

UNIVERSIDADE METODISTA DE PIRACICABA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EDUCAÇÃO FÍSICA

Modulações no Leucograma, contagem de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ e
níveis séricos de cortisol após treinamento em ciclistas maratonistas

RONALDO JÚLIO BAGANHA

PIRACICABA

2009

UNIVERSIDADE METODISTA DE PIRACICABA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EDUCAÇÃO FÍSICA

Modulações no Leucograma, contagem de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ e níveis séricos de cortisol após treinamento em ciclistas maratonistas

RONALDO JÚLIO BAGANHA

Dissertação de Mestrado apresentada ao programa de Pós-graduação Stricto Sensu em Educação Física da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Metodista de Piracicaba – UNIMEP, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Educação Física, sob a orientação da Prof^a Dr^a Cláudia Regina Cavaglieri

PIRACICABA

2009

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª Dr^ª Cláudia Regina Cavaglieri (Orientadora)

Doutora em Fisiologia Humana - USP

Prof^ª Dr^ª Rozangela Verlengia (Examinadora)

Doutora em Biologia e Patologia Bucodental - UNICAMP

Prof Dr Ronaldo Vagner Thomatieli dos Santos (Examinador)

Doutor em Fisiologia Humana - USP

Prof Dr Idico Luiz Pellegrinotti (Suplente)

Doutor em Ciências Biológicas - UNESP

PIRACICABA

2009

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: Ronaldo Júlio Baganha

Título: Modulações no Leucograma, contagem de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ e níveis séricos de cortisol após treinamento em ciclistas maratonistas.

Dissertação de Mestrado apresentada ao programa de Pós-graduação Stricto Sensu em Educação Física da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Metodista de Piracicaba – UNIMEP, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Educação Física, sob a orientação da Prof^a Dr^a Cláudia Regina Cavaglieri

Data ___/___/_____

Banca Examinadora

Prof^a Dr^a Cláudia Regina Cavaglieri (Orientadora)

Julgamento _____

Assinatura _____

Prof^a Dr^a Rozangela Verlengia (Examinadora)

Julgamento _____

Assinatura _____

Prof Dr Ronaldo Vagner Thomatieli dos Santos (Examinador)

Julgamento _____

Assinatura _____

Prof Dr Idico Luiz Pellegrinotti (Suplente)

Julgamento _____

Assinatura _____

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a DEUS pelo dom da vida e por permitir que eu chegasse aqui.

Agradeço a minha mãe Cláudia que com muito amor e carinho abriu mão dos seus sonhos para que eu pudesse realizar os meus.

Agradeço ao meu irmão Rodrigo pelo exemplo de profissionalismo e por me ajudar nos momentos difíceis.

Agradeço a minha namorada Jéssica pela compreensão nos meus momentos de ausência, pelo seu amor, carinho e exemplo de ser humano.

Agradeço ao meu grande amigo Ms Rodrigo Dias pela força durante toda a caminhada na vida acadêmica neste curso.

Agradeço a minha orientadora professora Dr^a Cláudia Regina Cavaglieri que em todos os momentos demonstrou ser a uma pessoa brilhante, um exemplo de profissional.

Agradeço a professora Dr^a Rozangela Verlengia pelas conversas que tivemos, as quais me incentivou e me deu forças nos momentos difíceis.

Agradeço o professor Dr Ronaldo Vagner Thomatieli dos Santos pela presença na banca de qualificação e defesa deste trabalho

Agradeço aos meus professores da graduação e hoje companheiros de caminhada que me serviram de exemplo em especial o professor e amigo Dr Luís Henrique Sales Oliveira.

Agradeço aos colegas e amigos que fiz durante o curso na UNIMEP, Leandro, Denise, Anelena, Luís Felipe, Roberto, Marcelo, Luís, entre outros pelo companheirismo.

Agradeço os meus amigos Gabriel, Rafael, Luiz Augusto e João Guilherme, por fazerem parte de minha vida profissional.

Agradeço o incentivo dos meus companheiros de trabalho.

Agradeço a todos os meus alunos que me ensinam e me estimulam a procurar o conhecimento e a sabedoria.

Enfim, agradeço a todos aqueles que fazem ou fizeram parte da minha vida.

A todos vocês meu muito obrigado, que DEUS os abençoe.

EPIGRAFE

Este é o meu mandamento: amai-vos uns aos outros como eu vos amo. Ninguém tem maior amor do que aquele que dá a vida por seus amigos. Vós sois meus amigos, se fazeis o que vos mando. Já não vos chamo de servos, porque o servo não sabe o que faz o seu senhor. Mas chamei-vos de amigos, pois vos dei a conhecer tudo quanto ouvi de meu pai. Não fostes vós que me escolheste, mas eu que vos escolhi e vos constituí para que vades e produzais frutos, e o vosso fruto permaneça. Eu assim vos constituí, a fim de que tudo o que pedirdes ao Pai em meu nome, ele vos conceda. O que vos mando é que ameis uns aos outros.

Jo, 12 – 17.

RESUMO

O treinamento físico provoca alterações significativas nos sistemas e nas funções imunes de atletas e não atletas. Essa modulação é dependente dos fatores: intensidade, volume; frequência; tipo do exercício físico e nível de aptidão física. No esporte de alto nível, o desenvolvimento de um programa de treinamento tem como principal objetivo a melhoria da performance atlética, sendo os efeitos positivos relacionados ao fato de o treinamento causar adaptações em todo o corpo. O sistema imunológico é sensível às alterações na homeostase fisiológica durante situações de estresse. Estudos demonstram que exercícios exaustivos são responsáveis por imunossupressão transitória com aumento na suscetibilidade às infecções do trato respiratório superior (ITRS). O objetivo do presente estudo foi avaliar as modulações nos parâmetros imunológicos e na concentração sérica de cortisol 24 horas após a última sessão de treino realizada por ciclistas após um período de 8 semanas de treinamento, e avaliar o número de ocorrências de sintomas ITRS durante cada uma das semanas de treinamento. Participaram do estudo 10 atletas ciclistas maratonistas do gênero masculino com idade média de 24 ± 5 anos. Antes do início da primeira sessão de treino e no final das oito semanas (24 horas após a última sessão), os atletas se submeteram a uma coleta de sangue para subsequente contagem de leucócitos e avaliação da concentração de cortisol. A intensidade dos treinos foi monitorada através de monitores cardíacos e o volume foi monitorado através do tempo de treino e volume percorrido em cada sessão de treino. Durante os treinos os atletas suplementaram com bebida contendo carboidrato a uma concentração de 6% e uma ingestão de 1000 mililitros por hora de treino. Foi observado diminuição não significativa na contagem das seguintes células: leucócitos (19,65%); neutrófilos (18,03%); linfócitos totais (16,64%); linfócitos T CD4⁺ (15,10%); linfócitos T CD8⁺ (17,57%). A contagem de monócitos, apresentou diminuição significativa de (53,69%) ($p \leq 5\%$). Com relação à concentração sérica de cortisol, foi observado diminuição significativa de (27,89%) ($p \leq 5\%$). Durante as oito semanas de treinamento os atletas apresentaram um total de 60 ocorrências de sintomas de IRTS. Os resultados encontrados no presente estudo demonstram que a contagem de leucócitos 24 horas após a última sessão de treino se encontra normalizada e dentro dos valores considerados normais, com exceção dos monócitos que apresentou contagem significativamente diminuída. A diminuição na contagem dos monócitos pode estar relacionada ao aumento no volume de treinamento, causando aumento no número de microlesões musculares e subsequente migração destas células para o local do dano tecidual. A diminuição na contagem de monócitos pode ainda ser responsável pelo aumento no número de ocorrência de sintomas de ITRS nas últimas semanas de treinamento. Apesar da contagem dos leucócitos estarem dentro dos valores considerados normais, houve uma tendência de diminuição, o que deve ser levado em consideração, já que, os atletas se encontram no início do período de treinamento e vão se submeter a novos períodos de treino com volumes e intensidades ainda maiores. A concentração de cortisol apresentou diminuição significativa, o que pode estar relacionada a uma diminuição na sensibilidade da glândula supra renal a ação do hormônio Adrecorticotrópico (ACTH). Concluímos que 24 horas após a última sessão de treino a contagem de leucócitos de atletas ciclistas maratonistas não se encontra alterada, com exceção dos monócitos e a concentração de cortisol encontra-se significativamente diminuída.

Palavras chave: Sistema Imune, Leucócitos, Cortisol, Performance, Infecções

ABSTRACT

The physical training provides high alterations on the systems and immunity functions of athletes and non athletes. These alterations depend of factors: intensity, volume, frequency, type of physical exercise and level of physical fitness. On high level sport, the development of a training program has as main object the improvement of athletic performance, and the positive effects related to the fact that the training cause changes in whole body. The immunity system is sensible even to the infectious agents as to changes in physiological homeostasis during situations of stress. Studies show that exhaustive exercises are responsible for transitory immunosuppression with a grow of susceptibility of upper respiratory tract infection (URTI). The purpose of this study was to evaluate the modulations in immunological parameters and the serum concentration of cortisol 24 hours after the last training session conducted by cyclists after a period of 8 weeks of training, and takes the number of occurrences of URTI symptoms during each week of training. Ten athletes participated in the study of male marathoners cyclists with a mean age of 24 ± 5 years. Before the first training session and at the end of eight weeks (24 hours after the last session), the athletes were submitted to a blood collection for subsequent white blood cell count and evaluation of the concentration of cortisol. The intensity of training was monitored by cardiac monitors, volume was monitored over time and volume of training covered in each training session. During the training the athletes supplemented with a carbohydrate drink containing a concentration of 6% and an intake of 1000 ml per hour of training. We observed no significant decrease in cell count of the following: leukocytes (19,65%), neutrophils (18,03%), total lymphocytes (16,64%); $CD4^+$ T lymphocytes (15,10%), $CD8^+$ T lymphocytes (17,57%). The number of monocytes, has significantly decreased from (53,69%)($p \leq 5\%$). With respect to the concentration of serum cortisol, we observed significant decrease (27,89%)($p \leq 5\%$). During the eight weeks of training the athletes had a total of 60 occurrences of symptoms of URTI. The results of this study proves that the white blood cell count 24 hours after the last training session is standard and within the values considered normal, except for counting monocytes that had significantly decreased. The decrease in the counting of monocytes may be related to the increase in the volume of training, causing an increase in the number of small lesion muscle and subsequent migration of these cells to the region of tissue damage. The decrease in the count of monocytes may be responsible for the increase in occurrence of symptoms of URTI in the last weeks of training. Although the count of leukocytes were within the values considered normal, there was a tendency to decrease, which should be taken into account, since the athletes are at the beginning of training and will be subjected to further periods of training with volumes and even greater intensity. The concentration of cortisol showed a significant decrease, which may be related to a decrease in sensitivity of the gland above the renal action of Adrecorticotropic hormone (ACTH). We conclude that 24 hours after the last training session to count cyclists marathoners leukocytes of athletes is not changed, except for monocytes and the concentration of cortisol is significantly reduced.

Key words: Immunity System, Leukocytes, Cortisol, Performance, Infections

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH - Hormônio adrenocorticotrópico
APCs - Células apresentadoras de antígeno
ATP - Adenosina trifosfato
bpm - Batimentos por minuto
CD - Clustter of differentiation
CHO - Carboidrato
CRH - Hormônio liberador de corticotropina
DNA - Ácido desoxirribonucléico
DC - Densidade corporal
EPI - Equipamento de proteção individual
FAD - Flavina adenina dinucleotídeo
Fas - Receptor de membrana
Fas-L – Proteína de superfície
FSC - Sensível à dispersão frontal da luz
FC - Frequência cardíaca
FCM - Frequência cardíaca máxima
FCR – Frequência cardíaca de reserva
GH – Hormônio do crescimento
GLUT 4 - Transportador de glicose 4
HPA - Hipotalâmo-pituitário-adrenal
ICAM-1 - Molécula de adesão intercelular 1
IgA - Imunoglobulina A
IgE - Imunoglobulina E
IgG - Imunoglobulina G
IL1 – Interleucina 1
IL2 - Interleucina 2
IL4 - Interleucina 4
IL6 - Interleucina 6
IL8 - Interleucina 8
INF- γ - Interferon Gama
ITRS - Infecções do trato respiratório superior
IMC - Índice de massa corporal

Kg - Quilograma

Km - Quilômetro

LFA 1 – Antígeno 1 associado à função leucocitária

LV - Limiar ventilatório

m – Metro

MAC 1 - Complexo e ataque à membrana 1

MET - Equivalente metabólico

MHC - Complexo maior de histocompatibilidade

ml - Mililitros

NAD - Nicotinamida adenina dinucleotídeo

NK - Natural killer

POP - Procedimento operacional padrão

ROS - Espécies reativas de oxigênio

rpm - Rotação por minuto

SSC - Sensível à dispersão lateral da luz

SNC - Sistema nervoso central

TNF- α - fator de necrose tumoral α

TCLE - Termo de consentimento livre e esclarecido

TCR - Receptores de célula T

μm - Micrômetro

VO_{2max} - Volume máximo de oxigênio

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Vias metabólicas dos macronutrientes durante o metabolismo energético.....	21
--	----

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1. Volume de treinamento (Km) percorrido pelos atletas em cada uma das oito semanas de treinamento.....	42
GRÁFICO 2. Volume de treinamento (minutos) realizado pelos atletas em cada uma das oito semanas de treinamento.....	43
GRÁFICO 3. Intensidade de treinamento (% FCM) realizado pelos atletas em cada uma das oito semanas de treinamento.....	43
GRÁFICO 4. Intensidade de treinamento (bpm) realizado pelos atletas em cada uma das oito semanas de treinamento.....	44
GRÁFICO 5. % de células vermelhas (hematócrito) realizada em analisador hematológico automatizado Pentra 60 pré e pós oito semanas de treinamento.....	45
GRÁFICO 6. Leucograma diferencial realizado em analisador hematológico automatizado Pentra 60. Contagem de leucócitos totais pré e pós oito semanas de treinamento.....	46
GRÁFICO 7. Leucograma diferencial realizado em analisador hematológico automatizado Pentra 60. Contagem de neutrófilos pré e pós oito semanas de treinamento.....	46
GRÁFICO 8. Leucograma diferencial realizado em analisador hematológico automatizado Pentra 60. Contagem de monócitos pré e pós oito semanas de treinamento.....	47
GRÁFICO 9. Leucograma diferencial realizado em analisador hematológico automatizado Pentra 60. Contagem de linfócitos totais pré e pós oito semanas de treinamento.....	47
GRÁFICO 10. Contagem de Linfócitos T CD4 ⁺ realizada em citômetro de fluxo Beckman Coulter FC 500 pré e pós oito semanas de treinamento.....	48
GRÁFICO 11. Contagem de Linfócitos T CD8 ⁺ realizada em citômetro de fluxo Beckman Coulter FC 500 pré e pós oito semanas de treinamento.....	49
GRÁFICO 12. Razão Linfócitos T CD4 ⁺ /CD8 ⁺ pré e pós oito semanas de treinamento.....	49

GRÁFICO 13. Concentração sérica de cortisol realizada em analisador de imunoensaios Immulite 2000 pré e pós oito semanas de treinamento.....	50
GRÁFICO 14. Correlação entre o número de ocorrências de sintomas de ITRS e a concentração sérica de cortisol durante o período de treinamento.....	53
GRÁFICO 15. Correlação entre o volume do treinamento e o número de ocorrências de sintomas de ITRS durante as oito semanas de treinamento.....	53
GRÁFICO 16. Correlação entre a intensidade do treinamento e o número de ocorrências de sintomas de ITRS durante as oito semanas de treinamento.....	54

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Características dos atletas participantes do estudo.....	36
TABELA 2. Resultados gerais das alterações na contagem de leucócitos e da concentração sérica de cortisol pré e pós-treinamento.....	51
TABELA 3. Número de ocorrências de sintomas de ITRS durante as oito semanas de treinamento.....	52

SUMÁRIO

1	Introdução.....	17
1.1	Treinamento Físico.....	18
1.2	Ciclismo.....	20
1.3	Metabolismo Energético.....	20
1.4	Cortisol.....	23
1.5	Componentes do Sangue.....	25
1.6	Órgãos Linfóides.....	25
1.7	Sistema Imunológico.....	26
1.7.1	Inflamação.....	27
1.7.2	Imunidade Inata.....	27
1.7.3	Imunidade Adquirida.....	28
1.8	Sistema Imunológico e Treinamento.....	30
2	Objetivos.....	34
2.1	Objetivo Geral.....	34
2.2	Objetivos Específicos.....	34
3	Justificativa e Relevância.....	35
4	Material e Métodos.....	36
4.1	Sujeitos	36
4.2	Recrutamento e Seleção dos Atletas.....	36
4.3	Comitê de Ética.....	36
4.4	Avaliação dos Atletas.....	37
4.5	Procedimentos para Coleta de Sangue.....	38
4.6	Preparo e Análise do Sangue.....	38
4.6.1	Hematócrito e Leucograma diferencial	39
4.6.2	Linfócitos T CD 4 ⁺ e CD 8 ⁺	39
4.6.3	Cortisol.....	40
4.7	Protocolo de Treinamento.....	40
4.8	Suplementação com Carboidrato.....	41
4.9	Tratamento Estatístico.....	41
5	Resultados.....	42
5.1	Volume e Intensidade dos Treinamentos.....	42
5.2	Hematócrito.....	44

5.3 Contagem de leucócitos.....	45
5.4 Contagem de linfócitos T CD4 ⁺ e CD8 ⁺	48
5.5 Concentração sérica de cortisol.....	50
5.5 Número de ocorrências de sintomas ITRS durante o período de treinamento e correlação dos sintomas de ITRS com os níveis séricos de cortisol, volume e intensidade do treinamento.....	52
6 Discussão.....	55
7 Conclusão.....	67
Referências.....	68
Anexo 1 (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido).....	80
Anexo 2 (Valores de Referência para leucócitos).....	83
Anexo 3 (Tabela para acompanhamento dos sintomas de infecções do trato respiratório superior).....	84

1 INTRODUÇÃO

O treinamento físico executado para o treinamento de atletas, provoca alterações significativas nos sistemas e nas funções orgânicas dos mesmos. Essas alterações podem ser chamadas de ajustes (respostas agudas) e/ou adaptações (respostas crônicas). Entende-se por respostas agudas aquelas que são encontradas durante e após a realização de exercícios (exercício agudo) e por respostas crônicas aquelas que são encontradas após um período de treinamento (exercício crônico). As respostas agudas (ajustes) encontradas durante e após a realização do exercício físico desaparecem horas após a realização do mesmo, já as respostas crônicas (adaptações) são melhoradas de acordo com a evolução no processo de treinamento e somente são perdidas se o atleta e/ou o indivíduo deixar de se exercitar regularmente.

A performance esportiva é consequência não só de treinamentos, mas de uma combinação de vários fatores, dentre eles podemos citar: genéticos; ambientais; nutricionais; entre outros. No entanto, sugere-se atualmente que o fator limitante do desempenho atlético é a genética.

A ciência biológica busca estudar os efeitos positivos e/ou negativos do processo de treinamento. O entendimento destes efeitos possibilita ao treinador uma melhor compreensão de como os atletas podem chegar à ótima performance e ao mesmo tempo minimizar os efeitos negativos do treinamento ao organismo. Neste contexto, o respaldo científico para a prática esportiva apresenta-se essencial para uma adequada prescrição das cargas de treinamento dirigidas a atletas. Desta forma, o objetivo é proporcionar a maximização dos resultados sem que os atletas se deparem com grandes prejuízos ao seu organismo, dentre estes, a diminuição da resposta imunológica, que poderia limitar a capacidade do atleta de treinar ou competir.

O treinamento físico diário pode alterar a funcionalidade do sistema imunológico (NIEMAN, 1994). Essa modulação na resposta imunológica é dependente dos fatores: intensidade, volume; frequência; tipo do exercício físico e nível de aptidão física de cada atleta.

O conhecimento das respostas fisiológicas que podem influenciar na performance dos atletas é importante, pois uma pequena alteração em apenas um dos vários fatores que influenciam na performance pode tirar as chances de um atleta de se sagrar campeão.

A diminuição da resposta imune é caracterizada por uma menor capacidade defensiva do organismo aumentando a suscetibilidade a infecções, principalmente infecções do trato respiratório superior (ITRS).

Alterações na resposta imunológica são descritas na literatura como sendo decorrentes de fatores como: ação de hormônios do estresse; interação neuro-endócrina; fatores nutricionais; apoptose celular; mitogênese celular e capacidade fagocitária.

O aumento do risco de se contrair ITRS parece estar elevado após eventos esportivos de longa duração como, por exemplo uma maratona, quando a capacidade de defesa contra agentes invasores está reduzida, caracterizando o período chamado de “*open window*” (janela aberta), presumindo-se uma aumentada suscetibilidade para infecções (NIEMAN; PEDERSEN, 1999; NIEMAN et al., 1990), podendo assim considerar o exercício físico como agente imunossupressor (PEDERSEN; HOFFMAN-GOETZ, 2000).

1.1 Treinamento Físico

No esporte de alto nível, o desenvolvimento de um programa de treinamento tem como principal objetivo à melhoria da performance atlética (SILVA; SANTHIAGO; GOBATO, 2006). O treinamento físico é caracterizado por um processo complexo, com exercícios progressivos e repetitivos com objetivo de melhorar o potencial e a performance física do atleta, resultando em excelência no desempenho físico (BOHME, 2003; BOMPA, 2002; SMITH, 2003; WEINECK, 1999).

Os efeitos positivos do treinamento físico estão relacionados ao fato de o mesmo promover adaptações em todos os sistemas do corpo (COSTA ROSA, 2004). Essas adaptações ocorrem devido à adesão a programas planejados, com atenção direcionada no volume e na intensidade das sessões de treino (MCARDLE; KATH; KATH, 2008).

O treinamento é dividido em unidades básicas como: sessões de treinamento; dias de treinamento; microciclos (unidade de dias de treinamento); mesociclos (unidade de microciclos); macrociclo (unidade de mesociclos) (SMITH, 2003). O treinamento é ainda dividido em períodos que compreendem as unidades básicas como: preparação básica (introdutória); pré-competitiva, competitiva e regenerativa (transição). Cada uma das unidades básicas é estruturada pensando-se na carga de treinamento (medida quantitativa do treinamento desenvolvido em cada dia de treino) (GOMES, 2002).

O treinamento é um processo sistêmico e de longo prazo, desta forma, o controle do mesmo deve-se fundamentar em informações objetivas como: o estado atual dos atletas.

Alguns marcadores fisiológicos podem ajudar na monitoração da carga de treinamento e, dentre eles podemos citar: velocidade do limiar anaeróbio (MCMILLAN et al., 2005) e alterações na subpopulação de leucócitos (MALM; EKBLÖM; EKBLÖM, 2004).

A intensidade do treinamento pode ser controlada de várias maneiras, dentre elas podemos citar o monitoramento da frequência cardíaca (FC) em batimentos por minuto (bpm). A FC é um dos indicadores mais utilizados para monitorar a intensidade do esforço (GILMAN, 1996), tanto pela sua praticidade na aferição feita por monitores cardíacos, como pela sua estreita relação com o consumo máximo de oxigênio (VO_{2max}) (HERMAN et al., 2003; LAURSEN et al., 2005).

De acordo com Mcardle; Katch; Katch, (2008), os exercícios podem ser classificados de acordo com a intensidade relativa do consumo máximo de oxigênio (% do VO_{2max}), em: leve ($\leq 35\%$ do VO_{2max}); razoavelmente leve ($\leq 50\%$ do VO_{2max}); moderado ($\leq 70\%$ do VO_{2max}); intenso ($\geq 70\%$ do VO_{2max}); máximo (100% do VO_{2max}).

A organização do treinamento é fundamental em qualquer modalidade, bem como nos diferentes momentos da vida do atleta, desde a formação até o alto desempenho (FRY, MORTON; KEAST, 1992). A estimulação das adaptações estruturais e funcionais para aprimorar o desempenho de atletas deve seguir sistematicamente os princípios do treinamento.

Atualmente atletas têm se submetido a altos volumes de treinamento com períodos insuficientes de recuperação, o que poderia levar esse atleta à fadiga e/ou *overtraining*. A fadiga pode ser caracterizada como o declínio do desempenho durante o exercício físico, sendo considerada como um processo multifatorial que reduz o desempenho esportivo (HARGREAVES, 2005). *Overtraining* pode ser definido como sendo uma condição na qual o atleta apesar de continuar treinando apresenta diminuição na performance física e/ou esportiva (MAUGHAN; GLEESON; GRENHAFF, 2000).

Os resultados alcançados após um período de treinamento físico sofrem influências de fatores genéticos (SMITH, 2003), ambientais e psicológicos (SAMULSKI, 2002) e especificidade do programa de treinamento. O conhecimento da ciência do esporte, ligado a fisiologia humana e do exercício é buscar informações científicas para possibilitar ao atleta a melhor performance possível sem grandes prejuízos a sua integridade física. O objetivo é atingir o mais alto nível de performance sem que o atleta se depare com prejuízos ao seu organismo, dentre estes a diminuição da resposta imunológica (QUADRILATERO; HOFFMAN-GOETZ, 2005).

1.2 Ciclismo

O Ciclismo é um esporte de corrida de bicicleta regulamentado por diversas regras e enquadrando-se geralmente em quatro categorias: provas de estradas, provas de pistas, provas de montanha (*Mountain Bike*) e BMX (*bicycle motocross*). A modalidade desportiva *mountain bike* (bicicleta de montanha) nasceu na Califórnia no ano 1950. As bicicletas para *mountain bike* diferem em alguns aspectos das bicicletas de estrada. Os pneus são mais largos para absorverem os impactos de forma mais eficiente e possibilitar mais aderência em terrenos acidentados, possuem amortecedores na frente, atrás ou em ambos, o guidão é mais alto permitindo uma posição menos inclinada e mais confortável, os aros são de 26" os quais costumam ser de parede dupla, reforçados de modo a evitar deformação, as relações de marchas são maiores e mais leves. Hoje em dia a quantidade de marchas varia de 21 até 30 marchas. Existem várias modalidades esportivas que podem ser incluídas na categoria *Mountain Bike* e, dentre elas pode-se citar: *Cross-country* (modalidade disputada em circuito fechado em que os competidores devem completar um certo número de voltas para terminar a prova); Maratona (modalidade em que o percurso é longo e leva o competidor de um ponto a outro que não pode ser o mesmo do início da prova). Um exemplo nacional de prova de maratona é o *Big Biker; Downhill* (modalidade na qual o ciclista passa por um percurso em descida e terreno bastante irregular (WIKIPÉDIA, 2009).

1.3 Metabolismo Energético

O exercício físico demanda intenso consumo de adenosina trifosfato (ATP). Nos músculos esqueléticos, existem sistemas eficientes que permitem a constante ressíntese do ATP. Estes sistemas são: fosfagênio (ATP, Creatina Fosfato); glicolítico (carboidratos e subprodutos do metabolismo dos carboidratos) e oxidativo (carboidratos, lipídios e proteínas) (POWERS et al., 2006).

O ATP é a fonte imediata de energia utilizada nos processos de contração muscular e devido a seus limitados estoques, sua ressíntese contínua é essencial para manutenção da contração muscular durante o exercício físico (HARGREAVES, 2005).

A contribuição do glicogênio para produção de energia durante exercícios de moderada a alta intensidade é importante, pois ele pode ser degradado tanto anaerobiamente quanto aerobiamente (WILLIAMS, 2004).

O carboidrato (CHO) na forma de glicose plasmática ou forma de glicogênio (muscular e/ou hepático) é considerado como nutriente chave no metabolismo energético, já que a queda em seus níveis (estoques) pode limitar o fornecimento energético a partir de lipídios (MCARDLE; KATH; KATH, 2008). O metabolismo de lipídios acontece dentro da matriz mitocondrial no ciclo de Krebs. O ciclo de Krebs funciona com uma sequência de reações processadas enzimaticamente produzindo ATP dentro da cadeia transportadora de elétrons (cadeia respiratória) com a oxidação das coenzimas Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo (NAD) e Flavina Adenina Dinucleotídeo (FAD) (MAUGHAN; GLEESON; GRENHAF, 2000). No final de um ciclo completo o oxaloacetato (intermediário do ciclo) é regenerado. O acetil – CoA formado durante o processo de β -oxidação no Ciclo de Lynen precisa do oxaloacetato para formar citrato e entrar no ciclo. As proteínas para entrarem no metabolismo energético e formar o ATP, precisam ser inicialmente degradadas em aminoácidos e depois passar por um processo denominado desaminação (retirada do grupo amino). Após a desaminação, os esqueletos de carbono poderão entrar em pontos distintos no ciclo de Krebs para formar o ATP. O grupo amino removido será transportado ao fígado principalmente pela glutamina e alanina e posteriormente eliminado na forma de uréia (MARZZOCO; TORRES, 2007). A figura 1 apresenta de forma resumida a integração das distintas vias metabólicas dos macronutrientes durante o metabolismo energético.

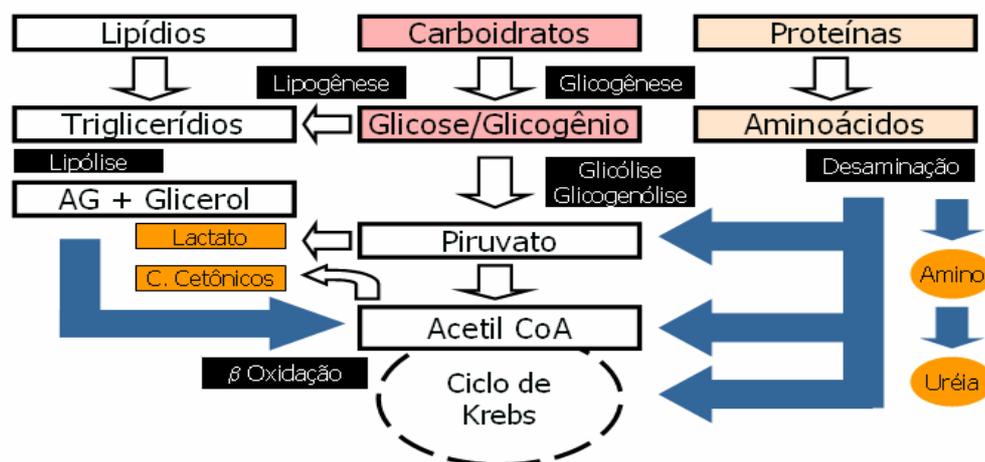


FIGURA 1. Vias Metabólicas dos macronutrientes durante o metabolismo energético. Lipogênese: Síntese de lipídios a partir de carboidratos e/ou aminoácidos. Glicogênese: Síntese de glicogênio a partir de carboidratos. Lipólise: quebra dos triglicerídios a ácidos graxos e glicerol. Glicólise: quebra da glicose. Glicogenólise: quebra das moléculas de glicogênio. Desaminação: remoção do grupo amino da cadeia do aminoácido. β -oxidação: remoção sequencial de pares de carbono da cadeia do ácido graxo na forma de acetil CoA.

Os atletas maratonistas utilizam como via metabólica predominante durante treinos e competições a aeróbia. O treinamento leva a adaptações bioquímicas e fisiológicas que podem otimizar o uso dos lipídios durante períodos de treinamentos e competições e dentre estas temos: o aumento no número e tamanho das mitocôndrias; aumento na concentração de enzimas aeróbias; aumento no número de capilares e aumento dos estoques intramusculares de triglicerídios e glicogênio. O triglicerídio é o macronutriente que mais fornece energia de forma absoluta durante o exercício com predominância metabólica aeróbia, no entanto, os estoques de glicogênio muscular e hepático podem limitar a velocidade do metabolismo energético dos triglicerídios, pois a formação de oxaloacetato acontece exclusivamente a partir do metabolismo glicolítico. Durante a contração muscular o consumo de glicose aumenta em relação ao repouso, isso parece acontecer devido a translocação do GLUT – 4 (transportador de glicose) para a membrana do protoplasma (PEREIRA; LANCHETA JR, 2004), desta forma a suplementação com CHO pode retardar a instalação da fadiga (HARGREAVES, 2005; NYBO; SECHER, 2004), através do fornecimento exógeno de glicose aos tecidos ativos (GUERRA, 2002; HARGREAVES, 2000; HARGREAVES, 2000; JEUKENDRUP et al., 1999).

Segundo Duvillard et al. (2004), nas atividades com duração superior a 60 minutos, os atletas devem ingerir de 600 a 1200 mililitros (ml) de bebida contendo CHO para manutenção do desempenho atlético.

A suplementação com CHO pode manter a função do sistema imunológico durante e após exercícios físicos através do fornecimento de glicose para os leucócitos e conservação da glutamina, um importante substrato para células imunes (BRAUN; VON DUVILLARD, 2004) e ainda, pela atenuação do cortisol (LANCASTER et al., 2005). Desta forma, pode-se dizer que a suplementação com CHO antes, durante e depois de um exercício prolongado diminui o estresse fisiológico (NIEMAN; PEDERSEN, 1999).

A suplementação com CHO durante e após as sessões de exercícios físicos e a sua relação com a distribuição e função das células do sistema imunológico vem sendo estudada (NIEMAN et al., 2004; BRAUN; VON DUVILLARD, 2004).

GREEN; CROAKER; ROWBOTTOM, (2003) avaliaram os efeitos da suplementação com CHO (6% de concentração) em ciclistas treinados do gênero masculinos com o protocolo de exercício de 150 minutos de ciclismo a 85% do limiar ventilatório (LV) hipotetizando que a suplementação com CHO poderia induzir menor diminuição na proliferação linfocitária. Os resultados mostraram uma diminuição significativa na liberação de cortisol para o grupo suplementado com CHO em relação ao placebo imediatamente após o

exercício e com 60 minutos de recuperação. Quando analisadas alterações celulares de linfócitos, foi observado aumento na apoptose dos linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ para o grupo placebo em relação ao CHO, durante e imediatamente após o exercício, com os valores se equiparando após 1 hora de recuperação. A resposta mitogênica das células CD4⁺ e CD8⁺ *in vitro*, não diferiu entre os grupos, indicando que a diminuição no número de linfócitos durante e imediatamente após o exercício está mais fortemente relacionado ao instalado quadro de apoptose celular do que em relação à diminuição da capacidade mitogênica dessas células. Tais resultados corroboram com os encontrados por MITCHELL et al. (1998), no qual indivíduos moderadamente treinados realizaram 60 minutos de ciclismo *indoor* a 70% do VO_{2max} sob duas condições de estudo: dieta rica em CHO (8g/kg) e dieta pobre em CHO (0,5g/kg). O cortisol apresentou a mesma cinética, com valores mais elevados para o grupo com dieta pobre em CHO.

Um estudo realizado por Bacurau et al. (2002) com 12 atletas ciclistas fundistas que realizaram seis sessões de exercícios (20 minutos de ciclismo a 90% da velocidade do limiar anaeróbio seguido de 20 minutos de descanso), em duas etapas (suplementação com CHO e placebo) distintas em uma semana, demonstraram: diminuição na concentração glicêmica no grupo controle a partir da terceira sessão de exercícios, sendo esta diminuição evitada no grupo suplementado com CHO; redução na contagem de leucócitos; redução na produção de citocinas em cultura a partir de linfócitos isolados [Interleucina 1 (IL - 1) (37%), interleucina 2 (IL - 2) (35%), interleucina 4 (IL - 4) (35,5%), fator de necrose tumoral alfa (TNF - α) (26%), interferon gama (INF - γ) (16%)] para o grupo controle; diminuição na concentração de glutamina e aumento na concentração de cortisol no grupo controle. Os autores concluíram que a suplementação com CHO previne alterações na resposta imune de atletas ciclistas submetido ao exercício intenso e prolongado.

1.4 Cortisol

A liberação de cortisol e consequentemente seus níveis circulantes sofrem variações durante o dia (ritmo circadiano), com os níveis mais altos sendo observados pela manhã e os níveis mais baixos à noite várias horas após o início do sono. Informações sobre o ciclo claro/escuro são transmitidos da retina para os núcleos supraquiasmáticos no hipotálamo, que controla a liberação do hormônio liberador de corticotropina (CRH). O CRH age sobre a hipófise anterior estimulando a liberação do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH), que por sua vez estimula o córtex da glândula supra-renal a liberar glicocorticóides. O cortisol é o

principal glicocorticóide do córtex supra-renal, afeta o metabolismo da glicose, das proteínas e dos triglicerídios (MCARDLE; KATCH; KATCH, 2008).

Mudanças no padrão de secreção de cortisol foram observadas associadas a depressão, estresse fisiológico e psicológico, febre, trauma, medo, dor, entre outros. A liberação de cortisol tem diversas ações que buscam restaurar a homeostase do organismo em situações de estresse (GUYTON; HALL, 2006).

Ao iniciar um exercício físico uma série de ajustes fisiológicos se inicia para atender as novas demandas metabólicas impostas pelo exercício. O influxo neural aumentado para o hipotálamo durante o exercício acarreta liberação do CRH, ACTH e conseqüentemente aumento na liberação de cortisol.

O cortisol afeta várias funções e sistemas corporais, dentre eles o sistema imunológico (SAPOLSKY; ROMERO; MUNCK, 2000), devido à presença de receptores para tais hormônios nos leucócitos (GAILLARD, 1994), desta forma, estabelece-se um processo multidirecional de interações neuro-endócrino-imune, sob influência do eixo hipotálamo-pituitário-adrenal (HPA) (OTTAVIANI; FRANCESCHI, 1996).

Os glicocorticóides são liberados em situações de estresse e suprimem várias reações inflamatórias e imunitárias. As atividades antiinflamatórias e imunossupressoras dos glicocorticóides podem ser devido às ações sobre o trânsito celular e sobre a funcionalidade dos leucócitos (STITES, 2000).

Um trabalho realizado por Hackney; Viru (1999), com objetivo de avaliar as alterações na concentração de cortisol de corredores ou ciclistas que realizaram exercícios com intensidades variadas, indica que o exercício tanto anaeróbio como aeróbio causam aumentos na concentração circulante de cortisol se comparado com valores basais.

Segundo Stites; Terr; Parslow (2000), os camundongos e os ratos estão sujeitos a extensa destruição linfóide em decorrência dos efeitos imunossupressivos dos glicocorticóides. Koyama et al. (1998) apresentam as concentrações circulantes de glutamina como fator primário para a resposta mitogênica linfocitária, e os glicocorticóides como agentes secundários.

Duclos; Gouarne; Bonnemaïson (2003), demonstraram aumentos significativos na concentração de cortisol após 120 minutos de corrida com intensidade entre 65 e 75% VO_{2max} realizada por homens treinados em endurance se comparada aos valores basais de homens sedentários.

O Sistema Nervoso Central (SNC) e as respostas neuroendócrinas ao estresse mediadas pelo CRH agem sobre o eixo HPA resultando em aumentos nos níveis de glicocorticóides (BLACK, 1994).

Depleções e/ou diminuições no conteúdo de glicogênio muscular resultam em aumentos nas concentrações circulantes de cortisol. O região hipotalâmica possui receptores para citocina Interleucina-6 (IL-6) (ROGERO; MENDES; TIRAPÉGUI, 2005). Segundo Pedersen et al. (2003), a IL-6 pode ser considerada como um “fator do exercício”, sendo liberada pelo músculo em resposta ao exercício. A IL-6 é uma molécula de sinalização intercelular associada com o controle e coordenação de respostas imunes, sendo primeiramente secretada pelos macrófagos e linfócitos em resposta a lesão ou infecção (PEDERSEN; TOFT, 2000). Similarmente ao seu papel no sistema imune, a liberação de IL-6 induzida pelo exercício regula a liberação de glicocorticóides via estimulação do eixo HPA (PEDERSEN; WOODS; NIEMAN, 2001). O aumento da IL-6 frente ao exercício parece estar ligado à depleção de glicogênio muscular, desta forma, a liberação de cortisol (via ação da IL-6 sobre o hipotálamo) durante o exercício pode ser suprimida pela suplementação com CHO, sendo uma importante estratégia utilizada para minimizar o estresse imposto pelo exercício.

Além da IL-6, outras citocinas também exercem seus efeitos na estimulação da liberação de cortisol e entre elas podemos citar: TNF- α e IL-1. Segundo Ingloot et al. (1999), existe uma correlação entre o metabolismo dos CHO e a produção de TNF- α .

1.5 Componentes do Sangue

O sangue é um fluido denso e viscoso sendo composto por duas porções: o plasma (parte líquida); elementos figurados (células e fragmentos celulares). Normalmente 99% dos elementos figurados são glóbulos vermelhos (hemácias) e as células descoloradas são os glóbulos brancos (leucócitos) e as plaquetas. Os leucócitos constituem as células do sistema imunológico e podem ser divididas em: granulares (neutrófilos, eosinófilos e basófilos); agranulares (Linfócitos T e B, células *Natural Killer* (NK) e monócitos - macrófagos) (ABBAS; LICHTMAN, 2007; GUYTON; HALL, 2006).

1.6 Órgãos Linfóides

Os linfócitos e as células acessórias se concentram em tecidos (órgãos linfóides) para os quais os antígenos (molécula capaz de iniciar uma resposta imune) estranhos são

transportados. Os tecidos linfóides são classificados em primários, onde os linfócitos expressam os receptores de antígenos e atingem a maturidade fenotípica e funcional, e em secundários, onde a resposta dos linfócitos aos antígenos estranhos são iniciadas e desenvolvidas. Entre os órgãos linfóides primários temos a medula óssea e o timo e entre os órgãos secundários temos os linfonodos, o baço, placas de Peyer, o sistema imunológico cutâneo e o sistema associado às mucosas (ABBAS; LICHTMAN, 2007).

Na medula óssea são gerados todos os linfócitos, sendo o local onde os linfócitos B se desenvolvem. O timo é o órgão responsável pela maturação dos linfócitos T. O baço é o principal local das respostas imunológicas contra antígenos provenientes do sangue, sendo ainda o principal local de fagocitose de microorganismos recobertos por anticorpos (opsonização). Na submucosa ileal do intestino delgado, verifica-se a presença de tecido linfóide (placas de Peyer) que servem para detectar substâncias que se difundiram através do epitélio intestinal, são compostas principalmente por células B e uma menor concentração de células T. A pele contém um sistema especializado constituído de linfócitos e células apresentadoras de antígeno (APCs), sendo o maior órgão do corpo e uma importante barreira entre o organismo e o meio ambiente externo. As superfícies mucosas dos tratos respiratórios são locais de colônias de linfócitos e APCs que iniciam respostas imunológicas contra antígenos ingeridos ou inalados (ABBAS; LICHTMAN, 2007; TORTORA; GRABOWSKI, 2006; ABBAS; LICHTMAN, 2005).

1.7 Sistema Imunológico

O termo imunidade significa proteção contra doenças, em particular contra doenças infecciosas, sendo que as células e moléculas responsáveis pela imunidade formam o sistema imunológico, e sua resposta é chamada de resposta imunológica (ABBAS; LICHTMAN, 2007).

O corpo possui vários recursos para proteger-se de microorganismos e outros agentes potencialmente lesivos aos tecidos. A primeira linha de defesa é fornecida pelas barreiras físicas, no entanto, assim que um patógeno (microorganismo com potencial de causar lesão tecidual ou doença) consegue penetrar no organismo rompendo as barreiras físicas, ele se depara com uma forma de defesa que já está presente antes mesmo do contato inicial com o patógeno. Essa defesa é conhecida como imunidade inata ou natural. A imunidade inata consiste em mecanismos de defesa celulares e bioquímicos que estão programados para responderem rapidamente a infecções. Em adição com a imunidade inata, existem outras

respostas imunológicas que são estimuladas pelo contato com agentes infecciosos. Essa forma de imunidade se desenvolve em resposta a infecções sendo desta forma chamada de imunidade adquirida ou adaptativa (ABBAS; LICHTMAN, 2007; ABBAS; LICHTMAN, 2005).

1.7.1 Inflamação

A reação do sistema imunológico que envolve a ativação dos leucócitos para o local da infecção, exposição a toxinas e dano celular é chamada de inflamação. Existem diversas vias inflamatórias, e cada uma delas segue uma sequência de eventos controlados por mediadores da inflamação (histamina, prostaglandinas, leucotrienos, citocinas, heparina, etc.) (PARSLOW et al., 2004). Embora a inflamação tenha a função protetora no controle de infecções e reparo celular, ela pode causar danos teciduais e levar a doenças (ABBAS; LICHTMAN, 2007; TORTORA; GRABOWSKI, 2006).

As células que participam de uma reação inflamatória são denominadas células inflamatórias. Os neutrófilos, macrófagos e linfócitos constituem as principais células efetoras das reações inflamatórias.

1.7.2 Imunidade Inata

A imunidade inata refere-se a qualquer resistência já presente na ocasião em que o patógeno se apresenta pela primeira vez; não exige nenhum contato prévio e não se modifica com contatos posteriores com o mesmo patógeno (ABBAS; LICHTMAN, 2007; PARSLOW et al., 2004). A imunidade inata é constituída de monócitos - macrófagos, neutrófilos, células NK, proteínas do sangue e citocinas. Os macrófagos formam um elo com a imunidade adquirida, pois processam e apresentam antígenos (ORTEGA, 2003).

Os neutrófilos constituem cerca de 60% dos leucócitos circulantes (STITES, 2000) e são ativados através da ligação com a imunoglobulina G (IgG) (ABBAS; LICHTMAN, 2005). A ativação dos neutrófilos desencadeia uma cascata de eventos intracelular com posterior liberação de enzimas e espécies reativas de oxigênio (ROS), responsáveis pela destruição do agente invasor ou digestão do tecido danificado. Os neutrófilos possuem um alto poder de fagocitose, no entanto, têm uma meia vida bastante curta (12 horas). Durante os processos inflamatórios contra determinadas bactérias e outros agentes infecciosos, os neutrófilos são as primeiras células a chegarem no foco da inflamação, seguidos pelos

macrófagos (PITHON-CURI et al., 1997). Quando ocorre uma lesão tecidual e subsequente exposição a mediadores da inflamação, as células endoteliais expressam altos níveis de moléculas de adesão de superfície. A migração dos neutrófilos e dos monócitos dos vasos para o local da infecção inicia-se com a interação das selectinas (proteínas de adesão) presentes na superfície de células endoteliais que reconhecem resíduos de oligossacarídeos (açúcares) presentes nos leucócitos. Essa interação permite o rolamento do leucócito ao longo do vaso (ABBAS; LICHTMAN, 2005). A Interleucina 8 (IL-8) expressa no endotélio vascular ativa as moléculas de integrina [Complexo 1 de ataque à membrana (MAC 1) ou antígeno 1 associado à função leucocitária (LFA 1)] da superfície dos leucócitos, que alteram sua conformação, ganhando mais afinidade pela molécula de adesão celular 1 (ICAM-1). A interação da ICAM-1 com as integrinas faz com que estas células atravessem por diapedese a parede do vaso e migrem para o local da infecção. A seguir, as células percorrem pelos tecidos por meio de um gradiente de quimiocinas (citocinas secretadas em resposta à lesão tecidual) até atingir o local lesado onde fagocitam o patógeno (ABBAS; LICHTMAN, 2007).

Uma vez fagocitados, os patógenos são inicialmente contidos dentro de vacúolos delimitados por membrana (fagossomas), sendo posteriormente mortos pela liberação de grânulos (desgranulação) contendo enzimas proteolíticas e outras substâncias com capacidade de degradar ou dissolver materiais fagocitados (ROWBOTTON; GREEN, 2000).

1.7.3 Imunidade Adquirida

A imunidade adquirida refere-se à resistência que está ausente na primeira exposição ao patógeno, mas aumenta acentuadamente com exposições subsequentes ao mesmo patógeno (PARSLOW et al., 2004).

A imunidade adquirida apresenta a capacidade de desenvolver respostas específicas para diferentes patógenos, através da formação de células especializadas capazes de responder de maneira específica aos antígenos através de mecanismos altamente evoluídos (memória imunológica). Este mecanismo de memória aumenta a capacidade defensiva a cada exposição subsequente frente a um mesmo patógeno, proporcionando respostas mais específicas e eficientes. As células que constituem a imunidade adquirida são: linfócitos T (Citotóxicos e *Helper*) e B (ABBAS; LICHTMAN, 2005; GUYTON, HALL, 2006).

As células T expressam diferentes proteínas de membrana, sendo classificadas a partir de procedimentos experimentais, onde se observa a formação de grupos celulares que apresentam a mesma origem e, portanto, as mesmas características morfofuncionais. Desta

forma, as células T são classificadas pela sigla CD (*Cluster of Differentiation*) ou grupo de diferenciação. Esta sigla é acrescida de um número que corresponde ao tipo de proteína. Os linfócitos T são divididos em duas classes: T *helper* e T citotóxicos. Os linfócitos *helper* expressam a proteína CD4⁺ em sua membrana. Esses linfócitos estimulam a diferenciação das células B e ainda ativam macrófagos através das citocinas secretadas. Os linfócitos T citotóxicos expressam a proteína CD8⁺ em sua membrana. Essa classe de linfócitos participa da lise de células infectadas por vírus ou células tumorais (ABBAS; LICHTMAN, 2007; STITES et al., 2000).

Para que se inicie uma resposta imunológica adquirida é necessário um reconhecimento antigênico pelos receptores de célula T (TCR). Esse reconhecimento é diferente para os linfócitos B e T. Os receptores de linfócitos B, ou seja, anticorpos de membrana podem reconhecer uma grande variedade de antígenos (proteínas, polissacarídeos, lipídios, ácidos nucleicos), assim como pequenas substâncias químicas associadas à superfície celular. De forma diferente, a maioria dos linfócitos T só podem identificar fragmentos peptídicos de antígenos protéicos e mesmo assim apenas quando estes são apresentados pelas APCs. A maioria dos linfócitos T reconhecem antígenos peptídicos apresentados por moléculas do complexo maior de histocompatibilidade (MHC) das células apresentadoras de antígeno. O MHC é dividido em duas classes principais, MHC de classe I e II. O MHC de classe I apresenta antígenos aos linfócitos T citotóxicos. A estrutura MHC de classe I não é encontrada somente nas APCs, mas em qualquer célula nucleada de nosso corpo. Se as células T-citotóxicas reconhecerem um antígeno apresentado pelo MHC de classe I, elas provocam a lise das células infectadas através da liberação de enzimas chamadas perforinas, e/ou induzindo a apoptose celular. O MHC de classe II apresenta antígenos aos linfócitos T *helper* que por sua vez secretam citocinas com a função de ativar as células NK, T-citotóxicas, além de sinalizar a produção de anticorpos específicos pelos linfócitos B (ABBAS; LICHTMAN, 2005).

Os antígenos protéicos dos patógenos que entram no corpo são capturados pelas APCs e subsequentemente transportados até os órgãos linfóides periféricos, onde se inicia a resposta imunológica. Existem diferentes tipos de APCs que desempenham funções distintas nas respostas imunes. As células dendríticas são as principais e mais potentes na ativação dos linfócitos T. Os macrófagos são outra importante APCs nas respostas imunes mediadas por células. Os macrófagos fagocitam os patógenos e apresentam as células T, que por sua vez, ativam os macrófagos a destruírem os microrganismos fagocitados. Os linfócitos B fagocitam

antígenos protéicos apresentando-os posteriormente as células T *helper*, sendo um importante processo para o desenvolvimento da imunidade humoral (ABBAS; LICHTMAN, 2007).

A ativação dos linfócitos pelos antígenos é o evento central na resposta imune adaptativa. O processo de maturação dos linfócitos T e B, consiste em uma sequência de eventos que envolvem: a proliferação das linhagens precursoras; a expressão dos genes para o receptor do antígeno e seleção do repertório de linfócitos maduros. A maturação inicial das células T e B é caracterizada por uma alta atividade mitótica estimulada principalmente pela interleucina 2 (IL-2), resultando no aumento significativo do número de células (proliferação). A expressão dos genes do receptor de antígenos é o evento central na maturação dos linfócitos, após a expressão dos receptores as células com receptores úteis são preservados (seleção positiva) e as células nocivas (auto-reativas) são eliminadas pelo processo de seleção negativa. Durante os estágios finais da maturação, os linfócitos adquirem a capacidade de responder a antígenos e gerar mecanismos efetores que servem para eliminar os antígenos (PARSLOW et al., 2004).

1.8 Sistema Imunológico e Treinamento

Mudanças nos estados fisiológicos podem alterar a atividade de estruturas dos sistemas nervoso, endócrino e imune. O funcionamento das células imunes é regulado por diversas biomoléculas, como neurotransmissores, hormônios e citocinas (PEDERSEN; HOFFMAN-GOETZ, 2000).

O sistema imunológico é sensível tanto aos agentes infecciosos como às alterações na homeostase fisiológica durante as situações de estresse. A prática regular de exercícios físicos é atualmente orientada como ferramenta essencial e indispensável a um estilo de vida saudável. A intensidade e o volume dos exercícios físicos agem de forma paradoxal nas respostas do sistema imunológico. Estudos demonstram que a prática de exercícios moderados ($\leq 70\%$ do VO_{2max}) esta associada com alterações benéficas no sistema imunológico, além de diminuições consideráveis na suscetibilidade às ITRS (NIEMAN et al., 2005; WEIDNER; SCHURR, 2003, AKIMOTO et al., 2003); por outro lado, a prática de exercícios intensos ($\geq 70\%$ do VO_{2max}) é responsável por imunossupressão transitória com aumento na suscetibilidade às ITRS (FRIMAN; WESSLÉN, 2000; NIEMAN; PEDERSEN, 1999; NIEMAN, 1998; MATTHEWS, et al., 2002; BRAUN; VON DUVILLARD, 2004).

A suscetibilidade às ITRS é aumentada quando os exercícios são associados ao estresse psico-social ou mental (NIEMAN, 1994), aumentando desta forma a severidade e a

duração das infecções e doenças (NIEMAN, 1994; KENDALL et al., 1990) e reduzindo a função dos linfócitos (MINETTO et al., 2005; NIEMAN; PEDERSEN, 1999).

Durante a imunossupressão transitória, instala-se o quadro denominado “*open window*” (janela aberta), onde os microorganismos podem invadir o organismo pela diminuição da capacidade defensiva do mesmo (NIEMAN; PEDERSEN, 1999). Desta forma, pode-se considerar o exercício físico como um agente causador da imunossupressão transitória que aparece após um estresse físico (PEDERSEN; HOFFMAN-GOETZ, 2000).

Segundo Nieman; Pedersen, (1999) o período de janela aberta pode perdurar por até 72 horas dependendo do volume e da intensidade do exercício. Dentre os mecanismos envolvidos com alterações da função do sistema imunológico estão: ações dos hormônios do estresse; interação neuro-endócrina (NIEMAN, 1994); apoptose celular (MOOREN et al., 2002); capacidade fagocitária (GREEN; ROWBOTTOM, 2003).

Durante sessões de exercícios físicos intensos instala-se o quadro denominado leucocitose (aumento do número de leucócitos na circulação) sendo as células NK (NIEMAN et al., 2005) as que mais sofrem elevações se comparada a outros linfócitos. As NK (MILES et al., 2002) e os neutrófilos (SAXSTON et al., 2003) são as duas células imunes que mais colaboram para ocorrência da linfocitose em resposta ao exercício.

Eliakim et al. (1997) realizaram um estudo com meninas ginastas e não ginastas, com idades entre 10 e 12 anos, foi demonstrado que 20 minutos de exercício (corrida) causa aumentos significativos na contagem de neutrófilos pós-corrida em ambos os grupos, sendo que com 24 horas de recuperação a contagem volta aos valores pré-corrida.

O recrutamento de leucócitos para a circulação (desmarginação) em resposta ao exercício acontece logo nos primeiros minutos de exercício e desaparece após 30 minutos do final do mesmo (SHEK et al., 1995). O aumento na circulação de catecolaminas é o fator mais indicado como causadora da desmarginação (RONSEN et al., 2004; PEDERSEN, HOFFMAN-GOETZ, 2000). No entanto, subsequente a exercícios intensos ou de longa duração, as concentrações de linfócitos circulantes tem sido encontradas abaixo dos níveis basais, quadro este denominado linfopenia, (MOOREN et al., 2004; GREEN et al., 2002), sendo os fatores neuro-endócrinos, em especial o cortisol, um dos responsáveis pela linfopenia (MALM, 2004; PEDERSEN, HOFFMAN-GOETZ, 2000). De acordo com Ronsen et al. (2002); Pedersen; Rohde; Ostrowski, (1998), após 24 horas de repouso (recuperação), a contagem dos linfócitos volta aos valores pré-exercício.

Nieman et al. (2005) analisaram o efeito do exercício físico sobre a resposta imune de mulheres com idade entre 25 e 55 anos, tendo como modelo de exercício a caminhada em

intensidade moderada 60% a 65% do VO_{2max} por um período de 30 minutos. As voluntárias já realizavam a caminhada previamente ao estudo por pelo menos 3 meses com uma frequência de 2 a 7 dias por semana. Os resultados apontaram que: a sessão de exercício causou mudanças modestas e temporárias na contagem leucocitária (especialmente neutrófilos e células NK); nenhuma alteração na concentração plasmática de cortisol imediatamente após o exercício em relação à condição basal.

Steensberg et al. (2002) realizaram um estudo no qual corredores do sexo masculino correram por 2 horas e meia a 75% do VO_{2max} , com o objetivo de verificar se o exercício provocaria linfopenia e apoptose destas células. Os resultados demonstraram que: no minuto 30 (durante o exercício) o número de linfócitos aumentou significativamente e nos minutos 90 (durante) e 150 (imediatamente após) não foram observadas alterações significativas em relação aos valores pré-exercício; durante a recuperação, (1, 2 e 3 horas) após o término do exercício, o número de linfócitos diminuiu significativamente em comparação com os valores pré-exercício, retornando aos valores iniciais após 8 e 24 horas de recuperação; nenhuma alteração foi encontrada com relação ao número de linfócitos em apoptose durante o exercício e com 2 horas após o término do mesmo; aumento significativo no número de neutrófilos circulantes durante todo o período de exercício e ainda com 1, 2, 4 e 24 horas de recuperação; aumento significativo na concentração de catecolaminas durante o exercício; aumento significativo na concentração de cortisol somente no minuto 150 (imediatamente após) com os valores permanecendo elevados até 4 horas após o exercício e voltando aos valores pré-exercício com 24 horas de recuperação.

Em estudo realizado com atletas de ciclismo (GREEN et al., 2003) e com indivíduos ativos (MITCHELL et al., 1998), foi demonstrado que a diminuição da resposta mitogênica linfocitária após sessões de exercícios estava relacionada a mecanismos independentes dos níveis séricos de cortisol.

Starkie et al. (2001) realizaram um estudo com cinco maratonistas participantes da maratona de Melbourne realizada em Sidney (Austrália). Os resultados mostraram aumentos significativos na contagem de leucócitos imediatamente após a maratona e com 2 horas de recuperação. Os neutrófilos e os monócitos foram às células que mais tiveram aumentos. O número de linfócitos circulantes diminuiu de forma significativa com 2 horas de recuperação com os valores se normalizando após 24 horas. Foi observado aumento significativo da IL - 6 e TNF - α (fator de necrose tumoral α) plasmática imediatamente após e com 2 horas de recuperação. Com relação às alterações hormonais, foi demonstrado aumento significativo na concentração de catecolaminas e cortisol imediatamente após e com 2 horas de recuperação.

O interesse em estudar os efeitos do treinamento sobre o sistema imunológico é devido ao seu potencial efeito modulador sobre as células imunes, podendo desta forma ser utilizado como ferramenta no entendimento do processo de treinamento

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo do presente estudo foi avaliar as modulações nos parâmetros imunológicos após oito semanas de treinamento realizado por ciclistas maratonistas e avaliar o número de sintomas de ITRS a cada semana durante o período de treinamento.

2.2 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos do presente estudo foram avaliar pré e pós o período de treinamento de oito semanas:

- Alterações no Hematócrito
- Leucometria e leucograma diferencial;
- Contagem de Linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺
- Relação entre Linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺;
- Determinar da concentração sérica de cortisol;
- Incidência de sintomas de ITRS;
- Correlações entre o número de incidência de sintomas de ITRS e a concentração sérica de cortisol;
- Correlação entre o volume de treinamento e o número de sintomas de ITRS;
- Correlação entre a intensidade de treinamento e o número de sintomas de ITRS.

3 JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA

O exercício físico realizado de forma regular e moderado está associado com alterações benéficas nos parâmetros imunes de indivíduos regularmente ativos, no entanto, o exercício físico realizado de forma intensa ($\geq 70\%$ do VO_{2max}) por atletas em situações de treinamentos ou competições está associado com alterações negativas (temporárias) nos parâmetros imunes. Dentre os fatores envolvidos com as alterações na funcionalidade do sistema imune estão a diminuição na contagem de linfócitos e a ação dos hormônios do estresse em especial o cortisol.

A compreensão das respostas fisiológicas e dentre elas as variáveis imunológicas relacionadas ao exercício físico, tornam-se indispensáveis como ferramenta adicional para o entendimento e manipulação das cargas de trabalho por parte dos treinadores, com o objetivo de minimizar o estresse fisiológico e maximizar a performance física do atleta.

Pesquisas na área da imunologia do exercício são importantes para técnicos, preparadores físicos e fisiologistas do exercício que diariamente treinam e avaliam atletas de alto nível competitivo. Os atletas estão mais suscetíveis a invasão por patógenos e consequentemente estão mais suscetíveis a ficar doentes, o que pode influenciar de forma negativa na capacidade do atleta de responder as cargas diárias de treinamento. Desta forma a avaliação das variáveis imunes durante períodos de treinamento podem servir de indicador do atual estado do atleta e desta forma apresenta-se como uma ferramenta adicional para o entendimento e controle das cargas de treinamento visando otimizar os resultados atléticos dos atletas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Sujeitos

Participaram do estudo 10 atletas ciclistas, maratonistas, idade entre 18 e 30 anos, residentes na cidade de Pouso Alegre/MG. Os atletas possuíam experiência em competições de nível estadual e nacional, e no mínimo três anos de experiência em treinamentos e competições. Na tabela 1 encontram-se as características dos atletas participantes no estudo.

TABELA 1. Características dos atletas participantes do estudo. Valores expressos em média e desvio padrão

	Id (anos)	P. Corp (Kg)	Alt (m)	IMC (Kg/m ²)	Dens Corp	%Gord	Temp de Trein (anos)
Média	24	68,80	1,70	23,50	1,06979282	12,50	9
Desv Pad	5	9,80	0,10	3,10	0,01551112	6,50	4

Id (idade), P Corp (peso corporal) Alt (altura), IMC (índice de massa corporal), % Gord (% de gordura corporal), Dens Corp (densidade corporal), Temp Trein (tempo de treinamento)

4.2 Recrutamento e Seleção dos Atletas

O recrutamento dos atletas aconteceu mediante contato direto com seu treinador. O treinador foi informado sobre a natureza do estudo e informou aos seus atletas sobre a realização do mesmo. Os atletas interessados em participarem do estudo compareceram juntamente com seu treinador em dia e hora marcados previamente na Academia Ana Maria (Pouso Alegre/MG) para esclarecimentos sobre os procedimentos adotados no estudo. Os atletas voluntários assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (ANEXO 1). Os atletas selecionados possuíam sua própria bicicleta de competição e equipamentos de proteção individual (EPI), não estavam fazendo uso de nenhum medicamento e concordaram em seguir todos os procedimentos adotados no estudo.

4.3 Comitê de Ética

O presente estudo atende as normas do Conselho Nacional de Saúde (nº 196/96 de 10/10/1996) para realização de pesquisa envolvendo seres humanos, sendo este projeto

enviado ao Comitê de Ética da Universidade Metodista de Piracicaba – UNIMEP e aprovado sob o protocolo nº 08/08.

4.4 Avaliação dos Atletas

Após assinatura do TCLE, cada um dos atletas foi encaminhado para avaliação médica e avaliação cardiovascular realizada através do teste ergométrico na Clínica Exames do Coração – EXACOR localizada em Pouso Alegre/MG. A participação no estudo foi confirmada após apresentação de laudo médico sobre o estado de saúde dos atletas por ocasião da avaliação médica e cardiovascular.

Após a avaliação médica os atletas passaram por uma avaliação física realizada na Academia Ana Maria para caracterização da amostra. Nesta avaliação foram coletados os seguintes dados: peso corporal (Kg) através de uma balança digital de marca Filizola® (precisão de 100 gramas); altura (m) através de um estadiômetro Sanny® (precisão de milímetros); índice de massa Corporal - IMC (Kg/m^2), calculado a partir da fórmula $[\text{peso (kg)}/\text{altura (metros)}^2]$; densidade corporal; porcentagem de gordura corporal realizado através de coleta de dobras cutâneas com compasso de marca Lange® (precisão em milímetros) e tempo de treinamento de cada atleta (anos).

Para a verificação do percentual de gordura foram coletas as seguintes dobras cutâneas: tricipital (medida na face posterior do braço, paralelamente ao eixo longitudinal, no ponto que compreende a metade da distância entre a borda súpero-lateral do acrômio e do olécrano); peitoral (medida oblíqua em relação ao eixo longitudinal, na metade da distância entre a linha anterior e o mamilo); subescapular (medida obliquamente em relação ao eixo longitudinal, seguindo a orientação dos arcos costais, sendo localizada a dois centímetros abaixo do ângulo inferior da escápula); supra-ilíaca (medida obliquamente em relação ao eixo longitudinal, na metade da distância entre o último arco costal e a crista ilíaca, sobre a linha axilar média); abdominal (medida aproximadamente a dois centímetros à direita da cicatriz umbilical, paralelamente ao eixo longitudinal), panturrilha (medida com o tornozelo em posição anatômica, com a articulação do joelho em flexão de 90°); coxa (medida paralelamente ao eixo longitudinal, sobre o músculo reto femoral, na metade da distância do ligamento inguinal e da borda superior da patela).

A seguir foi calculada a densidade corporal (DC) de cada atleta pela fórmula proposta por JACKSON; POLLOCK, (1978). Posteriormente foi calculada a porcentagem de gordura pela fórmula proposta por BROZEK; GRANDE; ANDERSON, (1963).

4.5 Procedimentos para Coleta de Sangue

Antes do início do período de treinamento (três dias antes da primeira sessão de treino) e no final das oito semanas (24 horas após a última sessão de treino), os atletas foram encaminhados ao Laboratório de Análises Clínicas e Hematologia – Méthodos, localizado em Pouso Alegre/MG, para coleta de sangue. Em dia e hora agendados com os atletas, os mesmos compareceram as dependências do laboratório Méthodos em jejum de 8 horas para coleta de sangue. As coletas foram realizadas através da punção venosa na fossa antecubital do braço não dominante, estando o mesmo na posição supina, as 8:00 horas da manhã, sendo o material coletado em tubos a vácuo. No total foram realizadas 2 coletas, (1 pré-treinamento) e (1 pós-treinamento) em cada atleta. A coleta pré-treinamento aconteceu três dias antes do início do período de treinamento, pois os atletas retornaram aos treinos em uma segunda feira e desta forma a coleta inicial foi realizada na sexta feira com os atletas retornando do período de férias (20 dias de descanso sem nenhuma atividade realizada de forma orientada). O material coletado para análise do hemograma e leucograma diferencial foi feito em tubos com capacidade de 3 mililitros (ml) contendo anticoagulante (Ácido Etilenodiamino Tetra-acético - EDTA), o material coletado para análise dos linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ foi feito em tubos com capacidade de 5 ml contendo anticoagulante heparina e o material coletado para análise do cortisol foi feito em tubo seco com capacidade de 10 ml. Foi retirado de cada um dos atletas um total de 18 ml de sangue

4.6 Preparo e Análise do Sangue

Todo material foi coletado dentro das dependências do laboratório Méthodos e encaminhado ao setor de triagem onde foram feitas as distribuições para os devidos setores. Os tubos para análise do hematócrito e leucometria diferencial foram encaminhados ao setor de hematologia o qual passou por um processo de homogeneização realizada em homogeneizador para tubos de hemograma para subsequente análise no aparelho *Pentra 60*. Os tubos para análise dos linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ ficaram no setor de triagem para envio do material para laboratório de apoio Hermes Pardini. O material foi enviado em caixas de isopor com temperatura ambiente entre 18 e 22°. No laboratório Hermes Pardini o material foi direcionado ao setor de triagem, o qual foi encaminhado ao setor de citometria para subsequente análise no aparelho *Beckman Coulter FC 500*. No setor de triagem, os tubos para análise do cortisol passaram por centrifugação a 3600 rpm por quatro minutos. O soro foi

fracionado e acondicionado em novos tubos e os elementos figurados descartados. O soro foi enviado ao laboratório de apoio Hermes Pardini em caixa refrigerada entre 2 e 8°. No laboratório Hermes Pardini o material foi direcionado ao setor de triagem, o qual foi encaminhado ao setor de Endocrinologia II para subsequente análise no aparelho *Immulite 2000*.

4.6.1 Hematócrito e Leucograma diferencial

A contagem das células sanguíneas foi feita em analisador hematológico automatizado Pentra 60. Este analisador permite a contagem global de todas as células, utilizando o princípio da Impedância elétrica. As células são contadas individualmente pela passagem por um orifício de tamanho fixo de 100 micrômetros (μm). Este orifício está imerso em uma câmara de diluição da amostra com solução isotônica. Por ele passa uma corrente elétrica contínua que é interrompida a cada passagem individual de célula. Essa passagem gera um pulso elétrico, sendo a intensidade do pulso proporcional ao tamanho e volume da célula. Assim, o equipamento reconhece cada célula por seu volume. As células são analisadas individualmente de acordo com suas características e avaliadas pelo software do equipamento. A avaliação permite a diferenciação entre: neutrófilos, monócitos e linfócitos.

4.6.2 Linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺

A contagem das células T CD4⁺ e CD8⁺ foi feita em um citômetro de fluxo *Beckman Coulter FC 500* via utilização de anticorpos monoclonais específicos conjugados a um determinado fluorocromo. No citômetro as células são suspensas em uma solução fisiológica e injetadas em um sistema de fluídos para serem expostas individualmente a um feixe de luz (laser) direcionado ao meio líquido em fluxo. Cada partícula que passa através do feixe dispersa a luz de uma maneira. A dispersão analisada pelos detectores sensíveis à dispersão frontal “*Forward Scatter*” (FSC) e lateral “*Side Scatter*” (SSC) da luz, apresentam informações sobre a estrutura física e química de cada partícula. A Citometria de fluxo é uma técnica utilizada para contar, examinar e classificar partículas microscópicas. Permite a análise de vários parâmetros simultaneamente como por exemplo: volume celular (tamanho); granulosidade celular; antígenos à superfície celular (marcadores CD).

4.6.3 Cortisol

A avaliação da concentração de cortisol no soro foi realizada através de um analisador de imunoenaios *Immulite 2000*. O sistema *Immulite 2000* utiliza poliestireno recoberto com anticorpos específicos, como uma fase sólida, em um tubo de reação especialmente projetado. O tubo de reação serve como um vaso no qual ocorre a incubação da reação imune, lavagem e projeção de um sinal. A emissão de luz proveniente da reação do substrato quimiluminescente com o conjugado enzimático ligado à pérola é proporcional à quantidade de analito originalmente presente na amostra do sangue.

4.7 Protocolo de Treinamento

Os atletas realizaram treinos diários com volumes e intensidades alternados a cada dia de treinamento. Os treinos foram realizados durante o período básico de treinamento, seis vezes por semana durante um período de oito semanas. O período básico ou introdutório de treinamento é caracterizado por volumes de treinamento elevados e intensidade moderada. No total foram realizadas 48 sessões de treino durante o estudo. O volume dos treinos foi monitorado pela distância em quilômetros (Km) e pelo tempo de treino (minutos) e a intensidade foi controlada pela porcentagem da frequência cardíaca de reserva (FCR) de acordo com Karvonen (1957 apud Diretrizes do ACSM, 2003), sendo a frequência cardíaca máxima (FCM) calculada de acordo com Tanaka; Monahan; Seals, (2001) e pela frequência cardíaca em batimentos por minuto (bpm). A intensidade de treinamento foi monitorada durante todas as sessões de treino através de monitores cardíacos individuais de marca Timex®. As sessões de treinos foram prescritas pelo treinador da equipe, sendo que os mesmos foram realizados em asfalto e estradas em terrenos acidentados (subidas e descidas). No final de cada uma das semanas de treinamento os atletas responderam individualmente sobre a ocorrência de sintomas de ITRS através de um questionário (ANEXO 3).

O estudo iniciou com 12 atletas, no entanto, durante as oito semanas de treinamento um atleta se machucou durante as sessões de treino e outro atleta não compareceu a coleta de sangue final, em ambos os casos os atletas foram considerados excluídos do estudo.

4.8 Suplementação com Carboidrato

Durante todo o período de treinamento os atletas foram orientados quanto à dieta e suplementação por nutricionista. A dieta foi prescrita com 65% de CHO, 22,5% lipídios e 12,5% de proteína. Durante os treinos os atletas realizaram a suplementação com bebida contendo CHO a 6% de concentração, com ingestão média de 1000 ml/hora de treinamento. Após cada sessão de treinamento os atletas ingeriam CHO de alto índice glicêmico a uma concentração de 1,2 gramas/Kg/hora por um período de 120 minutos.

4.9 Tratamento Estatístico

O tratamento estatístico utilizado para análise dos dados foi a Análise de Variância (ANOVA), o Teste T de Student (*t*-Student) com índice de significância de 5% ($p \leq 0,05$) e a Correlação de Pearson. Os dados foram apresentados em média, erro padrão e desvio padrão. O software utilizado para realização dos testes estatísticos foi o ORINGIN 6.0.

5 RESULTADOS

Os resultados apresentados abaixo são referentes à média diária do volume e da intensidade dos treinos realizados durante cada uma das oito semanas de treinamento e das coletas de sangue realizadas pré-treinamento (antes do início do período de treinamento) e pós-treinamento (24 horas após a última sessão de treino) para análise do hematócrito, contagem de leucócitos, concentração de cortisol e número de sintomas de IRTS em cada uma das semanas de treinamento.

5.1 Volume e intensidade dos treinamentos

Os gráficos 1 e 2 apresentam os valores médios diários do volume de treino (Km e minutos respectivamente) em cada uma das oito semanas de treinamento e os gráficos 3 e 4 apresentam os valores médios da intensidade (% da FCR e Frequência cardíaca em bpm respectivamente).

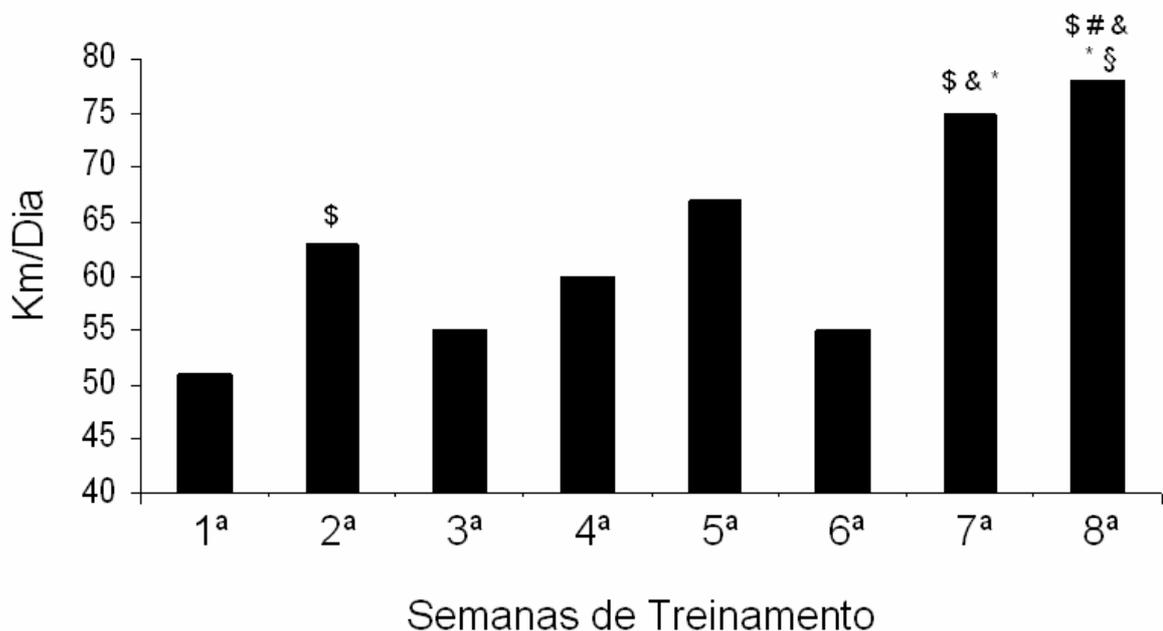


GRÁFICO 1. Volume médio diário de treino (Km) realizado pelos atletas em cada uma das oito semanas de treinamento. Valores apresentados em média. \$ # & * § Diferença significativa entre as semanas de treinamento após Análise de Variância (ANOVA), seguido pelo Teste T de Student com $p \leq 5\%$. \$ diferença entre 1ª e 2ª, 1ª e 7, 1ª e 8ª; # diferença entre 2ª e 8ª, & diferença entre 3ª e 7ª, 3ª e 8ª; * diferença entre 5ª e 7ª, 5ª e 8ª; § diferença entre 6ª e 8ª.

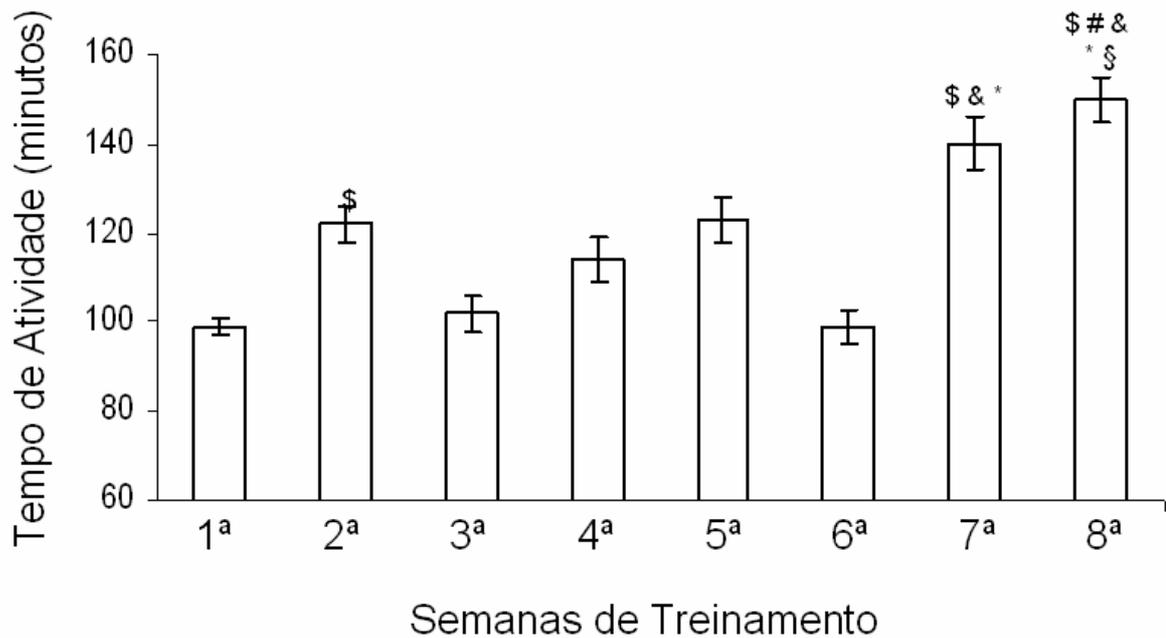


GRÁFICO 2. Volume médio diário de treino (minutos) realizado pelos atletas em cada uma das oito semanas de treinamento. Valores apresentados em média \pm desvio padrão. \$ # & * § Diferença significativa entre as semanas de treinamento após Análise de Variância (ANOVA), seguido pelo Teste T de Student com $p \leq 5\%$. \$ diferença entre 1ª e 2ª, 1ª e 7ª, 1ª e 8ª; # diferença entre 2ª e 8ª, & diferença entre 3ª e 7ª, 3ª e 8ª; * diferença entre 5ª e 7ª, 5ª e 8ª; § diferença entre 6ª e 8ª.

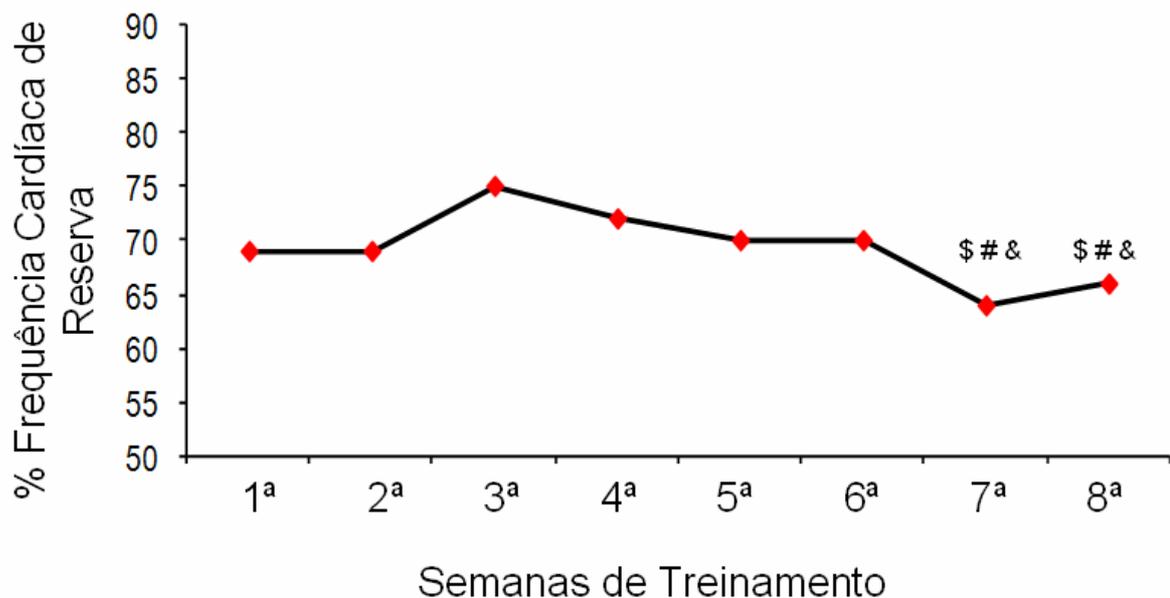


GRÁFICO 3. Intensidade média diária de treino (% FCR) realizado pelos atletas em cada uma das oito semanas de treinamento. Valores apresentados em média. \$ # & Diferença significativa entre as semanas de treinamento após Análise de Variância (ANOVA), seguido pelo Teste T de Student com $p \leq 5\%$. \$ diferença entre 3ª e 7ª, 3ª e 8ª; # diferença entre 4ª e 7ª, 4ª e 8ª; & diferença entre 5ª e 7ª, 5ª e 8ª.

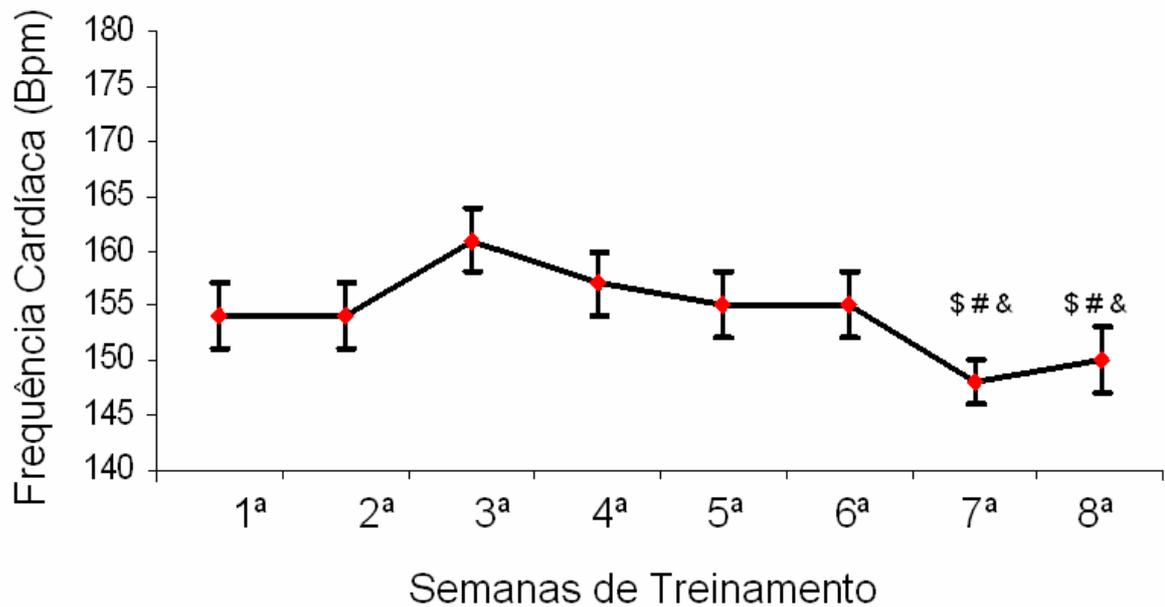


GRÁFICO 4. Intensidade média diária de treino (bpm) realizado pelos atletas em cada uma das oito semanas de treinamento. Valores apresentados em média \pm desvio padrão. \$ # & Diferença significativa entre as semanas de treinamento após Análise de Variância (ANOVA), seguido pelo Teste T de Student com $p \leq 5\%$. \$ diferença entre 3ª e 7ª, 3ª e 8ª; # diferença entre 4ª e 7ª, 4ª e 8ª; & diferença entre 5ª e 7ª, 5ª e 8ª.

5.2 Hematócrito

Os resultados encontrados mostram que o hematócrito reduziu em aproximadamente 5,02% após oito semanas de treinamento, no entanto, essa alteração não foi significativa (gráfico 5).

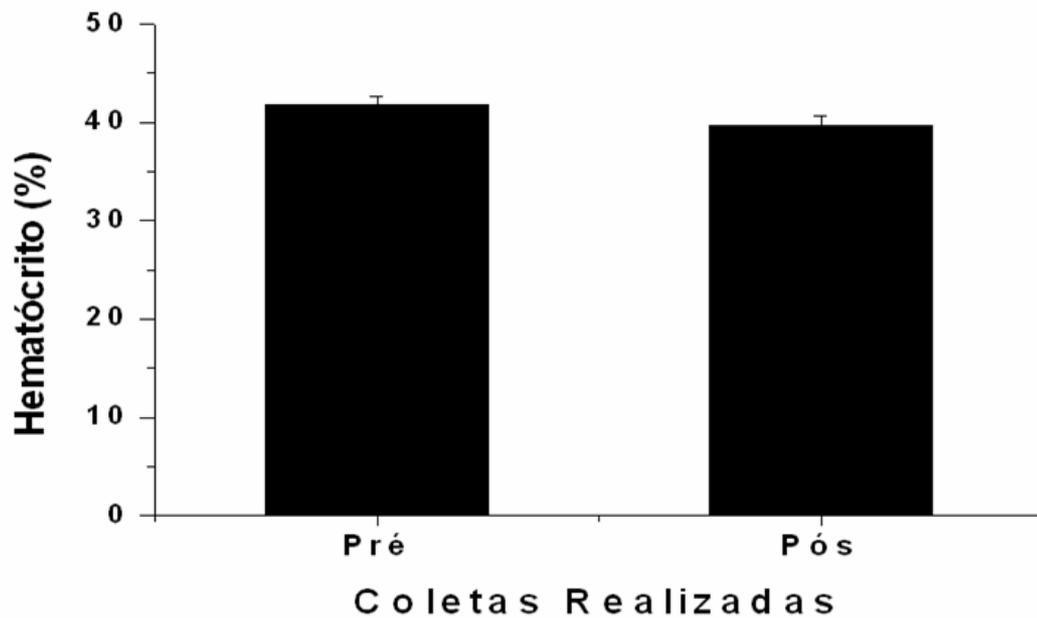


GRÁFICO 5. % das células vermelhas (hematócrito) realizada em analisador hematológico automatizado Pentra 60 pré e pós oito semanas de treinamento. Valores apresentados em média \pm erro padrão.

5.3 Contagem de Leucócitos

Com relação ao número total de leucócitos, foi observado redução de 19,65% após oito semanas de treinamento, no entanto, essa alteração não foi significativa (gráfico 6).

A contagem de neutrófilos após o período de oito semanas de treinamento apresentou redução de 18,03%, essa alteração não foi significativa, já a contagem de monócitos apresentou redução significativa de 53,69 % ($p \leq 0,05$) (gráficos 7 e 8).

A contagem de linfócitos totais apresentou redução de 16,64%, no entanto, essas alterações não foram significativas (gráfico 9).

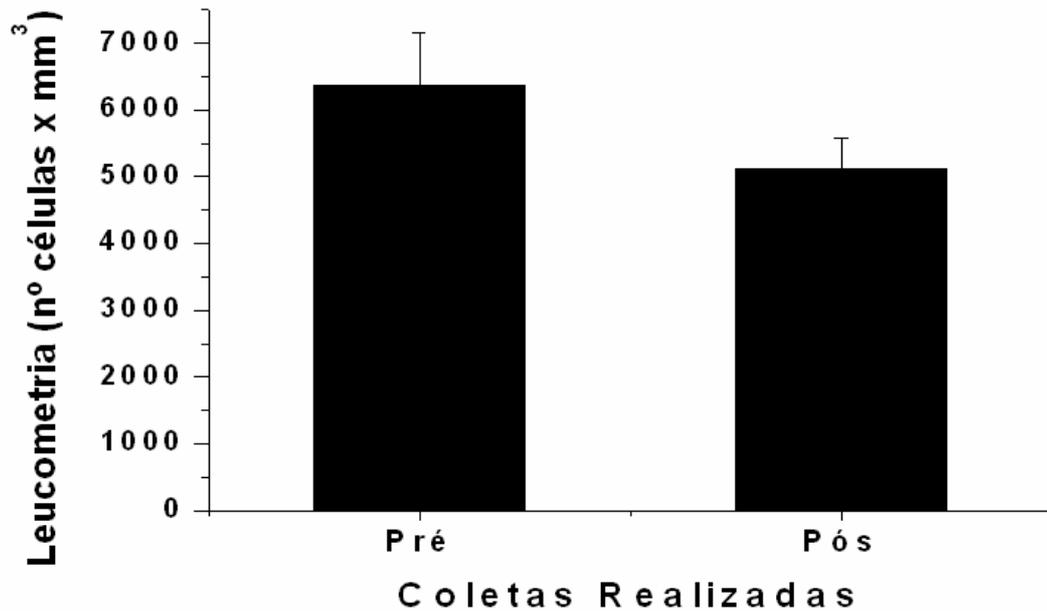


GRÁFICO 6. Leucograma diferencial realizado em analisador hematológico automatizado Pentra 60. Contagem total de leucócitos pré e pós oito semanas de treinamento.

Valores apresentados em média \pm erro padrão.

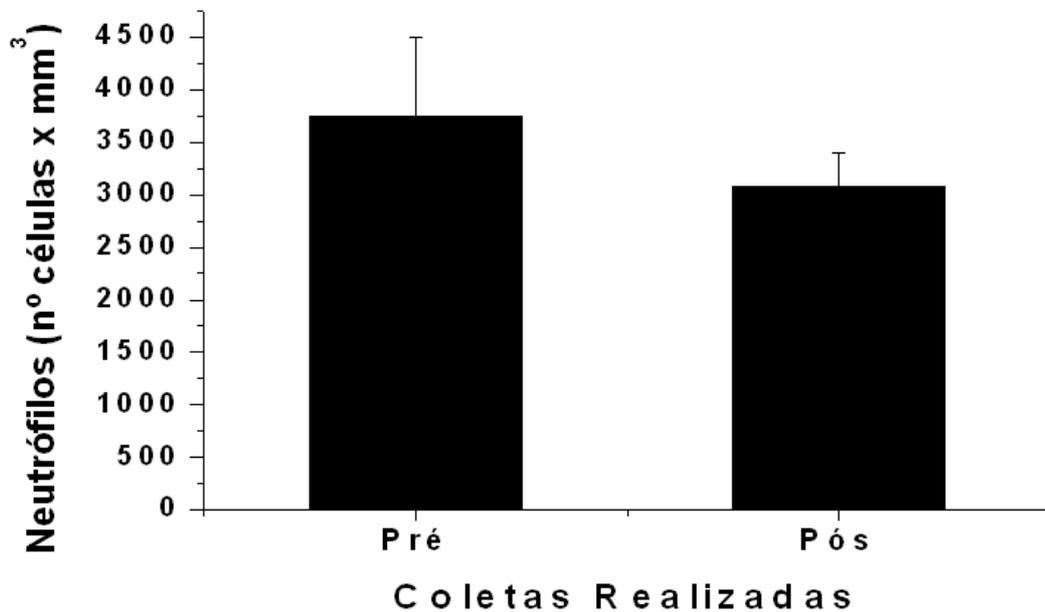


GRÁFICO 7. Leucograma diferencial realizado em analisador hematológico automatizado Pentra 60. Contagem de neutrófilos pré e pós oito semanas de treinamento.

Valores apresentados em média \pm erro padrão.

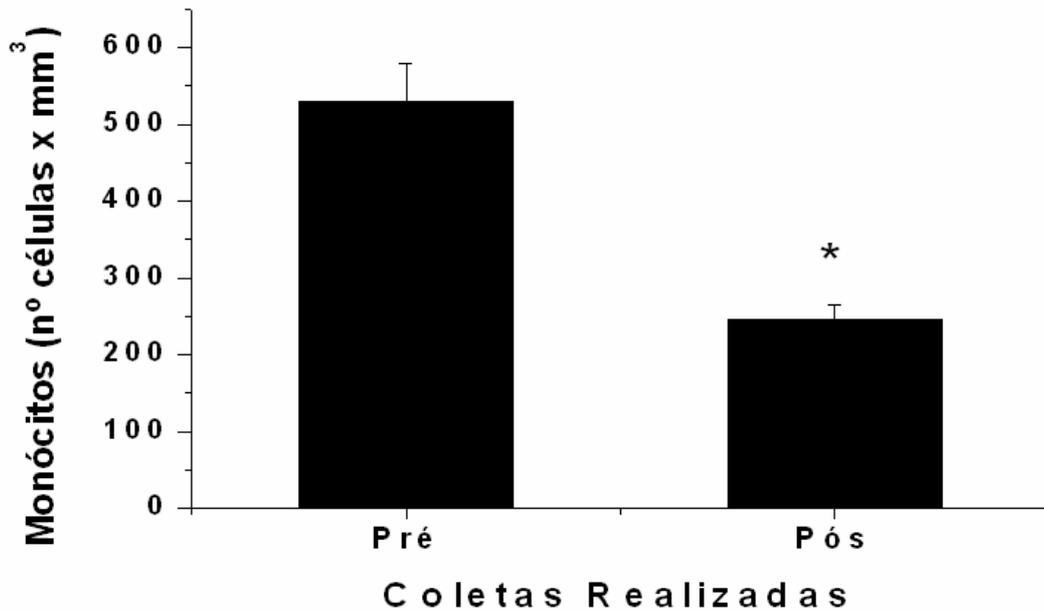


GRÁFICO 8. Leucograma diferencial realizado em analisador hematológico automatizado Pentra 60. Contagem de monócitos pré e pós oito semanas de treinamento.

Valores apresentados em média \pm erro padrão.

* Diferença significativa após teste T de Student com $p \leq 5\%$.

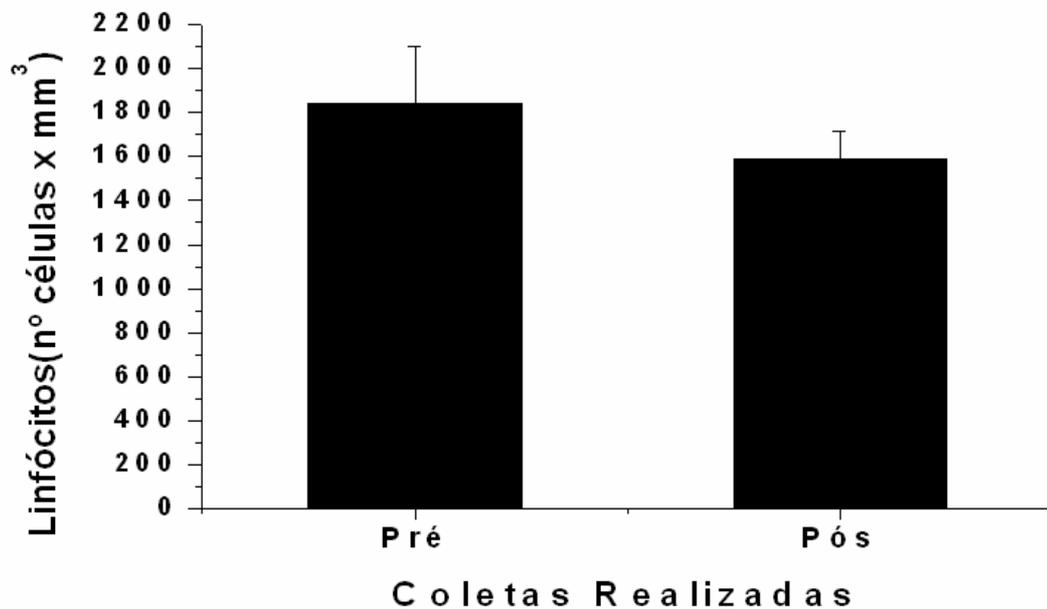


GRÁFICO 9. Leucograma diferencial realizado em analisador hematológico automatizado Pentra 60. Contagem total de linfócitos pré e pós oito semanas de treinamento.

Valores apresentados em média \pm erro padrão.

5.4 Contagem de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺

A contagem de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ após o período de oito semanas de treinamento apresentou redução de 15,10% para CD4⁺ (gráfico 10) e de 17,57% para CD8⁺ (gráfico 11), no entanto, essas diminuições não foram significativas. Foi feita ainda uma relação entre o número de células CD4⁺ e CD8⁺ pré e pós-treinamento (gráfico 12), e também não foi encontrada alterações significativas.

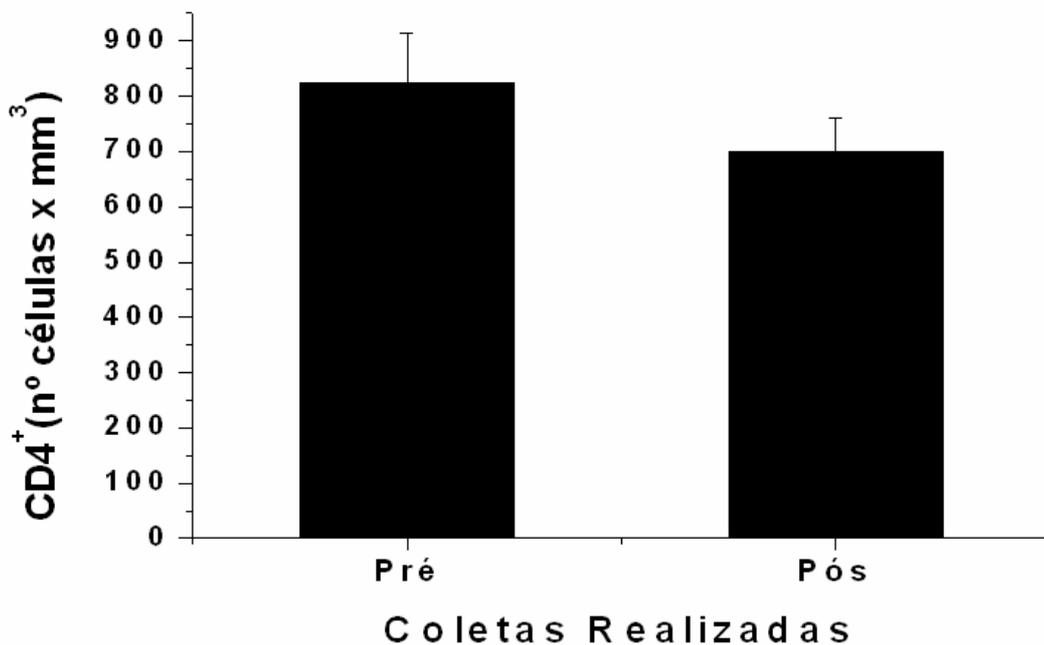


GRÁFICO 10. Contagem de linfócitos T CD4⁺ realizada em citômetro de fluxo Beckman Coulter FC 500 pré e pós oito semanas de treinamento. Valores apresentados em média \pm erro padrão.

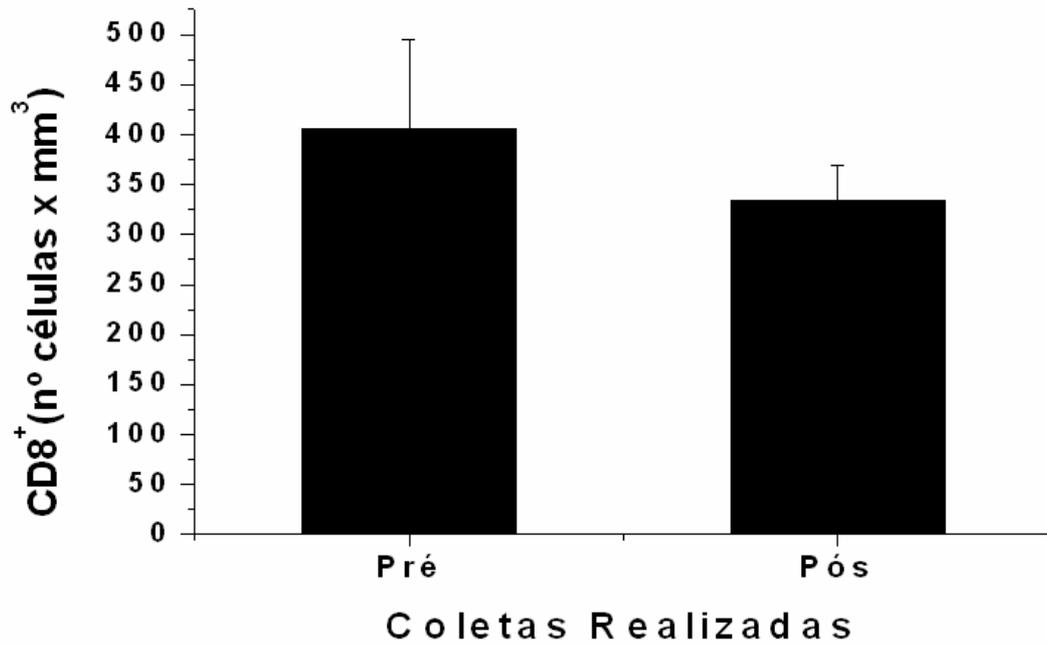


GRÁFICO 11. Contagem de linfócitos T CD8⁺ realizada em citômetro de fluxo Beckman Coulter FC 500 pré e pós oito semanas de treinamento. Valores apresentados em média ± erro padrão.

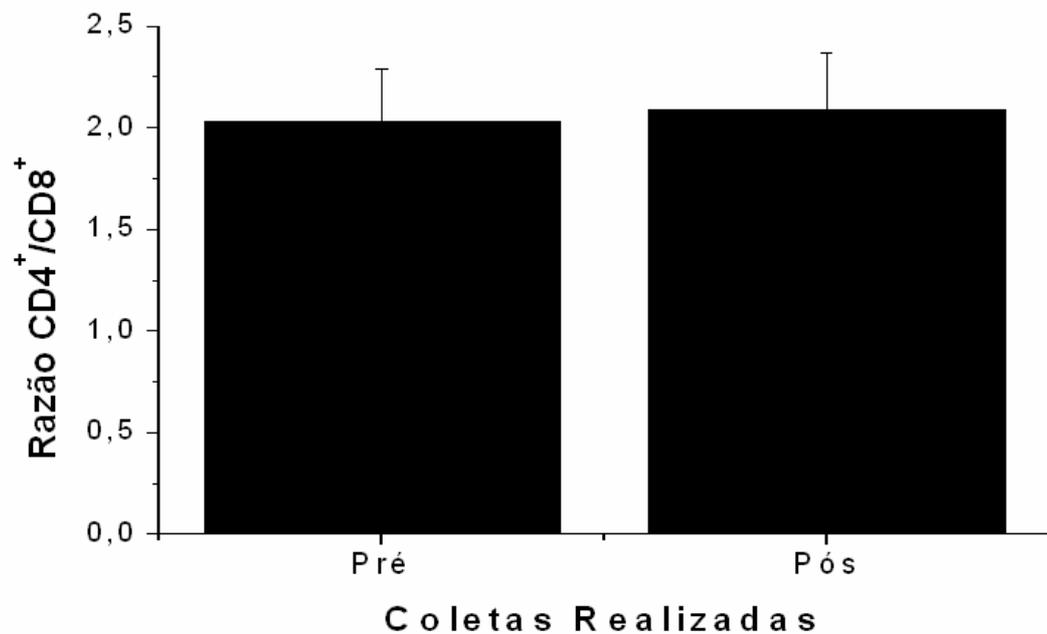


GRÁFICO 12. Razão linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ pré e pós oito semanas de treinamento. Valores apresentados em média ± erro padrão.

5.5 Concentração sérica de cortisol

A concentração sérica de cortisol reduziu 27,89% após o período de treinamento, sendo essa diminuição significativa se comparada ao período pré-treinamento ($p \leq 0,05$) (Gráfico 13). A correlação feita entre a concentração de cortisol e o número de sintomas de ITRS, apresentou relação negativa (gráfico 16).

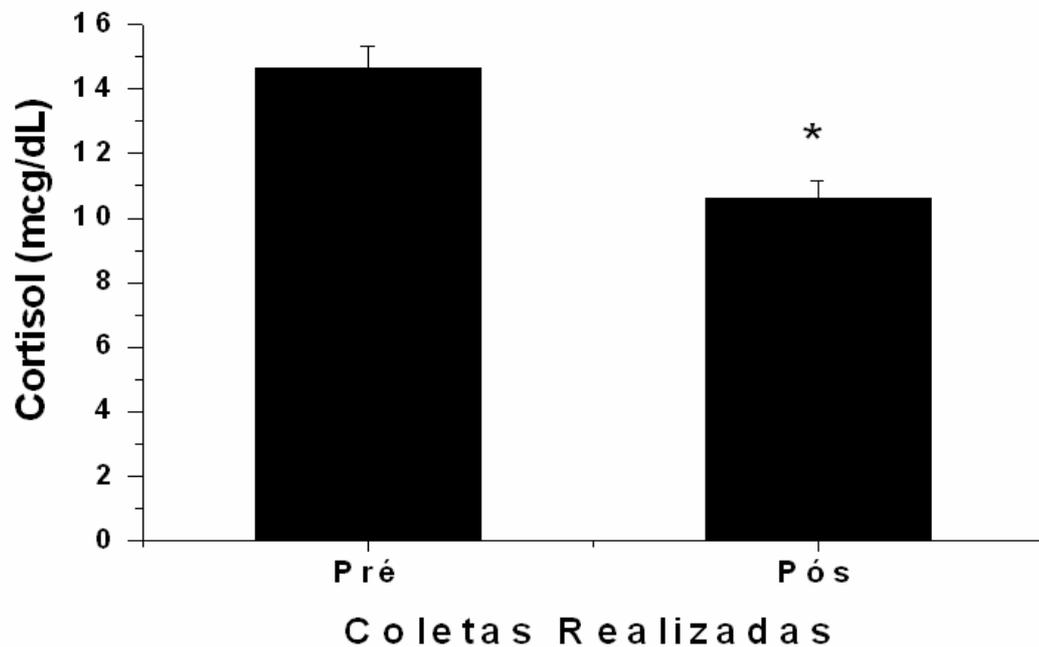


GRÁFICO 13. Concentração sérica de cortisol realizada em analisador de imunoenaios Immulite 2000 pré e pós oito semanas de treinamento. Valores apresentados em média \pm erro padrão.

* Diferença significativa após teste T de Student com $p \leq 5\%$.

Na tabela 2 encontra-se um resumo de todas as alterações na contagem de leucócitos e na concentração sérica de cortisol pré e pós-treinamento.

TABELA 2. Resultados gerais das alterações na contagem de leucócitos (número de células/mm³) e da concentração sérica de cortisol (mcg/dl) pré e pós-treinamento.

Valores apresentados em média \pm erro padrão.

	Leu T	Neut	Mon	Linf T	L CD4 ⁺	L CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	Cort
Pré	6360(803)	3750(751)	529(50)	1840(263)	824(91)	405(89)	2,03(0,26)	14,70(0,67)
Pós	5110(464)	3074(331)	245(19)*	1589(129)	700(62)	334(35)	2,09(0,28)	10,63(0,54)*

Leu T(leucócitos totais), Neut (neutrófilos), Mon (monócitos), Linf T (Linfócitos totais), L CD4⁺ (linfócitos T CD4⁺), L CD8⁺ (linfócitos T CD8⁺), CD4⁺/CD8⁺ (Relação linfócitos T CD4⁺/CD8⁺), Cort (cortisol). * Diferença significativa ($p \leq 5\%$) em relação aos valores pré-treino.

5.6 Número de ocorrências de sintomas ITRS durante o período de treinamento e correlação dos sintomas de ITRS com os níveis séricos de cortisol, volume e intensidade do treinamento

Durante todo o período de treinamento os atletas tiveram um total de 60 ocorrências de sintomas de ITRS (tabela 3). Na tabela tem se o número de sintomas de ocorrências em cada uma das semanas durante o período de treinamento.

TABELA 3. Número de ocorrências de sintomas de ITRS durante as oito semanas de treinamento

Semanas de Treinamento	Pré	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a
Número de Ocorrências ITRSS	0	13	1	9	8	3	0	13	13

O gráfico 14 apresenta a correlação entre o número de ocorrências de sintomas de ITRS e a concentração sérica de cortisol, o gráfico 15 apresenta a correlação entre o volume do treinamento com o número de ocorrências de sintomas de ITRS e o gráfico 16 apresenta a correlação entre a intensidade do treinamento com o número de ocorrências de sintomas de ITRS.

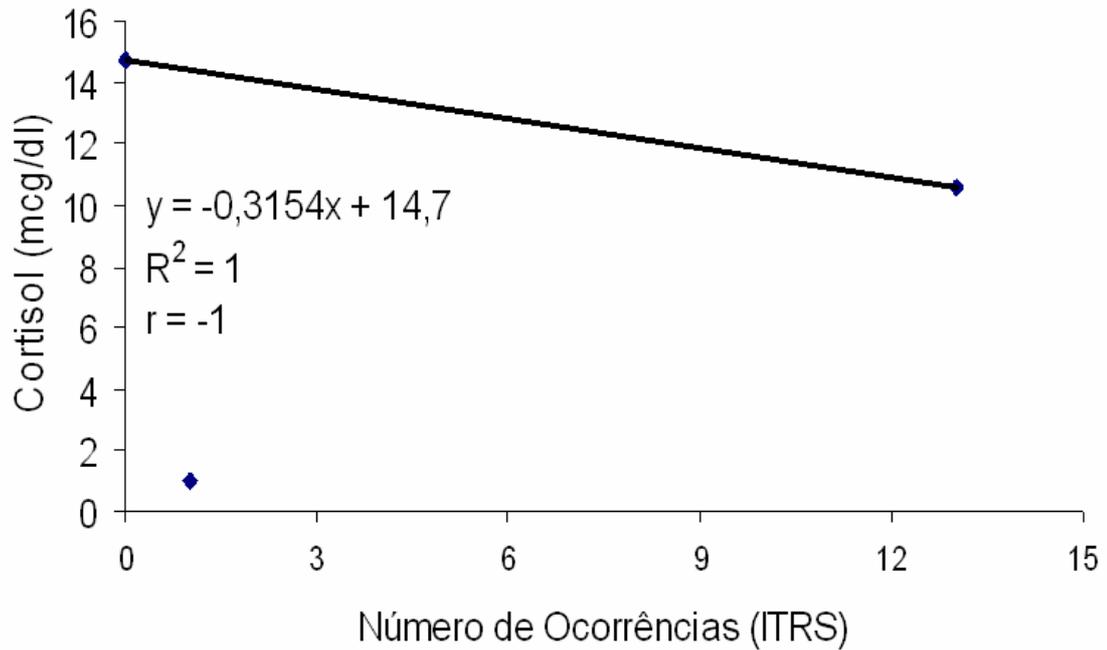


GRÁFICO 14. Correlação entre o número de ocorrências de sintomas de ITRS e concentração sérica de cortisol durante o período de treinamento.

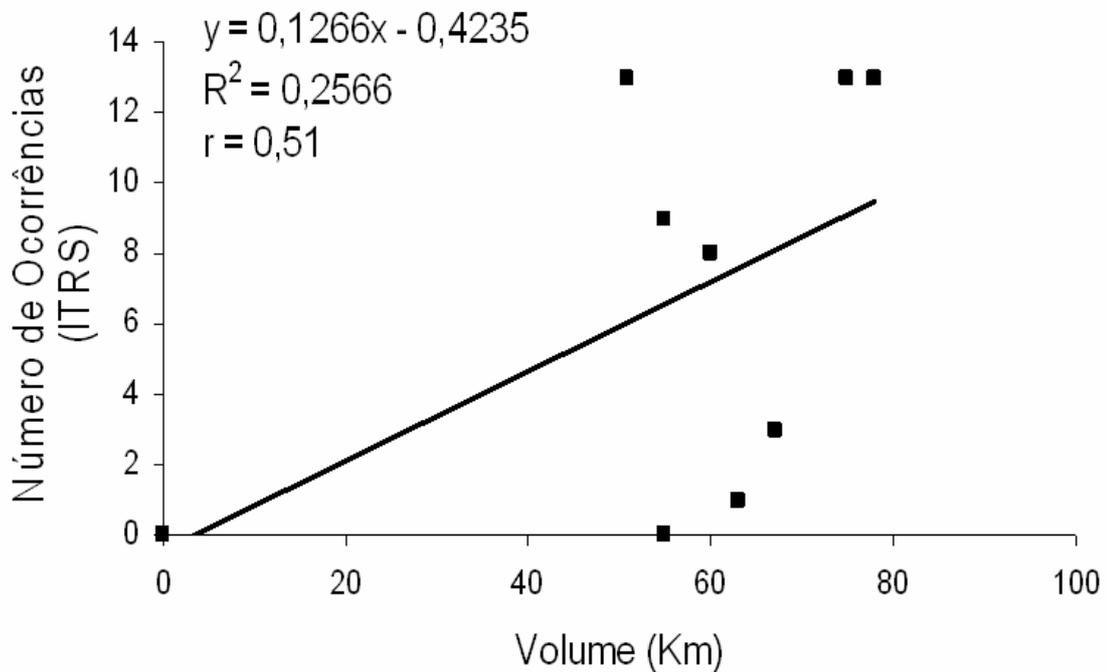


GRÁFICO 15. Correlação entre o volume de treinamento e o número de ocorrências de sintomas de ITRS durante o período de treinamento.

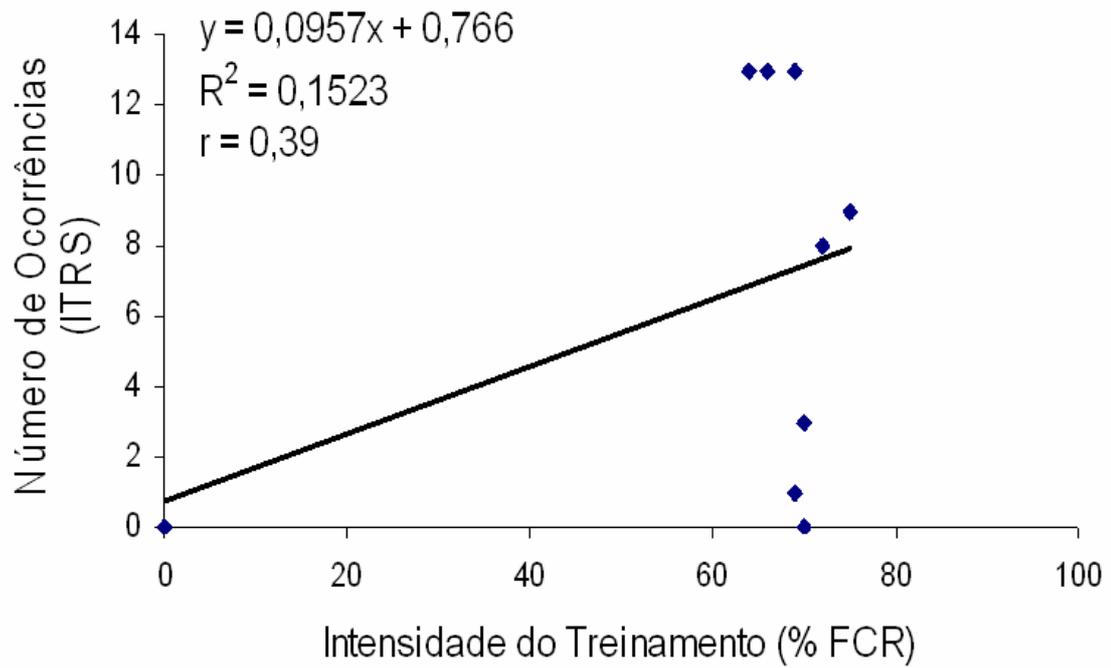


GRÁFICO 16. Correlação entre a intensidade de treinamento e o número de ocorrências de sintomas de ITRS durante o período de treinamento.

6 DISCUSSÃO

O tipo de treinamento influencia nas respostas (ajustes ou adaptações) do organismo. Estudos verificaram modulações imunes em resposta ao exercício agudo e poucos verificaram alterações após períodos de treinamento. O presente estudo avaliou modulações na contagem de leucócitos 24 horas após a última sessão de treino realizado por ciclistas maratonistas após um período de oito semanas de treinamento.

O volume de treinamento aumentou de forma significativa nas duas últimas semanas de treinamento, enquanto que a intensidade diminuiu. Desta forma acreditamos que os resultados encontrados no presente estudo sofreram mais influência do volume de treinamento se comparada à intensidade.

O hematócrito não estava alterado 24 horas após a última sessão de treino (gráfico 5). Alterações no hematócrito foram apresentadas como resultado do processo do treinamento (RUSHALL; BUSCH, 1980). Essas alterações estão ligadas ao fato do treinamento causar hemodiluição (MUJIKÁ et al., 2004).

A contagem de leucócitos não estava significativamente alterada 24 horas após a última sessão de treino em comparação com valores obtidos no período pré-treinamento (gráfico 6). Tem sido demonstrado que o exercício físico altera o número de leucócitos (NIEMAN et al., 2004; PEAKE et al., 2004; NIEMAN et al., 2003; BONSIGNORE et al., 2002). A redistribuição das células imunes é mediada pela adrenalina e em menor grau pela noradrenalina. Os leucócitos possuem receptores β - adrenérgicos (LANDMANN, 1992), e a ligação das catecolaminas a esses receptores durante o exercício parecem diminuir a aderência dos mesmos sobre o endotélio vascular causando aumentos no número de células circulantes. No entanto, 24 horas pós-exercício o número de leucócitos volta aos valores pré-exercício (SCHARHAG et al., 2005; SAXTON et al., 2003; BONSIGNORE et al., 2002; STARQUIE et al., 2001).

Shepard et al. (2000) observaram que a expressão das moléculas de adesão de vários subtipos de leucócitos foi alterada pelo exercício físico, provavelmente devido à ação da adrenalina. Peake et al. (2004), demonstraram aumentos circulantes de catecolaminas após 1 hora de corrida realizada a 85% do VO_{2max} com os valores voltando aos níveis pré-corrida após 1 hora de recuperação.

As diminuições na contagem de leucócitos totais apesar de não serem estatisticamente significativas, foram de aproximadamente 20%. Estas diminuições nos levam

a indagar se 24 horas de recuperação em dias sucessivos de treinamento são suficientes para normalizar a contagem de leucócitos e desta forma dificultar a suscetibilidade as ITRS.

Os neutrófilos e as células NK são as células que mais possuem receptores β - adrenérgicos seguidas pelos linfócitos T CD8⁺, B e T CD4⁺ (MILLER, 1998). De acordo com Benschop et al. (1994), o estímulo dos receptores β - adrenérgicos diminui a adesão das células NK ao endotélio. O exercício físico causa efeitos modulatórios temporários sobre o número e função das células imunes. Com relação ao número de células, parece que a modulação causada pelo exercício não permanece por períodos superiores a 24 horas pós-exercício, fato este observado no presente estudo.

Os neutrófilos não sofreram alterações significativas 24 horas após a última sessão de treino (gráfico 7). Os neutrófilos formam a primeira linha de defesa contra infecções, desenvolvendo um importante papel na resposta imune em episódios com danos teciduais.

Rhind et al. (1999) realizaram um estudo no qual 10 homens ativos pedalarão 40 minutos a 65% do $VO_{2\text{pico}}$ com a bicicleta imersa na água em duas ocasiões distintas em uma semana (água quente 39°C e água fria 18°C). Os resultados mostraram aumentos nos granulócitos (88%) ao final de exercício somente no grupo que realizou o ciclismo em água quente, entretanto, após 2 horas de recuperação foi observado aumento na contagem de granulócitos em ambos os grupos se comparado aos valores pré-exercício. As concentrações de catecolaminas estavam aumentadas em ambos os grupos após o exercício, sendo os maiores aumentos observados no grupo exercitado em água quente. Durante a recuperação (2 horas após o exercício) os níveis de catecolaminas retornaram aos valores pré-exercício. Os aumentos na contagem dos granulócitos foram mais associados com alterações na concentração de cortisol do que as alterações das catecolaminas.

Os resultados apresentados por Rhind et al. (1999), servem para orientação de treinadores e atletas com relação à prática esportiva e/ou treinamentos realizados em ambientes quentes, já que, os exercícios físicos realizados nestes ambientes são mais estressantes do que em ambientes mais frios. Os treinamentos realizados pelos atletas do presente estudo tiveram um volume médio de 120 minutos, desta forma, é possível que os atletas durante cada uma das sessões experimentaram temperaturas ambientais que oscilaram de frio para quente e de quente para frio, ou seja, temperaturas menos estressantes e mais estressantes para o atleta.

Peake et al. (2004) demonstraram em seu estudo que o número de neutrófilos circulantes aumentou 62% após 1 hora de corrida a 85% do $VO_{2\text{max}}$ realizada por atletas, esse número continuou aumentando durante a recuperação (1 hora após a corrida). Segundo

Ostrowski et al. (1998) a mobilização de neutrófilos para a circulação é mediada por hormônios o estresse. Scharhag et al. (2005) demonstraram aumentos significativos no número de neutrófilos após 4 horas de corrida, com os valores permanecendo elevados após 1 e 2 horas de recuperação e voltando aos valores pré-exercício com 24 horas de recuperação.

De acordo com Nieman et al. (2005) o exercício induz aumento no número de neutrófilos. A neutrofilia durante o exercício ocorre a partir da mobilização do *pool* marginal (BRENNER et al., 1998), que de acordo com Nagakawa et al. (1998) acontece pelo aumento no débito cardíaco e pelas concentrações aumentadas de cortisol no sangue.

Bonsignore et al. (2002) realizaram um estudo com 16 corredores amadores que realizaram meia maratona (8 corredores) e maratona completa (8 corredores) na 5ª Maratona Internacional de Palermo. Para o grupo que realizou a meia maratona não foi encontrada alteração na contagem de neutrófilos pós-corrída e durante a recuperação (manhã seguinte a manhã da corrida), já para o grupo que realizou a maratona completa foi observado aumento significativo na contagem de neutrófilos pós-corrída com os valores voltando à linha basal após a recuperação.

Nieman et al. (2001) realizaram um estudo com corredores maratonistas que realizaram uma maratona sob duas condições: suplementação com CHO ou placebo. Os resultados mostraram aumentos significativos na contagem de neutrófilos após a corrida e durante a recuperação (90 minutos) somente no grupo placebo. Não foi observada diferença significativa nas concentrações de epinefrina entre grupos, no entanto, as concentrações de cortisol estavam significativamente aumentadas no grupo placebo durante a recuperação, demonstrando que o transito dos neutrófilos sofre mais influencia do cortisol do que da epinefrina.

No presente estudo não foram encontradas alterações significativas na contagem de neutrófilos 24 horas após a realização da última sessão de treino (24 horas de recuperação), estando assim de acordo com os estudos citados acima. A contagem de neutrófilos parece ser alterada de forma significativa durante a realização de exercícios, no entanto, com o término do mesmo, a contagem volta aos valores pré-exercício, indicando que o processo de treinamento não influencia de maneira significativa nestas alterações.

A contagem de monócitos apresentou redução significativa 24 horas após a última sessão de treino (gráfico 8). Os monócitos são precursores dos macrófagos, sendo encontrados livres ou marginados na circulação. Em resposta ao exercício, o número de monócitos aumenta (monocitose) como resultado da desmarginação (SCHARHAG et al., 2005; NIEMAN, et al., 2001; STARKIE et al., 2001; WOODS, 2000; ELIAKIM et al., 1997),

voltando aos valores pré-exercício durante a recuperação (24 horas pós-exercício) (SCHARHAG et al. 2005; SAXTON et al., 2003; STARKIE et al., 2001).

Os monócitos são importantes células efectoras reguladas por linfócitos T e B e por mediadores químicos produzidos pelo SNC e pelo eixo HPA (WOODS, 2000). O estresse do exercício físico parece modular positivamente as funções dos macrófagos, incluindo capacidade fagocítica e citotóxica (ORTEGA; FORNER; BARRIGA, 1997). No entanto, Davis et al. (1997) apresentaram que o exercício de longa duração pode provocar diminuição na atividade de macrófagos alveolares e aumentar a suscetibilidade de infecções em ratos. O exercício físico provoca alterações no número e na funcionalidade de macrófagos, sendo a concentração de cortisol moduladora dessas alterações.

Existem similaridades entre a resposta inflamatória à infecção (OSTROWSKI et al., 1998) e ao dano muscular induzido pelo exercício (HAWKE, 2005). O tecido danificado libera agentes que estimulam e atraem neutrófilos e macrófagos para a área acometida, promovendo a remodelação do tecido danificado. Os macrófagos passam a permear o tecido após um período de 4 a 6 horas do início do processo degenerativo e, gradativamente a população de macrófagos aumenta, passando a ser o tipo celular mais abundante na área lesada após aproximadamente 24 horas (ROBERTSON et al., 1993).

Nieman et al. (2001) demonstraram em seu estudo que a contagem de monócitos não sofreu alterações após uma corrida de 42,2 km (maratona) em corredores suplementados com CHO, no entanto, foi observado aumento significativo nos corredores que não suplementaram com CHO, fato que pode estar relacionado à inibição na liberação do cortisol no grupo suplementado com CHO.

No presente estudo foi encontrada diminuição significativa na contagem de monócitos. Os monócitos são importantes células para o combate as infecções. Nesse sentido, a diminuição na contagem dos monócitos pode ser responsável pelos aumentos na ocorrência de sintomas de ITRS nas duas últimas semanas de treinamento (semanas 7 e 8).

Durante o período de treinamento, o volume e a intensidade passaram por modulações, o que de certa forma pode explicar a diminuição na contagem dos monócitos. Os gráficos 1 e 3 indicam que o volume dos treinos aumentou nas semanas 7 e 8 e a intensidade diminuiu, se considerarmos o efeito somatório de todo o processo de treinamento, podemos dizer que a diminuição na contagem de monócitos pode ser decorrente do maior dano tecidual durante todo o período de treinamento e em maior grau nas duas últimas semanas, promovendo maior recrutamento destas células para os tecidos danificados. O ciclismo de maratona é realizado em terrenos acidentados com descidas rápidas que exigem muito da

musculatura do atleta, desta forma, podemos dizer que o aumento na exigência muscular em função do aumento no volume de treinamento pode ter acarretado em microlesões musculares. Os tecidos possuem enzimas que são liberadas na circulação durante episódios com danos musculares, entre elas temos: lactato desidrogenase (LDH); creatina kinase (CPK). A presença dessas enzimas na circulação, tem sido utilizada como biomarcadores para detecção de danos teciduais relacionados ao exercício (TOTSUKA et al., 2002). No presente estudo não foram realizadas análises de marcadores bioquímicos de dano muscular, o que comprovaria a hipótese de diminuição na contagem de monócitos em função da migração destas para os tecidos danificados.

Com relação à contagem total de linfócitos, não foram observadas alterações significativas 24 horas após a última sessão de treino (gráfico 9).

Starkie; Rolland; Febbraio, (2001) realizaram um estudo com seis homens treinados em endurance que realizaram 20 minutos de ciclismo a $78 \pm 3\%$ $VO_{2\text{pico}}$. Os resultados demonstraram que imediatamente após o exercício a contagem de linfócitos estava significativamente aumentada se comparada aos valores pré-exercício, no entanto, 2 horas após o término, a contagem de linfócitos já havia voltado aos valores pré-exercício. De forma geral o estresse causa aumento temporário no trânsito celular de linfócitos (BENSHOP; RODRIGUEZ-FEUERHAHN; SCHEDLOWSKI, 1996). Ainda no estudo de Starkie; Rolland; Febbraio, (2001) foi demonstrado que o uso de fármaco β bloqueador (propranolol), diminui a desmarginação de linfócitos após exercício em comparação ao grupo controle (sem fármaco), foi demonstrado ainda que após o exercício as concentrações de linfócitos circulantes eram menores se comparado aos valores do grupo controle (sem fármaco) confirmando assim a ação das catecolaminas no processo de desmarginação.

Rhind et al. (1999) demonstraram que após 20 e 40 minutos de ciclismo realizado com a bicicleta imersa em água a contagem de linfócitos está significativamente aumentada estando a linfocitose associada aos aumentos na concentração de adrenalina.

Green; Rowbottom; Mackinnon, (2002) apresentam que o exercício físico é capaz de alterar não só a contagem celular imune, como também a função das mesmas. A diminuição na contagem de linfócitos pode estar associada com alteração na resposta imune, podendo ser consequência da redistribuição, apoptose e capacidade proliferativa celular seguinte a sessões de exercícios físicos. Diminuições na capacidade proliferativa dos linfócitos podem ser explicadas pela diminuição da capacidade mitogênica e alterações no número ou na redistribuição celular das mesmas (GREEN; CROAKER; ROWBOTTOM, 2003).

O exercício físico intenso está associado com danos no Ácido Desoxirribonucléico (DNA) de leucócitos (HARTAMANN et al., 1994). Neste sentido, Mars et al. (1998) realizaram estudo com 11 sujeitos que correram até a exaustão demonstrando através da citometria de fluxo processo de apoptose em 63% dos linfócitos imediatamente após o exercício e ainda de 86,2% com 24 horas de recuperação, concluindo que a linfopenia e a diminuição da imunidade pós-exercício pode estar relacionada com a apoptose.

Scharhag et al. (2005) com objetivo de estudar as alterações causadas pela prática do exercício de longa duração sobre os parâmetros imunológicos, realizaram um estudo com 12 atletas (ciclistas e triatletas) com o protocolo de exercício: ciclismo com velocidade correspondente a 70% da velocidade do limiar anaeróbio (lactato) por 4 horas. Os resultados demonstraram aumentos significativos na contagem de linfócitos pós-exercício, no entanto, durante a recuperação (1 e 2 horas após o exercício), a contagem diminuiu de forma significativa e com 24 horas de recuperação os valores já se encontravam correspondentes aos valores pré-exercício.

A linfocitose (durante) e subsequente linfopenia pós-exercícios físicos são moduladas pela ação de hormônios do estresse com o volume e a intensidade do exercício influenciando nas liberações desses hormônios.

Com relação à contagem de linfócitos T $CD4^+$, $CD8^+$ e relação $CD4^+/CD8^+$, não foram encontradas alterações significativas 24 horas após a última sessão de treino (gráficos 10, 11 e 12).

Os linfócitos T são leucócitos que atuam como mediadores das respostas imunes mediadas por células no sistema imune adaptativo. A imunidade mediada por células é indispensável na resposta imune. A ativação repetida ou intensa de um linfócito T pode levar a célula ao processo de apoptose, sendo esse mecanismo um importante mecanismo de eliminação de células auto-reativas. Uma via de sinalização importante no processo de apoptose, envolve a proteína Fas (CD 95) que é expressa em muitos tipos de células normais ou neoplásica, bem como por linfócitos ativados. A porção extracelular da Fas atua como receptor para uma outra proteína de superfície denominada Fas-ligante (Fas-L) encontrada em células T ativadas. Quando células que expressam essas duas proteínas entram em contato uma com a outra, a célula que possui Fas entra em processo de apoptose. Neste sentido, Mooren; Lechtermann; Volker, (2004) realizaram um estudo com o objetivo de estudar os efeitos da maratona (realizada por 17 atletas) e de um exercício de corrida [exaustivo (80% VO_{2max}) e moderado (60% VO_{2max})] realizado por 10 sujeitos voluntários sobre a apoptose de linfócitos e expressão de receptores e ligantes de membrana. Os resultados demonstraram

aumentos na expressão de receptores Fas em linfócitos imediatamente após a maratona com os valores permanecendo elevados por pelo menos 3 horas e diminuindo após 24 horas de recuperação. A expressão de Fas-L não estava alterada após a maratona, no entanto, aumentou em 200% durante a recuperação (3 horas). Os autores concluíram que o exercício induz a apoptose em linfócitos, sendo esta relacionada com o nível de treinamento dos atletas, pois a apoptose foi induzida somente no grupo de atletas considerados pouco treinados (classificados de acordo com o VO_{2max}) e ainda com o volume e intensidade do exercício (o exercício moderado não induziu a apoptose). As alterações nos receptores Fas e Fas-L demonstram o potencial do exercício em induzir apoptose em linfócitos.

As alterações na contagem de linfócitos pode ocorrer devido a diminuição na proliferação, aumento na apoptose ou ambos.

O equilíbrio entre os linfócitos T $CD4^+$ e T $CD8^+$ é importante para manter a competência do sistema imune contra doenças. Exercícios físicos extenuantes aumentam a suscetibilidade de infecções, sendo alterações na razão $CD4^+/CD8^+$ um dos possíveis mecanismos envolvidos (SHEK et al. 1995).

A relação de 2:1 ($CD4^+/CD8^+$) é uma razão considerada ideal para manter a função imune (ABBAS; LICHTMAN, 2007). Essa razão foi encontrada no início do estudo e novamente ao final do mesmo, demonstrando que o treinamento não afetou a capacidade dos atletas de responderem ao patógenos. A contagem e a razão dos linfócitos T $CD4^+$ e $CD8^+$, estão dentro do intervalo de valores considerados normais de acordo com os valores de referência fornecidos pelo Laboratório Métodos (ANEXO 2)

Hoffman Goetz; Quadrilátero, (2003) demonstraram que a concentração de linfócitos T $CD4^+$ e T $CD8^+$ intestinais de ratos estavam significativamente mais baixa durante a recuperação (24 horas, após 90 minutos de exercício) em comparação com grupo controle. Foi demonstrado também que a concentração de corticosterona estava significativamente aumentada após o exercício, com os valores voltando ao normal com 2 e 24 horas de recuperação. Os autores concluíram que a corrida intensa está associada à redução no número total de linfócitos T $CD4^+$, T $CD8^+$ e linfócitos B na mucosa intestinal de ratos, e ainda com aumentos no número de células T $CD8^+$ em apoptose resultando em imunossupressão da superfície intestinal.

Segundo Peijie et al. (2003) seis semanas de treinamento intenso de natação em ratos foram responsáveis por redução na capacidade proliferativa das células T, sendo indicativos de supressão nas imunidades celular e humoral, reforçando a idéia de que o treinamento exaustivo resulta em maior suscetibilidade a doenças e infecções.

Vale ressaltar que o presente estudo demonstrou aumento na incidência de sintomas de ITRS no final do período de treinamento, o que parece estar relacionado com o aumento no volume de treinamento. Desta forma, parece que o volume de treinamento pode ser um indicador eficiente do possível estado imunológico de atletas ciclistas. No estudo de Tvede et al. (1989) foi demonstrado que 1 hora de exercício em cicloergômetro realizado a 75% do VO_{2max} proporciona diminuição significativa na contagem de linfócitos T $CD4^+$ e na razão $CD4^+/CD8^+$, com os valores voltando ao normal durante a recuperação.

Flynn et al. (1999) realizaram um estudo com duração de 10 semanas nas quais 29 mulheres com idade entre 69 e 84 anos participaram. As mulheres foram divididas em dois grupos: controle (n = 14) e treinamento (n = 15). O protocolo de treinamento consistiu em exercício de resistência (três vezes por semana). As coletas de sangue foram realizadas antes e após o treino e ainda durante a recuperação (2 horas após o exercício) na semana 0 e 10. Os resultados mostraram que após um período de 10 semanas de treinamento não foram observadas alterações na contagem de células T $CD4^+$, $CD8^+$ e na razão $CD4^+/CD8^+$. Os autores concluíram que a função imune estava preservada após 10 semanas de treinamento de resistência.

Nieman et al. (1995) realizaram um estudo com o objetivo de comparar a função imune de atletas e não atletas durante o repouso. Os resultados demonstraram que não existem diferenças na função imune de atletas em comparação com não atletas, concluindo que o treinamento não provê adaptações crônicas na função imune de atletas.

Um estudo realizado por Zhang; Hu; Wang, (2007) demonstrou relação diminuída na razão $CD4^+/CD8^+$ em atletas jogadores de futebol que treinaram ao nível do mar (28 dias) e passaram a noite (10 horas) em um ambiente enriquecido com nitrogênio simulando altitude de 3000 metros. Essa diminuição não foi encontrada no grupo controle que realizou o mesmo treinamento, no entanto, dormiram em ambiente normal. Os autores concluíram que a hipóxia poderia agravar os efeitos do treinamento sobre o sistema imune.

Alterações nas concentrações de linfócitos T $CD4^+$, $CD8^+$ e na razão $CD4^+/CD8^+$ parecem ocorrer após exercícios físicos agudo, no entanto, a contagem parece se normalizar após 24 horas. Alterações na função imune após exercícios físicos estão ligadas ao potencial que o mesmo tem de causar estresse e/ou danos ao organismo. O exercício físico moderado realizado por atletas e não atletas, não acarreta em alterações negativas sobre os leucócitos, de maneira contrária os exercícios exaustivos parecem causar modulações negativas sobre o mesmo, com os atletas sendo menos suscetíveis aos efeitos adversos. No presente estudo não foram observadas alterações na contagem de células T $CD4^+$ e $CD8^+$ e conseqüentemente na

razão CD4⁺/CD8⁺. Este achado pode estar associado ao nível de treinamento dos atletas, dieta balanceada, utilização de suplementos (CHO) durante as sessões de treino, entre outros.

Foi observado diminuição na concentração de cortisol após 8 semanas de treinamento (gráfico 13). Os glicocorticóides são produzidos e secretados pelo córtex adrenal e exercem um importante papel em vários órgãos e sistemas, participando da regulação fisiológica e da adaptação às situações de estresse (FARIA; LONGUI, 2006). Peake et al. (2004) demonstraram em seu estudo com atletas corredores e triatletas aumento significativo do cortisol circulante (290%) imediatamente após 60 minutos de exercício realizado a 85% do VO_{2max}. Os valores permaneceram elevados durante a recuperação (1 hora após a corrida) em comparação com os valores pré-exercício.

Segundo Kohut et al. (2004) a comunicação entre o eixo neuro-endócrino-imune medeia alterações na capacidade responsiva do sistema imune. O exercício físico representa um estímulo sobre o eixo HPA que aumenta a liberação de cortisol na circulação.

Duclos; Gouarne; Bonnemaïson, (2003) demonstraram que a sensibilidade à ação dos glicocorticóides está aumentada em monócitos periféricos de homens treinados em endurance após uma sessão de corrida com intensidade entre 65 e 75% VO_{2max}. No entanto, apresentam dados indicando que o estímulo repetitivo do eixo HPA acarreta diminuição na sensibilidade destas mesmas células, concluindo que os efeitos do exercício nos tecidos sensíveis à ação do cortisol formam um importante mecanismo de adaptação às respostas repetidas da estimulação do eixo HPA.

Lucia et al. (2001) realizaram um estudo com 9 ciclistas do sexo masculino, treinados em endurance, participantes da Volta da Espanha (90 horas de prova) durante um período de quatro semanas com objetivo de estudar a resposta endócrina durante o período de competição. Os resultados demonstraram diminuições significativas nas concentrações de cortisol nas semanas 2, 3 e 4 em relação aos valores pré-exercício (semana 1). As coletas foram realizadas antes do início do estudo e ao final de cada semana de competição (9:00 à 9:30 horas após 9 horas de sono). Os autores concluíram que o exercício exaustivo ocasiona exaustão do córtex supra-renal pela ACTH. De maneira contrária, Park et al. (2005) demonstraram melhora da resposta adrenal de ratos após um período de seis semanas de treinamento de natação com incremento na carga, concluindo que o eixo HPA não é afetado pelo processo de treinamento com incremento na intensidade do exercício.

O exercício físico apresenta efeitos importantes sobre as células do sistema imune, e os fatores neuro-endócrinos parecem mediar essa relação (LEANDRO et al., 2002). Um trabalho realizado por Viru et al. (2001) com uma sequência de vários tipos diferentes de

exercícios (10 minutos de ciclismo a 70% VO_{2max} + 1 minuto de exercício anaeróbio + corrida por 2 horas + 10 minutos de ciclismo a 70% VO_{2max} + 1 minuto de exercício anaeróbio) seguidos um do outro com pequenos intervalos, demonstraram aumentos gradativos na concentração de cortisol durante a sequência de exercícios.

Derijk et al. (1997) demonstraram que após o exercício progressivo realizado até a exaustão, as concentrações de cortisol estavam significativamente elevadas. Segundo Hoffman Goetz; Zajchowski (1999) a exposição de tímócitos (*in vitro*) a corticosterona (concentrações fisiológicas) após exercício moderado induz a apoptose nas mesmas, já Mooren et al. (2002) apresentaram que somente exercícios exaustivos ocasionam apoptose em linfócitos periféricos.

De forma geral o eixo HPA se ajusta durante episódios de estresse e desta forma aumentos nas concentrações séricas de cortisol parecem ocorrer durante e imediatamente após exercícios físicos exaustivos, com os valores retornando a linha basal durante a recuperação. As diminuições nas concentrações séricas de cortisol observadas no presente estudo podem ter ocorrido em função de uma diminuição na sensibilidade da glândula supra-renal a ação do ACTH, embora este não tenha sido avaliado no presente estudo.

A influência do exercício sobre as células do sistema imune acontece com interações dos hormônios do estresse (catecolaminas e cortisol). No presente estudo a correlação entre as concentrações de cortisol e o número de ocorrências de ITRS foi negativa (gráfico 14), indicando que outros fatores podem estar envolvidos com o aumento no número de ocorrência de sintomas de ITRS. Dentre estes fatores podemos citar a diminuição na contagem de monócitos e o aumento na invasão por microorganismos (vírus) pelo trato respiratório superior em função do aumento da ventilação como consequência do aumento no volume de treinamento.

O número de ocorrência de sintomas de ITRS está apresentado na tabela 3. O número de sintomas de ITRS teve uma correlação de 0,51 (gráfico 15) com o volume de treino e de 0,39 (gráfico 16) com a intensidade, demonstrando que a ocorrência de ITRS sofre mais influência do volume do que da intensidade dos treinamentos. Desta forma, o volume dos treinos parece ser o fator que mais influencia nas modulações imunes se comparado à intensidade.

Gleeson et al. (2000) realizaram um estudo com objetivo de avaliar as alterações imunes e a ocorrência de ITRS em nadadores durante um ciclo de treinamento de 12 semanas. Os resultados apresentaram que 45% dos nadadores tiveram alguma infecção durante o

período de treinamento, no entanto, os autores não conseguiram demonstrar correlação entre o número de ocorrências de ITRS com alterações nos parâmetros imunes.

De acordo com Pyne; Gleeson, (1998) o volume e a intensidade dos treinamentos, a dieta e os fatores psicológicos podem influenciar na funcionalidade do sistema imune. No entanto, as alterações nas funções imunes não necessariamente aumentam a incidência de ITRS. Pyne et al. (2000) apresentam em uma revisão estratégias para se evitar ITRS em atletas e entre elas estão: controle do treinamento (volume e intensidade crescentes, com intervalos que possibilitem os atletas se recuperarem); dieta que supra com as necessidades fisiológicas do atleta. A alimentação balanceada fornece ao organismo todos os nutrientes (CHO, lipídios, proteínas, vitaminas e minerais) que participam direta ou indiretamente do metabolismo energético de todas as células do organismo. No presente estudo, os atletas foram orientados quanto à dieta e quanto à suplementação com CHO durante as sessões de treino, desta forma acreditamos que os efeitos negativos do treinamento foram minimizados em função do fornecimento energético adequado a todas as células do organismo e dentre elas as células do sistema imune. Diminuições nas concentrações glicêmicas causam aumentos na liberação dos hormônios do estresse. Uma redução nos níveis glicêmicos estimula a ativação do eixo HPA (NIEMAN, 1998). A suplementação com CHO mantém os níveis glicêmicos atenuando assim aumentos circulantes dos hormônios do estresse, diminuindo assim as alterações na homeostase fisiológica e no sistema imunológico (PEDERSEN et al., 1997).

Nieman et al. (2003) realizaram um estudo comparando os efeitos da suplementação com CHO e placebo sobre os níveis de IL-6 circulantes, cortisol e conteúdo de glicogênio muscular, em dezesseis maratonistas que realizaram 3 horas de corrida a 70% do VO_{2max} . Os resultados mostraram: diminuição de 60% na concentração de cortisol após a corrida em comparação aos valores pré-corrida para o grupo suplementado com CHO concluindo que a suplementação com CHO em comparação ao placebo atenua as elevações na concentração de cortisol.

Putlur et al. (2004) realizaram um estudo com um grupo de atletas e um grupo controle durante um período de 9 semanas, com a proposta de investigar as alterações nas funções imunes (IgA) e hormônios do estresse (cortisol) durante o período competitivo. Foram coletadas amostras de saliva no início de cada semana. Os resultados demonstraram alterações não significativas nas concentrações de IgA e cortisol entre os grupos durante o período de 9 semanas, no entanto, a IgA das atletas estava significativamente mais baixa em relação ao grupo controle no início do estudo (semana 1). Com relação à incidência de doenças, foi demonstrado que o grupo de atletas foi acometido por doenças principalmente

nas primeiras nas primeiras 4 semanas (17 ocorrências). Segundo os autores não existiu nenhuma relação entre as concentrações de IgA e cortisol com o número de ITRS.

Akimoto et al. (2003) demonstraram que um programa de treinamento (exercício aeróbio e resistência) realizado duas vezes por semana durante um período de 12 meses aumenta a concentração de IgA salivar de sujeitos sedentários com idade média de 64,9 anos.

De acordo com Matthews et al. (2002) o exercício realizado de forma regular diminui a incidência de ITRS. Segundo Nieman; Corbin; Pangrazi, (2001); Nieman, (1998) o exercício prolongado altera de forma adversa o sistema imune. Essas alterações acometem vários sistemas do corpo (pulmões, mucosas, sangue).

O risco de se contrair ITRS está duplicado para indivíduos sedentários submetidos a exercícios físicos sob condições extremas, em razão de alterações negativas no sistema imune provocadas por: liberação dos hormônios do estresse (NIEMAN, 1994); linfopenia seguida ao exercício ou supressão das células NK (MARS et al., 1998; BRAUN, VON DUVILLARD, 2004).

O presente estudo demonstrou que as ITRS estavam presentes em quase todas as semanas durante o período de treinamento, no entanto, essas ocorrências tiveram correlação negativa com as concentrações de cortisol, de 0,39 com a intensidade dos treinamentos e de 0,51 com o volume dos treinamentos, desta forma acreditamos que o volume do treinamento é o fator que mais influenciou no número de ocorrências.

Segundo Leandro et al. (2007) as células do sistema imunológico parecem apresentar mecanismos adaptativos de tolerância que permitem melhora da sua função em resposta ao exercício físico regular e de intensidade moderada.

Um estudo realizado por Ferrandez; Maynar; De La Fluente, (1996) com ciclistas da equipe olímpica espanhola que participaram de um programa de treinamento (condicionamento físico geral, treinamento aeróbio, treinamento anaeróbio, treinamento de força, velocidade, técnica e performance de corrida) visando os jogos olímpicos de Barcelona entre o período de fevereiro de 1991 a junho de 1992, demonstraram após o período de treinamento (25 dias antes do início dos jogos olímpicos) que a contagem de linfócitos e neutrófilos não estavam alteradas, assim como a capacidade proliferativa dos linfócitos. Demonstraram ainda que a capacidade de fagocitose dos neutrófilos estava preservada. Os autores concluíram que um programa longo de treinamento para ciclistas olímpicos não induz imunossupressão.

7 CONCLUSÃO

- O exercício físico tem um potencial modulador sobre as variáveis imunológicas, no entanto, até o presente momento não foi demonstrado com clareza qual variável está mais relacionada com o aumento de ITRS durante os períodos de imunossupressão transitória.

- Foi observado diminuição significativa na contagem de monócitos, sugerindo que o aumento no número de sintomas de ITRS nas últimas semanas de treinamento pode estar relacionada à diminuição na contagem destas células. O efeito somatório das cargas de treino durante todo o período de treinamento e ainda, o aumento significativo no volume de treinamento nas duas últimas semanas pode ter ocasionado aumento no número de microlesões musculares nos atletas, colaborando para diminuição na contagem de monócitos 24 horas após a última sessão de treino.

- A concentração de cortisol estava significativamente diminuída, sugerindo uma possível diminuição na sensibilidade da glândula supra-renal a ação do ACTH, ou um menor estresse do exercício devido à suplementação com CHO realizada pelos atletas durante as sessões de treinamento, o que provavelmente levou a um menor estresse fisiológico.

- A imunologia do exercício serve como uma ferramenta adicional no entendimento dos ajustes e adaptações fisiológicas às diferentes cargas de treinamento, o objetivo é fornecer subsídios científicos adicionais para melhor compreensão e controle das cargas de treinamento.

REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H. **Imunologia Básica**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H. **Imunologia Celular e Molecular**. 5ª ed, Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.

AKIMOTO, T.; KUMAI, Y.; AKAMA, T.; HAYASHI, E.; MURAKAMI, H.; SOMA, R.; KUNO, R.; KONO, I. Effects of 12 months of exercise training on salivary secretory IgA levels in elderly subjects. **Br J Sports Med**, v. 37, n. 1, p. 76 - 79, 2003.

BACURAU, R. F. P.; BASSIT, R. A.; SAWADA, L.; NAVARRO, F.; MARTINS Jr, E.; COSTA ROSA, L. F. B. P. Carbohydrate supplementation during intense exercise and the immune response of cyclists. **Clin Nutr**, v. 21, n. 15, p. 423 – 429, 2002.

BENSCHOP, R. J.; RODRIGUEZ-FEUERHAHN, M.; SCHEDLOWSKI, M. Catecholamine-Induced Leukocytosis: Early Observations, Current Research, and Future Directions. **Brain, Behavior and Immunity**, v. 10, n. 2, p. 77 – 91, 1996.

BENSCHOP, R. J.; NIJKAMP, F. P.; BALLIEUX, R. E.; HEIJNEN, C. J. The effects of β - adrenoceptor stimulation on adhesion of human natural killer cells to cultured endothelium. **Br J Pharmacol**, v. 113, p. 1311 – 1316, 1994.

BLACK, P. H. Central Nervous System-Immune System Interactions: Psychoneuroendocrinology of Stress and Its Immune Consequences. **Am Socie Microbiol**, v. 38, n. 1, 1994.

BOHME, M. T. S. Relações entre aptidão física, esporte e treinamento esportivo. **R Bras Ci e Mov**, v. 11, n. 2, p. 87-94, 2003.

BOMPA, T.O. **Periodização: Teoria e Metodologia do Treinamento**. São Paulo: Phorte, 2002.

BONSIGNORE, M. R.; MORICI, G.; SANTORO, A.; PAGANO, M.; CASCIO, L.; BONANNO, A.; ABATE, P.; MIRABELLA, F.; PROFITA, M.; INSALACO, G.; GIOIA, M.; VIGNOLA, A. M.; MAJOLINO, I.; TESTA, U.; HOGG, J. C. Circulating hematopoietic progenitor cells in runners. **J Appl Physiol**, v. 93, p. 1691 – 1697, 2002.

BRAUN, W. A.; VON DUVILLARD, S. P. Influence of carbohydrate delivery on the immune response during exercise and recovery from exercise. **Nutrition**, v. 20, n. 7, p. 645 – 650, 2004.

BRENNER, I.; SHEK, P.N.; ZAMECNIK, J.; SHEPARD, R. J. Stress hormones and the immunological responses to heat and exercise. **Int J Sports Med**, v. 19, p. 130 – 143, 1998.

BROZEK, J.; GRANDE, F.; ANDERSON, J. T. Densitometric analysis of body composition: revision of some quantitative assumptions. **Annals of New York Academy of Science**, v. 110, p.113-140, 1963.

COSTA ROSA, L. F. B. P. Exercise as a Time-conditioning Effector in Chronic Disease: a Complementary Treatment Strategy. **Oxford Journals**, v. 1, n.1, p. 63 – 70, 2004.

DAVIS, J. M.; KOHUT, M. L.; COLBERT, L. H.; JACKSON, D. A.; GHAFFAR, A.; MAYER, E. P. Exercise, alveolar macrophage function, and susceptibility to respiratory infection. **J Appl Physiol**, v. 83, n. 5, p. 1461 – 1466, 1997.

DERIJK, R.; MICHELSON, D.; KARP, B.; PETRIDES, J.; GALLIVEN, E.; DEUSTER, P.; PACIOTTI, G.; GOLD, P. W.; STENBERG, E. M. Exercise and Circadian Rhythm-Induced Variations in Plasma Cortisol Differentially Regulate Interleukin-1 β (IL-1 β), IL-6, and Tumor Necrosis Factor- α (TNF α) Production in Humans: High Sensitivity of TNF α and Resistance of IL-6. **J Clin Endocr and Metab**, v. 82, n. 7, 1997.

DIRETRIZES DO AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE - ACSM PARA OS TESTES DE ESFORÇO E SUA PRESCRIÇÃO. 6^a ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

DUCLOS, M.; GOUARNE, C.; BONNEMAISON, D. Acute and chronic effects of exercise on tissue sensitivity to glucocorticoids. **J Appl Physiol**, v. 94, n. 3, p. 869 – 875, 2003.

DUVILLARD, S. P. V.; BRAUN, W. A.; MARKOFSKI, M.; BENEKE, R.; LEITHAUSER, R. Fluids and Hydration in Prolonged Endurance Performance. **Nutrition**, v. 20, n. 7 – 8, p. 651 – 656, 2004.

ELIAKIM, A.; WOLACH, B.; KODESH, E.; GAVRIELI, R.; RADNAY, J.; BEN-TOVIM, T.; YARON, Y.; FALK, B. Cellular and Humoral Immune Response to Exercise Among Gymnasts and Untrained Girls. **Int J Sports Med**, v. 18, p. 208 – 212, 1997.

FÁRIA, C. D. C.; LONGUI, A. A. Aspectos Moleculares da Sensibilidade aos Glicocorticóides. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 50, n. 6, p. 983 – 995, 2006.

FERRANDEZ, M. D.; MAYNAR, M.; DE LA FUENTE, M. Effects of a Long-Term Training Program of Increasing Intensity on the Immune Function of Indoor Olympic Cyclists. **Int J Sports Med**, v. 17, n. 8, p. 592 – 596, 1996.

FLYNN, M. G.; FAHLMAN, M.; BRAUN, W. A.; LAMBERT, C. P.; BOUILLON, L. E.; BROLINSON, P. G.; ARMSTRONG, C. W. Effects of resistance training on selected indexes of immune function in elderly women. **J Appl Physiol**, v. 86, n. 6, p. 1905 – 1913, 1999.

FRIMAN, G.; WESSLÉN, L. Infections and exercise in high-performance athletes. **Immunol and Cell Biol**, v. 78, n. 5, p. 510 - 522, 2000.

FRY, R. W.; MORTON, A. R.; KEAST, D. Periodisation and the prevention of overtraining. **Can J Sports Scie**, v.17, n.3, p.241-248, 1992.

GAILLARD, R. C. Neuroendocrine-Immune system interactions. The Immune-hypotalamo-pituitary-adrenal axis. **Trends in Endoc Metabol**, v. 7, n. 5, p. 303-309, 1994.

GILMAN, M. B. The use of heart rate to monitor the intensity of endurance training. **Sports Medicine**, v.21, n.2, p.73-79, 1996.

GLEESON, M.; MCDONALD, W. A.; PYNE, D. B.; CLANCY, R. L.; CRIPPS, A. W.; FRANCIS, J. L.; FRICKER, P. A. Immune Status and Respiratory Illness for Elite Swimmers During a 12-Week Training Cycle. **Int J Sports Med**, v. 21, p. 302 – 307, 2000.

GOMES, A. C. **Treinamento Desportivo: estrutura e periodização**. Porto Alegre: Artmed, 2002.

GREEN, K. J.; CROAKER, S. J.; ROWBOTTOM, D. G. Carbohydrate supplementation and exercise-induced changes in T-lymphocyte function. **J Appl Physiol**, v. 95, n. 3, p. 1216-1223, 2003.

GREEN, K. J.; ROWBOTTOM, D. G. Exercise-induced changes to in vitro T-lymphocyte mitogen responses using CFSE. **J Appl Physiol**, v. 95, n. 1, p. 57 - 63, 2003.

GREEN, K. J.; ROWBOTTOM, D. G., MACKINNON, L. T., Exercise and T-lymphocyte function: a comparison of proliferation in PBMC and NK cell-depleted PBMC culture. **J Appl Physiol**, v. 92, n. 6, p. 2390 – 2395, 2002.

GUERRA, Isabela. Importância da Alimentação do Atleta Visando a Melhora da Performance. **Nutrição em Pauta**, n. 55, p 63 - 66, 2002.

GUYTON. A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 11ed, Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.

HACKNEY, A. C.; VIRU, A. Twent-four-hour cortisol response to multiple daily exercise sessions of moderate and high intensity. **Clinical Physiology**, v. 19, n. 2, p. 178 – 182, 1999.

HARGREAVES, M. Metabolic Factors in Fatigue. **Sports Science Exchange**, v. 18, n. 3, p. 1 – 7, 2005.

HARGREAVES, M. Carboidratos melhoram o desempenho. **Sports Science Exchange**, n. 25, p. 1 – 2, 2000.

HARGREAVES, M. Ingestão de carboidratos durante os exercícios: efeitos no metabolismo e no desempenho. **Sports Science Exchange**, n. 25, p. 1 – 5, 2000.

HARTMANN, A.; PLAPPERT, U.; RADDATZ, K.; GRUNERT-FUCHS, M.; SPEIT, G. Does physical activity induce DNA damage? **Mutagenesis**, v. 9, n. 3, p. 269 – 272, 1994.

HAWKE, T. J. Muscle stem cell and exercise training. **Exerc Sport Sci Rev**, v. 33, n. 2, p. 63 – 68, 2005.

HERMAN, C. W.; NAGELKIRK, P. R.; PIVARNIK, J. M.; WOMACK, C. J. Regulating oxygen uptake during high-intensity exercise using heart rate and rating of perceived exertion. **Med Sci Sports Exerc**, v.35, n.10, p.1751-1754, 2003.

HOFFMAN-GOETZ, L.; QUADRILATERO, L. Treadmill exercise in mice increases intestinal lymphocyte loss via apoptosis **Acta Physiol Scand**, v. 179, p. 179 – 189, 2003.

HOFFMAN-GOETZ, L.; ZAJCHOWSKI, S. In vitro apoptosis of lymphocytes after exposure to levels of corticosterone observed following submaximal exercise. **J Sports Med Phys Fitness**, v. 39, p. 269 – 274, 1999.

INGLOT, A. D.; SOBIECH, K. A.; ZIELINSKA-JENCZYLIK, J.; SYPULA, A.; MAJDA, J.; LORENC, M. Development and disappearance of tolerance to induction of interferon and tumor necrosis factor response in athlets treated with natural immunostimulant. **Arch Immunol Ther Exp**, v.40, p.237 - 244, 1999.

JACKSON, A. S.; POLLOCK, M. L. Generalized equations for predicting body density of men. **Br J Nutrition**, v. 40, p. 497-504, 1978.

JEUKENDRUP, A. E.; RABEN, A.; GIJSEN, A.; STEGEN, J. H. C. H.; BROUNS, F.; SARIS, W. H. M.; WAGENMAKERS, A. J. M. Glucose kinetics during prolonged exercise in highly trained human subjects: effect of glucose ingestion. **J Physiol**, v. 2, p. 579 – 589, 1999.

KENDALL, A.; HOFFMAN-GOETZ, L.; HOUSTON, M.; MACNEIL, B.; ARUMUGAM, Y., Exercise and blood lymphocyte subset responses: intensity, duration, and subject fitness effects. **J Appl Physiol**, v. 69, n. 1, p. 251 - 260, 1990.

KOHUT, M. L.; THOMPSON, J. R.; LEE, W.; CUNNICK, J. E. Exercise training-induced adaptations of immune response are mediated by adrenergic receptors in aged but not young mice. **J Appl Physiol**, v. 96, p. 1312 – 1322, 2004.

KOYAMA, K.; KAYA, M.; TSUJITA, J.; HORI, S. Effects of decreased plasma glutamine concentrations on peripheral lymphocyte proliferation in rats. **Eur J Appl Physiol**, v. 77, n. 1 – 2, p. 25 - 31, 1998.

LAURSEN, P. B.; KNEZ, W. L.; SHING, C. M.; LANGILL, R. H.; RHODES, E. C.; JENKINS, D. G. Relationship between laboratory-measured variables and heart rate during an ultra-endurance triathlon. **J Sports Scie**, v.23, n.10, p.1111- 1120, 2005.

LANCASTER, G. I.; KHAN, Q.; DRYSDALE, P. T.; et al. Effect of prolonged exercise and carbohydrate ingestion on type 1 and type 2 lymphocyte distribution and intracellular cytokine production in humans. **J Appl Physiol** v.98, n. 2, p. 565 – 571, 2005.

LANDMANN, R. Beta-adrenergic receptors in human leukocyte subpopulations. **Eur J Clin Invest**, v. 22, p. 30 – 36, 1992.

LEANDRO, C. G.; DE CASTRO, R. M.; NASCIMENTO, E.; PITHON-CURI, T. C.; CURI, R. Mecanismos adaptativos do sistema imunológico em resposta ao treinamento físico. **Rev Bras Med Esporte**, v. 13, n. 5, p. 343 – 348, 2007.

LEANDRO, C. G.; NASCIMENTO, E.; MANHÃES DE CASTRO, R.; DUARTE, J. A.; DE CASTRO, C. M. Exercício físico e sistema imunológico: mecanismos e integrações. **Rev Port Cien Desp**, v. 2, n. 5, p. 80 – 90, 2002.

LUCÍA, A.; DÍAZ, A.; HOYOS, J.; FERNÁNDEZ, C.; VILLA, C.; BANDRÉS, F.; CHICHARRO, J. L. Hormone levels of world class cyclists during the Tour of Spain stage race. **Br J Sports Méd**, v. 35, p. 424 – 430, 2001.

MALM, C.; EKBLÖM, O.; EKBLÖM, B. Immune system alteration in response to increased physical training during a five day soccer training camp. **Int J Sports Med**, v.25, n.6, p.471-476, 2004.

MARS, M.; GOVENDER, S.; WESTON, A.; NAICKER, V.; CHUTURGOON, A. High intensity exercise: a cause of lymphocyte apoptosis? **Biochem Biophys Res Commun**, v. 249, n. 2, p. 366 – 370, 1998.

MARZZOCO, A.; TORRES, B. B. **Bioquímica Básica**. 3ª ed, Rio de Janeiro: Guanabara kogan, 2007.

MATTHEWS, C. E.; OCKENE, I. S.; FREEDSON, P. S.; ROSAL, M. C.; MERRIAM, P.A.; HEBERT, J. R. Moderate to vigorous physical activity and risk of upper-respiratory tract infection. **Med Sci Sports Exerc**, v. 34, n. 8, p. 1242 – 1248, 2002.

MAUGHAN, R.; GLEESON, M.; GREENHAFF, P. L. **Bioquímica do Exercício e Treinamento**. São Paulo: Manole, 2000.

MCARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. **Fisiologia do Exercício, Energia, Nutrição e Desempenho Humano**. 6ª ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

MCMILLAN, K.; HELGERUD, J.; GRANT, S. J.; NEWELL, J.; WILSON, J.; MACDONALD, R.; HOFF, J. Lactate threshold responses to a season of professional British youth soccer. **Br J Sports Med**, v.39, n. 7, p.432–436, 2005.

MILES, M. P.; MACKINNON, L. T.; GROVE, D. S.; WILLIAMS, N. I.; BUSH, J.A.; MARX, J. O.; KRAEMER, W. J.; MASTRO, A. M. The relationship of natural killer cell counts, perforin mRNA and CD2 expression to postexercise natural killer cell activity in humans. **Acta Physiol Scand**, v. 174, p. 317 – 325, 2002.

MILLER, A. H. Neuroendocrine and immune system interactions in stress and depression. **Psychiatr Clin North Am**, v. 21, p. 443 – 463, 1998.

MINETTO, M.; RAINOLDI, A.; GAZZONI, M.; TERZOLO, M.; BORRIONE, P.; TERMINE, A.; SABA, L.; DOVIO, A.; ANGELI, A.; PACCOTTI, P. Differential responses of serum and salivary interleukin-6 to acute strenuous exercise. **Eur J Appl Physiol**, v. 93, p. 679 – 686, 2005.

MITCHELL, J. B.; PIZZA, F. X.; PAQUET, A.; DAVIS, B. J.; FORREST, M. B.; BRAUN, W. A. Influence of carbohydrate status on immune responses before and after endurance exercise. **J Appl Physiol**, v. 84, n. 6, p. 1917-1925, 1998.

MOOREN, F. C.; BLOMING, D.; LECHTERMANN, A.; LERCH, M. .M.; VOLKER, K. Lymphocyte apoptosis after exhaustive and moderate exercise. **J Appl Physiol**, v. 93, n. 1, p. 147 - 153, 2002.

MOOREN, F. C.; LECHTERMANN, A.; VOLKER, K. Exercise-Induced Apoptosis of Lymphocytes Depends on Training Status. **Med Sci Sports Exerc**, v. 36, n. 9, p. 1476-1483, 2004.

MUJIKA, I.; PADILLA, S.; PYNE, D.; BUSSO, T. Physiological Changes Associated with the Pre-Event Taper in Athletes. **Sports Med**, v. 34, n. 13, p. 891 – 927, 2004.

NAGAKAWA, M.; TERASHIMA, T.; D'YACHKOVA, Y.; BONDY, G. P.; HOGG, J. C.; VAN EEDEN S. F. Glucocorticoid-induced granulocytosis: contribution of marrow release and demargination of intravascular granulocytes. **Circulation**, v. 98, p. 2307 –2313, 1998.

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

NIEMAN, D. C. Immunity in athletes: current issues. **Sports Science Exchange**, v. 11, n. 2, p. 1 – 6, 1998.

NIEMAN, D. C. Influence of carbohydrate on the immune response to intensive, prolonged exercise. **Exerc Immunol Rev**, v. 4, p. 64 – 76, 1998.

NIEMAN, D. C. Nutrition, exercise and immune system function. **Clin Sports Med**, v. 18, p. 537-548, 1999.

NIEMAN, D. C.; BRENDLE, D.; HENSON, D. A.; SUTTLES, J.; COOK, V. D.; WARREN, B. J.; BUTTERWORTH., D. E.; FAGOAGA, O. R.; NEHLSSEN-CANNARELLA, S. L. Immune Function in Athletes Versus Nonathletes. **Int J Sports Med**, v. 16, n. 5, p. 329 – 333, 1995.

NIEMAN, D. C.; COBIN, C.; PANGRAZI, B.; Does Exercise Alter Immune Function and Respiratory Infections? **Presid Coun Phys Fit Sports**, série 3, n. 13, p. 1 – 8, 2001.

NIEMAN, D. C.; DAVIS, J. M.; BROWN, V. A.; HENSON, D. A.; DUMKE, C. L.; UTTER, A. C.; VINCI, D. M.; DOWNS, M. F.; SMITH, J. C.; CARSON, J.; BROWN, A.; MCANULTY, S. R.; MCANULTY, L. S. Influence of carbohydrate ingestion on immune changes after 2 h of intensive resistance training. **J Appl Physiol**, v. 96, n. 4, p. 1292-1298, 2004.

NIEMAN, D. C.; DAVIS, J. M.; HENSON, D. A.; RANKIN, J. W.; SHUTE, M.; DUMKE, C. L.; UTTER, A. C.; VINCI, D. M.; CARSON, J. A.; BROWN, A.; LEE, W. J.; MCANULTY, S. R.; MCANULTY, L. S. Carbohydrate ingestion influences skeletal muscle cytokine mRNA and plasma cytokines levels after a 3-h run. **J Appl Physiol**, v. 94, p. 1917 – 1925, 2003.

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

NIEMAN, D. C.; HENSON, D. A.; SMITH, L. L.; UTTER, A. C.; VINCI, D. M.; DAVIS, J. M.; KAMINSKY, D. E.; SHUTE, M. Cytokine changes after a marathon race. **J Appl Physiol**, v. 91, p. 109 – 114, 2001.

NIEMAN, D. C.; JOHANSEN, L. M.; LEE, J. W.; ARABATZIS, K. Infections episodes in runners before and after the Los Angeles Marathon. **J Sports Med Phys Fitness**, v. 30, p. 321-328, 1990.

NIEMAN, D. C.; PEDERSEN, B. K. Exercise and Immune Function: Recent Developments. **Sports Med**, v. 27, n. 2, p. 73 – 80, 1999.

NYBO, L.; SECHER N. H. Cerebral perturbations provoked by prolonged exercise. **Progress in Neurobiology**, v. 72, n. 4, p. 223- 261, 2004.

ORTEGA, E. Neuroendocrine mediators in the modulation of phagocytosis by exercise: physiological implications. **Exerc Immunol Rev**, v. 9, p.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. **J Physiol**, v. 513, n. 3, p. 889 – 894, 1998.

OTTAVIANI, E.; FRANCESCHI, C. The neuroimmunology of stress from invertebrates to man. **Progress in Neurobiology**. v. 48, n. 4 – 5, p. 421 – 440, 1996.

PARK, E.; CHAN, O.; LI, O.; KIRALY, M.; MATTHEWS, S. G.; VRANIC, M.; RIDDELL, M. C.; Changes in basal hypothalamo-pituitary-adrenal activity during exercise training are centrally mediated. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 289, p. R1360 – R1371, 2005.

PARSLOW, T.G.; STITES, D. P.; IMBODEN, J. B. **Imunologia Médica**, 10^a ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

PEAKE, J.; WILSON, G.; HORDERN, M.; SUZUKI, K.; YAMAYA, K.; NOSAKA, K.; MACKINNON, L.; COOMBES, J. S. Changes in neutrophil surface receptor expression, degranulation, and respiratory burst activity after moderate- and high-intensity exercise. **J Appl Physiol**, v. 97, p. 612 – 618, 2004.

PEDERSEN, B. K.; BRUUNSGAARD, H.; KLOKKER, M, KAPPEL, M.; MACLEAN, D. A.; NIELSEN, H. B.; ROHDE, T.; ULLUN, H.; ZACHO, M. Exercise induced immunomodulation – possible roles or neuroendocrine and metabolic factors. **Int J Sports Med**, v. 18, supl 1, 1997.

PEDERSEN, B. K.; HOFFMAN-GOETZ, L. Exercise and the Immune System: Regulation, Integration and Adaptation. **Physiol Rev**, v. 80, n. 3, p. 1055 - 1081, 2000.

PEDERSEN, B. K.; ROHDE, T.; OSTROWSKI, K. Recovery of the immune system after exercise. **Scand Physiol Society**, v. 162, n. 3, p. 325 - 332, 1998.

PEDERSEN, B. K.; STEENSBERG, A.; FISCHER, C.; KELLER, C.; PLOMGAARD, P.; FEBBRAIO M.; SALTIN, B. Searching for the exercise factor: is IL-6 a candidate? **J Muscle Res Cell Motil**, v. 24, n. 2 – 3, p. 113 – 119, 2003.

PEDERSEN, B. K.; TOFT, A. D. Effects of exercise on lymphocytes and cytokines. **Br J Sports Med**, v. 34, p. 246 – 251, 2000.

PEDERSEN, B. K.; WOODS, J.A.; NIEMAN, D. C. Exercise-induced immune changes- an influence on metabolism? **Trends Immunol**, v. 22, n. 9, p. 473 – 475, 2001.

PEIJIE, C.; HONGWU, L.; FENGPENG, X.; JIE, R.; ZHUANG, J. Heavy load exercise induced dysfunction of immunity and neuroendocrine responses in rats. **Life Sciences**, v. 72, p. 2255 - 2262, 2003.

PEREIRA, L. O.; LANCHETA Jr, A. H. Effect of insulin and contraction up on glucose transport in skeletal muscle. **Progress in Biophysics & Molecular Biology**, v. 84, n. 1, p. 1 – 27, 2004.

PITHON-CURI, T. C.; DE MELO, M.P.; DE AZEVEDO, R. B.; ZORN, T. M.; CURI, R. Glutamine utilization by rat neutrophils. Presence of phosphate-dependent glutaminase. **Am J Physiol**, v. 273, n. 4, p. 1124-1129, 1997.

POWERS, S. K.; HOWLEY, E. T. **Fisiologia do Exercício, Teoria e Aplicação ao Condicionamento e ao Desempenho**. São Paulo: Manole, 2006.

PUTLUR, P.; FOSTER, C.; MISKOWSKI, J. A.; KANE, M. K.; BURTON, S. E.; SCHEETT, T. P.; MCGUIGAN, M. R. Alterations of immune function in women collegiate soccer player and collegiate students. **J Sports Sci Med**, v. 3, p. 234 – 243, 2004.

PYNE, D. B.; GLEESON, M. Effects of Intensive Exercise Training on Immunity in Athletes, **Int J Sports Med**, v. 19, p. S183 – S194, 1998.

PYNE, D. B.; GLEESON, M.; MCDONALD, W. A.; CLANCY, R. L.; PERRY JR, C.; FRICKER, P. A. Training Strategies to Maintain Immunocompetence in Athletes. **Int J Sports Med**, v. 21, p. S 51 – S 60, 2000.

QUADRILATERO, J.; HOFFMAN-GOETZ, L. N-Acetyl-L-Cysteine Inhibits Exercise-Induced Lymphocyte Apoptotic Protein Alterations. **Med Sci Sports Exerc**, v. 37, n. 1, p. 53 - 56, 2005.

RHIND, S. G.; GANNON, G. A.; SHEK, P. N.; BRENNER, I. K. M.; SEVERS, Y.; ZAMECNIK, J.; BUGUET, A.; NATALE, V. M.; SHEPHARD, R. J.; RADOMSKI, M. W. Contribution of exertional hyperthermia to sympathoadrenal-mediated lymphocyte subset redistribution. **J Appl Physiol**, v. 87, n. 3, p. 1178 – 1185, 1999.

ROBERTSON, T. A.; MALEY, M. A.; GROUNDS, M. D.; PAPADIMITRIOU, J. M. The role of macrophages in skeletal muscle regeneration with particular reference to chemotaxis. **Exp Cell Res**, v. 207, n. 2, p. 321 – 331, 1993.

ROGERO, M. M.; MENDES, R. R.; TIRAPEGUI, J. Aspectos Neuroendócrinos e Nutricionais em Atletas com Overtraining. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 49, n. 3, p. 359 – 368, 2005

RONSEN, O.; BORSHEIM, E.; BAHR, R.; PEDERSEN, B. K.; HAUG, E.; KJELDSSEN-KRGAH, J.; HOSTMARK, A. T. Immuno-endocrine and metabolic responses to long distance ski racing in world-class male and female cross-country skiers. **Scand J Med Sci Sports**. v. 14, n. 1, p. 39 - 48, 2004.

RONSEN, O.; KJELDTSEN-KRAGH, J.; HAUG, E.; BAHR, R.; PEDERSEN, B.K. Recovery time affects immunoendocrine responses to a second bout of endurance exercise. **Am J Physiol Cell Physiol**, v. 283, n. 6, p. 1612 - 1620, 2002.

ROWBOTTON, D. G.; GREEN, K. J. Acute exercise effects on the immune system. **Med Sci Sports Exerc.** v.32 (Suppl 7): p. 396 - 405, 2000.

RUSHALL, B. S.; BUSCH, J. D. Hematological responses to training in elite swimmers. **Can J Appl Sports Sci**, v. 5, p. 164 – 169, 1980.

SAMULSKI, D. **Psicologia do Esporte**. São Paulo: Manole, 2002.

SAPOLSKY, R. M.; ROMERO, L. M.; MUNICK, A. How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses? Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory, and Preparative Actions. **Endocrine Reviews**, v. 21, n. 1, p. 55 – 89, 2000.

SAXTON, J. M.; CLAXTON, D.; WINTER, E.; POCKLEY, A. G. Peripheral blood leukocyte functional responses to acute eccentric exercise in humans are influenced by systemic stress, but not by exercise-induced muscle damage. **Clin Sci**, v. 104, p. 69 – 77, 2003.

SCHARHAG, J.; MEYER, T.; GABRIEL, H. H. W.; SCHLICK, B.; FAUDE, O.; KINDERMANN, W. Does prolonged cycling of moderate intensity affect immune cell function. **Br J Sports Med**, v. 39, n. 3, p. 171 - 177, 2005.

SHEK, P. N.; SABISTON, B. H.; BUGUET, A.; RADOMSKI, M. W. Strenuous exercise and immunological changes: a multiple-time-point analysis of leukocyte subsets, CD4/CD8 ratio, immunoglobulin production and NK cell response. **Int J Sports Med**, v. 16, n. 7, p. 466 – 474, 1995.

SHEPARD, R. J.; GANNON, G.; HAY, J. B.; SHEK, P. N. Adhesion molecule expression in acute and chronic exercise. **Crit Ver Immunol**, v. 20, n. 3, p. 245 – 266, 2000.

SILVA, A. S. R.; SANTHIAGO, V.; GOBATTO, C. A. Compreendendo o overtraining no desporto: da definição ao tratamento. **Rev Port Cien Desp.** v. 6, n. 2, p. 229-238, 2006.

SMITH D. J. A framework for understanding the training process leading to elite performance. **Sports Medicine**, v.33, n.15, 1103-1126, 2003.

STARKIE, R. L.; ROLLAND, J.; ANGUS, D. J.; ANDERSON, M. J.; FEBBRAIO, M. A. Circulating monocytes are not the source of elevations in plasma IL-6 and TNF- α levels after prolonged running. **Am J Physiol Cell Physiol**, v. 280, p. C769 – C774, 2001.

STARKIE, R. L.; ROLLAND, J.; FEBBRAIO, M. A. Effect of adrenergic blockade on lymphocyte cytokine production at rest and during exercise. **Am J Physiol Cell Physiol**, v. 281, p. C1233 – C1240, 2001.

STEENSBERG, A.; MORROW, J.; TOFT, A. D.; BRUUNSGAARD, H.; PEDERSEN, B. K. Prolonged exercise, lymphocyte apoptosis and F2-isoprostanes. **Eur J Appl Physiol**, v. 87, p. 38 – 42, 2002.

STITES, D. P.; TERR, A. I.; PARSLow, T. G. **Imunologia Médica**. 9ª ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

TANAKA, H.; MONAHAN, K. D.; SEALS, D. R. Age-predicted maximal heart rate revisited. **J Am Coll Cardiol**. v. 37, n. 1, p. 153 – 156, 2001.

TORTORA, G. J.; GRABOWSKI, S. R. **Corpo Humano: Fundamentos de Anatomia e Fisiologia**. 6ª ed, Porto Alegre: Artmed, 2006.

TOTSUKA, M.; NAKAJI, S.; SUZUKI, K.; SUGAWARA, K.; SATO, K. Break point of serum creatine kinase release after endurance exercise. **J Appl Physiol**, v. 93, p. 1280–1286, 2002.

TVEDE, N.; PEDERSEN, B. K.; HANSEN, F. R.; BENDIX, T.; CHRISTENSEN, L. D.; GALBO, H.; HALKJAER-KRISTENSEN, J. Effect of Physical Exercise on Blood Mononuclear Cell Subpopulations and in Vitro Proliferative Responses. **Scand J Immunol**, v. 29, p. 383 – 389, 1989.

VIRU, A. M.; HACKNEY, A. C.; KARELSON, E. V. K.; JANSON, T.; VIRU, M. Influence of prolonged continuous exercise on hormones responses to subsequent exercise in humans. **Eur J Appl Physiol**, v. 85, p. 578 – 585, 2001.

WEIDNER, T.; SCHURR, T. Effect of exercise on upper respiratory tract infection in sedentary subjects. **Br J Sports Med**, v. 37, n. 4, p. 304 - 306, 2003.

WEINECK, J. **Treinamento ideal**. São Paulo: Manole, 1999.

WIKIPÉDIA, A enciclopédia livre.

Disponível em: <http://pt.wikipedia.org/wiki/Ciclismo>

Acesso em: 02 de janeiro de 2009.

WILLIAMS, C. Carbohydrate intake and recovery from exercise. **Science e Sports**, v. 19, p. 239 – 244, 2004.

WOODS, J. A. Exercise and neuroendocrine modulation of macrophage function. **Int J Sports Med**, v. 21, n. 5, p. 24 – 30, 2000.

ZHANG, Y.; HU, Y.; WANG, F. Effects of a 28-Day “Living High – Training Low” on T-Lymphocyte Subsets in Soccer Players. **Int J Sports Méd**, v. 28, p. 354 – 358, 2007.

ANEXO 1. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do projeto: Modulações no Leucograma, contagem de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ e níveis séricos de cortisol após treinamento em ciclistas maratonistas

As informações contidas neste termo foram fornecidas pelo professor Ronaldo Júlio Baganha e objetivam firmar um acordo por escrito, mediante o qual o atleta autoriza sua participação, bem como a utilização das informações obtidas no estudo para divulgação no meio científico, com total liberdade de participação.

Justificativa

A aplicação de um treinamento sistematizado provoca alterações tanto nas estruturas como nas funções orgânicas de seus praticantes. Assim, a performance humana está intrinsecamente ligada a programas de treinamento físico, sendo este, um fator extremamente importante para se atingir objetivo(s) pretendido(s). Sabe-se que os resultados alcançados após treinamento físico sofrem influências de fatores hereditários, ambientais, psicológicos, da especificidade do programa de treinamento entre outros. O conhecimento da ciência do esporte, ligado a fisiologia humana e do exercício é buscar informações científicas de como possibilitar ao atleta a melhor performance possível preservando sua integridade física. Dessa forma o objetivo é atingir o mais alto nível de performance sem que o atleta se depare com graves prejuízos ao seu organismo, dentre estes, a diminuição da resposta imunológica, podendo esta ser responsável por uma menor capacidade defensiva e acarretando em maior susceptibilidade a infecções, principalmente infecções do trato respiratório superior (ITRS), pós-treinamento e ou competições. Vários estudos têm relatado que a atividade e o exercício físico afeta a competência do sistema imunológico, porém estes efeitos variam de acordo com o tempo e a intensidade, sendo que os mecanismos envolvidos não foram completamente elucidados.

Objetivo

O objetivo do presente estudo foi avaliar as modulações nos parâmetros imunológicos após oito semanas de treinamento realizado por ciclistas maratonistas e avaliar o número de sintomas de ITRS a cada semana durante o período de treinamento.

Procedimentos para seleção e coleta dos dados

Serão selecionados para participação no estudo 12 atletas ciclistas, com idade entre 18 e 30 anos residentes na cidade de Pouso Alegre/MG. Os atletas têm experiência em competições de nível estadual e nacional. Cada um dos atletas possui sua própria bicicleta e equipamentos de proteção individual (EPI). Os atletas voluntários a participação no estudo passarão por uma avaliação cardiovascular (Teste ergométrico) a ser realizado na Clínica de Exames do Coração (EXACOR) situada na cidade de Pouso Alegre/MG e posteriormente por uma avaliação médica para avaliação do estado de saúde de cada um. Após a avaliação médica, serão selecionados doze atletas. Os critérios de seleção serão os seguintes: estar apto do ponto de vista cardiovascular após teste ergométrico e avaliação médica; concordar em seguir toda metodologia proposta no estudo; não estar realizando tratamento médico. Após esta seleção inicial, os atletas serão orientados sobre todos os procedimentos adotados no estudo e assinarão um termo de consentimento livre e esclarecido. A confirmação de participação no estudo se dará pela assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. Depois de selecionados, cada um dos atletas passará por uma avaliação física para caracterização da amostra, nesta avaliação serão coletados os seguintes dados: peso corporal (Kg), altura (m), IMC (Kg/m^2) e % de gordura corporal.

Antes do início do estudo e no final das seis semanas de preparação básica, os atletas serão encaminhados ao Laboratório de Análises Clínicas e Hematologia - *Métodos*, situado na cidade de Pouso Alegre/MG, para coleta de amostra de sangue e subsequente análise do hemograma, cortisol circulante e linfócitos T CD4^+ e CD8^+ . O laboratório *Métodos* possui certificado ISO 9001. O dia da coleta será agendado previamente com o laboratório e com os atletas.

Por se tratar de atletas com condições físicas satisfatórias a execução de um programa de treinamento aeróbio, e por está fase de treinamento ser a de menor intensidade, não existem riscos e desconfortos previstos. No entanto, todo desconforto físico será encarado como fadiga sendo o atleta orientado a encerrar as atividades naquele momento. Os atletas

terão liberdade de desistir em participar do estudo em qualquer momento, sem prejuízo algum para o mesmo.

Sigilo e utilização dos dados coletados

É garantido ao atleta o sigilo das informações obtidas durante o estudo. Os resultados serão utilizados para fins de pesquisa.

Ressarcimento e Indenização

As atividades a serem desenvolvidas neste estudo não implicam em custo para os atletas. Entretanto, se surgir alguma despesa decorrente do estudo, esta será fornecida pelo responsável pelo estudo.

Desistência

Os atletas terão liberdade de desistir em participar do estudo em qualquer momento, sem prejuízo algum para o mesmo.

Desta forma, em virtude das informações que me foram apresentadas e esclarecidas referentes aos procedimentos do estudo:

Eu _____,

RG _____, residente a rua _____,

_____, nº _____, Pouso Alegre/MG,

telefone _____, declaro que concordo em participar como voluntário no estudo:

“Alterações no Leucograma, contagem de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ e níveis séricos de cortisol após treinamento em ciclistas maratonistas”.

Declaro ainda que recebi todas as informações referentes aos procedimentos do estudo.

Pouso Alegre, _____ de _____ de 200 ____

Assinatura do atleta: _____

Assinatura do pesquisador responsável

ANEXO 2

Valores de Referência para Leucócitos de acordo com os valores apresentados pelo
Laboratório de Análises Clínicas e Hematologia – Métodos

Leucócitos	Leu T	Neut	Mon	Linf T	L CD4 ⁺	L CD8 ⁺
Valores de Referência	3.500	1.500	70	800	560	330
(nº de células/mm ³)	a	a	a	a	a	a
	10.000	7.000	1.200	4.000	2.700	1.400

Leu T(leucócitos totais), Neut (neutrófilos), Mon (monócitos), L CD4⁺ (linfócitos T CD4⁺), L CD8⁺ (linfócitos T CD8⁺), CD4⁺/ CD8⁺ (relação linfócitos T CD4⁺/ CD8⁺).

ANEXO 3. Tabela utilizada para acompanhamento dos sintomas de infecções do trato respiratório superior durante o período de treinamento.

Sintomas de Infecções do Trato Respiratório Superior - ITRS										
Sintomas de ITRS	ATLETAS									
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10
Coriza										
Febre										
Obstrução Nasal										
Tosse										
Dor de garganta										
Dor de cabeça										
Dor de ouvido										
Outros (descrever observações)										