anandamide or n-arachidonylethanolamide (AEA) and 2-arachidonylglycerol (2-AG) are
3 endogenous cannabinoids for the G-protein-coupled cannabinoid CB1 (type 1) and CB2 (type
4
5
6
7 2) receptors (1). The endocannabinoid system plays a crucial role in the maintenance of
8
9 homeostasis in thermoregulation and motor control (2), energy metabolism (3), skin function
10
11 (barrier formation, regeneration) (4), appetite and digestion (5), learning and memory (6),
12
13 chronic pain (7), inflammation and other immune system responses (8). Endurance running
14
15 and cycling increase the circulating AEA and 2-AG produced by contracting muscles (9-12).
16
17
18 During/after a long run, AEA and 2-AG induce a state of euphoria, known as the runner's high
19
20
21 (13). However, there are controversies regarding the required exercise intensity to produce
22
23 this effect (12, 14, 15). Moreover, these effects are different for upper limb exercises. Long
24
25 durations of arm exercises reduce circulating AEA, and resistance arm exercises do not affect
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

Literature reviews have focused on the effect of physical activity on the endocannabinoid system and its impact on the pathology of neurological and neurodegenerative diseases, such as depression, anxiety, multiple sclerosis, epilepsy, Parkinson's and Alzheimer's disease, in animal and human models (9, 16, 17). They also addressed the benefits of exercise-induced endocannabinoid changes on brain function (cognition, mood, appetite, reward system), the musculoskeletal and adipose tissue (glucose regulation, insulin sensitivity, lipogenesis), and stress (18-20). Moreover, Hillard (11) compiled information on circulating endocannabinoid levels and metabolic regulation, sleep, inflammation, and exercise. These were reviews of adaptations of the endocannabinoid system to physical activity with implications for health and well-being.

However, there are no reviews on the acute effects of physical activity on circulating endocannabinoids, a transient effect with significant biological effects. The acute and training

1 effects (adaptations) of physical exercise are the two main exercise physiology objectives. A
 2 systematic review uses a methodology that aims to gather all relevant evidence, based on
 3 predefined eligibility criteria, to answer a specific research question (21). The use of statistical
 4 techniques such as meta-analysis can combine and summarize the results to provide more
 5 accurate estimates of individual studies' effects (21). In this context, this protocol implies
 6 prior documentation that allows for anticipating possible problems and improving planning
 7 before the review. A methodical and analytical approach will be employed. The purpose of
 8 this study protocol is to provide a transparent and standardized methodology for conducting a
 9 systematic review and meta-analysis in order to synthesize the available evidence and
 10 determine the effects of acute physical activity on the circulating levels of endocannabinoids
 11 in healthy subjects.
 12
 13
 14
 15
 16
 17
 18
 19
 20
 21
 22
 23
 24
 25
 26
 27
 28

29 **METHODS/DESIGN**

30 This protocol follows the Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-
 31 Analysis Protocols (PRISMA-P) (21) and the Cochrane Handbook for Systematic Reviews of
 32 Interventions (Version 6) (22). The PRISMA-P checklist can be found in Additional file 1. We
 33 registered in the International Prospective Register of Systematic Reviews (PROSPERO)
 34 (registration number: CRD42020202886). Any changes to this protocol will be described in
 35 the final review.
 36
 37
 38
 39
 40
 41
 42
 43
 44
 45
 46
 47

48 **Eligibility criteria**

49 The eligibility criteria are under the Population-Intervention-Comparison-Outcomes-
 50 Study type (PICOS):
 51
 52

53 *Population*

54 We will include studies with healthy humans, adults over 18, trained or not (23).
 55
 56
 57
 58
 59
 60
 61
 62
 63
 64
 65

1 Including individuals need to be submitted to placebo medication or included in control
2 groups of interventional studies on diseases/risk factors since both placebo and control groups
3 can be considered similar enough to be combined for synthesis (24). No gender or ethnicity
4 restrictions should apply. When more than one study provides data from the same sample, we
5 will consider only the study that presents the most detailed results concerning its eligibility.
6
7
8
9
10
11

12 Studies carried out with unhealthy subjects or with factors that can interfere with the
13 reliability of the results, such as the use of psychotropic substances in the last seven days (for
14 example, synthetic cannabis/cannabis, cocaine, methamphetamine, ecstasy, and others) and
15 the absence of relevant guidelines before the day of the test and/or intervention about food
16 and exercise will be excluded.
17
18
19
20
21
22

23 *Intervention*

24 Studies will be eligible if presented as an intervention, physical activity, or exercise
25 (including a single session), regardless of its type (aerobic, muscular endurance), modality
26 (walking, running, cycling, free weights), duration (week, months), frequency (days/week),
27 session duration (minutes), number of sessions, prescription methods, or intensity [lactate,
28 percentages of peak heart rate (peak HR), reserve HR (Karvonen), ventilatory thresholds in
29 the cardiopulmonary test, percentage of power (Watt) and maximum repetition, subjective
30 feeling of effort (Borg), others] (25). The World Health Organization (23) defines physical
31 activity as "anybody movement produced by skeletal muscles that require energy
32 expenditure." Exercise is defined as planned, structured, regular physical activity aiming to
33 improve or maintain physical fitness.
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49

50 No restrictions will be imposed regarding supervision (in person or not), the location
51 of the intervention (clinic/health center, hospital, university, other), the type of performance
52 (individual, group), or the specialization of the professionals who provided the physical
53 activity or exercise (physiotherapist, fitness instructor, exercise scientist, other).
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

Interventions that feature combined resources (for example, lifestyle change strategies, such as health education or diet/nutritional supplementation) will be excluded.

Comparison

Control conditions will be included, covering a control group comprised of individuals who did not participate in any form of intervention or comparisons of the results obtained between the baseline and immediately after the intervention or recovery period. Control conditions that are not reported or cannot be calculated will be excluded.

Outcomes

We will include studies that evaluated circulating levels of endocannabinoids (AEA and 2-AG), immediately after the end of the intervention, without restriction to primary or secondary outcomes. These measures are considered a physiological response or acute effect of physical activity or exercise. Studies with measurements of salivary endocannabinoids or other endogenous ligands will not be included.

Study type

Experimental studies (randomized or controlled clinical trials) or quasi-experimental and excluded studies, observational studies, and systematic reviews will be included.

Search strategy

These are the future electronic databases of the comprehensive search: US National Library of Medicine (PubMed), EMBASE, Web of Science, Cumulative Index to Nursing and Allied Health Literature (CINAHL), SPORTDiscus, and Scopus, without language limitations and published through March 2021. The searches will be conducted again before the final analysis. Searches for unpublished studies (gray literature) will be conducted using OPEN GRAY, Networked Digital Library of Theses and Dissertation, and ProQuest to identify any further information. The reference lists of the included studies and relevant reviews will also

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

be analyzed manually, and specialists in the subject will also be identified and consulted to identify potential additional studies not included in the initial searches. The search strategy will include different combinations based on medical subject heading terms and free text words and Boolean operators to ensure maximum capture of articles, including: "exercise," "exercise, physical," "exercise training," "physical activity," "endocannabinoids," "2-arachidonoyl-glycerol," "glyceryl 2-arachidonate," "2-AG," "anandamide," "AEA," "n-arachidonylethanolamide," "adult," "young adult," and "middle-aged." The preliminary search strategies were developed and tested in a pilot, adapted according to each database (Additional file 2). The search strategy description includes all planned modifications to the indexing terms and free text words that may vary between databases. A documentary librarian (DMRP) wrote and implemented the research strategy and assisted in selecting and evaluating the studies mentioned below.

31 **Selection of studies**

32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

The identified studies will be imported into reference management software (EndNote Web), and duplicate records will be deleted. Titles and abstracts will be evaluated and labeled agreements/disagreements on a specific platform for authors of systematic reviews (Rayyan) (26). This study selection process will be carried out independently with blinding by two reviewers (VB and GP) familiar with the topic of interest to identify eligible studies. There will be no blinding to authors, institutions, or journals of the reviewed articles during the studies' selection. Abstracts that do not provide sufficient information on the eligibility criteria will be selected for a more detailed evaluation by reading the article's full text. The reviewers will then examine the articles to be included in a paired, independent, and blinded way, in the original format in full text, and available in full in each database. At this stage, studies considered not relevant (according to the eligibility criteria listed above) will be

1 excluded, and we will record the corresponding reason in the article selection flowchart. Any
 2 inconsistencies between the reviewers regarding the selection will be resolved by a third
 3
 4 researcher (ASAJr) who will decide. The selection process of the eligible studies shown in the
 5
 6 PRISMA Flowchart provides an idea about the search strategy's scope and increases the
 7
 8 review's internal validity.
 9

10 11 12 13 14 **Data extraction**

15
16 A data extraction form prepared in Microsoft Excel was explicitly developed for this
 17
18 review (Table 1). The extracted data will be filled in by two reviewers independently with
 19
20 blinding, including details about the publication, study design, characteristics of the
 21
22 population/intervention, and the results.
 23
24

25
26
27
28
29 *Insert Table 1*
30
31
32

33
34 After reading the included articles, additional data will be extracted when considered
 35
36 essential for the interpretation and applicability of the results; for example, the methods used
 37
38 for analyzing the endocannabinoids. In cases of missing data, the authors of the studies will
 39
40 be contacted by e-mail. If no response is received, the study will be excluded. Results data
 41
42 that meet the inclusion criteria will be extracted, including baseline values, immediately after
 43
44 the intervention and/or recovery period from the exercise and the mean values and
 45
46 postintervention standard deviation. If available, the values of P, interquartile range (IQR),
 47
48 standard error, and interval confidence will be extracted.
 49
50
51
52

53 54 55 **Bias risk assessment**

56
57 Randomized clinical trials will be evaluated using the Revised Cochrane risk-of-bias
 58
59
60
61
62
63
64
65

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

tool for randomized trials (RoB2) (27). This tool covers the following criteria: randomization process, deviations from the intended interventions, missing results data, measurement of the results, selection of the reported result, and general bias. Each criterion will be evaluated and scored as low risk, some concerns, or a high risk of bias.

The Risk Of Bias In Nonrandomized Studies of Interventions (ROBINS-I) tool will assess the risk of bias in nonrandomized and quasi-experimental studies (28) will be used. The domains comprise confusion, selection of study participants, classification of interventions, deviations from intended interventions, missing data, measurement of results, and selecting the reported result. It can be classified as without information, low risk, moderate, severe, or critical. The risk of bias assessment will be carried out by two assessors independently, and any differences will be resolved by discussion and consensus.

Data synthesis and analysis

The included studies will be stratified by type of intervention and outcome measures and analyzed separately, based on the study design. The level of agreement between the two authors at each stage of the review (selection of studies, data extraction, assessment of the risk of bias, and quality of evidence) will be assessed using Cohen Kappa statistics. The closer this statistic is to 1, the higher the agreement among reviewers. The included studies will be summarized in an Ad Hoc table for comparison and assistance in critical interpretation. Whenever possible, we will use the results from an intention-to-treat analysis.

With the recorded results data, the meta-analysis can be calculated for each data comparison, if applicable. The results will be recorded in tables and/or graphs that describe data such as means and standard deviation (from data obtained from the studies or calculated), the effect size as a standardized mean difference with 95% CI and study weighting. The forest plots will be created using Review Manager software (RevMan 5.4) (29) to illustrate the

1 individual and grouped effect sizes. The standardized mean difference will be calculated as
 2 the difference in means between the values (baseline/postintervention and/or
 3 intervention/control) divided by the pooled standard deviation of the measurements. For this
 4 study, the effect size will be categorized as follows: small (ranging from 0 to 0.2), moderate
 5 (ranging from 0.2 to 0.5), and large (ranging from 0.5 to 0.8). The studies' weighting effect
 6 will be calculated using the inverse variance method (individual effect sizes multiplied by the
 7 inverse of their standard squared error) to reflect individual studies' contribution to the total
 8 effect estimate.
 9

10 The heterogeneity assessment will include the χ^2 test to verify heterogeneity, with a
 11 significance level of $p < 0.10$. The magnitude of the heterogeneity of each meta-analysis will
 12 be quantified by the I^2 statistic, interpreted as follows: might not be essential (0%– 40%),
 13 moderate (30%– 60%), substantial (50%– 90%), and considerable (75%– 100%). If I^2 is
 14 $\leq 50\%$, the fixed-effects model (Mantel-Haenszel method) will be used for the meta-analysis.
 15 Although an $I^2 > 50\%$ represents heterogeneity, the random-effects model (DerSimonian and
 16 Laird method) will collect the results. Considering the possibility of high heterogeneity, we
 17 will analyze its possible sources to obtain an objective conclusion.
 18

19 The analysis of the source of heterogeneity (sensitivity, subgroup and/or meta-
 20 regression analysis) will be defined only during the review process, where the peculiarities of
 21 the included studies will be identified, such as sample size, sex, age, overload principle
 22 (intensity versus volume), adaptation to exercise, randomization, missing data, and other
 23 relevant situations.
 24

25 The funnel plot will be used to assess publication bias, and the Egger test will check
 26 the asymmetry of plotting the funnel. Asymmetric funnel plots indicate publication bias,
 27 which is a reporting bias, but it also implies that there may be other causes, such as
 28 differences in methodological quality or heterogeneous effects of the intervention. We will
 29

review the possible reasons and explain any asymmetric funnel plot.

Assessment of the quality of the evidence

The quality of the evidence will be analyzed in a paired and independent way using the Grading of Recommendations Assessment, Development, and Evaluation (GRADE) (30, 31). The GRADE tool consists of the following criteria: methodological limitations (risk of bias), inconsistent results, indirect evidence, imprecision, and publication bias. For each analyzed result, the evidence's quality will be classified as very low, low, moderate, or high using the GRADE profiler (GRADEpro) Guideline Development Tool (32). Disagreements will be resolved by discussion and consensus. The results will be presented in a "Summary of Findings" table.

DISCUSSION

This review will be the first to systematically identify and analyze evidence on the acute effects of physical activity on circulating levels of endocannabinoids. The assessment of the risk of bias, the quality of evidence, and heterogeneity, with particular reference to the sample's characteristics, is a point highlighted in this review. This protocol presents an explicit and replicable methodology through the search strategy, study selection, and data extraction, in addition to synthesizing the data using meta-analyses. This study will provide an overview of the evidence available to avoid duplication of research. It will also identify possible knowledge gaps and inform experimental protocols in physical activity and endocannabinoid research. It will guide recommendations on the effectiveness of physical activity on the endocannabinoid system to improve future research. Above all, this study's results will provide the highest level of evidence that can potentially be transferred to clinicians, healthcare professionals, and policymakers to guide their decision-making.

DECLARATIONS

Ethics approval and consent to participate not applicable.

Consent for publication not applicable.

Availability of data and materials The datasets used and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Competing interests None.

Funding Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Financial Code 1, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), and the Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC) financially supported the production of this protocol. The funding will support data collection, management, and data analysis carried out by researchers through grants and capital. The funders will not be involved in any other aspect of the study, such as protocol design, interpretation, or the publication of results.

Authors' contributions VB and ASAJr designed and drafted the protocol. VB and DMRP developed the search strategy and defined the assessment tools for the studies. VB and GP conducted the pilot search in the databases assisted by DMRP. VB developed the data extraction form and the procedures adopted for data synthesis and analysis of results. ASAJr and IJCS performed a critical review of the manuscript, statistical analysis, and data synthesis. GP enabled the inclusion of RevMan software in the methodology. ASAJr coordinated the study. All authors contributed to the revision/editing of the protocol and agreed with the final version of this review protocol. VB is the guarantor of the review.

Acknowledgments We thank Karyn Munik Lehmkuhl (UFSC) for supporting the methodology.

Author's information Dr. ASAJr, Ph.D., is a full professor at the Federal University of Santa Catarina (UFSC), one of the best in Latin America, where he coordinates the Exercise

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

Biology Lab (<https://labioex.ufsc.br/>). He has investigated the biological effects of exercise on the central nervous system for fifteen years, focusing on the dopaminergic, adenosinergic, and cannabinoid systems, the latter subject of this protocol. He made significant contributions to the neuroprotective effects of exercise on Parkinson's disease and senile dementia.

ABBREVIATIONS

AEA	n-arachidonylethanolamide
2-AG	2-arachidonylglycerol
CB1	Cannabinoid receptors type 1
CB2	Cannabinoid receptors type 2
PRISMA-P	Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analysis Protocols
PROSPERO	International prospective register of systematic reviews
PICOS	Population-Intervention-Comparison-Outcomes-Study type
HR	Heart Rate
PubMed	US National Library of Medicine
CINAHL	Cumulative Index to Nursing and Allied Health Literature
IQR	interquartile range
RoB2	Revised Cochrane risk-of-bias tool for randomized trials
ROBINS-1	Risk Of Bias In Nonrandomized Studies of Interventions
RevMan	Review Manager
GRADE	Grading of Recommendations Assessment, Development, and Evaluation
GRADEpro	Grading of Recommendations Assessment, Development, and Evaluation profiler

REFERENCES

1. Watkins BA. Endocannabinoids, exercise, pain, and a path to health with aging. *Mol Aspects Med.* 2018;64:68-78.
2. Hodges EL, Ashpole NM. Aging circadian rhythms and cannabinoids. *Neurobiol Aging.* 2019;79:110-8.
3. Watkins BA. Diet, endocannabinoids, and health. *Nutrition Research.* 2019;70:32-9.
4. Tóth KF, Ádám D, Bíró T, Oláh A. Cannabinoid Signaling in the Skin: Therapeutic Potential of the "C(ut)annabinoid" System. *Molecules.* 2019;24(5).
5. Forte N, Fernández-Rilo AC, Palomba L, Di Marzo V, Cristino L. Obesity Affects the Microbiota-Gut-Brain Axis and the Regulation Thereof by Endocannabinoids and Related Mediators. *Int J Mol Sci.* 2020;21(5).
6. Wang HQ, Han J. The endocannabinoid system regulates the moderate exercise-induced enhancement of learning and memory in mice. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness.* 2020;60(2):320-8.
7. Storozhuk MV, Zholos AV. TRP Channels as Novel Targets for Endogenous Ligands: Focus on Endocannabinoids and Nociceptive Signalling. *Curr Neuropharmacol.* 2018;16(2):137-50.
8. Cani PD, Plovier H, Van Hul M, Geurts L, Delzenne NM, Druart C, et al. Endocannabinoids--at the crossroads between the gut microbiota and host metabolism. *Nat Rev Endocrinol.* 2016;12(3):133-43.
9. Di Liegro CM, Schiera G, Proia P, Di Liegro I. Physical activity and brain health. *Genes.* 2019;10(9).

10. Dietrich A, McDaniel WF. Endocannabinoids and exercise. *Br J Sports Med.* 2004;38(5):536-41.
11. Hillard CJ. Circulating Endocannabinoids: From Whence Do They Come and Where are They Going? *Neuropsychopharmacology.* 2018;43(1):155-72.
12. Raichlen DA, Foster AD, Seillier A, Giuffrida A, Gerdeman GL. Exercise-induced endocannabinoid signaling is modulated by intensity. *Eur J Appl Physiol.* 2013;113(4):869-75.
13. Hicks SD, Jacob P, Perez O, Baffuto M, Gagnon Z, Middleton FA. The Transcriptional Signature of a Runner's High. *Med Sci Sports Exerc.* 2019;51(5):970-8.
14. Hughes L, Patterson SD. The effect of blood flow restriction exercise on exercise-induced hypoalgesia and endogenous opioid and endocannabinoid mechanisms of pain modulation. *J Appl Physiol (1985).* 2020;128(4):914-24.
15. Stensson N, Grimby-Ekman A. Altered relationship between anandamide and glutamate in circulation after 30 min of arm cycling: A comparison of chronic pain subject with healthy controls. *Molecular Pain.* 2019;15.
16. Bisogno T, Di Marzo V. The role of the endocannabinoid system in Alzheimer's disease: facts and hypotheses. *Curr Pharm Des.* 2008;14(23):2299-3305.
17. Charytoniuk T, Zywno H, Konstantynowicz-Nowicka K, Berk K, Bzdega W, Chabowski A. Can Physical Activity Support the Endocannabinoid System in the Preventive and Therapeutic Approach to Neurological Disorders? *Int J Mol Sci.* 2020;21(12).
18. Loprinzi PD, Zou LY, Li H. The Endocannabinoid System as a Potential Mechanism through which Exercise Influences Episodic Memory Function. *Brain Sciences.* 2019;9(5).

19. Silvestri C, Di Marzo V. The endocannabinoid system in energy homeostasis and the etiopathology of metabolic disorders. *Cell Metab.* 2013;17(4):475-90.
20. Tantimonaco M, Ceci R, Sabatini S, Catani MV, Rossi A, Gasperi V, et al. Physical activity and the endocannabinoid system: an overview. *Cell Mol Life Sci.* 2014;71(14):2681-98.
21. Moher D, Shamseer L, Clarke M, Ghersi D, Liberati A, Petticrew M, et al. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Syst Rev.* 2015;4:1.
22. Higgins JPT, Thomas J, Chandler J, Cumpston M, Li T, Page MJ, Welch VA. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions version 6.0 (updated July 2019)*. Cochrane, 2019. www.training.cochrane.org/handbook. Accessed 16 October 2020.
23. World Health Organization. Physical activity. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/physical-activity> (2018) Accessed 16 October 2020.
24. McKenzie JE, Brennan SE, Ryan RE, Thomson HJ, Johnston RV, Thomas J. Chapter 3: Defining the criteria for including studies and how they will be grouped for the synthesis. In: Higgins JPT, Thomas J, Chandler J, Cumpston M, Li T, Page MJ, Welch VA (editors). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions version 6.1 (updated September 2020)*. Cochrane, 2020. Available from www.training.cochrane.org/handbook.
25. Regnaud JP, Lefevre-Colau MM, Trinquart L, Nguyen C, Boutron I, Brosseau L, et al. High-intensity versus low-intensity physical activity or exercise in people with hip or knee osteoarthritis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015(10):CD010203.
26. Ouzzani M, Hammady H, Fedorowicz Z, Elmagarmid A. Rayyan-a web and mobile app for systematic reviews. *Syst Rev.* 2016;5(1):210.

- 1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
27. Sterne JAC, Savović J, Page MJ, Elbers RG, Blencowe NS, Boutron I, et al. RoB 2: a revised tool for assessing risk of bias in randomised trials. *BMJ*. 2019;366:l4898.
28. Sterne JA, Hernán MA, Reeves BC, Savović J, Berkman ND, Viswanathan M, et al. ROBINS-I: a tool for assessing risk of bias in non-randomised studies of interventions. *BMJ*. 2016;355:i4919.
29. Review Manager (RevMan) [Computer program]. Version 5.4, The Cochrane Collaboration, 2020
30. Schünemann H, Brożek J, Guyatt G, Oxman A, editors. GRADE handbook for grading quality of evidence and strength of recommendations. Updated October 2013. The GRADE Working Group, 2013. Available from guidelinedevelopment.org/handbook.
31. Balshem H, Helfand M, Schünemann HJ, Oxman AD, Kunz R, Brozek J, et al. GRADE guidelines: 3. Rating the quality of evidence. *J Clin Epidemiol*. 2011;64(4):401-6.
32. GRADEpro GDT: GRADEpro Guideline Development Tool [Software]. McMaster University, 2015 (developed by Evidence Prime, Inc.). Available from gradepr.org.

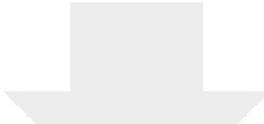
Table 1

[Click here to access/download;Table;Table 1.docx](#) ✚

Table 1. Characteristics of the studies included in the systematic review and meta-analysis.

Publication details	Study design	Population characteristics	Intervention characteristics		Results	
			Physical activity or exercise	Circulating endocannabinoid levels		
Title, first author, country of research, year of publication, journal, published language.	Experimental (randomized or controlled trials) or quasi-experimental studies.	Source, sample size, eligibility criteria, sex (%), age (years, mean and standard deviation (total sample and/or by the group).	Physical activity level (trained / untrained), health condition.	The number of participants in each group and type of intervention (anaerobic, aerobic, interval).	Protocol (intensity [lactate, percentages of peak HR), reserve HR (Karvonen), ventilatory thresholds in the cardiopulmonary test, percentage of power (Watt) and maximum repetition, subjective feeling of effort (Borg), others], session duration (minutes), session frequency, intervention duration (weeks)).	Summary data for each group, the difference between groups and/or change between baseline and post-intervention (mean and standard deviation, <i>P</i> -value, interquartile range, standard error and/or interval confidence).

File 1



Click here to access/download
Supplementary Material
Additional file 1_The PRISMA-P Checklist.docx



File 2



Personal Cover

[Click here to access/download;Personal Cover;210222_Cover_assinado.pdf](#)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
 MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS, TECNOLOGIAS E SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
 CAMPUS JARDIM DAS AVENIDAS - RODOVIA GOVERNADOR JORGE LACERDA Nº 3201 - KM 35,4
 88906-072 - ARARANGUÁ - SC
 TELEFONE: (48) 3721-6959 | E-MAIL: ararangua@contato.ufsc.br

Araranguá-Brazil, fevereiro 22, 2021

Dear Dr. Craig Lockwood
 Editor-in-Chief – Systematic Reviews

We should like to submit our protocol entitled 'A description of the effects of exercise on circulating endocannabinoid levels – a protocol for a systematic review and meta-analysis as a Short Communication to the Purinergic Signaling.

Endocannabinoid signaling is still little explored in the exercise sciences, and this protocol aims to assess a paramount exercise phenomenon: the feeling of well-being after exercise. This phenomenon is signaled by endocannabinoids produced during exercise, and we intend to perform a meta-analysis to assess the size of this effect.

All authors have read the protocol and have participated in the protocol preparation to merit authorship. The protocol has not been previously published, and it is not under simultaneous consideration by another journal.

Previously, I wrote to the Springer Nature Waivers (ticket #5225122) about a waiver, as we are currently going through an anti-scientific political crisis in Brazil under the Bolsonaro government that cut these funds. I request support from Springer.

Best regards,



Documento assinado digitalmente
 Aderbal Silva Aguiar Junior
 Data: 22/02/2021 15:45:51-0300
 CPF: 952.396.009-10



Assunto **Confirmation of your submission to Systematic Reviews SYSR-D-21-00230 - [EMID:3ad0498aed9b8795]**

De Systematic Reviews Editorial Office <em@editorialmanager.com>

Remetente <em.sysr.0.7189a2.d6672db1@editorialmanager.com>

Para Aderbal S Aguiar Jr <aderbal.aguiar@ufsc.br>

Responder para Systematic Reviews Editorial Office <judy.maturan@springer.com>

Data 23/02/2021 16:52

SYSR-D-21-00230

A description of the effects of exercise on circulating endocannabinoid levels - a protocol for a systematic review and meta-analysis
 Viviane Bristot; Giorgio Poletto; Débora Maria Russiano Pereira; Ione Jayce Ceola Schneider, Ph.D.; Aderbal S Aguiar Jr, Ph.D.
 Systematic Reviews

Dear Dr Aguiar Jr,

Thank you for submitting your manuscript 'A description of the effects of exercise on circulating endocannabinoid levels - a protocol for a systematic review and meta-analysis' to Systematic Reviews.

The submission id is: SYSR-D-21-00230
 Please refer to this number in any future correspondence.

During the review process, you can keep track of the status of your manuscript by accessing the following website:

<https://www.editorialmanager.com/sysr/>

If you have forgotten your username or password please use the "Send Login Details" link to get your login information. For security reasons, your password will be reset.

Best wishes,
 Editorial Office
 Systematic Reviews
<https://systematicreviewsjournal.biomedcentral.com/>

****Our flexible approach during the COVID-19 pandemic****

If you need more time at any stage of the peer-review process, please do let us know. While our systems will continue to remind you of the original timelines, we aim to be as flexible as possible during the current pandemic.

This letter contains confidential information, is for your own use, and should not be forwarded to third parties.

Recipients of this email are registered users within the Editorial Manager database for this journal. We will keep your information on file to use in the process of submitting, evaluating and publishing a manuscript. For more information on how we use your personal details please see our privacy policy at <https://www.springernature.com/production-privacy-policy>. If you no longer wish to receive messages from this journal or you have questions regarding database management, please contact the Publication Office at the link below.

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Use the following URL: <https://www.editorialmanager.com/sysr/login.asp?a=r>). Please contact the publication office if you have any questions.

APÊNDICE B – Dissertação formatada para publicação

1 Revista sugerida para publicação: Sports Medicine

2 Qualis (2013-2016): A1

3 Fator de impacto (2019): 13.8

4

5 **Title**

6 The acute Effect of exercise on circulating endocannabinoid levels: a systematic review
7 and meta-analysis

8

9

10 **Authors**

11 Viviane Bristot¹, Giorgio Poletto¹, Melina Hauck², Débora Maria Russiano Pereira³,
12 Ione Jayce Ceola Schneider⁴, Aderbal S Aguiar Jr^{1*}.

13

14

15 **Institutional affiliation**

16 1 LABIOEX-Exercise Biology Lab, Department of Health Sciences, UFSC-Federal
17 University of Santa Catarina, Araranguá, SC, Brazil

18 2 Cardiovascular and Metabolic Rehabilitation Research Group of UFCSPA-Federal
19 University of Health Sciences of Porto Alegre, Department of Health Sciences, UFSC-
20 Federal University of Santa Catarina, Araranguá, SC, Brazil

21 3 Librarian-documentalist, Sectorial Library of Campus Araranguá, UFSC-Federal
22 University of Santa Catarina, Araranguá, SC, Brazil

23 4 LABEPI-Epidemiology Lab, Health Science Department and Rehabilitation Post-
24 graduate Program, UFSC-Federal University of Santa Catarina, Araranguá, Santa
25 Catarina, Brazil

26

27

28 Viviane Bristot, E-mail: viviane.bristot@gmail.com, Orcid: [https://orcid.org/0000-
29 0001-7385-016X](https://orcid.org/0000-0001-7385-016X)

30 Giorgio Poletto, E-mail: giorgio.fisioterapia@gmail.com, Orcid: [https://orcid.org/0000-
31 0003-3568-242X](https://orcid.org/0000-0003-3568-242X)

32 Melina Hauck, E-mail: melinahck@gmail.com, Orcid: [https://orcid.org/0000-0001-
33 9202-7574](https://orcid.org/0000-0001-9202-7574)

1 Ione Jayce Ceola Schneider: Email: ione.schneider@ufsc.br, Orcid:
2 <https://orcid.org/0000-0001-6339-7832>.
3 Aderbal S Aguiar Jr, Email: aderbal.aguiar@ufsc.br, Orcid: <https://orcid.org/0000->
4 [0002-6825-3333](https://orcid.org/0002-6825-3333)
5
6
7 *Corresponding author: Prof. Aderbal S Aguiar Jr, Department of Health Sciences,
8 UFSC Federal University of Santa Catarina, 88905-120, Araranguá – SC, Brazil. Tel.:
9 +55 (48) 99647-3639. E-mail aderbal.aguiar@ufsc.br

1 **ABSTRACT**

2 The effects of circulating endocannabinoids are related to the benefits of acute exercise
3 adaptations. The main objective of this study was to determine the effect of acute
4 exercise on circulating levels of endocannabinoids in healthy humans. PubMed,
5 EMBASE, Web of Science, CINAHL, SPORTDiscus, and Scopus were the databases.
6 The search strategies combined Medical Subject Headings (MeSH) terms and free text
7 words, including "exercise", "exercise, physical", "exercise training", "physical
8 activity", "endocannabinoids", "2-arachidonoyl-glycerol" , "glyceryl 2-arachidonate",
9 "2-AG", "anandamide", "AEA", "n-arachidonylethanolamide", "adult", "young adult"
10 and "middle-aged". We selected experimental or quasi-experimental studies published
11 up to March 2021. Study selection, data extraction, and assessment of the risk of bias
12 were carried out in a paired and independent manner, and the Kappa coefficient of
13 agreement (k) was evaluated in the SPSS. Methodological quality was assessed using
14 the Revised Cochrane risk of bias tool for randomized trials (RoB 2), Joanna Briggs
15 Institute Critical Appraisal Checklist for Case Series, and Risk Of Bias In
16 Nonrandomized Studies of Interventions (ROBINS-I).

17 From the homogeneity between the studies, the data were analyzed by meta-analysis,
18 considering a statistical significance of $p < 0.05$ and the random effects method. The
19 combined effect estimates are presented as a weighted difference of means (DM) and a
20 95% confidence interval (CI). The Cochran Q test and the inconsistency test (I^2)
21 assessed the statistical heterogeneity of the studies. This systematic review with meta-
22 analysis suggests that acute exercise can increase circulating levels of endocannabinoids
23 in healthy humans. There is no difference in AEA levels between rest and during
24 exercise; we observed a marginal increase for running and cycling. The post-exercise
25 increase in circulating endocannabinoids occurs concerning the pre-exercise baseline,
26 except for high-intensity walking, running, cycling, and leg press. The AEA and 2AG
27 increase are superior for running with prescribed light-moderate intensity compared to
28 walking or for high-intensity running prescribed or self-selected. However, the included
29 studies had some concerns or moderate risk of bias and considerable statistical
30 heterogeneity, suggesting the need for caution in interpreting these results. This review
31 provides evidence that moderate acute exercise contributes to increased circulating
32 endocannabinoids; however, the risk of bias and the statistical heterogeneity of the
33 available studies may limit the conclusions. Further research is recommended to

1 confirm these findings using a randomized controlled design, larger samples, and
2 strategies to minimize the influence of confounding factors.

3 **Systematic review registration:** PROSPERO CRD42020202886.

4 **Keywords:** Exercise. Physical activity. Endocannabinoids. Glycerol 2-arachidonate. 2
5 arachidonoylglycerol. Anandamide. N arachidonylethanolamine. Endocannabinoid
6 system. Endocannabinoid blood level. Systematic review.

7

8 **Declarations**

9 **Funding**

10 Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Financial
11 Code 1, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), and
12 the Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC)
13 financially supported the production of this review. The funding will support data
14 collection, management, and data analysis carried out by researchers through grants and
15 capital. The funders will not be involved in any other aspect of the study, such as
16 protocol design, interpretation, or the publication of results.

17

18 **Conflicts of interest/Competing interests** The authors declare that they have no
19 competing interests.

20

21 **Availability of data and material** The datasets generated and analyzed during the
22 current study are available from the corresponding author on reasonable request.

23

24 **Code availability** Not applicable.

25

26 **Authors' contributions** VB and ASAJr designed and wrote the review. VB and DMRP
27 developed the search strategy and defined the study evaluation tools. VB and GP
28 searched the DMRP-assisted databases. VB developed the data extraction form and the
29 procedures adopted for data synthesis and analysis of the results. MH performed
30 statistical analysis and guidelines for assessing the risk of bias. ASAJr, IJCS, and MH
31 critically reviewed the manuscript, statistical analysis, and data synthesis. ASAJr
32 coordinated the study. All authors contributed to the review/editing of the protocol and
33 agreed on the final version of this review protocol. VB is the guarantor of the review.

34

- 1 **Ethics approval** Not applicable.
- 2
- 3 **Consent to participate** Not applicable.
- 4
- 5 **Consent for publication** Not applicable.
- 6

1 BACKGROUND

2 Anandamide or n-arachidonylethanolamine (AEA) and 2-
3 arachidonoylglycerol (2-AG) are bioactive lipids derived from membrane phospholipid
4 and arachidonic acid precursors, called endogenous cannabinoid ligands or
5 endocannabinoids [1, 2]. These signaling pathways activated by endocannabinoids
6 culminate in the suppression of neurotransmitter release and modulation of gene
7 expression, constituting the basis of the effects mediated by cannabinoid receptors [3].
8 For example, stress, inflammation, and physical activity or exercise are potential stimuli
9 that modulate endocannabinoid levels in the bloodstream, organs, and tissues;
10 cannabinoid receptor type 1 (CB1R) being predominantly expressed in the brain and
11 CB2R in immune system cells [4, 11].

12 Acute exercise regulates the synthesis of endocannabinoids, usually increasing
13 circulating levels in intensity-dependent mode [12]. Skeletal muscle is the primary
14 source of circulating endocannabinoids, and the physiological mechanism is preceded
15 by the regulation of muscle gene expression of the endocannabinoid system [4, 12].
16 Fatty acid amide hydrolase (FAAH) gene expression (AEA degradation) is down-
17 regulated, and CB2R is expressed in response to acute exercise in humans [12]. Thus,
18 acutely increased circulating levels of AEA and 2-AG can mediate transient responses
19 to maintain or restore physiological functioning and homeostasis. For example,
20 endocannabinoids circulating increase glucose uptake, insulin and immune signaling,
21 and mitochondrial biogenesis in skeletal muscle, resulting in increased exercise
22 performance [12, 13]. Endocannabinoids are lipophilic, cross the blood-brain barrier
23 and have central neurological effects [14, 15]. The "runner's high" is characterized by a
24 mental state of euphoria, reduced anxiety, hypoalgesia, and sedation, experienced by
25 long-distance runners related to endocannabinoids effects on neurotrophins, reward, and
26 nociceptive systems [16, 17].

27 However, the literature is inconsistent in the influence of acute exercise on
28 circulating levels of endocannabinoids [18, 19]. These controversies reveal that the
29 endocannabinoid system is still little explored within exercise physiology. There is
30 evidence with a focus on neurological and neurodegenerative disorders, as well as
31 central functions (cognition, mood, appetite, reward system) and peripheral functions
32 (glucose regulation, insulin sensitivity, lipogenesis) [20-22]. Other studies constitute a
33 personal critical interpretation and analysis of the author on the investigations of the
34 endocannabinoid system during physical activity, including circulating levels of

1 endocannabinoids [4, 20, 23, 24]. However, no previous study has established a
2 systematic review and meta-analysis on the effects of physical exercise on circulating
3 levels of endocannabinoids in healthy humans.

4 In this context, it is conceivable that circulating endocannabinoids are related
5 to the benefits of acute biological adaptations of exercise. However, some aspects
6 remain undefined, and it is not known: i) whether acute exercise contributes to the
7 increase in circulating levels of endocannabinoids; and ii) as different types [aerobic
8 (prolonged or long-lasting), muscle endurance (short duration)], modalities (walking,
9 running, cycling, free weights), and session duration (minutes) are described in this
10 literature. Thus, this study intends to consider an approach that overcomes technical
11 obstacles of literature reviews with a methodology that systematically gathers and
12 reviews individual studies impartially for a reliable and reproducible result—
13 considering the systematic review and meta-analysis, the study with the highest level of
14 evidence.
15

1 **METHODS**

2 This review follows the statement of the Preferred Reporting Items for
3 Systematic reviews and Meta-Analyse (PRISMA) [18] and the Cochrane Handbook for
4 Systematic of Intervenes (Version 6, 2019) (19). The protocol was registered in the
5 International Prospective Register of Ongoing Systematic Reviews (PROSPERO)
6 (registration number: CRD42020202886).

7

8 **ELIGIBILITY CRITERIA**

9 The eligibility criteria were designed for a broader evaluation of multiple
10 interventions to be beneficial for end-users because decision-making involves selecting
11 a series of intervention options. Above all, considering the applicability of the analysis
12 of primary research and the revised interventions. It follows the eligibility criteria
13 according to the Population-Intervention-Comparison-Outcomes-Study (PICOS):

14

15 **Population**

16 We included studies with healthy humans over 18 years of age (20). No gender
17 or ethnicity restrictions were applied. Subjects submitted to placebo medication or to
18 control groups of interventional studies on diseases/risk factors since both the placebo
19 group and the control group can be considered similar enough to be combined for
20 synthesis (21). Individuals exposed to previous tests in the experimental design were
21 included only if the condition did not interfere in the result of interest. When more than
22 one study provided data from the same sample, we considered only the study that
23 presented the most detailed results regarding its eligibility.

24 Studies conducted with unhealthy subjects or with factors that may interfere
25 with the reliability of results, such as the use of psychotropic substances in the last
26 seven days (e.g., herbal/synthetic cannabinoids, cocaine, methamphetamine, ecstasy,
27 and others) and the absence of relevant guidance before the day of the test and/or
28 intervention on diet and exercise were excluded.

29

30 **Intervention**

31 Any intervention, physical activity, or acute exercise (including a single
32 session) was included, regardless of its type [aerobic (prolonged or long-lasting),
33 muscle endurance (short duration)], modality (walking, running, cycling, free weights),
34 duration (week, months), frequency (days /week), session duration (minutes), number of

1 sessions, prescription methods or intensity [lactate, peak heart rate percentages (peak
2 HR), reserve HR (Karvonen), ventilatory thresholds in cardiopulmonary test, potency
3 (Watt, W) and a maximal repetition (1RM), subjective feeling of exertion (Borg),
4 others] [22].

5 No restrictions were imposed on supervision (face-to-face or not), the place of
6 intervention (clinic/health center, hospital, university, others), the type of performance
7 (individual, group), or the specialization of professionals who provided physical activity
8 or exercise (physiotherapist, exercise instructor, exercise scientist, others).

9 Interventions that presented combined resources (e.g., lifestyle change
10 strategies such as health education or diet/nutritional supplementation) were excluded.

11

12 **Comparison**

13 Furthermore, the baseline result was considered to control the results obtained
14 between the baseline and immediately after the intervention or recovery period. The
15 control conditions were included, including a control group formed by individuals who
16 did not participate in any form of intervention, or one of the interventions of the study
17 was identified as experimental (for convenience) and treated the other as a comparator
18 (comparison of two competing interventions). Control conditions that were not reported
19 or could not be calculated were excluded.

20

21 **Outcomes**

22 Studies evaluating circulating levels of endocannabinoids (AEA and 2-AG)
23 immediately after the end of the intervention were included, without restriction to
24 primary or secondary outcomes. These measurements are considered a physiological
25 response or acute effect of physical activity or exercise. Studies with salivary
26 endocannabinoid measurements or other endogenous ligands were excluded.

27

28 **Type of study**

29 Experimental (randomized controlled trials (RCT) or non-controlled) or almost
30 experimental and excluded studies, observational studies, and systematic reviews were
31 included. The almost experimental, non-randomized studies were included to provide
32 additional evidence to those available in the experimental trials, as they are essential for
33 many areas of health assessment [23].

34

1 RESEARCH STRATEGY

2 A comprehensive search was conducted in the following electronic databases:
3 US National Library of Medicine (PubMed), EMBASE, Web of Science, Cumulative
4 Index to Nursing and Allied Health Literature (CINAHL), SPORTDiscus, and Scopus,
5 without language limitations and published by March 2021. The searches were
6 performed again before the final analysis. Research from unpublished studies (gray
7 literature) was conducted using OPEN GREY, Biblioteca Digital em Rede de Teses e
8 Dissertações, and ProQuest to identify additional information. Reference lists of
9 included studies and relevant reviews were also manually analyzed, and subject matter
10 experts were also identified and consulted to identify potential additional studies not
11 included in the initial research. The research strategy included different combinations
12 based on Medical Subject Headings (MeSH) and free text words and Boolean operators
13 to ensure maximum capture of articles, including: "exercise", "exercise, physical",
14 "exercise training", "physical activity", "endocannabinoids", "2-arachidonoyl-glycerol",
15 "glyceryl 2-arachidonate", "2-AG", "anandamide", "AEA", "n-
16 arachidonoylethanolamide", "adult", "young adult" and "middle-aged". Preliminary
17 search strategies were developed and tested in a pilot, adapted according to each
18 database (Supplementary Information 1). The search strategy description includes all
19 planned modifications to indexing terms and free text words that vary between
20 databases. A documentary librarian (DMRP) corrected and implemented the research
21 strategy and assisted in selecting and evaluating the studies mentioned below.

22

23 SELECTION OF STUDIES

24 The identified studies were imported into the reference management software
25 (EndNote Web), and the duplicate records were deleted. The titles and abstracts were
26 evaluated and labeled as concordances/disagreements in a specific platform for authors
27 of systematic reviews (Rayyan) [24]. This process of selection of studies was carried
28 out independently blinded by two reviewers (VB and GP) familiar with the theme of
29 interest to identify eligible studies. There was no blinding to authors, institutions, or
30 journals of the articles reviewed during the selection of studies. Abstracts that did not
31 provide sufficient information on eligibility criteria were selected for a more detailed
32 evaluation by reading the full text of the article. The reviewers then examined the
33 articles to be included in a paired, independent and blind manner, in the original full-
34 text format and available in full in each database. At this stage, studies considered non-

1 relevant (according to the eligibility criteria listed above) were excluded, and we
2 recorded the corresponding reason in the selection flowchart of the articles. Any
3 inconsistencies among the reviewers regarding the selection were resolved by a third
4 researcher (ASAJr) who decided.

5

6 DATA EXTRACTION

7 A data extraction form developed in Microsoft Excel was explicitly developed
8 for this review (Table 1). The extracted data were filled out by two reviewers
9 independently blinded, including details about the publication, study design,
10 population/intervention characteristics, and results. After reading the included articles,
11 additional data were extracted when considered essential for the interpretation and
12 applicability of the results, for example, the methods used to analyze endocannabinoids.

13

14 *Insert Table 1*

15

16 In case of lack of data, the authors of the studies were contacted by e-mail.
17 When no response was received, the study was excluded.

18

19 RISK ASSESSMENT OF BIAS

20 Randomized clinical trials were evaluated using the Revised Cochrane risk of
21 bias tool for randomized trials (RoB 2), version for parallel studies and crossover,
22 according to the study design [25]. This tool covers the following domains:
23 randomization process, deviations from intended interventions, data of absent results,
24 measurement of results, selection of the reported result, and general bias. Each domain
25 integrates a series of signaling questions that aim to obtain information about the
26 characteristics of the study that are relevant to the risk of bias. After that, the judgment
27 resulting from each domain resulted in the risk of bias proposed by an algorithm.
28 Judgments can be low risk, some concerns, or a high risk of bias. For the development
29 of bias risk assessment figures, the Excel tool was used to implement RoB2.

30 Uncontrolled clinical studies were evaluated by critical appraisal checklist for
31 case series the Joanna Briggs Institute (JBI), an organization similar to the Cochrane of
32 evidence-based health research (26). In the tool, the case series study is defined by
33 observing several individuals, usually all receiving the same intervention, without a
34 control group. Tool items are related to the risk of bias, assurance of reports, and

1 appropriate statistical analyses. A "no" answer to any of the questions negatively
2 reflects the overall quality of the study, and cut-off scores for evaluation are
3 discouraged, and the reviewers themselves decide to include the study [27]. The results
4 of the critical evaluation were presented through a table instead of summarizing with a
5 score.

6 The tool Risk Of Bias In Nonrandomized Studies of Interventions (ROBINS-I)
7 was used to assess the risk of bias in non-randomized/almost experimental studies [23].
8 The domains include questions before the beginning of the interventions, classification
9 of the interventions themselves, and post-intervention problems, among them:
10 confusion, selection of study participants, classification of interventions, deviations
11 from the intended interventions, missing data, measurement of results, and selection of
12 the reported result. It was classified as unrelated, low risk, moderate, severe, or critical
13 for a complete understanding of the strengths and weaknesses of the evidence. The
14 possible sources of heterogeneity were extended to complement the concept of
15 ROBINS-I tool confounders as prognostic factors that predict whether an individual
16 receives one or another intervention of interest. Thus, the preliminary consideration of
17 confounders of the studies in general and their measured variables are: sample size
18 (sample calculation), gender (man/woman), age (years of age), overload principle
19 (intensity, volume), level of physical activity (questionnaire, accelerometer, self-
20 reported) and other additional. The co-interventions of the ROBINS-I tool were defined
21 as combined resources described in the eligibility criteria, among them: any change in
22 food consumption and medication use; and physical activity or excessive exercise 24
23 hours before the test/intervention. The tests performed before or after the exercise were
24 not considered co-intervention since they did not influence the intervention of interest;
25 they did not differ in their implementation, management, adement, behavior, or
26 outcomes of the study. Robvi, a Cochrane collaboration web application, was used to
27 project the figures according to the ROBINS-I bias risk assessment tool (28).

28 In RoB2 and ROBINS-I, the effect of the intervention of interest quantified in
29 each study was the assignment to baseline intervention, also referred to as the "intent to
30 treat" Effect.

31 The bias risk assessment was carried out by two evaluators independently, and
32 any differences were resolved by discussion and consensus.

33

34 SUMMARY AND DATA ANALYSIS

1 The included studies were stratified by type of intervention and organized
2 alphabetically. The level of agreement between the two authors in the selection stage of
3 the studies was measured by the Kappa agreement test (k) in the Statistical Package for
4 the Social Sciences, IBM SPSS Statistics version 28.0.0.0. The closer to 1 the k -test, the
5 greater the indication of an agreement between the reviewers. The included studies were
6 summarized in an Ad Hoc table for comparison and assistance in critical interpretation.
7 Whenever possible, we use the results of an intention-to-treatment analysis.

8 From the homogeneity between the studies, the data were analyzed by meta-
9 analysis, considering a statistical significance of $p < 0.05$ and the random effects method.
10 Estimates of the combined Effect are presented as a weighted difference from the means
11 (MD) and a confidence interval (CI) of 95%. The statistical heterogeneity of the studies
12 was evaluated by Cochrane's Q test and inconsistency test (I^2), in which values above
13 50% and 75% were considered indicative of intermediate and high heterogeneity,
14 respectively. Sensitivity analyses were performed considering the statistical
15 heterogeneity and peculiarities about the interventions of the included studies, such as
16 intensity, level, and type of physical activity. The publication bias was not evaluated
17 because the meta-analyses did not include a minimum of 10 studies. All meta-analysis
18 studies were analyzed using statistical software RStudio Desktop version 1.4.1106.

1 **RESULTS**

2 **STUDIES INCLUDED**

3 Fifteen original articles were included for analysis [10, 11, 13, 29-40], 12 in
4 meta-analysis for AEA [10, 11, 29-37, 39], and 10 studies in meta-analysis for 2-AG [7,
5 10, 13, 29, 31, 33-36, 39]. The kappa agreement test (k) value among evaluators was
6 0.93 (P<0.001). One study was reported in two publications [41, 39], the study with
7 more detailed results and methods was selected [39]. All included studies were
8 published after 2003, with eight published after 2016. The selection process of the
9 eligible studies presented in the PRISMA flowchart (Figure 1) provides an idea of the
10 scope of the search strategy and increases the internal validity of the review.

11

12

Insert Figure 1

13

14 A total of 271 healthy individuals were included in the systematic review
15 (Table 2), 56% (n=153) trained or active, age group 21 to 61 years, body mass index
16 (BMI) from 22 to 26, and women represented 38.7% (n=105) of participants. The
17 sample size ranged from 6 to 58 (mean of 12), with only one study with more than 50
18 participants [39]. Five studies [11, 32, 33, 37, 40] exclusively investigated exercises in a
19 sample composed of healthy people, and 10 studies [10, 13, 29-31, 34-36, 38, 39]
20 included groups with healthy individuals and groups with different conditions
21 (symptoms of exercise dependence, sleep time restriction, posttraumatic stress disorder,
22 other mammals, other recreational activities, administration of opioid antagonist or
23 blood flow restriction). Of these, only groups with healthy individuals were considered
24 for qualitative and quantitative analysis.

25 Regarding the type of study, 10 studies included are experimental, controlled
26 [32, 36, 40] and uncontrolled [10, 13, 31, 33, 35, 37, 39]; and 5 almost experimental
27 (non-randomized) studies [11, 29, 30, 34, 38].

28

29

Insert Table 2

30

31 Thirteen studies investigated acute aerobic exercise, including running,
32 cycling, and walking modalities from 30 to 45 minutes, except for two studies that
33 adjusted the session time of 15min and 60min due to intensity (Table 3) [30, 40]. Most
34 studies (9 out of 13) used a treadmill ergometer, with a moderate intensity of 70-85% of

1 the maximum heart rate (HRmax) achieved in the incremental or age-adjusted
 2 ergospirometric test [10, 29, 30, 32-37]. In randomized crossover controlled and
 3 randomized studies, the interval between interventions (wash-out period) ranged from
 4 48-72 hours to 30 days, time justified in each study to avoid the effect of previous
 5 treatment on another subsequent (carry-over effect) [10, 31, 33, 36, 37, 40].

6 Two other studies investigated muscle resistance exercise (anaerobic) in the leg
 7 press apparatus [13] and hand dynamometer [39]. The time of the session was described
 8 by the exercise volume [repetition x exercise load (kg)] [13] and duration of contraction
 9 [39], with a minimum wash-out period of 72h [13] and 1 day [39].

10

11

Insert Table 3

12

13 The AEA and the 2-AG were the measures of outcome in this review. All
 14 studies measured endocannabinoids by collecting peripheral blood; most studies
 15 combined liquid chromatography and mass spectrometry to separate and quantify
 16 compounds determined from plasma, except for a commercial enzymatic immunoassay
 17 kit [13]. The guidelines before the experimental session included no exercise practice,
 18 caffeine, nicotine, and alcohol consumption for 24 hours, and minimum fasting of 2
 19 hours or standardized coffee in the laboratory before blood collection, usually in the
 20 morning before the exercise session, in order to measure baseline levels of AEA and 2-
 21 AG. After exercise, circulating endocannabinoids were measured immediately after
 22 and/or at 5 and 15 min recovery times. However, the studies included did not limit the
 23 time of day to evaluate circulating endocannabinoids.

24 Most studies (11 of 14) observed a significant increase in the AEA [10, 11, 29,
 25 30, 32, 33-35, 37, 39, 40], while less evidence (6 of 12) showed an increase in levels of
 26 2-AG [10, 31, 33-35, 39]. Some studies (7 of 15) also looked at other endocannabinoids
 27 such as PEA, OES, and 2-OG [7, 31, 33-36, 38].

28

29 **BIAS RISK ASSESSMENT**

30 **Experimental studies**

31 The CRTs that evaluated the AEA presented a low risk of bias in most domains
 32 (Figure 2); only two studies showed some concerns in deviations from the intended
 33 intentions. The study by Bosch et al. was considered to have some concerns because
 34 some participants did not adhere to the intervention, indicating failure in the

1 implementation of protocol interventions [40]. However, the number of participants
 2 who interrupted the intervention because of non-compliance or technical difficulty is
 3 small enough and shows no significant difference to the estimated effect of the
 4 intervention. In the study by Sparling et al., the interventions (running and cycling
 5 evaluated separately) suggest some concerns regarding the absence of statistical analysis
 6 to estimate the Effect of the attribution to the intervention; consequently, it may not
 7 have been appropriate [32].

8

9

Insert Figure 2

10

11 The CRTs that evaluated 2-AG also presented a low risk of bias in most
 12 domains (Figure 3), only the study by Sparling et al., who investigated running and
 13 cycling, showed some concerns in deviations from the intended intentions due to the
 14 absence of statistical analysis to estimate the Effect of attribution to the intervention
 15 [32].

16

17

Insert Figure 3

18

19 Table 4 presents the results of each bias risk assessment tool question to
 20 facilitate the critical interpretation of randomized uncontrolled studies. Most studies
 21 were named with "Y" yes for each specific issue, except:

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

35

36

37

38

39

Insert Table 4

- i. **Q1** clarity of inclusion criteria. In the study by Hughes et al. it is not clear the criteria of electability of the participants, it was reported to be non-smokers, free of some diseases and musculoskeletal injuries; similarly, Raichlen et al., did not report, only included healthy men and women, regular and fit runners [13, 37].
- ii. **Q4** consecutive inclusion of the participants. All studies evaluated did not report consecutively or any similar description; however, the experimental designs indicate and are usually in the practice of scientific research to perform consecutive inclusion in a coherent period;
- iii. **Q5** total inclusion of participants. Cedernaes et al. and Raichlen et al. reported the N of individuals included but did not specify the total initial recruitment [31, 37].
- iv. **Q7** regarding the clinical report of the patients. Considering the level of physical activity of the participants, Cedernaes et al., Crombie et al. and Koltyn et al. did not report this clinical information [31, 35, 39].

1 **Almost experimental studies**

2 The non-randomized studies that evaluated AEA and 2-AG showed the
3 potential to confuse the Effect of the intervention in the confounding domain; on the
4 other hand, the other domains consisted of a low risk of bias in all studies, as illustrated
5 in Figure 4 (a-b). Next, the confounders are detailed for a transparent and enlightening
6 interpretation. The study by Antunes et al. was judged the severe risk of general bias
7 due to domain confusion; in all other domains, the study is comparable to a well-
8 conducted randomized trial [30]. The confounders relevant to the study configuration
9 include sample size, intensity and volume, level of physical activity, adiposity, and
10 exercise dependence. Among these, the sample size was not adequately controlled by
11 the sample calculation; the other confounders were controlled and measured validly and
12 reliably: intensity and volume through ergospirometric test and classic concept of VT1;
13 level of physical activity through self-report and evaluation by a specialist physician;
14 adiposity through weight, height, BMI and body composition by air-displacement
15 plethysmography; exercise dependence through a validated scale in Portuguese.

16 In the study by Crombie et al. moderate risk of bias was considered considering
17 the confounders identified by the authors themselves as age, gender, and level of
18 physical activity, all controlled by the eligibility and pairing criteria to adjust the
19 confounding factor [34]. Physical activity was quantified for seven days by
20 accelerometer, self-report and sedentary time, and mild and moderate physical activity
21 presented. BMI also controlled adiposity. The general bias of the study by Heyman et
22 al. was judged as a severe risk of bias because at least two domains of confusion,
23 sample size and level of physical activity, were not measured [7]. The recruitment
24 process, selection of participants, and eligibility criteria were also not described. The
25 intensity and volume were based on an exercise test and previous studies; in addition,
26 adiposity was measured through weight and height. In the study by Raichlen et al. the
27 judgment implied a severe risk of bias since the confounders sample size, gender, age,
28 level of physical activity, and adiposity were not measured and controlled; intensity and
29 volume were measured only, determined by the number of Froude and previous studies
30 [29]. In the study by Stone et al. measures of physical activity, adiposity and intensity
31 are not reported, but gender and age were controlled and thus assessed as a severe risk
32 of bias [38].

33

34

Insert Figure 4

1
2 STUDIES INCLUDED IN THE META-ANALYSIS

3 **Effects of acute exercise**

4 *AEA*

5 Twelve studies evaluated the AEA [10, 11, 29-37, 39]. The meta-analysis for
6 the circulating level of AEA included two studies with three interventions that evaluated
7 the aerobic exercise group compared to the rest control group [32, 36]. There was no
8 significant difference between the exercise and rest groups [AEA= 0.77 pmol/mL (95%
9 CI: -0.05 to 1.59; I2: 94%); P=0.0667; N=48 - Figure 5].

10

11 *Insert Figure 5*

12

13 To explore the studies that investigated aerobic exercise - intervention A versus
14 intervention B - a meta-analysis was performed considering one of the study's
15 interventions as experimental and another as a comparator [10, 29, 32, 33, 37]. The
16 prescribed, mild or moderate running exercise is superior to the preferred and intense
17 running, light, moderate or moderate cycling to alter circulating Levels of AEA, with
18 considerable heterogeneity [AEA= 1.56 pmol/mL (95% CI: 0.54 to 2.59; I2: 99%);
19 P=0.0028; N=210 - Figure 6 (a)]. A sensitivity analysis with moderate prescribed
20 running versus preferred and intense running was performed, but showed no changes in
21 the result [AEA= 1.25 pmol/mL (95% CI: 0.07 to 2.44; I2: 99%); P=0.0383; N=190 -
22 Figure 6 (b)].

23

24 *Insert Figure 6*

25

26 The meta-analysis for AEA was performed between baseline values versus
27 values immediately after exercise [10, 11, 29-37, 39], the result showed that acute
28 exercise increased AEA when compared to baseline, however, with considerable
29 heterogeneity [AEA= 0.33 pmol/mL (95% CI: 0.25 to 0.42; I2: 100%); P=0.0001;
30 N=670 - Figure 7]. To explore the differences in aerobic exercise protocols, a sensitivity
31 analysis was performed considering the modality (running, walking, and cycling). The
32 race increased the circulating AEA, but with considerable heterogeneity [AEA= 0.59
33 pmol/mL (95% CI: 0.42 to 0.77; I2: 100%); P=0.0001; N=191 - Figure 8 (a)], while
34 walking [AEA= -0.41 pmol/mL (95% CI: -1.16 to 0.35; I2: 99%); P=0.2879; N=51 -

1 Figure 8 (b)] and cycling [AEA= 0.75 pmol/mL (95% CI: -0.11 to 1.61; I2: 79%);
2 P=0.0884; N=35 - Figure 8 (c)] did not significantly alter AEA levels.

3

4

Insert Figure 7 e 8

5

6 2-AG

7

8 Ten studies evaluated 2-AG [7, 10, 13, 29, 31, 33-36, 39]. The included studies
9 allowed the meta-analysis for 2-AG, considering one of the study's interventions as
10 experimental and another as a comparator [10, 13, 29, 33]. The prescribed, moderate or
11 light leg press run is superior to the preferred run, light, moderate or leg press intense
12 walking to change the circulating levels of 2-AG, with considerable heterogeneity [2-
13 AG= 0.55 pmol/mL (95% CI: 0.06 to 1.04; I2: 99%); P=0.0273; N=178 - Figure 9]. The
14 effect of acute exercise compared to rest on circulating levels of 2-AG was not
15 performed because only one included study investigated the intervention group and rest
16 control group.

17

18

Insert Figure 9

19

20 The meta-analysis of 2-AG between baseline versus immediate post-exercise
21 results [7, 10, 13, 29, 31, 33-36, 39] showed that acute exercise increased to 2-AG, but
22 with considerable heterogeneity [2-AG= 0.73 pmol/mL (95% CI: 0.58 to 0.88; I2:
23 100%); P<0.0001; N=594 - Figure 10].

24

25

Insert Figure 10

26

27 A sensitivity analysis was performed considering the modality (running,
28 walking, cycling, free weights) and the type of exercise (aerobic and muscular
29 endurance) to investigate the differences in the protocols. Aerobic exercise is running
30 [2-AG= 0.92 pmol/mL (95% CI: 0.42 to 1.41; I2: 99%); P=0.0003; N=147 - Figure 11
31 (a)] increased the 2-circulating with considerable heterogeneity; muscle endurance
32 exercise (short duration) [2-AG= 0.73 pmol/mL (95% CI: 0.62 to 0.85; I2: 0%);
33 P<0.0001; N=82 - Figure 11 (d)] also increased the 2-AG circulating, but without
34 heterogeneity. Walking [2-AG= 0.92 pmol/mL (95% CI: -0.85 to 2.70; I2: 100%);

1 P=0.3084; N=41 - Figure 11 (b)] and cycling [2-AG= 0.55 pmol/mL (95% CI: 0.77 to
2 1.88; I2: 83%); P=0.4112; N=27 - Figure 11 (c)] did not significantly change the levels
3 of 2-AG.

4

5

Insert Figure 11

6

7 **Clinical trials not included in the meta-analysis**

8

9 In the study by Bosch et al. (2020), the circulating AEA increased immediately
10 after moderate and intense post-cycling compared to rest (P<0.001) but was not
11 included in the meta-analysis because it presented delta data as a difference between
12 post-exercise and baseline values [40]. The results of Raichlen et al. (2013), Sparling et
13 al. (2003), and Stone et al. (2018) were not included in the meta-analysis because they
14 did not present the numerical values of the evaluated result 2-AG, nor means to impute
15 or extract the missing data. The authors reported that there was no significant effect of
16 2-AG circulating post-intervention [32, 37, 38]. Therefore, the studies were part only of
17 the qualitative analysis.

18

1 **DISCUSSION**

2 This review is the first to systematically identify and analyze evidence on the
3 effects of acute exercise on circulating levels of endocannabinoids in healthy humans.
4 Considering the particularities of each analysis, i) we did not find a significant increase
5 in AEA in the comparison between exercise and rest groups, but the result was
6 borderline with a positive trend for running and cycling; ii) in the synthesis between two
7 interventions, we observed that running with prescribed intensity, mild and moderate is
8 superior to the preferred and intense run or walk to increase AEA and 2-AG; iii) in
9 addition, we verified in the comparison between baseline and post-exercise values that
10 all interventions increase circulating levels of endocannabinoids, except walking or
11 intense running for AEA and moderate cycling more intense or light and intense leg
12 press for 2-AG. However, the included studies presented some concerns or moderate
13 risk of bias and considerable statistical heterogeneity, suggesting caution in interpreting
14 these results. Methodological characteristics such as deviations from the intended
15 interventions, the lack of clarity of the inclusion criteria, and the potential confounders
16 can directly influence the study results.

17 In the present study, there was no significant change in circulating levels of
18 AEA and 2-AG induced by acute exercise compared to rest. It is essential to identify the
19 similarities between the analyzed studies, mainly about the type of exercise (aerobic),
20 the intensity (70-80% HRmax), the duration of the session (45 and 30min), and the
21 control groups (both in sitting position for 40-50min). In contrast, the study with higher
22 weight [36] investigated women. It did not obtain significant results in circulating AEA,
23 and the other study [32] investigated men and resulted in a significant post-running
24 increase ($P<0.01$) and cycling ($P<0.05$), showing that exercise can alter the evaluated
25 result compared to the control group. In this context, the differences between the sexes
26 may have been determinant in the result and explain heterogeneity in the studies.
27 Human studies show that plasma levels of AEA vary throughout the normal menstrual
28 cycle and postmenopausal period, with higher peaks in the follicular (proliferative)
29 phase than in the luteal phase (secretory) [42, 43]. In addition, circulating AEA is
30 associated with gonadotrophin and sex steroids levels, suggesting that hormones may be
31 involved in regulating AEA levels during the menstrual cycle [43]. However, the
32 literature on sex differences in the expression and function of the endocannabinoid
33 system is almost entirely from preclinical data. A recent review identified that sex and
34 sex hormones affect cannabinoid receptor expression and the affinity and efficacy of

1 endocannabinoids, particularly in female rodents [44]. In this sense, studies that
2 included women could mitigate this issue by controlling the menstrual cycle phase.
3 Therefore, it is possible that new studies with higher methodological quality concerning
4 the variables studied, including men and women, alter the current findings and make it
5 possible to generalize the results for both sexes.

6 When comparing two interventions competing for the evaluated result AEA
7 and 2-AG, the experimental group composed of moderate-intensity interventions was
8 superior to the comparator, walking with mild intensity. This result suggests that acute
9 exercise has a differential impact on circulating endocannabinoids dependent on
10 intensity. The intervention groups are noteworthy, consist of moderate-intensity (70 to
11 85% adjusted HRmax or 70 to 75% estimated VO₂), while the control groups exhibit
12 mild intensity (<50% HRmax), both sessions of 30 to 45 min including male and female
13 participants. In differently, the 2-AG result also included muscle resistance exercise
14 (short duration) and presented the experimental group light leg press superior to the
15 intense leg press; however, compared to the baseline, there was a tendency to decrease
16 the levels of 2-AG. Regarding these results, it was observed in the studies that disparity
17 in the level of physical activity (low, moderate, high, or referred to as good recreational
18 and regularly active form) might explain the heterogeneity of the studies. There may be
19 physiological differences in the endocannabinoid system among individuals with
20 varying physical activity levels; for example, athletes who exercise in excess with
21 symptoms of exercise dependence have lower Levels of AEA after aerobic exercise than
22 in controls [30]. Gene expression of NAPE-PLD, the main enzyme involved in the
23 synthesis of AEA, is regulated down in athletes [6]. However, the evidence of
24 differences in endocannabinoid levels dependent on the level of physical activity
25 remains ambiguous; some investigations have not found differences in basal
26 endocannabinoids or their responses to exercise between an active and sedentary or
27 sedentary low, moderate, and high level of physical activity [33, 45]. These results may
28 indicate that depending on the level of physical activity, some individuals may have
29 negative consequences or a potential deficiency, as the stimulus may not be enough to
30 promote changes in the endocannabinoid system associated with emotion and cognition
31 reward.

32 An additional finding of the present study shows that all interventions alter
33 circulating levels of endocannabinoids compared to baseline values, with greater effects
34 on moderate intensity and minimal effects in low and high intensity such as walking and

1 intense running. This result seems to present a bell-shaped or inverted U-shaped
2 relationship between endocannabinoid levels and exercise intensity. This typical dose-
3 response curve is similar to other biological effects of exercise, in which a moderate
4 intensity increases the physiological function of different organs, tolerance to oxidative
5 stress, cognitive performance, and disease prevention rate. It improves the quality of life
6 [46, 47]. In contrast, physical inactivity, strenuous exercise, and overtraining increase
7 disease risk and decrease physiological function [46].

8 When interpreting our results, we consider the differences in baseline levels of
9 endocannabinoids; these data are not unexpected and may be related to age, diet, BMI,
10 and others. For example, the plasma profile of AEA, 2-AG, and their congeners vary
11 throughout life, and the binding to cannabinoid receptors increases with age in men and
12 women, including longevity in octogenarians [48, 49]. This positive regulation can be
13 attributed to the homeostatic and modulatory role of the endocannabinoid system,
14 related to compensation of functional losses in other monoamine systems [49]. There
15 are also conflicting studies reporting a decrease or no change in AEA levels during
16 aging in wild mice and knockout to CB1R [48]. The absence of CB1R and decrease in
17 AEA accelerate the appearance of aging indicators, including neuronal loss and chronic
18 neuroinflammation [50, 51]. These data indicate the involvement of endocannabinoid
19 signaling in controlling the aging process in critical physiological functions.

20 The studies included in this review can be considered homogeneous regarding
21 BMI or body fat composition and control the diet consumed through guidance before
22 the intervention or test. These factors can alter the levels of AEA and 2-AG and the
23 action of the endocannabinoid system [52]. The supplementation of dietary PUFAs for
24 six months altered the production of endocannabinoids in cells and tissues [53].
25 Notably, these endogenous ligands participate in regulating food behavior and lipid and
26 carbohydrate metabolism by assuming a role in the preference for the consumption of
27 certain foods [54]. For example, the presence of fat in the oral cavity or presentation of
28 food (before consumption) induces the production of circulating AEA (but not 2-AG)
29 followed by a post-meal reduction [4], as well as increases the perception of taste and
30 fat intake [54]. Still, circulating endocannabinoids correlate with BMI and are
31 significantly increased in individuals with visceral adiposity, indicating that obesity and
32 other components of metabolic syndrome are associated with deregulation of the
33 endocannabinoid system [55]. Therefore, studies must consider diet and adiposity

1 measures preceding the intervention to minimize the possible effects on the results
2 studied.

3 Psychological responses before exposure to exercise, such as early stress to
4 exercise in a laboratory and research environment, may also influence differences in
5 baseline endocannabinoid levels. Endocannabinoids can be altered before exercise,
6 mainly increasing circulating levels of 2-AG to inhibit acute responses to stress
7 resulting from the activation of the sympathetic system and the hypothalamic-pituitary-
8 adrenal axis (HPA) [4, 56]. In general, signaling the early endocannabinoid system to
9 exercise is a standard and beneficial response to regulate psychological and
10 physiological reactions, particularly the effects on the processing of information from
11 the amygdala that is responsible for the recognition of stimuli in the environment and
12 behavioral responses [35, 57], and the restoration of homeostasis after exercise [58].
13 Another well-founded explanation for the variation in basal levels of endocannabinoids
14 refers to a polymorphism in the human gene FAAH 385A. The presence of this
15 polymorphism is associated with higher levels of AEA in the blood [55]. No study
16 included performed genetic testing, but randomization of study participants can
17 minimize this Effect.

18 The limitations of the studies should be considered. The studies included in this
19 review did not standardize the time of day to evaluate circulating endocannabinoids, and
20 this may have influenced the results because circadian rhythm can influence
21 endocannabinoid signaling through the modulation of synthesis, degradation, and
22 transport mechanisms. Some studies have examined variations in circulating
23 endocannabinoid levels over 24 hours and observed that AEA has two peaks, nocturnal
24 in early sleep and daytime in the middle of the afternoon, while the 2-AG profile is
25 characterized by a single peak in the early afternoon [59, 60, 61]. The functional
26 relevance of these fluctuations is not yet clear, but from mid-morning to mid-afternoon,
27 concentrations of both endocannabinoids seem to increase together, although much
28 faster to 2-AG than for AEA [104]. In addition, not all included studies reported data
29 that could be used in the meta-analysis, and the authors did not respond to the requests
30 of these data, making it difficult to perform more analyses.

31

1 **CONCLUSIONS**

2 This review provides evidence that moderate acute exercise contributes to the
3 increase in circulating endocannabinoid levels, but the risk of bias and statistical
4 heterogeneity of available studies may limit the conclusions. From this, additional
5 research is recommended to complement these findings using a randomized controlled
6 design, larger samples, and strategies to minimize confounding factors' influence.

7

1 **REFERENCES**

- 2 1. Mechoulam R, Hanuš LO, Pertwee R, Howlett AC. Early phytocannabinoid
3 chemistry to endocannabinoids and beyond. *Nat Rev Neurosci.* 2014;15(11):757-64.
- 4 2. Moreno E, Cavic M, Canela EI. Functional Fine-Tuning of Metabolic Pathways
5 by the Endocannabinoid System-Implications for Health and Disease. *Int J Mol Sci.*
6 2021;22(7).
- 7 3. Hua T, Li X, Wu L, Iliopoulos-Tsoutsouvas C, Wang Y, Wu M, et al. Activation
8 and Signaling Mechanism Revealed by Cannabinoid Receptor-G. *Cell.*
9 2020;180(4):655-65.e18.
- 10 4. Hillard CJ. Circulating Endocannabinoids: From Whence Do They Come and
11 Where are They Going? *Neuropsychopharmacology.* 2018;43(1):155-72.
- 12 5. Haspula D, Clark MA. Cannabinoid Receptors: An Update on Cell Signaling,
13 Pathophysiological Roles and Therapeutic Opportunities in Neurological,
14 Cardiovascular, and Inflammatory Diseases. *Int J Mol Sci.* 2020;21(20).
- 15 6. Schonke M, Martinez-Tellez B, Rensen PCN. Role of the endocannabinoid
16 system in the regulation of the skeletal muscle response to exercise. *Current Opinion in*
17 *Pharmacology.* 2020;52:52-60.
- 18 7. Heyman E, Gamelin FX, Aucouturier J, Di Marzo V. The role of the
19 endocannabinoid system in skeletal muscle and metabolic adaptations to exercise:
20 potential implications for the treatment of obesity. *Obes Rev.* 2012;13(12):1110-24.
- 21 8. Hind WH, Tufarelli C, Neophytou M, Anderson SI, England TJ, O'Sullivan SE.
22 Endocannabinoids modulate human blood-brain barrier permeability in vitro. *Br J*
23 *Pharmacol.* 2015;172(12):3015-27.
- 24 9. Maccarrone M, Fiori A, Bari M, Granata F, Gasperi V, De Stefano ME, et al.
25 Regulation by cannabinoid receptors of anandamide transport across the blood-brain
26 barrier and through other endothelial cells. *Thromb Haemost.* 2006;95(1):117-27.
- 27 10. Siebers M, Biedermann SV, Bindila L, Lutz B, Fuss J. Exercise-induced
28 euphoria and anxiolysis do not depend on endogenous opioids in humans.
29 *Psychoneuroendocrinology.* 2021;126.
- 30 11. Heyman E, Gamelin FX, Goekint M, Piscitelli F, Roelands B, Leclair E, et al.
31 Intense exercise increases circulating endocannabinoid and BDNF levels in humans-
32 Possible implications for reward and depression. *Psychoneuroendocrinology.*
33 2012;37(6):844-51.
- 34 12. Stensson N, Grimby-Ekman A. Altered relationship between anandamide and
35 glutamate in circulation after 30 min of arm cycling: A comparison of chronic pain
36 subject with healthy controls. *Molecular Pain.* 2019;15.
- 37 13. Hughes L, Patterson SD. The Effect of blood flow restriction exercise on
38 exercise-induced hypoalgesia and endogenous opioid and endocannabinoid mechanisms
39 of pain modulation. *J Appl Physiol (1985).* 2020;128(4):914-24.
- 40 14. Charytoniuk T, Zywno H, Konstantynowicz-Nowicka K, Berk K, Bzdega W,
41 Chabowski A. Can Physical Activity Support the Endocannabinoid System in the
42 Preventive and Therapeutic Approach to Neurological Disorders? *Int J Mol Sci.*
43 2020;21(12).
- 44 15. Loprinzi PD, Zou LY, Li H. The Endocannabinoid System as a Potential
45 Mechanism through which Exercise Influences Episodic Memory Function. *Brain*
46 *Sciences.* 2019;9(5).
- 47 16. Heyman E, Gamelin FX, Aucouturier J, Di Marzo V. The role of the
48 endocannabinoid system in skeletal muscle and metabolic adaptations to exercise:
49 Potential implications for the treatment of obesity. *Obesity Reviews.* 2012;13(12):1110-
50 24.

- 1 17. Tantimonaco M, Ceci R, Sabatini S, Catani MV, Rossi A, Gasperi V, et al.
2 Physical activity and the endocannabinoid system: an overview. *Cell Mol Life Sci.*
3 2014;71(14):2681-98.
- 4 18. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et
5 al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews.
6 *Syst Rev.* 2021;10(1):89.
- 7 19. Higgins JPT, Thomas J, Chandler J, Cumpston M, Li T, Page MJ, Welch VA.
8 *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* version 6.0 (updated July
9 2019). Cochrane, 2019.
- 10 20. World Health Organization. Physical activity. [https://www.who.int/news-](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/physical-activity)
11 [room/fact-sheets/detail/physical-activity](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/physical-activity) (2018) Accessed 16 october 2020
- 12 21. McKenzie JE, Brennan SE, Ryan RE, Thomson HJ, Johnston RV, Thomas J.
13 Chapter 3: Defining the criteria for including studies and how they will be grouped for
14 the synthesis. In: Higgins JPT, Thomas J, Chandler J, Cumpston M, Li T, Page MJ,
15 Welch VA (editors). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions*
16 version 6.1 (updated September 2020). Cochrane, 2020. Available from
17 www.training.cochrane.org/handbook.
- 18 22. Regnaud JP, Lefevre-Colau MM, Trinquart L, Nguyen C, Boutron I, Brosseau L,
19 et al. High-intensity versus low-intensity physical activity or exercise in people with hip
20 or knee osteoarthritis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015(10):CD010203.
- 21 23. Sterne JA, Hernán MA, Reeves BC, Savović J, Berkman ND, Viswanathan M,
22 et al. ROBINS-I: a tool for assessing risk of bias in non-randomised studies of
23 interventions. *BMJ.* 2016;355:i4919.
- 24 24. Ouzzani M, Hammady H, Fedorowicz Z, Elmagarmid A. Rayyan-a web and
25 mobile app for systematic reviews. *Syst Rev.* 2016;5(1):210.
- 26 25. Sterne JAC, Savović J, Page MJ, Elbers RG, Blencowe NS, Boutron I, et al.
27 RoB 2: a revised tool for assessing risk of bias in randomised trials. *BMJ.*
28 2019;366:14898.
- 29 26. Moola S, Munn Z, Tufanaru C, Aromataris E, Sears K, Sfetcu R, Currie M, Lisy
30 K, Qureshi R, Mattis P, Mu P. Chapter 7: Systematic reviews of etiology and risk. In:
31 Aromataris E, Munn Z (Editors). *JBIM Manual for Evidence Synthesis*. JBI, 2020.
32 Available from <https://synthesismanual.jbi.global>. [https://doi.org/10.46658/JBIMES-](https://doi.org/10.46658/JBIMES-20-08)
33 20-08
- 34 27. Munn Z, Barker TH, Moola S, Tufanaru C, Stern C, McArthur A, et al.
35 Methodological quality of case series studies: an introduction to the JBI critical
36 appraisal tool. *JBIM Evid Synth.* 2020;18(10):2127-33.
- 37 28. McGuinness, LA, Higgins, JPT. Risk-of-bias VISualization (robvis): An R
38 package and Shiny web app for visualizing risk-of-bias assessments. *Res Syn Meth.*
39 2020; 1- 7. <https://doi.org/10.1002/jrsm.1411>
- 40 29. Raichlen DA, Foster AD, Gerdeman GL, Seillier A, Giuffrida A. Wired to run:
41 exercise-induced endocannabinoid signaling in humans and cursorial mammals with
42 implications for the 'runner's high'. *J Exp Biol.* 2012;215(Pt 8):1331-6.
- 43 30. Antunes HKM, Leite GSF, Lee KS, Barreto AT, dos Santos RVT, Souza HD, et
44 al. Exercise deprivation increases negative mood in exercise-addicted subjects and
45 modifies their biochemical markers. *Physiology & Behavior.* 2016;156:182-90.
- 46 31. Cedernaes J, Fanelli F, Fazzini A, Pagotto U, Broman JE, Vogel H, et al. Sleep
47 restriction alters plasma endocannabinoids concentrations before but not after exercise
48 in humans. *Psychoneuroendocrinology.* 2016;74:258-68.
- 49 32. Sparling PB, Giuffrida A, Piomelli D, Rosskopf L, Dietrich A. Exercise
50 activates the endocannabinoid system. *Neuroreport.* 2003;14(17):2209-11.

- 1 33. Brellenthin AG, Crombie KM, Hillard CJ, Koltyn KF. Endocannabinoid and
2 Mood Responses to Exercise in Adults with Varying Activity Levels. *Med Sci Sports*
3 *Exerc.* 2017;49(8):1688-96.
- 4 34. Crombie KM, Brellenthin AG, Hillard CJ, Koltyn KF. Psychobiological
5 Responses to Aerobic Exercise in Individuals With Posttraumatic Stress Disorder. *J*
6 *Trauma Stress.* 2018;31(1):134-45.
- 7 35. Crombie KM, Leitzelar BN, Brellenthin AG, Hillard CJ, Koltyn KF. Loss of
8 exercise- and stress-induced increases in circulating 2-arachidonoylglycerol
9 concentrations in adults with chronic PTSD. *Biol Psychol.* 2019;145:1-7.
- 10 36. Crombie KM, Cisler JM, Hillard CJ, Koltyn KF. Aerobic exercise reduces
11 anxiety and fear ratings to threat and increases circulating endocannabinoids in women
12 with and without PTSD. *Mental Health and Physical Activity.* 2020.
- 13 37. Raichlen DA, Foster AD, Seillier A, Giuffrida A, Gerdeman GL. Exercise-
14 induced endocannabinoid signaling is modulated by intensity. *Eur J Appl Physiol.*
15 2013;113(4):869-75.
- 16 38. Stone NL, Millar SA, Herrod PJJ, Barrett DA, Ortori CA, Mellon VA, et al. An
17 Analysis of Endocannabinoid Concentrations and Mood Following Singing and
18 Exercise in Healthy Volunteers. *Front Behav Neurosci.* 2018;12:269.
- 19 39. Koltyn KF, Brellenthin AG, Cook DB, Sehgal N, Hillard C. Mechanisms of
20 exercise-induced hypoalgesia. *J Pain.* 2014;15(12):1294-304.
- 21 40. Bosch BM, Bringard A, Logrieco MG, Lauer E, Imobersteg N, Thomas A, et al.
22 Effect of acute physical exercise on motor sequence memory. *Scientific Reports.*
23 2020;10(1).
- 24 41. Crombie KM, Brellenthin AG, Hillard CJ, Koltyn KF. Endocannabinoid and
25 Opioid System Interactions in Exercise-Induced Hypoalgesia. *Pain Med.*
26 2018;19(1):118-23.
- 27 42. El-Talatini MR, Taylor AH, Konje JC. The relationship between plasma levels
28 of the endocannabinoid, anandamide, sex steroids, and gonadotrophins during the
29 menstrual cycle. *Fertil Steril.* 2010;93(6):1989-96.
- 30 43. Cui N, Wang L, Wang W, Zhang J, Xu Y, Jiang L, et al. The correlation of
31 anandamide with gonadotrophin and sex steroid hormones during the menstrual cycle.
32 *Iran J Basic Med Sci.* 2017;20(11):1268-74.
- 33 44. Blanton HL, Barnes RC, McHann MC, Bilbrey JA, Wilkerson JL, Guindon J.
34 Sex differences and the endocannabinoid system in pain. *Pharmacol Biochem Behav.*
35 2021;202:173107.
- 36 45. Gasperi V, Ceci R, Tantimonaco M, Talamonti E, Battista N, Parisi A, et al. The
37 fatty acid amide hydrolase in lymphocytes from sedentary and active subjects. *Med Sci*
38 *Sports Exerc.* 2014;46(1):24-32.
- 39 46. Radak Z, Ishihara K, Tekus E, Varga C, Posa A, Balogh L, et al. Exercise,
40 oxidants, and antioxidants change the shape of the bell-shaped hormesis curve. *Redox*
41 *Biol.* 2017;12:285-90.
- 42 47. Smith M, Tallis J, Miller A, Clarke ND, Guimarães-Ferreira L, Duncan MJ. The
43 Effect of exercise intensity on cognitive performance during short duration treadmill
44 running. *J Hum Kinet.* 2016;51:27-35.
- 45 48. Manca C, Carta G, Murru E, Abolghasemi A, Ansar H, Errigo A, et al.
46 Circulating fatty acids and endocannabinoidome-related mediator profiles associated to
47 human longevity. *Geroscience.* 2021.
- 48 49. Van Laere K, Goffin K, Casteels C, Dupont P, Mortelmans L, de Hoon J, et al.
49 Gender-dependent increases with healthy aging of the human cerebral cannabinoid-type
50 1 receptor binding using [(18)F]MK-9470 PET. *Neuroimage.* 2008;39(4):1533-41.

- 1 50. Watkins BA. Diet, endocannabinoids, and health. *Nutrition Research*.
2 2019;70:32-9.
- 3 51. Di Marzo V, Stella N, Zimmer A. Endocannabinoid signalling and the
4 deteriorating brain. *Nat Rev Neurosci*. 2015;16(1):30-42.
- 5 52. Castonguay-Paradis S, Lacroix S, Rochefort G, Parent L, Perron J, Martin C, et
6 al. Dietary fatty acid intake and gut microbiota determine circulating
7 endocannabinoidome signaling beyond the Effect of body fat. *Sci Rep*.
8 2020;10(1):15975.
- 9 53. Watkins BA. Diet, endocannabinoids, and health. *Nutr Res*. 2019;70:32-9.
- 10 54. Moreno E, Cavic M, Canela EI. Functional Fine-Tuning of Metabolic Pathways
11 by the Endocannabinoid System-Implications for Health and Disease. *Int J Mol Sci*.
12 2021;22(7).
- 13 55. Hillard CJ, Weinlander KM, Stuhr KL. Contributions of endocannabinoid
14 signaling to psychiatric disorders in humans: genetic and biochemical evidence.
15 *Neuroscience*. 2012;204:207-29.
- 16 56. deRoos-Cassini TA, Stollenwerk TM, Beatka M, Hillard CJ. Meet Your Stress
17 Management Professionals: The Endocannabinoids. *Trends Mol Med*. 2020;26(10):953-
18 68.
- 19 57. Hill MN, Campolongo P, Yehuda R, Patel S. Integrating Endocannabinoid
20 Signaling and Cannabinoids into the Biology and Treatment of Posttraumatic Stress
21 Disorder. *Neuropsychopharmacology*. 2018;43(1):80-102.
- 22 58. Hill MN, McLaughlin RJ, Bingham B, Shrestha L, Lee TT, Gray JM, et al.
23 Endogenous cannabinoid signaling is essential for stress adaptation. *Proc Natl Acad Sci*
24 *U S A*. 2010;107(20):9406-11.
- 25 59. Hanlon EC, Tasali E, Leproult R, Stuhr KL, Doncheck E, De Wit H, et al.
26 Circadian rhythm of circulating levels of the endocannabinoid 2 arachidonoylglycerol.
27 *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2015;100(1):220-6.
- 28 60. Hanlon EC, Leproult R, Stuhr KL, Doncheck EM, Hillard CJ, Van Cauter E.
29 Circadian Misalignment of the 24-hour Profile of Endocannabinoid 2-
30 Arachidonoylglycerol (2-AG) in Obese Adults. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020;105(3).
- 31 61. Hanlon EC. Impact of circadian rhythmicity and sleep restriction on circulating
32 endocannabinoid (eCB) N-arachidonylethanolamine (anandamide).
33 *Psychoneuroendocrinology*. 2020;111:104471.

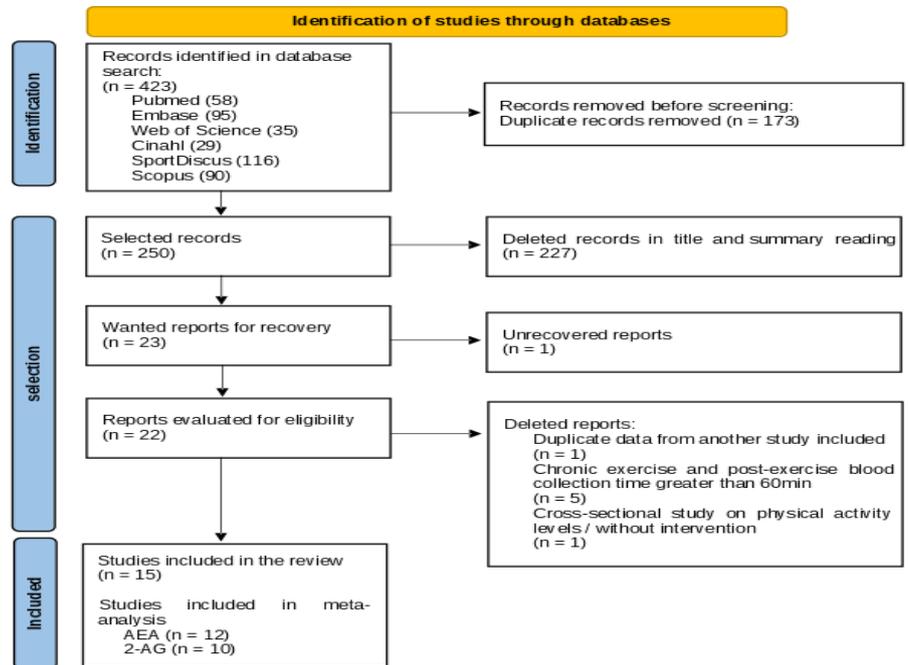


Fig 1. Flowchart of the selection process of the studies included in this systematic review and meta-analysis.

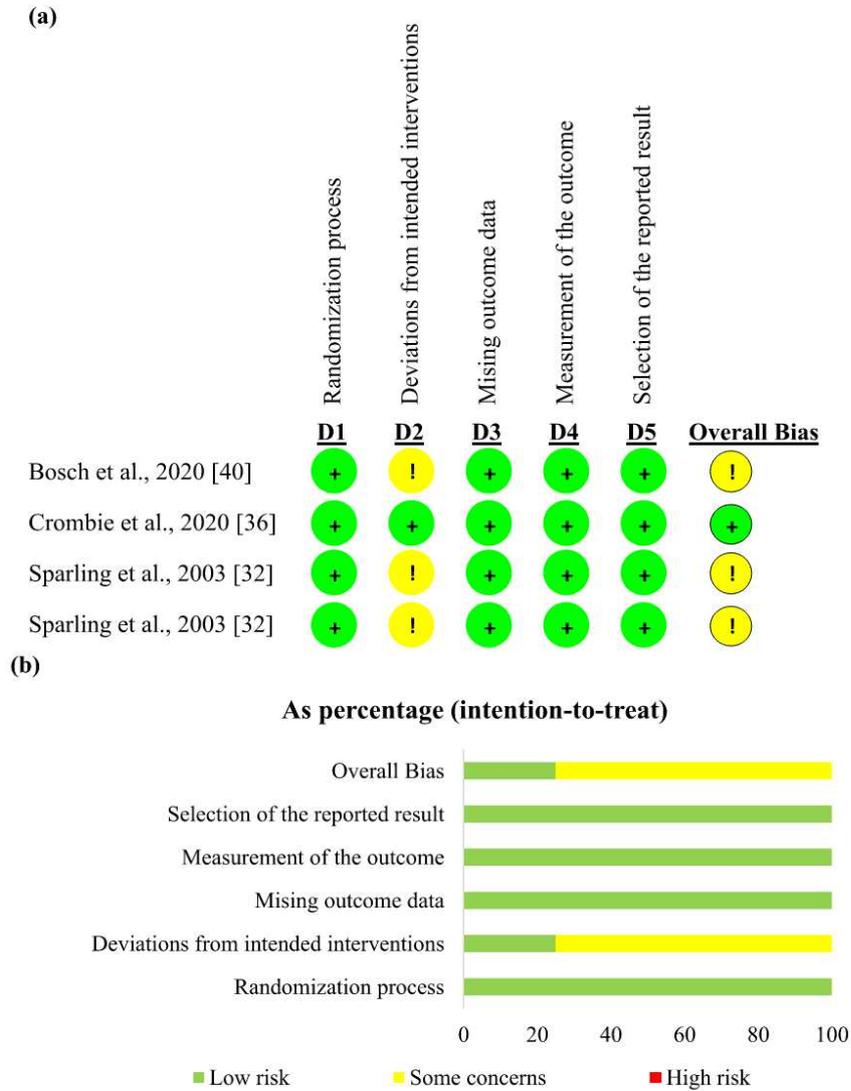


Fig 2. Results of the risk assessment of bias of the included studies using the Revised Cochrane risk of bias tool for randomized trials (RoB 2) with the AEA rated result. The Cochrane collaboration tool to assess the risk of bias within and between randomized trials. (a) Risk of bias in studies; (b) Risk of bias between studies.

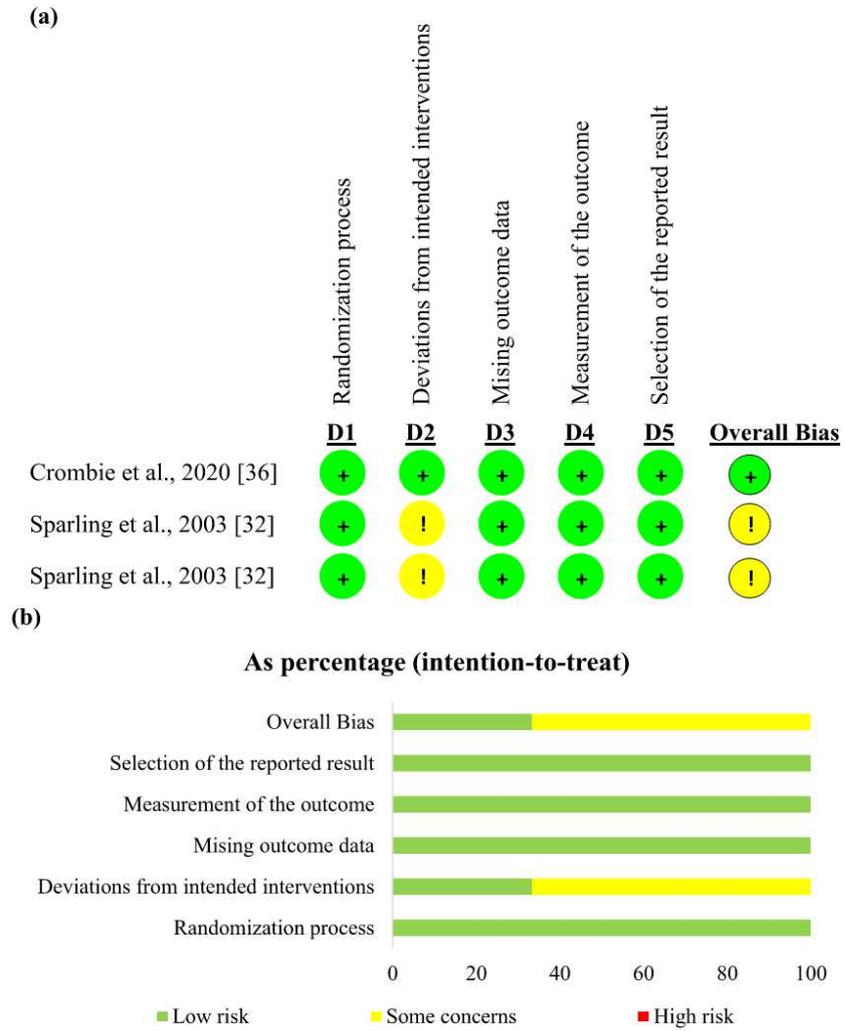


Fig 3. Results of the risk assessment of bias of the included studies using the Revised Cochrane risk of bias tool for randomized trials (RoB 2) with the evaluated result 2-AG. The Cochrane collaboration tool to assess the risk of bias within and between randomized trials. (a) Risk of bias in studies; (b) Risk of bias between studies.

(a)

	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	Overall
Antunes et al., 2016	✗	+	+	+	+	+	+	✗
Crombie et al., 2018	-	+	+	+	+	+	+	-
Heyman et al., 2012	✗	+	+	+	+	+	+	✗
Raichlen et al., 2012	✗	+	+	+	+	+	+	✗
Stone et al., 2018	✗	+	+	+	+	+	+	✗

(b)

	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	Overall
Crombie et al., 2018	-	+	+	+	+	+	+	-
Heyman et al., 2012	✗	+	+	+	+	+	+	✗
Raichlen et al., 2012	✗	+	+	+	+	+	+	✗

Domains:
D1: Bias due to confounding.
D2: Bias due to selection of participants.
D3: Bias in classification of interventions.
D4: Bias due to deviations from intended interventions.
D5: Bias due to missing data.
D6: Bias in measurement of outcomes.
D7: Bias in selection of the reported result.

Judgement
✗ Serious
- Moderate
+ Low

Fig 4. Results of the risk assessment of bias of the included studies using the Risk Of Bias In Nonrandomized Studies of Interventions (ROBINS-I). The Cochrane collaboration tool to assess the risk of bias in non-randomized trials. (a) risk of bias in studies on the AEA rated result; (b) Risk of bias in studies on the evaluated result 2-AG.

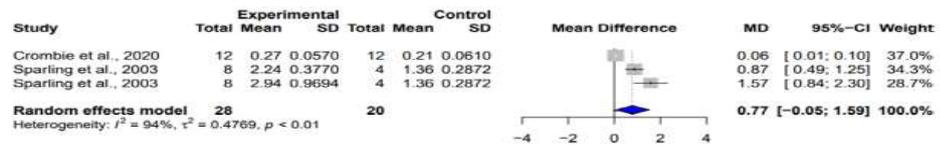


Fig 5. Forest plot of the results of the meta-analysis of the comparison between the effects of aerobic exercise and rest on circulating levels of AEA. Values presented as mean difference and 95% confidence interval. The average effect was obtained with a random effects model.

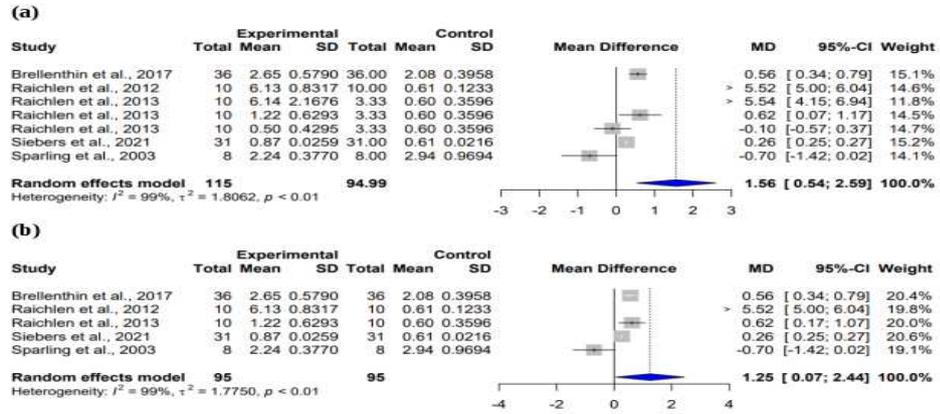


Fig 6. Forest plot of the results of the meta-analysis of the comparison of two competing interventions of aerobic exercise on circulating levels of AEA. (a) light, moderate and intense intensity aerobic exercise; (b) aerobic exercise only moderate intensity in the experimental group. Values presented as mean difference and 95% confidence interval. The average effect was obtained with a random effects model

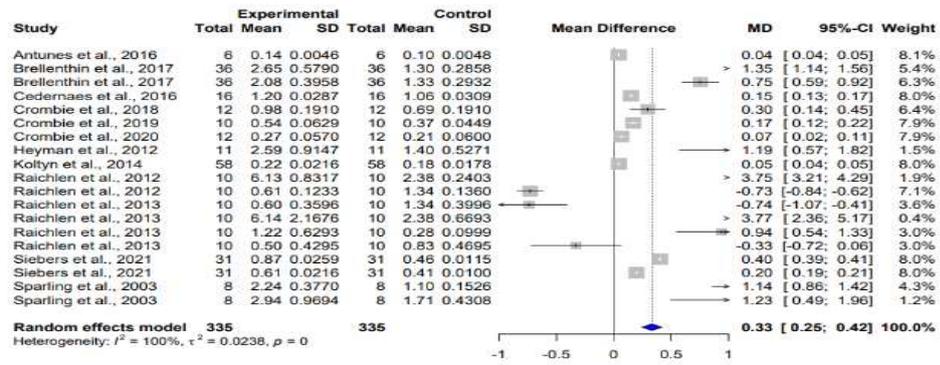


Fig 7. Forest plot of the results of the meta-analysis of the comparison of baseline and post-aerobic exercise values on circulating levels of AEA. Values presented as mean difference and 95% confidence interval. The average effect was obtained with a random effects model.

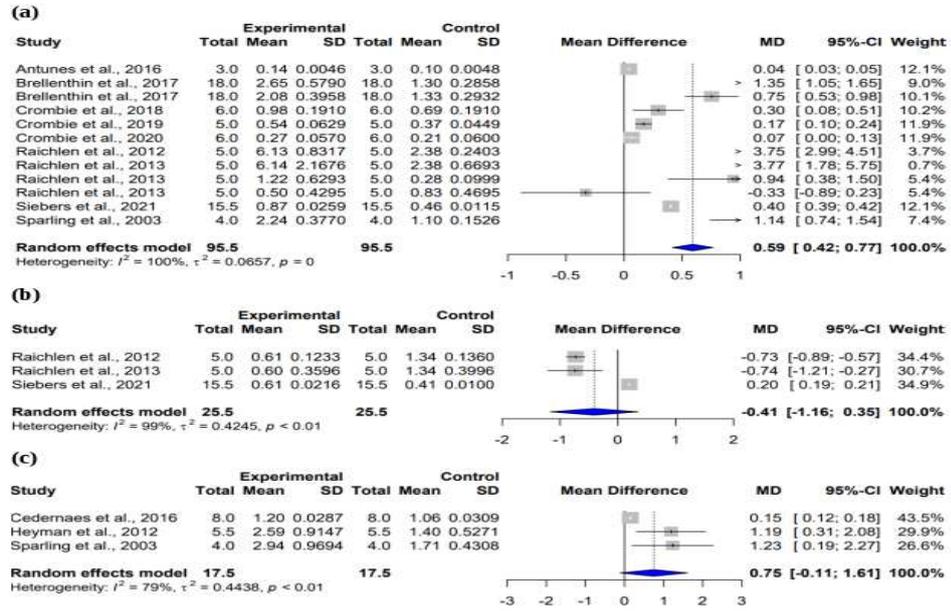


Fig 8. Forest plot of meta-analysis results with sensitivity analysis by modality, comparison of baseline and post-aerobic exercise values on circulating AEA levels. (a) aerobic exercise running; (b) aerobic walking exercise; (c) aerobic exercise cycling. Values presented as mean difference and 95% confidence interval. The average effect was obtained with a random effects model.

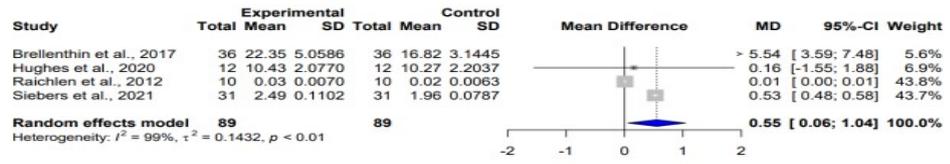


Fig 9. Forest plot of the results of the meta-analysis of the comparison of two competing exercise interventions on the circulating levels of 2-AG. Values presented as mean difference and 95% confidence interval. The average effect was obtained with a random effects model.

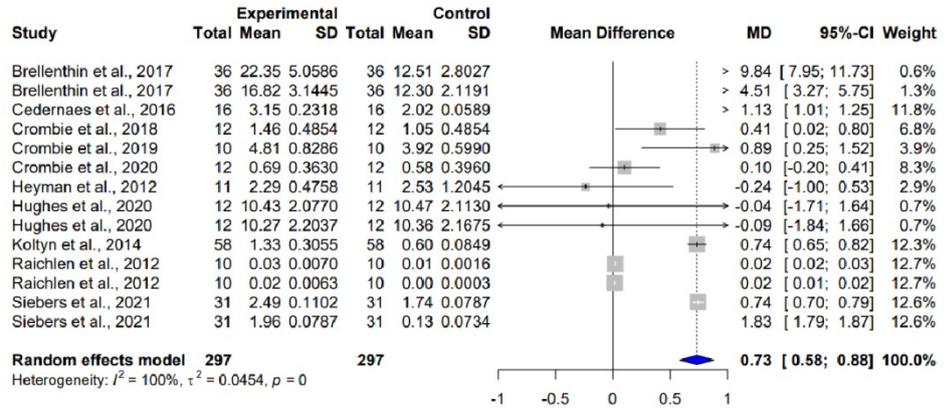


Fig 10. Forest plot of the results of the meta-analysis of the comparison of baseline and post-exercise values on the circulating levels of 2-AG. Values presented as mean difference and 95% confidence interval. The average effect was obtained with a random effects model.

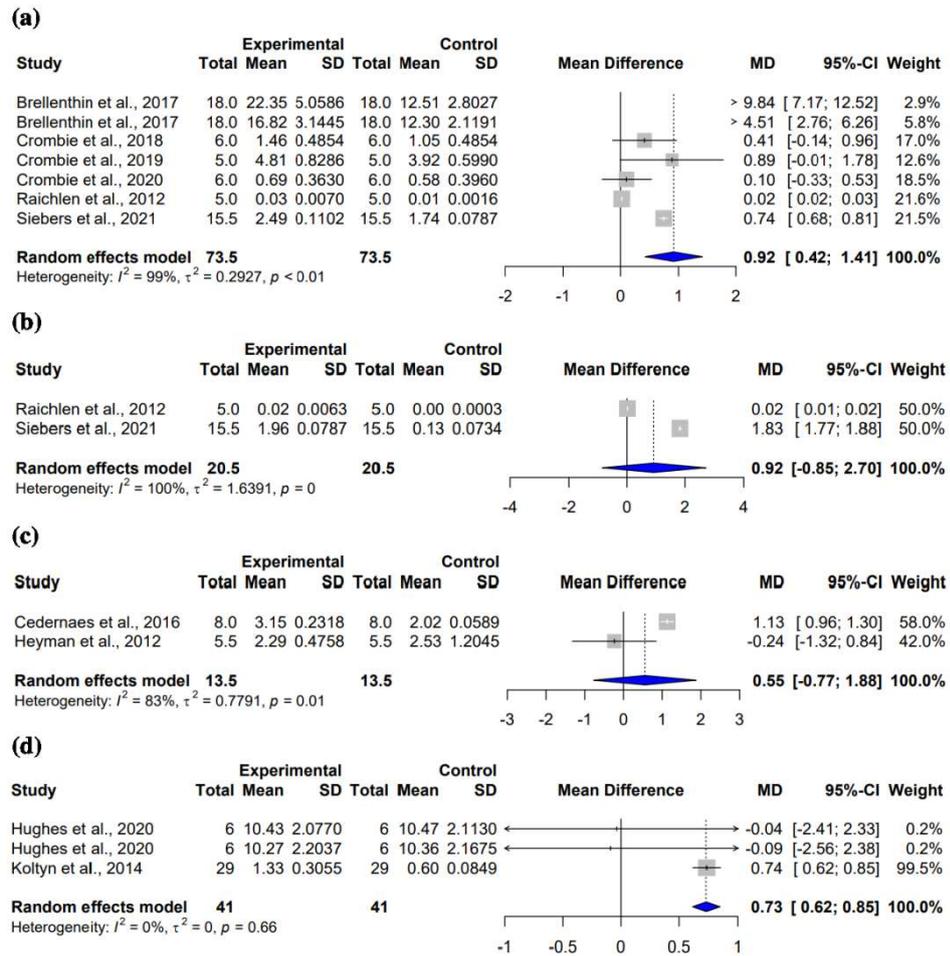


Fig 11. Forest plot of the results of the meta-analysis of sensitivity by modality and type of exercise, comparison of baseline and post-exercise values on circulating levels of 2-AG. (a) aerobic exercise running; (b) aerobic walking exercise; (c) aerobic exercise cycling; (d) muscle endurance exercise (short duration). Values presented as mean difference and 95% confidence interval. The average effect was obtained with a random effects model.

1 **Supplementary Information 1**

2
3 **Search strategy tailored according to each database**

4
5 **Database 1: PubMed**

6
7 #1

8 "Exercise"[MeSH Terms] OR "Exercise"[Title/Abstract] OR
9 "Exercises"[Title/Abstract] OR "Physical Activity"[Title/Abstract] OR "activities
10 physical"[Title/Abstract] OR "activity physical"[Title/Abstract] OR "Physical
11 Activities"[Title/Abstract] OR "exercise physical"[Title/Abstract] OR "exercises
12 physical"[Title/Abstract] OR "Physical Exercise"[Title/Abstract] OR "Physical
13 Exercises"[Title/Abstract] OR "Acute Exercise"[Title/Abstract] OR "Acute
14 Exercises"[Title/Abstract] OR "exercise acute"[Title/Abstract] OR "exercises
15 acute"[Title/Abstract] OR "exercise isometric"[Title/Abstract] OR "exercises
16 isometric"[Title/Abstract] OR "Isometric Exercises"[Title/Abstract] OR "Isometric
17 Exercise"[Title/Abstract] OR "exercise aerobic"[Title/Abstract] OR "Aerobic
18 Exercise"[Title/Abstract] OR "Aerobic Exercises"[Title/Abstract] OR "exercises
19 aerobic"[Title/Abstract] OR "Exercise Training"[Title/Abstract] OR "Exercise
20 Trainings"[Title/Abstract] OR "training exercise"[Title/Abstract]

21
22 #2

23 "Endocannabinoids"[MeSH Terms] OR "Endocannabinoids"[Title/Abstract] OR
24 "Endocannabinoid"[Title/Abstract] OR "2-arachidonoyl-glycerol"[Title/Abstract] OR
25 "2-arachidonoyl-glycerol"[Title/Abstract] OR "2-arachidonoylglycerol"[Title/Abstract]
26 OR "2-arachidonoylglycerol"[Title/Abstract] OR "2-AG"[Title/Abstract] OR
27 "anandamide"[Title/Abstract] OR "n 2 hydroxyethyl arachidonamide"[Title/Abstract]
28 OR "arachidonoyl ethanolamide"[Title/Abstract] OR
29 "arachidonoylethanolamide"[Title/Abstract] OR
30 "arachidonylethanolamide"[Title/Abstract] OR "5 8 11 14 eicosatetraenamide n 2
31 hydroxyethyl"[Title/Abstract] OR "anandamide 20 4 n 6"[Title/Abstract] OR "n-
32 arachidonylethanolamide"[Title/Abstract] OR "AEA"[Title/Abstract]

33
34 #3

35 "Adult"[MeSH Terms] OR "Adult"[Title/Abstract] OR "Adults"[Title/Abstract] OR
36 "Young Adult"[MeSH Terms] OR "Young Adult"[Title/Abstract] OR "adult
37 young"[Title/Abstract] OR "adults young"[Title/Abstract] OR "Young
38 Adults"[Title/Abstract] OR "Middle Aged"[MeSH Terms] OR "Middle
39 Aged"[Title/Abstract] OR "Middle Age"[Title/Abstract]

40
41
42 **Database 2: EMBASE**

43
44 #1

45 'exercise/exp OR exercise:ab,ti OR 'aerobic exercise'/exp OR 'aerobic exercise':ab,ti
46 OR 'exercise training':ab,ti OR 'exercise, aerobic':ab,ti OR 'exercise, isometric':ab,ti
47 OR 'physical exercise':ab,ti OR 'isometric exercise'/exp OR 'isometric exercise':ab,ti
48 OR 'physical activity'/exp OR 'physical activity':ab,ti OR 'activity, physical':ab,ti
49 OR 'anaerobic exercise'/exp OR 'anaerobic exercise':ab,ti OR 'endurance training'/exp
50 OR 'endurance training':ab,ti OR 'isokinetic exercise'/exp OR 'isokinetic exercise':ab,ti

Publication details	Title, first author, country of research, year publication, periodical, published language.
Study design Group/Intervention analyzed	Experimental or near-experimental studies Control group of interventional studies of diseases or risk factors/intervention group.
Population characteristics	<ul style="list-style-type: none"> • Source, sample size, eligibility criterion, pre-test orientations, gender (%), age [years, mean and standard deviation (total sample and/or per group)], body mass index (BMI, kg/m²). • Level of physical activity (trained/untrained), health condition.
Endocannabinoid Measurement	<ul style="list-style-type: none"> • Endocannabinoid, unit of measurement, part of the blood (plasma/serum), fed state or fasting. • Post-exercise blood collection time (min) and extraction and quantification technique 2-AG and AEA.
Intervening Characteristics and Experimental Design	<ul style="list-style-type: none"> • Number of participants in each group, type of intervention (aerobic, muscular endurance), modality/equipment used intervention / Method to determine intensity. • Protocol [prescription and intensity method [lactate, % peak heart rate (peak HR), reserve HR (Karvonen), ventilatory thresholds in cardiopulmonary test, power (Watt) and a maximum repetition (1RM), subjective feeling of exertion (Borg), others], session duration (min), number of experimental sessions, interval between sessions/periodwash-out].
Comparator	Rest, concurrent intervention or baseline.
Results	Circulating levels endocannabinoids Summarized data for each group, difference between groups and/or basal and post-intervention (mean and standard deviation, P values, interquartile interval, standard error, confidence interval).

Table 1. Data extraction form from studies included in systematic review and meta-analysis.

Author, year [research country]	Intervention	Sample N, sex	mean \pm SD age, years	BMI (kg/m ²)	Level of physical activity
Aerobic/Long duration Antunes, 2016 [Brazil] [30]	Running	N=6 men	32.9 \pm 4.7	23.4 \pm 2.79	Physically active (aerobic modalities for at least 2 years, 5 \times / week)
Bosch, 2020 [Switzerland] [40]	Moderate cycling Intense cycling Rest	N=15 men	23.699 \pm 4.024	NI	Trained (VO ₂ max between 40 and 65mL.kg.min ⁻¹)
Brellenthin, 2017 [United States] [33]	Prescribed Running Preferred Running	N=36, 18 men 18 women	21.1 \pm 3.8	23.4 \pm 3.4	n= 11, low (\leq 60min MVPA / week); n= 12, moderate (150-299 min MVPA / week); n= 13, high (\geq 300 min MVPA / week)
Cedernaes, 2016 [Sweden] [31]	Cycling	N=16 men	22.9 \pm 0.66	22.9 \pm 0.46	NI
Crombie, 2018 [United States] [34]	Running	N=12, 3 men 9 women	22 \pm 4.7	22.5 \pm 2.9	NI
Crombie, 2019	Running	N=10,	22.2 \pm 6.1	24.0 \pm 4.8	NI

Author, year [research country]	Method and protocol for determining intensity	Intervention protocol	Results
Aerobic/Long duration			
Antunes, 2016 [Brazil] [30]	Maximum incremental ergspirometric test Protocol: 7km/h / 3min + 1km/h every min until exhaustion, tilt 1%	Running <u>Intensity:</u> $VO_2 VT1 = 39.79 \pm 5.41$ mL.kg.min ⁻¹ and Speed $VT1 = 11.6 \pm 1.17$ km/h <u>Volume:</u> 60min	↑AEA immediately post-race ($P \leq 0.05$)
Bosch, 2020 [Switzerland] [40]	Maximum incremental ergspirometric test Protocol: 50W/4min + 25W every 2 min until it reaches 80% HRmax Predicted, followed by + 25W every 1min until exhaustion. Maintained 60-80 cycles /min during testing	Moderate cycling <u>Intensity:</u> 153.0 ± 21.4 W (70% HRmax, corresponding to 60% VO_{2max}) <u>Volume:</u> 30min Intense cycling <u>Intensity:</u> 199.3 ± 28.7 W (80% HRmax, corresponding to 75% VO_{2max}) <u>Volume:</u> 15min (3min heating + 15min cycling + 3min cooling) Rest Sitting position with option of selected magazines	↑AEA immediately moderate and intense post-cycling ($P < 0.001$) and compared to rest ($P < 0.001$), no difference between the two exercise conditions ($P = 0.080$)

Estudo	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Q7	Q8	Q9	Q10
Brellenthin, 2017 [33]	Y	Y	Y	U	Y	Y	Y	Y	Y	Y
Cedernaes, 2016 [31]	Y	Y	Y	U	U	Y	N	Y	Y	Y
Crombie, 2019 [35]	Y	Y	Y	U	Y	Y	N	Y	Y	Y
Hughes, 2020 [13]	U	Y	Y	U	Y	Y	Y	Y	Y	Y
Koltyn, 2014 [39]	Y	Y	Y	U	Y	Y	N	Y	Y	Y
Raichlen, 2013 [37]	N	Y	Y	U	U	Y	Y	Y	Y	Y
Siebers, 2021 [10]	Y	Y	Y	U	Y	Y	Y	Y	Y	Y

Table 4. Results of the risk assessment of bias of the included studies using the tool of the Joanna Briggs Institute (JBI), JBI Critical Appraisal Checklist for Case Series. Questions of the JBI instrument, the Critical Appraisal Checklist for Case Series: Q1. Were there clear criteria for inclusion in the case series? Q2. Was the condition measured in a standard, reliable way for all participants included in the case series? Q3. Were valid methods used for identification of the condition for all participants included in the case series? Q4. Did the case series have consecutive inclusion of participants? Q5. Did the case series have complete inclusion of participants? Q6. Was there clear reporting of the demographics of the participants in the study? Q7. Was there clear reporting of clinical information of the participants? Q8. Were the outcomes or follow up results of cases clearly reported? Q9. Was there clear reporting of the presenting site(s)/clinic(s) demographic information? Q10. Was statistical analysis appropriate? Legend: Y= yes; N= no; U= unclear; NA= not applicable.

Section and Topic	Item #	Checklist item	Location where item is reported
TITLE			
Title	1	Identify the report as a systematic review.	Page 1
ABSTRACT			
Abstract	2	See the PRISMA 2020 for Abstracts checklist.	Page 3
INTRODUCTION			
Rationale	3	Describe the rationale for the review in the context of existing knowledge.	Page 6
Objectives	4	Provide an explicit statement of the objective(s) or question(s) the review addresses.	Page 7
METHODS			
Eligibility criteria	5	Specify the inclusion and exclusion criteria for the review and how studies were grouped for the syntheses.	Page 8
Information sources	6	Specify all databases, registers, websites, organisations, reference lists and other sources searched or consulted to identify studies. Specify the date when each source was last searched or consulted.	Page 10
Search strategy	7	Present the full search strategies for all databases, registers and websites, including any filters and limits used.	Supplementary Information 1
Selection process	8	Specify the methods used to decide whether a study met the inclusion criteria of the review, including how many reviewers screened each record and each report retrieved, whether they worked independently, and if applicable, details of automation tools used in the process.	Page 10
Data collection process	9	Specify the methods used to collect data from reports, including how many reviewers collected data from each report, whether they worked independently, any processes for obtaining or confirming data from study investigators, and if applicable, details of automation tools used in the process.	Page 10
Data items	10a	List and define all outcomes for which data were sought. Specify whether all results that were compatible with each outcome domain in each study were sought (e.g. for all measures, time points, analyses), and if not, the methods used to decide which results to collect.	Page 11
	10b	List and define all other variables for which data were sought (e.g. participant and intervention characteristics, funding sources). Describe any assumptions made about any missing or unclear information.	Page 10
Study risk of bias assessment	11	Specify the methods used to assess risk of bias in the included studies, including details of the tool(s) used, how many reviewers assessed each study and whether they worked independently, and if applicable, details of automation tools used in the process.	Page 11
Effect	12	Specify for each outcome the effect measure(s) (e.g. risk ratio, mean difference) used in the synthesis or	Page 13

Section and Topic	Item #	Checklist item	Location where item is reported
measures		presentation of results.	
Synthesis methods	13a	Describe the processes used to decide which studies were eligible for each synthesis (e.g. tabulating the study intervention characteristics and comparing against the planned groups for each synthesis (item #5)).	Page 13
	13b	Describe any methods required to prepare the data for presentation or synthesis, such as handling of missing summary statistics, or data conversions.	Page 13
	13c	Describe any methods used to tabulate or visually display results of individual studies and syntheses.	Page 13
	13d	Describe any methods used to synthesize results and provide a rationale for the choice(s). If meta-analysis was performed, describe the model(s), method(s) to identify the presence and extent of statistical heterogeneity, and software package(s) used.	Page 13
	13e	Describe any methods used to explore possible causes of heterogeneity among study results (e.g. subgroup analysis, meta-regression).	Page 13
	13f	Describe any sensitivity analyses conducted to assess robustness of the synthesized results.	Page 13
Reporting bias assessment	14	Describe any methods used to assess risk of bias due to missing results in a synthesis (arising from reporting biases).	-
Certainty assessment	15	Describe any methods used to assess certainty (or confidence) in the body of evidence for an outcome.	-
RESULTS			
Study selection	16a	Describe the results of the search and selection process, from the number of records identified in the search to the number of studies included in the review, ideally using a flow diagram.	Page 15
	16b	Cite studies that might appear to meet the inclusion criteria, but which were excluded, and explain why they were excluded.	Page 15
Study characteristics	17	Cite each included study and present its characteristics.	Page 15
Risk of bias in studies	18	Present assessments of risk of bias for each included study.	Page 16
Results of individual studies	19	For all outcomes, present, for each study: (a) summary statistics for each group (where appropriate) and (b) an effect estimate and its precision (e.g. confidence/credible interval), ideally using structured tables or plots.	Page 19
Results of syntheses	20a	For each synthesis, briefly summarise the characteristics and risk of bias among contributing studies.	Page 17
	20b	Present results of all statistical syntheses conducted. If meta-analysis was done, present for each the summary estimate and its precision (e.g. confidence/credible interval) and measures of statistical heterogeneity. If	Page 19

Section and Topic	Item #	Checklist item	Location where item is reported
		comparing groups, describe the direction of the effect.	
	20c	Present results of all investigations of possible causes of heterogeneity among study results.	Page 19
	20d	Present results of all sensitivity analyses conducted to assess the robustness of the synthesized results.	Page 19
Reporting biases	21	Present assessments of risk of bias due to missing results (arising from reporting biases) for each synthesis assessed.	-
Certainty of evidence	22	Present assessments of certainty (or confidence) in the body of evidence for each outcome assessed.	-
DISCUSSION			
Discussion	23a	Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence.	Page 22
	23b	Discuss any limitations of the evidence included in the review.	Page 25
	23c	Discuss any limitations of the review processes used.	Page 25
	23d	Discuss implications of the results for practice, policy, and future research.	Page 26
OTHER INFORMATION			
Registration and protocol	24a	Provide registration information for the review, including register name and registration number, or state that the review was not registered.	Page 4
	24b	Indicate where the review protocol can be accessed, or state that a protocol was not prepared.	Page 4
	24c	Describe and explain any amendments to information provided at registration or in the protocol.	-
Support	25	Describe sources of financial or non-financial support for the review, and the role of the funders or sponsors in the review.	Page 4
Competing interests	26	Declare any competing interests of review authors.	Page 4
Availability of data, code and other materials	27	Report which of the following are publicly available and where they can be found: template data collection forms; data extracted from included studies; data used for all analyses; analytic code; any other materials used in the review.	-

Fonte: (PAGE; MCKENZIE; BOSSUYT; BOUTRON et al., 2021).

APÊNDICE C – Estratégia de busca adaptada de acordo com cada base de dados

Base de dados 1: PubMed

#1

"Exercise"[MeSH Terms] OR "Exercise"[Title/Abstract] OR "Exercises"[Title/Abstract] OR "Physical Activity"[Title/Abstract] OR "activities physical"[Title/Abstract] OR "activity physical"[Title/Abstract] OR "Physical Activities"[Title/Abstract] OR "exercise physical"[Title/Abstract] OR "exercises physical"[Title/Abstract] OR "Physical Exercise"[Title/Abstract] OR "Physical Exercises"[Title/Abstract] OR "Acute Exercise"[Title/Abstract] OR "Acute Exercises"[Title/Abstract] OR "exercise acute"[Title/Abstract] OR "exercises acute"[Title/Abstract] OR "exercise isometric"[Title/Abstract] OR "exercises isometric"[Title/Abstract] OR "Isometric Exercises"[Title/Abstract] OR "Isometric Exercise"[Title/Abstract] OR "exercise aerobic"[Title/Abstract] OR "Aerobic Exercise"[Title/Abstract] OR "Aerobic Exercises"[Title/Abstract] OR "exercises aerobic"[Title/Abstract] OR "Exercise Training"[Title/Abstract] OR "Exercise Trainings"[Title/Abstract] OR "training exercise"[Title/Abstract]

#2

"Endocannabinoids"[MeSH Terms] OR "Endocannabinoids"[Title/Abstract] OR "Endocannabinoid"[Title/Abstract] OR "2-arachidonoyl-glycerol"[Title/Abstract] OR "2-arachidonyl-glycerol"[Title/Abstract] OR "2-arachidonylglycerol"[Title/Abstract] OR "2-arachidonoylglycerol"[Title/Abstract] OR "2-AG"[Title/Abstract] OR "anandamide"[Title/Abstract] OR "n 2 hydroxyethyl arachidonamide"[Title/Abstract] OR "arachidonoyl ethanolamide"[Title/Abstract] OR "arachidonoylethanolamide"[Title/Abstract] OR "arachidonylethanolamide"[Title/Abstract] OR "5 8 11 14 eicosatetraenamide n 2 hydroxyethyl"[Title/Abstract] OR "anandamide 20 4 n 6"[Title/Abstract] OR "n-arachidonoylethanolamide"[Title/Abstract] OR "AEA"[Title/Abstract]

#3

"Adult"[MeSH Terms] OR "Adult"[Title/Abstract] OR "Adults"[Title/Abstract] OR "Young Adult"[MeSH Terms] OR "Young Adult"[Title/Abstract] OR "adult young"[Title/Abstract] OR "adults young"[Title/Abstract] OR "Young Adults"[Title/Abstract] OR "Middle Aged"[MeSH Terms] OR "Middle Aged"[Title/Abstract] OR "Middle Age"[Title/Abstract]

Base de dados 2: EMBASE

#1

'exercise'/exp OR exercise:ab,ti OR 'aerobic exercise'/exp OR 'aerobic exercise':ab,ti OR 'exercise training':ab,ti OR 'exercise, aerobic':ab,ti OR 'exercise, isometric':ab,ti OR 'physical exercise':ab,ti OR 'isometric exercise'/exp OR 'isometric exercise':ab,ti OR 'physical activity'/exp OR 'physical activity':ab,ti OR 'activity, physical':ab,ti OR 'anaerobic exercise'/exp OR 'anaerobic exercise':ab,ti OR 'endurance training'/exp OR 'endurance training':ab,ti OR 'isokinetic exercise'/exp OR 'isokinetic exercise':ab,ti

OR 'isotonic exercise'/exp OR 'isotonic exercise':ab,ti OR 'resistance training'/exp
OR 'resistance training':ab,ti

#2

'endocannabinoid'/exp OR endocannabinoid:ab,ti OR endocannabinoids:ab,ti OR 'endogenous
cannabinoid':ab,ti OR 'endocannabinoid system'/exp OR 'endocannabinoid system':ab,ti
OR 'endocannabinoid 2 arachidonoylglycerol'/exp OR 'endocannabinoid 2
arachidonoylglycerol':ab,ti OR 'endocannabinoid blood level'/exp OR 'endocannabinoid blood
level':ab,ti OR '2 arachidonoylglycerol'/exp OR '2 arachidonoylglycerol':ab,ti OR '2-
arachidonoylglycerol':ab,ti OR 'glyceryl 2 arachidonate'/exp OR 'glyceryl 2 arachidonate':ab,ti
OR '2 arachidonoyl glycerol'/exp OR '2 arachidonoyl glycerol':ab,ti OR 'anandamide'/exp
OR anandamide:ab,ti OR arachidonylethanolamide:ab,ti OR arachidonylethanolamide:ab,ti
OR (n:ab,ti AND '2 hydroxyethyl':ab,ti AND arachidonamide:ab,ti) OR 'n
arachidonylethanolamine':ab,ti

#3

'young adult'/exp OR 'young adult':ab,ti OR 'adult'/exp OR adult:ab,ti OR 'middle ages'/exp
OR 'middle ages':ab,ti

Base de dados 3: Web of Science - Coleção Principal (Clarivate Analytics).

#1

TS=("Exercise"OR "Exercises" OR "Physical Activity" OR "Activities, Physical" OR "
Activity, Physical" OR "Physical Activities" OR "Exercise, Physical" OR "Exercises, P
hysical" OR "Physical Exercise" OR "Physical Exercises" OR "Acute Exercise" OR "Ac
ute Exercises" OR "Exercise, Acute" OR "Exercises, Acute" OR "Exercise, Isometric"
OR "Exercises, Isometric" OR "Isometric Exercises" OR "Isometric Exercise" OR "Exer
cise, Aerobic" OR "Aerobic Exercise" OR "Aerobic Exercises" OR "Exercises, Aerobic
" OR "Exercise Training" OR "Exercise Trainings" OR "Training, Exercise" OR "Traini
ngs, Exercise")

#2

TS=("Endocannabinoids" OR "Endocannabinoid" OR "glyceryl 2-arachidonate" OR "2-
arachidonoyl-glycerol" OR "2-monoarachidonoylglycerol" OR "2-arachidonyl-
glycerol" OR "2-arachidonoylglycerol" OR "5,8,11,14-eicosatetraenoic acid, 2-hydroxy-1-
(hydroxymethyl)ethyl ester, (all-Z) -" OR "2-arachidonoylglycerol" OR "2-
AG" OR "anandamide" OR "5,8,11,14-eicosatetraenoylethanolamide" OR "N-(2-
hydroxyethyl)arachidonamide" OR "N-arachidonoyl-2-
hydroxyethylamide" OR "arachidonoyl ethanolamide" OR "arachidonylethanolamide" O
R "arachidonylethanolamide" OR "5,8,11,14-eicosatetraenamamide, N-(2-hydroxyethyl)-
" OR "anandamide (20.4,n-6)" OR "n-arachidonylethanolamide" OR "AEA")

#3

TS=("Adult"OR "Adults" OR "Young Adult" OR "Adult, Young" OR "Adults, Young"
OR "Young Adults" OR "Middle Aged" OR "Middle Age")

Base de dados 4: CINAHL with Full Text (EBSCO).

1#

MH "Exercise" OR MH "Resistance Training" OR MH "Aerobic Exercises" OR TX "Aerobic Exercise" OR TX "Physical Exercise" OR TX "Exercise training" OR MH "Isometric Exercises" OR TX "Exercise, Isometric" OR TX "Exercises, Isometric" OR TX "Physical Exercise" OR MH "Physical Activity" OR TX "Physical Activities"

#2

TX "Endocannabinoid" OR TX "Endocannabinoids" OR TX "Endogenous cannabinoid OR TX "Endocannabinoid system" OR TX "Endocannabinoid 2 arachidonoylglycerol" OR TX "Endocannabinoid blood level" OR TX "Glyceryl 2-arachidonate" OR TX "2-arachidonoylglycerol" OR TX "2-AG" OR TX "Anandamide" OR TX "AEA" OR TX "n-arachidonylethanolamide"

#3

MH "Adult" OR TX "Adults" OR MH "Young Adult" OR TX "Adult, Young" OR TX "Adults, Young" OR TX "Young Adults" OR MH "Middle Aged" OR TX "Middle Age"

Base de dados 5: SPORTDiscus with Full Text (EBSCO).

S1

TX "Exercise" OR TX "Resistance training" OR TX "Aerobic exercises" OR TX "Physical exercise" OR TX "Anaerobic exercises" OR TX "Isometric exercise" OR TX "Isotonic exercise" OR TX "Isokinetic exercise" OR TX "Physical activity" OR TX "Strength training" OR TX "Physical Activity"

S2

TX "endocannabinoid" OR TX "endocannabinoids" OR TX "endogenous cannabinoid" OR TX "endocannabinoid system" OR TX "endocannabinoid 2 arachidonoylglycerol" OR TX "endocannabinoid blood level" OR TX "glyceryl 2-arachidonate" OR TX "2-arachidonoylglycerol" OR TX "2-AG" OR TX "Anandamide" OR TX "AEA" OR TX "n-arachidonylethanolamide"

S3

TX "Adult" OR TX "Adults" OR TX "Young Adult" OR TX "Adult, Young" OR TX "Adults, Young" OR TX "Young Adults" OR TX "Middle Aged" OR TX "Middle Age"

Base de dados 6: Scopus.

#1

(TITLE-ABS-KEY ("Exercise" OR "Exercises" OR "Physical Activity" OR "Activities, Physical" OR "Activity, Physical" OR "Physical Activities" OR "Exercise, Physical" OR "Exercises, Physical" OR "Physical Exercise" OR "Physical Exercises" OR "Acute Exercise") OR TITLE-ABS-KEY ("Acute

Exercises" OR "Exercise, Acute" OR "Exercises, Acute" OR "Exercise, Isometric" OR "Exercises, Isometric" OR "Isometric Exercises" OR "Isometric Exercise" OR "Exercise, Aerobic" OR "Aerobic Exercise" OR "Aerobic Exercises" OR "Exercises, Aerobic") OR TITLE-ABS-KEY ("Exercise Training" OR "Exercise Trainings" OR "Training, Exercise" OR "Trainings, Exercise"))

#2

(TITLE-ABS-KEY ("Endocannabinoids" OR "Endocannabinoid" OR "glyceryl 2-arachidonate" OR "2-arachidonoyl-glycerol" OR "2-monoarachidonoylglycerol" OR "2-arachidonoyl-glycerol" OR "2-arachidonoylglycerol") OR TITLE-ABS-KEY ("5,8,11,14-eicosatetraenoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester, (all-Z)-" OR "2-arachidonoylglycerol" OR "2-AG" OR "anandamide" OR "5,8,11,14-eicosatetraenylethanolamide" OR "N-(2-hydroxyethyl)arachidonamide") OR TITLE-ABS-KEY ("N-arachidonoyl-2-hydroxyethylamide" OR "arachidonoyl ethanolamide" OR "arachidonoylethanolamide" OR "arachidonylethanolamide" OR "5,8,11,14-eicosatetraenamide, N-(2-hydroxyethyl)-" OR "anandamide (20.4,n-6)" OR "n-arachidonoylethanolamide" OR "AEA"))

#3

TITLE-ABS-KEY ("Adult" OR "Adults" OR "Young Adult" OR "Adult, Young" OR "Adults, Young" OR "Young Adults" OR "Middle Aged" OR "Middle Age")