



16° Congresso de Iniciação Científica

CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL DE CITOCINAS CIRCULANTES DE ATLETAS DO VOLEIBOL, EM DIFERENTES ETAPAS DA PERIODIZAÇÃO DO TREINAMENTO

Autor(es)

DIEGO TREVISAN BRUNELLI

Orientador(es)

CLÁUDIA REGINA CAVAGLIERI

Apoio Financeiro

PIBIC/CNPq

1. Introdução

O respaldo científico para o desporto apresenta-se essencial para uma adequada prescrição das cargas de treinamento, convergido para uma melhora da performance desportiva. Um fator a se considerar como possibilitador de não adesão, não continuidade ou continuidade com uma performance diminuída aos programas de treinamento é o quadro imune dos atletas.

Sabe-se que tanto a intensidade bem como a duração dos exercícios físicos age de forma paradoxal nas respostas imunológicas, com estudos demonstrando evidências de que exercícios moderados e regulares estão associados com alterações benéficas nesse sistema, além de diminuições consideráveis na susceptibilidade as infecções, principalmente das vias aéreas superiores (IVASs) (NIEMAN et al., 2005; BUYUKYAZI, et al., 2004; BRAUN e VON DUVILLARD, 2004).

Por outro lado, exercícios exaustivos podem induzir uma imunossupressão transitória, com aumentada susceptibilidade às IVASs (BRAUN e VON DUVILLARD, 2004; FRIMAN e WESSLÉN, 2000), estando essa susceptibilidade aumentada quando altas cargas de treinamento são associadas com estresse psicológico ou mental (NIEMAN, 1994).

Admite-se que exercícios muito intensos são capazes de danificar uma quantidade de tecido muscular suficiente para desencadear uma resposta inflamatória aguda que, segundo ORTEGA et al. (2003), envolve reações complexas moduladas pelo sistema imunitário através da liberação de citocinas.

Faz sentido que o risco de IVASs esteja aumentado em atletas que se submetam a ciclos repetidos de exercícios exaustivos, tenham sido recentemente exposto a IVASs e passado por outros fatores que alterem a resposta imunológica, entre estes: alterações nos níveis séricos de citocinas; alterações nas contagens leucocitárias; pouco repouso entre as sessões de treinamento realizadas; estresse; má nutrição e perda de peso corporal (NIEMAN, 1994).

2. Objetivos

Avaliar as modulações imunológicas em atletas de voleibol da categoria adulto feminino nas diferentes fases da periodização do treinamento, passando desde as etapas de preparação até a competição, pelo período prolongado de 40 semanas.

3. Desenvolvimento

Participaram do estudo 12 atletas de voleibol, adultas, do sexo feminino, com médias de idade e erro padrão de $18,92 \pm 0,76$ anos. O programa de treinamento compôs as habilidades específicas do voleibol (5 dias/semana com aproximadamente 15h/semanais) associado a um programa de treinamento físico constituído de treinamento de força e saltos pliométricos (3 dias/semana com aproximadamente 1,5h/sessão). A padronização do treinamento foi de responsabilidade total do técnico e do preparador físico da equipe, não sendo influenciado em nenhum momento pelos pesquisadores do estudo.

As coletas de sangue foram realizadas entre 08:00h e 09:00h da manhã, com as atletas em repouso e jejum, ao final das etapas: Preparatória, sendo denominada avaliação momento 1 (M1); Pré-competitiva, sendo denominada avaliação momento 2 (M2); Competitiva-I, sendo denominada avaliação momento 3 (M3) e Competitiva-II, sendo denominada avaliação momento 4 (M4). As amostras de sangue foram obtidas por punção venosa em tubos a vácuo, obtendo-se o plasma para a determinação das citocinas. As amostras do plasma foram congeladas a -70° C para posterior análise.

A contagem de leucócitos foi feita diluindo-se 1:20 o sangue com pipeta automática e foram contados quatro retículos da câmara de Neubauer em microscópio óptico.

A contagem diferencial de leucócitos foi feita através da contagem de 100 leucócitos de esfregaço sanguíneo com corante Giemsa em microscópio óptico.

As dosagens das citocinas foram realizadas pelo método ELISA, com os resultados expressos em pg/ml, seguindo as especificações correspondentes ao kit (R&D System) (CAVAGLIERI et al. 2003).

Para o tratamento estatístico foi realizado, inicialmente, o teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov e o teste de homocedasticidade (critério de Bartlett). Todas as variáveis analisadas apresentaram distribuição normal e homocedasticidade, sendo sucessivamente realizado o teste Anova, não apresentando diferença estatisticamente significativa entre as avaliações ($p < 0,05$).

O projeto contou com o apoio financeiro do PIBIC/CNPq e FAP/UNIMEP.

4. Resultado e Discussão

Os resultados assinalaram: nenhuma diferença significativa para o hematócrito (Anexo 1)(Tabela 1), aumentos significantes dos leucócitos totais nas avaliações M3 e M4 em comparação com M1 e M2 (Anexo 1)(Tabela 1). Em relação ao leucograma diferencial observamos: diferença estatisticamente significativa na contagem total de neutrófilos na avaliação M2 em relação a M1 e em M4 em relação às demais; aumento na contagem total de linfócitos nas avaliações M2 e M3 em relação a M1 e um decréscimo na avaliação M4 em relação a M2 e M3; aumento de monócitos totais nas avaliações M3 e M4 em relação a M1 e M2; diminuição significativa de basófilos tanto para M2 quanto M3 em relação a M1, seguido de um aumento considerável em M4 e aumento do número total de eosinófilos na avaliação M3 em comparação a M1 e M2 (Anexo 1)(Tabela 1). Nenhuma alteração nas dosagens séricas das citocinas IL-2, IL-4 e IL-15 ao longo dos momentos avaliados (Anexo 2)(Tabela 2).

ROWBOTTON & GREEN (2000) destacam que as alterações encontradas no volume sanguíneo podem

justificar as alterações encontradas nas contagens de células. Tais resultados evidenciam que as diferenças encontradas nos resultados de contagem das populações leucocitárias podem ocorrer devido à redistribuição dos mesmos através dos tecidos, ao invés de alterações decorrentes de mudanças da concentração sanguínea.

A leucocitose é um marcador da indução de mudanças celulares provocadas pelo exercício (McARTHUR et al., 1988). A elevação de leucócitos pode ser devido ao aumento de várias células. Em nosso caso pode, talvez, ser devidos aumentos do número total dos monócitos e linfócitos em M3, pois o total de neutrófilos reduziu, e de monócitos e neutrófilos em M4, pois o total de linfócitos diminuiu. De acordo com SHEK et al., (1998) o elevado número de leucócitos é retribuído ao aumento na contagem de monócitos e linfócitos. Pode ser que tenham ocorrido algumas lesões celulares nas atletas, pois o exercício intenso e de longa duração provavelmente faz aumentar o dano muscular, e mesmo o nosso estudo sendo de caráter crônico, as atletas treinam diariamente horas por dia e de forma intensa. Os macrófagos também se deslocam progressivamente para o tecido lesado nos próximos dias e eles exercem, assim como os neutrófilos, uma função fagocitária e inflamatória.

5. Considerações Finais

Observamos, de maneira geral, um aumento no número de leucócitos, principalmente de neutrófilos e monócitos. Tais resultados supõem que, do ponto de vista imunológico, às cargas de trabalho aplicadas ao longo dos períodos avaliados foram adequadas, já que ao longo da temporada as concentrações de citocinas séricas mantiveram-se inalteradas, com leves tendências de aumento, possivelmente a fim de manter a funcionalidade leucocitária. Sumariamente, os resultados indicam que capacidade de defesa do sistema imunológico das atletas parece estar adequada aos períodos de treinamento avaliados.

Contudo, fazem-se necessários mais estudos longitudinais em esportes competitivos, durante e ao longo de toda temporada, no sentido de se obter mais subsídios para o entendimento da complexa relação: contagem das populações leucocitárias, concentração das citocinas séricas, cargas de treinamento, capacidade de defesa do sistema imunológico e susceptibilidade às infecções, principalmente às IVASs.

Referências Bibliográficas

- BRAUN W.A.; VON DUVILLARD, S.P. Influence of carbohydrate delivery on the immune response during exercise and recovery from exercise. *Nutrition*, 20(7-8): 645-650, 2004.
- BUYUKYAZI, G.; KUTUKCULER, N.; KUTLU, N.; GENEL, F.; KARADENIZ, G.; OZKUTUK, N. Differences in the cellular and humoral immune system between middle-aged men with different intensity and duration of physically training. *J. Sports Med. Phys. Fitness.*, 44: 207-214, 2004.
- CASTELL, L.M.; POORTMANS, J.R.; LECLERG, R.; BRASSEUR, M.; DUCHATEU, J. NEWSHOLME, E.A. Some aspects of the acute phase response after a marathon race, and the effects of glutamine supplementation. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, January 1; 75(1): 47-53, 1997.
- CAVAGLIERI, C.R.; NISHIYAMA, A.; FERNANDES, L.C.; CURI, R.; MILES, E.A.; CALDER, P.C. Differential effects of short-chain fatty acids on proliferation and production of pro- and anti inflammatory cytokines by cultured lymphocytes. *Life Sciences*, 73: 1683–1690, 2003.
- DUCLOS, M.; GOUARNE, C.; BONNEMAISON, D. Acute effects of exercise on tissue sensitivity to glucocorticoids. *J Appl Physiol.*, 94: 869-875, 2003.
- FRIMAN, G.; WESSLÉN, L. Infections and exercise in high-performance athletes. *Immunol. Cell Biol.*, 78(5): 510-522, 2000.
- MACKINNON, L.T. Chronic exercise training effects on immune function. *Med Sci Sports Exerc.*, 37(7): 369-376, 2000.

McARTHUR, D.A.; DALE, M.M. The leucocytosis of exercise. A review and a model. *Sports Med.*, 6: 333 – 363, 1988.

NIEMAN, D.C. Exercise, upper respiratory tract infection, and the immune system. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 26(2): 128-139, 1994.

NIEMAN, D.C.; HENSON, D.A.; AUSTIN, M.D.; BROWN, V.A. Immune Response to a 30-Minute Walk. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 37(1): 57-62, 2005.

ORTEGA, E. Neuroendocrine mediators in the modulation of phagocytosis by exercise: Physiological implications. *Exerc. Immunol. Review.*, 9: 70-93, 2003.

OSTROWSKI, K.; HERMANN, C.; BANGASH, A.; SCHJERLING, P.; NIELSEN, J. N.; PEDERSEN, B.K. A trauma-like elevation of plasma cytokines in humans in response to treadmill running. *Journal of Physiology*, 513.3, pp. 889—894, 1998.

ROBERTSON, T.A.; GROUNDS, M.D.; PAPADIMITRIOU, J.M. Elucidation of aspects of murine skeletal muscle regeneration using local and whole body irradiation. *J. Anatomy.*, 181: 265-276, 1992.

ROWBOTTON, D.G.; GREEN, K.J. Acute exercise effects on the immune system. *Med. Sci. Sports Exerc.* 32(Suppl 7): S396-405, 2000.

SHEK, P.N.; SHEPHARD, R.J. Physical exercise as a human model of limited inflammatory response. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 76: 589-597, 1998.

STEENSBERG, A.; TOFT, A.D.; BRUUNSGAARD, H.; SANDMAND, M.; HALKJAER-KRISTENSEN, J.; PEDERSEN, B.K. Strenuous exercise decreases the percentage of type 1 T cells in the circulation. *J. Appl. Physiol.*, 91(4): 1708-1712, 2001.

Anexos

ANEXO 1

Tabela 1. Hematócrito e contagem absoluta dos leucócitos circulantes ao longo do ciclo anual de treinamento.

Variáveis Sanguíneas	M1 n=12	M2 n=12	M3 n=12	M4 n=9
Hematócrito	40,35±0,83	38,58±0,64	39,67±0,75	38,89±1,04
Leucócitos Totais	11233,33±297,29	11616,67±133,77	13650±150 *	13666,67±578,31 **
Neutrófilos Totais	7045,87±321,67	5711,42±413,18	8532,83±388,03	8356,33±421,56 *
Monócitos Totais	562,35±44,87	549,25±48,72	968,17±71,24 *	1181,22±102,4 *
Bacófilos Totais	40,92±11,71	16±12,29	17,17±8,97	47,44±16,24
Eosinófilos Totais	22,50±0,13	30,25±9,22	74,25±15,96 *	36,67±11,68
Linfócitos Totais	3561,83±189,81	5309,75±308,35 *	8057,58±322,76 *	4045±188,42 **

Valores expressos pela média ± erro padrão da média; sendo hematócrito (%) e leucócitos (cel/mm³), momentos avaliados: Período Preparatório (M1), Pré Competitivo (M2), Competitivo I (M3) e Competitivo II (M4); diferenças significantes: p<0,05; sendo (*) para M2, M3 e M4 em relação a M1, (**) para M3 e M4 em relação ao M2, (***) para M4 em relação M3.]

ANEXO 2

Tabela 2. Concentrações séricas das citocinas IL-2, IL-4, IL-15 ao longo do ciclo anual de treinamento.

Variáveis Sanguíneas	M1 n=12	M2 n=12	M3 n=12	M4 n=9
IL-2	126,64±43,79	109,28±38,49	279,10±62,02	315,92±80,79
IL-4	14,73±4,42	12,81±3,11	94,91±36,8	86,77±32,87
IL-15	18,17±11,61	34,76±21,19	33,18±18,27	19,98±13,22

Valores expressos pela média + erro padrão da média; sendo as concentrações séricas das citocinas (pg/ml); momentos avaliados: Período Preparatório (M1), Pré-Competitivo (M2), Competitivo I (M3) e Competitivo II (M4); Não foram observados alterações nas concentrações séricas das citocinas ao longo das avaliações, com $p < 0,05$