

Sueli Cristina Schadeck Zago

**ALTERAÇÕES METABÓLICAS,
HORMONAIIS E IMUNOLÓGICAS
INDUZIDAS PELO EXERCÍCIO AGUDO
INTERMITENTE EM DIFERENTES
ESTÁGIOS DO TREINAMENTO EM
NATAÇÃO**

Tese apresentada à
Universidade Federal de São
Paulo – Escola Paulista de
Medicina, para obtenção do
Título de Mestre Profissional em
Fisiologia do exercício

São Paulo
2009

Sueli Cristina Schadeck Zago

**ALTERAÇÕES METABÓLICAS,
HORMONAIIS E IMUNOLÓGICAS
INDUZIDAS PELO EXERCÍCIO AGUDO
INTERMITENTE EM DIFERENTES
ESTÁGIOS DO TREINAMENTO EM
NATAÇÃO**

Tese apresentada à Universidade Federal de
São Paulo – Escola Paulista de Medicina,
para obtenção do Título de Mestre
Profissional em Fisiologia do Exercício

Orientador:
Prof. Dr. Ricardo Mario Arida

São Paulo
2009

Zago, Sueli Cristina Schadeck

Alterações metabólicas, hormonais e imunológicas induzidas pelo exercício agudo intermitente em diferentes estágios do treinamento em natação /Sueli Cristina Schadeck Zago. Presidente Prudente, 2009.
ix, 53f.

Dissertação de Mestrado-Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Mestrado Profissional em Fisiologia do Exercício.

Título em inglês: Metabolic, hormonal and immunological changes induced by acute intermittent exercise at different stages of training in swimming.

1. Sistema Imune. 2. Natação. 3. Glutamina. 4. Linfócitos.

SUMÁRIO

Dedicatórias.....	vi
Agradecimentos.....	x
Resumo.....	xi
1. INTRODUÇÃO	01
2. OBJETIVOS.....	09
3. MÉTODOS.....	10
4. RESULTADOS.....	17
5. DISCUSSÃO.....	20
6. CONCLUSÕES.....	25
7. REFERÊNCIAS.....	26
Abstract	

À DEUS,

professor maior que nos ensina que
depois de “amar”, ajudar é o verbo mais lindo do mundo

Ao meu esposo, Marcio
Companheiro fiel, paixão verdadeira e amor eterno
que me mostra capacidade para lutar
e a felicidade em tê-lo ao meu lado

Aos meus filhos, Luísa e Eduardo
Presentinhos de DEUS, pedacinhos de mim,
Que a cada palavra dita,
me ensinam a melhor viver meus dias...

Aos meus pais,

Nelson e Elza,

Respeito, gratidão e admiração

Por tudo que já fizeram por mim...

As minhas irmãs
Luciane e Paula
pela nossa feliz relação e por
sermos amigas inseparáveis

As minhas amigas Ana Paula e Márcia
que colaboraram ativamente para a elaboração deste trabalho suprimindo minhas
dificuldades com amizade e compreensão e por tornarem prazeroso o nosso convívio
profissional.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Ricardo Mario Arida, pela seriedade em fazer ciência, pela orientação segura e por seu modo de guiar-me na elaboração deste trabalho.

Ao Prof^a. Dr. Jair Rodrigues Garcia Jr pela imprescindível colaboração em todas as etapas deste trabalho, demonstrando sua imensa competência profissional e pelo incentivo.

Aos docentes da disciplina de Imunologia (UNOESTE), pela amizade, companheirismo e longas horas de conversa sobre nossa trajetória científica.

Aos amigos do mestrado pelo convívio, amizade e momentos de descontração e reflexão.

Aos membros do laboratório pela atenção e apoio.

A todos os professores meus amigos que, participaram de minha jornada, valeu.

Às amigas queridas Maria Helena e Márcia que torcem por mim.

À Universidade do Oeste Paulista pelo apoio e condições oferecidas.

A todos que de alguma forma contribuíram, meus agradecimentos.

RESUMO

Vários estudos têm demonstrado a relação entre sistema imunológico e hormonal com o exercício físico e poucos estudos têm analisado esta relação em diferentes intensidades de esforço na natação. O objetivo desta pesquisa foi verificar as alterações metabólicas, hormonais e imunológicas antes e depois de um exercício de natação intermitente agudo com sessões diferentes durante o programa de treinamento. Dezesete nadadores do sexo masculino foram analisados em 3 sessões diferentes de treinamento, utilizando intensidades de 90% (potência anaeróbica – Pan), 70% (potência aeróbica – PAe) e 98% (capacidade anaeróbica – CAn) da velocidade máxima do melhor tempo de prova, resultado proveniente da melhor performance de competição. Amostras sanguíneas foram coletadas no pré e imediatamente após o exercício. Foi encontrado aumento significativo no lactato pós-exercício das três sessões de treinamento, na glicose pós-exercício nas sessões de Pan e PAe, respectivamente. A glutamina aumentou significativamente no PAe e CAn. Foi observado um aumento nas concentrações de cortisol em PAe e em Pan. Os leucócitos aumentaram significativamente depois das três diferentes sessões. Não foram observadas diferenças significativas na concentração das imunoglobulinas e na contagem diferencial dos linfócitos, neutrófilos e basófilos. Os eosinófilos apresentaram diminuição significativa no pós-exercício de PAe e CAn em relação ao Pan e os monócitos não apresentaram alterações significativas no pós-exercício nas três sessões, entretanto entre os tipos de treinamentos ocorreu uma diminuição significativa no PAe. Vários trabalhos revelam evidências das alterações nas concentrações e funções do sistema imune em decorrência do exercício físico. Este apresentou protocolo de treinamento aplicado nos nadadores são adequados para alterar alguns componentes metabólicos, hormonais e leucocitários.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Treinamento Físico

O corpo humano tem a capacidade de se adaptar a várias formas de stress (atividade física, emocional, ambiental, etc.). Sob o ponto de vista fisiológico, o exercício pode impor uma quantidade de estresse significativo ao organismo. A extensão desta resposta, durante e após esforço, depende de vários fatores como a intensidade, duração, tempo de exercício e estado de treinamento do indivíduo (Cardia et al. 2006; Leandro et al., 2007; Nieman, 1997a). Adaptações metabólicas e fisiológicas específicas são requeridas durante o exercício agudo e crônico (Bowers et al., 2008). Neste sentido, é necessário que o exercício físico seja realizado com regularidade, com sobrecargas progressivas e bem dosadas.

Durante o treinamento físico, o sistema energético ativado é determinado pelo intervalo de recuperação e o número de repetições realizadas (Gatti et al., 2004). Portanto, os componentes energéticos ativados pela intensidade do treino podem ser: potência anaeróbica máxima (PAn), capacidade anaeróbica máxima (CAn) e potência aeróbica (PAe) (Issurin et al., 2001).

Um treinamento de potência anaeróbica máxima corresponde a alta intensidade com predominância do sistema fosfagênio, também denominado sistema anaeróbico aláctico, que utiliza o ATP (adenosina trifosfato) e fosfocreatina. Representa a fonte de energia mais rápida disponível para ser usado pelo músculo, sendo responsável pelos movimentos rápidos e vigorosos dos atletas como provas de explosão e potência em que é exigida grande capacidade para realizar trabalhos em curto espaço de tempo e em

poucos segundos (largadas dos velocistas, saltos em altura, lançamentos e arremessos). O ATP não pode ser fornecido de outros tecidos, portanto terá que ser constantemente ressintetizado no interior celular (Fox et al., 1991).

A capacidade anaeróbia máxima sustenta um treino de alta intensidade, trabalha com alta concentração de lactato por um tempo maior. Ao acabar a energia fornecida pelo sistema fosfagênio, para produzir grandes quantidades de lactato, o organismo usará o sistema anaeróbio (Fox et al., 1991). O sistema anaeróbio glicolítico fornece energia predominantemente para exercícios de alta intensidade e curta duração, através da produção de ATP, pela utilização de glicogênio (glicogenólise) e glicose (glicólise) contidos no interior do músculo ativado sem, no entanto, consumir oxigênio (Van Hall, 2000).

O treinamento de potência aeróbia aumenta a capacidade cardiorrespiratória e o número de capilares presentes nos músculos ativos (Issurin et al, 2001). Com a melhora da aptidão aeróbia, espera-se uma menor produção de lactato sanguíneo e assim maior capacidade de eliminação do mesmo após o exercício (Costill et al., 1992). No sistema aeróbio, o déficit de oxigênio é mantido constantemente reduzido, sendo gradativamente compensado durante o exercício (Freitas e Marangon, 2004).

1.2. Alterações Hormonais Induzidas Pelo Exercício Físico

A estimativa do sistema energético dominante em cada treino realizado é essencial para o controle do treinamento (Issurin et al., 2001). A concentração plasmática de hormônios tem sido utilizada em vários esportes para avaliar o desempenho dos atletas (Kokalas et al., 2004), pois os hormônios são essenciais para o exercício na adaptação

aguda ou crônica através da modulação de processos anabólicos e catabólicos (Urhausen et al., 1995).

Diferentes tipos de exercícios podem resultar em diferentes repostas neuroendócrinas (Kraemer et al., 1998). Segundo Mitchell et al. (1998) quando a energia requerida é alta, a resposta de estresse é mais pronunciada, como evidenciado por uma concomitante elevação nos hormônios cortisol, adrenalina e hormônio do crescimento. Durante o exercício físico, a concentração sanguínea de hormônios estressores como a adrenalina, a noradrenalina, o hormônio do crescimento, a B-endorfina e cortisol, estão aumentados (Pedersen, 1996; Karakabey et al., 2005).

O cortisol é um tipo de glicocorticóide, hormônio esteróide produzido pelo córtex da glândula adrenal e regulado pelo eixo hipotalâmico-hipofisário (Maughan, 1999). É um hormônio que funciona como um regulador de muitos sistemas fisiológicos (Keast, 1988). Altas taxas são secretadas nas primeiras horas do dia e baixas taxas a noite (Guyton e Hall, 2006). Sua liberação ocorre em picos sendo que a maioria destes picos ocorre nas primeiras horas da manhã (Brugger, 1998). Baixas concentrações circulantes são detectados pelo hipotálamo, que secreta o hormônio liberador corticotrófico (HCR) na circulação portal da hipófise anterior, liberando o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), estimulador da glândula adrenal que produz assim mais cortisol. Sua concentração costuma se elevar durante o exercício de qualquer intensidade (França et al., 2006), sendo assim de importância primordial para o desempenho no esporte em geral.

1.3. Sistema Imune

O sistema imune é um importante mecanismo de defesa do organismo (Maughan, 1999; Mavehan e Shirreffs, 1996). Todas as células originam-se de uma célula comum pluripotente na medula óssea, a “stem cell” por um processo denominado hematopoiese (Sharp e Koutedakis, 1992; Lin et al., 1993; Stites et al., 2000; Roitt et al., 2003).

Os mecanismos protetores desenvolvidos são divididos em Inato (natural ou inespecífico) e Adaptativo (adquirido ou específico) (Maughan 1999; Forte, 2007). O sistema Imune Inato representa a primeira linha de defesa (Samartín e Chandra, 2001; Abbas e Lichtman, 2005), possui especificidade baixa e é pouco especializado, e também não desenvolve memória; se este sistema falhar no primeiro contato com o antígeno, é ativado o sistema imune Adaptativo que responde diretamente a cada invasor gerando especificidade e “memória”.

Vários tipos celulares representam a imunidade inata. Os monócitos são leucócitos sanguíneos que ao atingir os tecidos se transformam em macrófagos, com a principal função de fagocitose (Mackinnon, 1997; Woods et al., 2000). Devido sua localização, recebem denominações diferentes como, células de Kupffer no fígado, células de Langerhans na epiderme, entre outros.

Os neutrófilos constituem 50-60% dos leucócitos circulantes (Smith, 1997; Curi et al., 1999; Flynn et al., 1999; Newsholme et al., 1999) e tem como função principal a fagocitose (Garcia Jr et al., 2000; Risoy et al., 2003; Abbas e Lichtman, 2005). Constituem mais de 90% dos granulócitos circulantes e podem ser chamados leucócitos polimorfonucleares (PMN) (Silva e Nunes, 2006).

Os eosinófilos constituem 2 a 5% dos leucócitos no sangue (Maughan, 1999). Tem como principal função destruir parasitas helmínticas e participam das hipersensibilidades imediatas (alergias) (Roitt et al., 2003). Embora não seja sua função primária também são capazes de fagocitar (Abbas e Lichthaman, 2005).

Os basófilos representam 0 a 2% dos granulócitos na circulação sanguínea, e os mastócitos são seu equivalente nos tecidos (Maughan, 1999). Contém mediadores químicos, como histamina, que participam da hipersensibilidade imediata (Abbas e Lichthaman, 2005).

Os linfócitos constituem 20 a 25% dos leucócitos circulantes (Garcia Jr et al., 2000). São produzidos nos órgãos linfóides primários (timo e medula óssea, nos adultos)(Maughan, 1999). Durante o desenvolvimento da imunocompetência, adquirem seus receptores específicos além de aprenderem discriminar próprio do não-próprio (Abbas e Lichthaman, 2005). As células podem migrar através da circulação, para os tecidos linfóides secundários (baço, linfonodos, placas de Peyer) conforme sua origem, é classificada em T e B (Garcia Jr et al., 2000; Castell, 2002).

Segundo Maughan (1999), os anticorpos são também denominados de imunoglobulinas (Ig). Estas moléculas se subdividem em 5 classes: a IgM participante da resposta aguda das doenças, IgG participa da resposta imune secundária, IgA é responsável pela proteção local das mucosas, IgE é produzida nas hipersensibilidades e IgD funciona como receptor dos linfócitos B (Stites et al., 2000; Roitt et al., 2003). Cada molécula de anticorpo tem habilidade para encontrar um antígeno específico e auxiliar na sua destruição, servem de ponte entre as moléculas estranhas e as células para destruição por vários mecanismos efetores. Os anticorpos possuem várias funções, sendo as principais: de bloquear a ação tóxica de alguns antígenos (um processo chamado

neutralização), promoverem a ativação do complemento que resulta na fagocitose ou lise antigênica, facilitar a fagocitose pela opsonização do invasor, e proporcionar a citotoxicidade celular dependente do anticorpo (CCDA) (Maughan, 1999).

A glutamina é o mais importante substrato energético para as células do sistema imune, principalmente linfócitos e macrófagos, tanto quanto a glicose (Shephard et al, 1995; Newsholme e Calder, 1997; Garcia Jr e Mortatti, 1998; Nascimento et al, 2005). O músculo esquelético é o maior tecido envolvido na produção de glutamina circulante (Garcia Jr, 2000). A glutamina é liberada no plasma através de um transporte específico de membrana controlado por vários hormônios (Castell, 2002).

1.4. Função Imune e Exercício Físico

O exercício físico causa a produção de hormônios do estresse e alterações do número e função de diversas células do sistema imune, induzindo um padrão de resposta hormonal e imunológica diferentes do estado normal de um organismo (Nash, 1994; Keast et al., 1995; Brugger, 1998; Pedersen, 2000).

Os corticosteróides influenciam o sistema imune e são geralmente considerados imunossupressores (Smith, 1997; Garcia Jr e Mortatti, 1998). Algumas ações principais do cortisol envolvem: aumentar a concentração sanguínea de glicose (estimular a gliconeogênese), atuar no metabolismo protéico e lipídico, resultando numa diminuição da utilização da glicose pelas células musculares e maior disponibilidade para a sua utilização por células imunológicas (Weicker e Werle, 1991; Pedersen et al., 1996).

A quantidade de cortisol liberada pela glândula adrenal depende da intensidade e duração do exercício, do estado de treinamento do atleta, do estado nutricional e do ritmo

circadiano (Weicker e Werle, 1991; Fry e Kraemer, 1997; Perna et al., 1997). Estudos mostraram que a redução nos níveis plasmáticos de glicose está associada a ativação do eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal, com uma maior liberação de hormônios como o cortisol (Nieman, 1998). Segundo Pedersen et al. (1998), a concentração de cortisol aumenta durante o exercício e retorna a valores menores após exercício.

O exercício físico apresenta efeitos variáveis na função imune (Koyama et al., 1998; Jonsdottir, 2000). O exercício físico agudo e intenso afeta profundamente a dinâmica da função imune de forma a aumentar a suscetibilidade às doenças, particularmente às infecções do trato respiratório superior (Fry et al., 1991; Nieman, 1997b; Peters, 1997; Gleeson e Bishop, 2000; Gleeson, 2000; Shephard, 2000; Pedersen et al., 2001; Dias et al., 2007; Vieira 2007).

O efeito do exercício sobre a concentração plasmática de glutamina varia de acordo com a intensidade do esforço (Garcia et al., 2000). A concentração plasmática de glutamina não se altera em exercícios de baixa intensidade, aumenta em esforços moderados, (Walsh et al., 1998; Garcia Jr, 2000) e diminui durante exercício prolongado ou durante o período pós-exercício, o que pode influenciar a imunossupressão (Garcia Jr e Mortatti, 1998; Fontana et al., 2003) causada pelo exercício. A causa dessa diminuição parece ser uma deficiência na produção e liberação de glutamina pelos músculos esqueléticos, provavelmente devido à inibição da glutamina sintetase (Garcia Jr e Mortatti, 1998) assim como na captação e utilização desse aminoácido por outros órgãos (Falduto et al., 1989; Newsholme et al., 1994; Koyama et al., 1998). Castell et al. (1997) demonstraram que depois do exercício prolongado exaustivo, ocorreu uma diminuição na concentração plasmática de glutamina, uma alta utilização pelas células do sistema imune e um aumento na concentração de citocinas plasmáticas, resultando na diminuição da

função imune (Garcia Jr., 2000). Desta forma, após um exercício intenso, a concentração plasmática de glutamina diminui, suprimindo a função imune e tornando o indivíduo mais suscetível a infecções do trato respiratório superior após exercício intenso e prolongado (Yaqoob e Calder, 1997; MacKinnon, 2000). Em vista disto, alguns pesquisadores têm proposto que a concentração de glutamina plasmática seja utilizada na caracterização do excesso de treinamento (Rowbottom et al., 1995).

2. OBJETIVOS

Avaliar as respostas metabólicas (lactato, glicose e glutamina), hormonais (cortisol) e imunológicas em nadadores velocistas submetidos a três protocolos de treinamento diferentes, envolvendo exercício agudo intermitente.

3. MÉTODOS

3.1. Sujeitos

Foram estudados dezessete voluntários do sexo masculino, com idade entre 16 e 20 anos, nadadores de elite e alto nível de condicionamento físico. Foram escolhidos por praticarem o esporte a 4 anos estando envolvidos com treinamentos e competições de natação há pelo menos um ano, sem afastamento dos treinamentos nos últimos 3 meses; e foram excluídos aqueles que tinham qualquer infecção ou outra doença que prejudicasse o treinamento, e também não ter dormido adequadamente na noite anterior ou não ter se alimentado normalmente na manhã da avaliação. Após responderem a questionário escrito sobre histórico de doença familiar e medicamentos em uso, foram informados escrita e verbalmente da natureza, propósito e procedimentos do estudo. Um Termo de Concordância e Consentimento da Participação no estudo com clareza da natureza e riscos mínimos, bem como da utilização dos respectivos dados obtidos para divulgação científica foi assinado por todos os participantes. Os procedimentos do presente estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética da UNOESTE.

3.2. Protocolo de Treinamento

Para investigar as alterações bioquímicas, hormonais e imunológicas causadas por exercícios de diferentes intensidades foram realizadas três diferentes sessões de treinamentos em um intervalo de 6 semanas, sendo a intensidade do exercício determinada pela % do melhor tempo de prova de cada atleta. O primeiro treino foi denominado de potência anaeróbia, o segundo potência aeróbia e o terceiro de capacidade anaeróbia (tolerância à acidose para a produção de energia).

O referido esforço foi aplicado para todos os nadadores por cerca de 60 minutos no mesmo horário em uma piscina com água aquecida (26° C). Todo o desenvolvimento do protocolo foi orientado, executado e controlado com a supervisão de um Professor de Educação Física e não sofreu interferência dos pesquisadores. Nos dias de aplicação dos testes de esforço, a dieta dos mesmos foi a habitual, os mesmos se apresentaram por volta das 6:30 h para organização do treino e da coleta de sangue. Antes da execução da série principal das diferentes sessões de treinamento foi realizado um aquecimento, composto por alongamentos realizados fora da piscina e exercícios dentro da mesma.

A primeira sessão de treinamento, denominada potência anaeróbia (PAn), foi caracterizada por uma intensidade de nado correspondente a 90% da velocidade do melhor tempo de prova individual. A série principal foi composta por 4 baterias de três tiros de 50m cada, e o esforço foi realizado dentro de 1 minuto com intervalo de 1 minuto entre uma bateria e outra. Em seguida, realizaram 8 tiros de 25m dentro de 25 segundos cada um. Logo após, os atletas foram submetidos a coleta de sangue venoso e retornaram à piscina para a realização de uma série de 150 m de nado regenerativo.

Na segunda sessão de treinamento, potência aeróbia (PAe), a intensidade do referido esforço foi correspondente a 70% da velocidade do melhor tempo de prova individual. Os atletas realizaram 4 baterias de 400m dentro de 6 minutos. Ao final das baterias, foi coletado sangue venoso, depois retornaram à piscina onde realizaram 200 m de nado regenerativo.

Na última sessão de treinamento, denominada capacidade anaeróbia (CAn), com intensidade das mesmas a 98% da sua velocidade individual de competição, os atletas fizeram 4 séries de 100 m cada, sendo que entre uma série e outra eles realizavam 200 m de nado regenerativo dentro de 6 minutos (nadavam 200 m e descansavam o restante do

tempo até completar 6 minutos). Em seguida realizavam 2 tiros de 50m cada, também a 98% da sua velocidade máxima de competição, sendo que entre um tiro e outro ocorria um intervalo de 10 segundos. Ao completar os dois tiros, foi coletado sangue venoso e posteriormente realizaram 200 m de nado regenerativo.

3.3. Coleta das Amostras de Sangue e Dosagens Bioquímicas

De cada nadador foi coletada amostras de sangue venoso do braço. Este procedimento foi realizado no pré-exercício (repouso), para a obtenção das concentrações basais. Após a coleta os nadadores foram encaminhados à piscina para o início do teste de esforço, imediatamente após o final da sessão de treinamento realizou-se o mesmo procedimento de coleta, para as concentrações pós-exercício. Foram feitas duas lâminas de esfregaço sanguíneo em cada coleta, para contagem diferencial das células sanguíneas.

As amostras para a medida de glicose, lactato e hemograma foram coletadas com anticoagulante, o cortisol e as imunoglobulinas sem anticoagulante. As amostras foram congeladas e processadas no dia posterior. Os hemogramas foram processados no mesmo dia.

3.4. Métodos Analíticos

Glicose

As dosagens de glicose foram realizadas de acordo com Método Colorimétrico Enzimático, GOD POD, utilizando reagentes Sera-pak, Bayer Diagnostic, EUA, que foram quantificados automaticamente pelo Opera Analyser, Technicon, EUA.

O princípio do método baseia-se no fato de a enzima glicose oxidase ser altamente específica para a glicose que, em presença de oxigênio, converte a glicose em ácido glicônico e peróxido de hidrogênio e numa segunda reação, a enzima peroxidase decompõe o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. O oxigênio liberado oxida o substrato 4-aminoantipirina, resultando na formação de um produto avermelhado, a antipirilquinonimina, cuja intensidade de cor, medida em 505nm, é diretamente proporcional à concentração de glicose presente na amostra (Kaplan, 1988).

Lactato

Para dosagem de lactato foi utilizado o Método Colorimétrico Enzimático (reagente Sentinel, CH, Milão, Itália, produto importado e distribuído pela Merck S.A.), cujo fundamento é baseado na reação de oxidação do lactato pela enzima lactato oxidase produzindo piruvato e peróxido de hidrogênio, e este em presença da enzima peroxidase e do substrato N-etil-N-(2hidroxi-3sulfopropil)-m-toluidina produz um composto colorido, medido em 550nm, cuja intensidade de cor é diretamente proporcional à concentração de lactato na amostra (Livesley, 1974).

Cortisol

O hormônio cortisol é determinado pelo Método Imunométrico quimioluminescente de fase sólida por automação (Immulite, DPC Diagnostic Los Angeles, CA, EUA). A fase sólida é uma pérola de poliestireno presa à unidade teste (tubo de ensaio feito especialmente para este método), recoberta com um anticorpo policlonal de coelho específico para cortisol.

Durante o ensaio, a amostra de soro e fosfatase alcalina conjugada com cortisol são colocadas na unidade teste e incubadas por 30 minutos à 37°C com intermitente agitação. Nesta etapa, o cortisol da amostra compete com o aquele marcado com a enzima por um número limitado de sítios de ligação do anticorpo presente na pérola de poliestireno. Posteriormente, o cortisol marcado com enzima que não se ligar à pérola e resíduos da amostra são removidos com lavagem por centrifugação. Numa próxima etapa, o substrato é adicionado à unidade teste e incubado por 10 minutos.

O substrato é um éster fosfato de adamantil dioxetano, substrato luminogênico, que é hidrolisado na presença da fosfatase alcalina formando um produto intermediário instável. A produção contínua deste intermediário resulta em emissão de luz sustentada, e bastante precisa, a luz emitida pode ser lida depois de 2 minutos até 2 horas após a formação do produto. O complexo ligado, é proporcional à produção de fótons e é medido por um luminômetro, sendo inversamente proporcional à concentração de cortisol na amostra, ou seja, quanto mais cortisol marcado participar na reação, menor a concentração de cortisol contido na amostra (Migeon, 1990).

Imunoglobulinas

As dosagens de IgG, IgA e IgM foram realizadas pelo método turbidimétrico, através de antisoro de cabra específico, utilizando reagentes Bayer Diagnostic, EUA, que foram quantificados automaticamente (Opera Analyser, Technicon, EUA).

O princípio deste método é baseado no fato de que uma proteína em exame (antígeno) reagir com anticorpo específico, na presença de polietilenoglicol, formando-se rapidamente imunocomplexos precipitantes. Se existir um grande excesso de anticorpo, estes precipitados dão lugar a uma turbidez que está em relação com a concentração de

proteína da amostra. A turbidez se mede fotometricamente em um comprimento de onda de 340nm. Com as absorbâncias obtidas na análise de uma série de calibradores se constrói uma curva de calibração, onde se concentra a proteína da amostra (Price, 1983) .

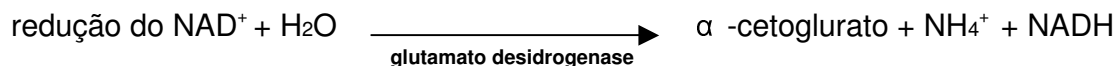
Glutamina

A glutamina plasmática foi determinada utilizando metodologia descrita por Lund, 1985; em duas etapas:

Reação A: desaminação da L-glutamina para L-glutamato



Reação B: desidrogenação do L-glutamato para α -cetoglutarato acompanhada pela



A conversão de NAD^+ para NADH foi medida espectrofotometricamente em comprimento de onda de 340 nm, sendo esta conversão proporcional à quantidade de L-glutamina inicial.

Glóbulos Brancos

No hemograma, a contagem dos glóbulos brancos do sangue é por impedância elétrica que passam pela abertura do canal dos glóbulos brancos no CELL-DYN 1400. Cada célula é retirada através da abertura, e a mudança da resistência elétrica ocorre geralmente em equivalência ao pulso de voltagem. O número de pulsos sentido em cada ciclo corresponde a contagem do número de glóbulos brancos. A amplitude de cada pulso é diretamente proporcional ao volume das células presentes.

O CELL-DYN 1400 usa o tamanho para determinar as duas distintas subpopulações de células brancas. As células correlacionadas com linfócitos são incluídas na subpopulação celular pequena. As células correlacionadas com os granulócitos são incluídas na população de células grandes. Os monócitos, eosinófilos, basófilos, blastos, e outros precursores de células brancas são geralmente incluídas na região de células grandes com os granulócitos. Todos os dados são transferidos para o computador do CELL-DYN 1400 para o seu processamento (Shapiro, 1984; ICSH, 1988; Spring, 1990).

Coloração das lâminas

As lâminas de sangue foram realizadas no local da coleta e depois de secas acondicionadas em laminários apropriados com separações individuais. Todas foram coradas ao mesmo tempo com corante de Leishman, específico para a contagem celular. A observação foi realizada em microscópio óptico na objetiva de 100 vezes com óleo de imersão. A contagem diferencial das células nas lâminas é feita contando 100 células, assim obtemos os valores relativos em porcentagem de cada tipo celular.

3.5. Análise Estatística

Os resultados deste trabalho foram expressos como média \pm desvio padrão da média ($\bar{x} \pm DP$). Inicialmente, foi realizado o teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov, e as variáveis das amostras analisadas apresentaram distribuição normal. A análise estatística foi determinada utilizando ANOVA two way, para verificar o efeito do treinamento, das condições pré e pós-exercício e da interação entre eles em relação aos resultados das variáveis estudadas. Os níveis de significância foram ($p < 0,05$). Neste caso foi utilizado o post-hoc de Bonferroni”.

4. RESULTADOS

Os resultados de todas as dosagens estão apresentados como média \pm DP, comparando três sessões de treinamentos (3ST) baseados na velocidade percentual do menor tempo de prova de cada atleta com protocolos de exercício de intensidade diferentes, assim representados por PAn (potencial anaeróbio), PAe (potencial aeróbio) e CAn (capacidade anaeróbia).

TABELA 1. Lactato, glicose, glutamina e cortisol antes do exercício (pré) e depois do exercício (pós) em diferentes protocolos de treinamento (PAn, PAe e CAn) durante um macrociclo pré-competitivo.

	PAn		PAe		CAn	
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós
Lactato (mmol•l ⁻¹)	1.04±0.22	6.76±1.67 ^a	0.76±0.22	5.57±2.08 ^{a b}	1.16±0.97	8.01±0.78 ^{a b c}
Glicose (mg•dl ⁻¹)	84.75±10,19	104.8±18,94 ^a	86.07±14.22	111.3±29.31 ^a	81.69±12.24	94.30±15.44
Glutamina (μmol•mi ⁻¹)	1.41±0.65	1.26±0.25	0.90±0.34	1.18±0.37 ^a	1.02±0.41	1.39±0.31 ^a
Cortisol (μg•dl ⁻¹)	29.27±7.29	31.07±7.66	23.82±6.65	31.69±9.11 ^a	25.83±6.11	39.53±12.91 ^a

Post-hoc comparação entre os grupos (95%, intervalo de confiança): ^a vs pré, ^b vs Potência Anaeróbica e ^c vs Potência Aeróbia

a = diferença significativa da condição pré e pós

b = diferença significativa da condição pós em relação ao Potencial Anaeróbico

c = diferença significativa da condição pós em relação ao Potencial Aeróbico

A dosagem de lactato pós-exercício aumentou significativamente ($p < 0,05$) em relação ao repouso (Tabela 1), sendo o maior aumento representado na sessão de CAn. Não ocorreram diferenças significativas entre os valores de repouso e entre os valores pós-exercício.

Na concentração plasmática de cortisol não foram observadas alterações significativas em repouso e pós-exercício de PAn, porém ocorreu um aumento significativo ($p < 0,05$) em PAe e em CAn pós-exercício (Tabela 1).

A glicose aumentou significativamente ($p < 0,05$) no pós de PAn e PAe em relação ao repouso, mas sem alterações significativas no pós entre os três tipos de treinamento.

A concentração de glutamina não alterou significativamente pós-exercício em PAn. Nos treinamentos de PAe e CAn observou-se aumento significativo ($p < 0,05$), sendo em CAn uma elevação maior em comparação com PAe. Ao comparar os valores de repouso nas 3ST observou-se uma pequena diminuição de PAn para PAe. Não foram encontradas alterações nos valores pós-exercício comparando as 3ST.

TABELA 2. As células sanguíneas pré e pós exercício em três protocolos de treinamento diferentes (PAn, PAe e CAn) durante um macrociclo pré-competitivo de natação.

	PAn		PAe		CAn	
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós
LEUCÓCITOS	6,16±1,36	8,06±1,70 ^a	6,11±1,94	9,84±4,38 ^{a b c}	7,04±1,67	10,51±3,26 ^{a b c}
NEUTRÓFILOS	53,94±10,73	54,88±8,32	56,35±6,52	58,81±8,02	57,44±7,3	59,13±9,33
EOSINÓFILOS	4,18±2,24	1,65±1,32 ^a	1,82±1,19	1,25±0,45 ^{a b c}	2,44±1,36	1,63±0,72 ^{a b c}
BASÓFILOS	0,29±0,47	0,35±0,49	0,18±0,39	0,0±0,0	0,0±0,0	0,13±0,34
LINFÓCITOS	35,24±9,06	34,71±10,01	37,0±5,43	35,94±8,25	36,63±7,37	35,06±8,77
MONÓCITOS	5,24±2,73	6,59±2,09	4,71±1,57	4,0±1,26 ^c	3,63±1,45	3,94±1,06

Post-hoc comparação entre os grupos (95%, intervalo de confiança): ^a vs pré, ^b vs Potência Anaeróbica e ^c vs Potência Aeróbica

a = diferença significativa da condição pré e pós

b = diferença significativa da condição pós em relação ao Potencial Anaeróbico

c = diferença significativa da condição pós em relação ao Potencial Aeróbico

A Tabela 2 apresenta os valores das células sanguíneas pré e pós-exercício em três protocolos de treinamento. Nas 3ST ocorreu aumento significativo ($p < 0,05$) do repouso com o pós-exercício. No repouso das 3ST, não ocorreu aumento significativo de CAn em relação à PAn e PAe. PAe e CAn apresentaram um aumento significativo em relação ao PAn no pós-exercício ($p < 0,05$).

Não foram observadas alterações dos neutrófilos e linfócitos nas 3ST, pós-exercício (Tabela 2). Ocorreu uma diminuição dos eosinófilos nas 3ST pós-exercício, quando comparado com o repouso. No pós-exercício, PAe e CAn apresentaram diminuição significativa em relação ao PAn ($p < 0,05$).

Não foram observadas alterações significativas dos monócitos pós-exercício nas 3ST em comparação com o estado pré. Entretanto, quando os diferentes tipos de treinamentos foram analisados, observou-se uma diminuição significativa no PAe em relação ao PAn e CAn ($p < 0,05$) (Tabela 2).

Os valores das imunoglobulinas IgA, IgG e IgM, não alteraram significativamente entre o estado pré e pós-exercício, assim como entre os 3ST (Tabela 3).

Tabela 3. Valores de imunoglobulinas durante um macrociclo pré-competitivo, pré e pós exercício em três protocolos diferentes de treinamento (PAn, PAe e CAn).

	PAn		PAe		CAn	
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós
IgA	220,29± 58,21	215,19± 59,06	270,12± 52,63	272,75± 54,91	250,80± 59,13	302,69± 67,51
IgG	1186,71±181,41	1143,29±156,73	1262,0±209,12	1260,75±199,23	1161,40±311,21	1427,13±248,43
IgM	122,0± 60,49	112,47± 58,32	138,35± 99,0	136,8±110,33	125,13± 83,56	157,31±126,22

Não houve diferenças significativas.

5. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nesta pesquisa mostraram alterações metabólicas, hormonais e imunológicas em diferentes estágios do treinamento em natação. A dosagem de lactato e cortisol sanguíneos mostraram-se significativamente elevadas no pós-exercício das três sessões de treinamento, com maior aumento em CAn por ter sido o protocolo de maior intensidade. No repouso das três sessões de treinamento, não ocorreram alterações para tais parâmetros analisados. Outros trabalhos sugerem o lactato como estimulador da secreção de cortisol, importante glicocorticóide regulador secretado pelo córtex da glândula adrenal (Nogueira et al., 2002). Os fatores regulatórios neuroendócrinos tem função fundamental no desenvolvimento e função do sistema imune que regulam a imunidade natural e a adaptativa. Portanto o sistema endócrino funciona como um modulador da resposta imune (Cardia et al., 2006; Alves e Palermo-Neto, 2007).

A glutamina, um importante combustível para algumas células do sistema imune, principalmente os linfócitos e macrófagos (Rohde et al., 1996; Rowbotton et al., 1996; Castell e Newsholme, 1997; Walsh et al., 1998; Curi et al., 1999; Garcia Jr, 2000; Castell, 2002) e Shepard e Shek (1995) relataram que a glicose, também é um substrato utilizado pelas mesmas células e aumentam após os exercícios intensos e exaustivos. Neste estudo, a glutamina obteve um comportamento que variou entre as sessões do pós-exercício devido a intensidade do treinamento exercida em cada um. PAe e CAn aumentaram significativamente em relação ao repouso. Os resultados de repouso mostraram-se normais nas três sessões. Portanto, constatou-se que a intensidade do treinamento não foi um fator que poderia alterar a glutamina, uma vez que o volume do

exercício é um componente importante para provocar alterações significantes da glutamina sanguínea.

Em relação às células sanguíneas de defesa, representada pelos leucócitos, obtive-se um aumento significativo em todas as sessões de treinamento em relação ao pré-exercício. No pós-exercício, os treinamentos PAe e CAn apresentaram um aumento maior em relação ao PAn.

Neste estudo observamos que ocorreu uma leucocitose durante as três sessões de treinamento, alterando a composição percentual de alguns tipos celulares residentes no sangue, entretanto, nem todas com resultados significativos, podendo tal fato estar relacionado com uma dependência da intensidade do exercício.

O exercício estressante aumenta marcadamente o número de células brancas (leucócitos) na circulação (Nagel et al., 1992; Mavehan e Shirreffs 1996; Castell, 2000; Natale et al., 2003; Vieira 2007). Sabe-se que as alterações na contagem leucocitária, podem ser decorrentes de exercício realizado com treinamento agudo (Brines et al., 1996; Silva e Nunes, 2006), podendo significar uma positiva adaptação orgânica (Crespilho et al., 2006). Isto pode ser explicado pelo fato dos leucócitos apresentarem expressão de receptores para hormônios estressores (Brugger, 1998, Leandro et al., 2002; Cardia et al., 2006). A mudança nas concentrações plasmáticas de leucócitos se deve a alterações hormonais e provavelmente metabólicas e fisiológicas decorrentes do tipo de exercício exercido no músculo (Pedersen et al., 1997). De acordo com a intensidade do exercício, a leucocitose aumenta linearmente, e isto pode acontecer em decorrência da resposta hormonal (Shinkai et al. 1996).

Nesta pesquisa, não foram mostradas alterações no sistema imune com efeitos modulatórios importantes, embora tenha ocorrido aumento significativo no número dos

leucócitos, pois não foram observadas mudanças na contagem diferencial dos tipos celulares, como têm sido evidenciado em outros estudos.

Os neutrófilos e linfócitos deste estudo não se alteraram entre os três tipos de treinamentos, assim como na condição pré e pós-exercício. Um estudo realizado por Rohde et al (1996), também não observou alterações nas células linfocíticas em triatletas. Não foi encontrada diferença significativa na contagem diferencial destes tipos celulares no grupo estudado, diferindo dos apresentados na literatura. Provavelmente, a ausência de diferença significativa nesta pesquisa esteja relacionada com o protocolo de treinamento físico utilizado, uma vez que a frequência e intensidade do esforço são aspectos importantes para interferir sobre as populações leucocitárias. Ainda, o fato da coleta de sangue ter sido realizada imediatamente a saída dos atletas da piscina, pode explicar estes resultados, pois o aumento de algumas células tem início pelo menos após 30 minutos o início do exercício.

Neste estudo, o número de neutrófilos não alterou significativamente, talvez por não ter ocorrido lesão muscular (Pizza et al. 2005, Scheneider, 2007), ou porque a mobilização destas células é intermediada pela dependência da intensidade do exercício relacionada com a secreção de cortisol (Suzuki, 1999).

Ao contrário deste estudo, existem evidências de que o estresse provocado pelo exercício intenso e prolongado induz aumento da atividade das células do sistema imune, sendo relacionado principalmente com linfocitose (Bruunsgaard e Pedersen, 2000) e mobilização das células "Natural Killer" (Mackinnon e Hooper, 1996; Kohut et al, 2001, Santos et al., 2006). Contudo, estudos têm demonstrado que o número e atividade dessas células circulantes são transitórios e, no intervalo de 30 a 60 minutos após o final do

exercício a sua contagem retorna aos valores encontrados em repouso (Garcia Jr e Mortatti, 1998), (Mavehan e Shirreffs, 1996).

Entre as células sanguíneas, os linfócitos B, ao se diferenciarem em plasmócitos formam as moléculas de imunoglobulinas (efetoras da resposta imunológica). Pesquisas têm mostrado que atletas treinados possuem os níveis de imunoglobulinas séricas em repouso dentro de valores normais de referência (Nieman, 1993). Estudos recentes mostraram que nadadores de elite, durante o exercício agudo, possuem níveis de IgA, IgG e IgM 10% abaixo dos valores de referências clinicamente normais, em decorrência da diminuição da função linfocitária (Pedersen et al., 1996). Em exercícios agudos, o aumento das imunoglobulinas séricas pode estar devidamente relacionado com a diminuição do volume plasmático. Neste estudo, não se observou alteração das imunoglobulinas e nem do volume plasmático demonstrado através do hematócrito (Sharp e Koutedakis, 1992; Maughan, 1999). O protocolo utilizado nesta pesquisa não sugere alterações imunológicas específicas em relação aos anticorpos no sistema imune.

Os eosinófilos apresentaram uma diminuição significativa no pós-exercício das três sessões de treinamento e em relação ao repouso. A diminuição na contagem de eosinófilos se deve a intensidade do exercício, determinado pelo programa de treinamento que aumenta a migração dos outros tipos celulares da medula óssea (Gabriel et al., 1997). Aumentos nos níveis deste tipo celular poderiam indicar a presença de estresse ou “overtraining” (MacKinnon, 1997; Gabriel et al., 1998; Rogatto et al., 2002), o que não aconteceu nesta pesquisa. Os basófilos não sofreram alterações significantes nas diferentes condições de exercício.

Os monócitos não alteraram significativamente nas três sessões de treinamento em relação ao pré e pós-exercício, mas entre os treinos observou-se uma diminuição

significativa em PAe. Diferente desta pesquisa, outros estudos mostraram que no exercício agudo, o cortisol plasmático pode aumentar a migração e o número de receptores dos monócitos (Oliveira et al., 2002; Okutsu et al., 2008), e isto acontece em indivíduos bem treinados (Malm et al., 2004). O exercício pode também modificar alguns dos receptores de quimiocinas e selectinas das células monocíticas (Hong e Mills, 2008). É provável que tal fato tenha acontecido pelo tipo de exercício realizado.

Dados clínicos e epidemiológicos mostram que em exercício intenso em atletas, aumentam os riscos de infecções do trato respiratório superior devido a mudanças negativas na função imune e elevação dos hormônios estressores, como a adrenalina e o cortisol. É importante ressaltar que isto acontece principalmente em atletas de elite (Gleeson e Pyne, 2000; Nieman, 2000). Dependendo do esforço realizado, a glutamina pode não sofrer alterações significantes (Keast et al., 1995). A redução na disponibilidade de glutamina talvez seja suficiente para reduzir a reatividade imunológica e induzir os atletas ao risco de infecções (Brugger, 1998; Vieira 2007). Essa imunodepressão do organismo em geral, após um exercício intenso, pode ser mediada pelos efeitos da temperatura elevada, das citocinas, e dos vários hormônios relacionados ao estresse, tais como adrenalina, GH, cortisol e beta-endorfinas (Malm et al., 2004; Peres e Koury, 2006).

Várias pesquisas revelam evidências das alterações nas concentrações e funções do sistema imune em decorrência do exercício físico. Esta pesquisa, demonstrou que o protocolo de treinamento aplicado nos nadadores são adequados para alterar alguns componentes metabólicos, hormonais e leucocitários.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos a partir do presente estudo sugerem que atletas submetidos ao exercício físico de natação proposto, demonstrou que o protocolo de treinamento aplicado nos nadadores não tiveram um potente estímulo imunológico, mas foram adequados para alterar componentes metabólicos, hormonais e alguns leucocitários; e foi possível observar que:

1. O protocolo de treinamento utilizado é capaz de estimular componentes metabólicos, sendo este acompanhado por um maior aumento nas concentrações de lactato em CAn, aumento de glicose principalmente nos treinos de PAn e PAe e glutamina em PAe e CAn;
2. Representando os componentes hormonais foi verificada a concentração plasmática de cortisol, que obteve aumento significativo nos treinamentos de PAe e CAn, assim como a glutamina conhecida como combustível das células do sistema imune;
3. A alteração do sistema imunológico é observada pelo aumento de alguns componentes como os leucócitos, que se apresentaram aumentados nos três tipos de treinamentos e com significância em PAe e CAn como aconteceu também com o cortisol e a glutamina. As células sanguíneas como neutrófilos e linfócitos não sofreram mudanças nos três protocolos de treinamento assim como as imunoglobulinas e houve diminuição significativa dos eosinófilos nos treinamentos de PAe e CAn e os monócitos somente em PAe;
4. Podemos observar que o aumento de alguns componentes imunológicos podem ter acontecido em decorrência da resposta aumentada do cortisol, um hormônio estressor, devido o estímulo do exercício físico aplicado.
5. E não se pode descartar a possibilidade de que os componentes metabólicos e a glutamina também aumentaram pela resposta do cortisol.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abbas AK, Lichtman AH. *Imunologia celular e molecular*. 5ª Ed. Rio de Janeiro Elsevier;2005.

Afonso M, Souza CN, Zagatto AM, Luicano E. Respostas metabólicas agudas ao exercício físico moderado em ratos Wistar 2003;9(2):83-88.

Alves GJ, Palermo-Neto J. Neuroimmunomodulation: the cross-talk between nervous and immune systems. *Rev. Bras. Psiquiatr* 2007;29(4):363-69.

Bowers SL, Bilbo SD, Dhabhar FS, Nelson RJ. Stressor-specific alterations in corticosterone and immune responses in mice. *Brain, Behavior, and Immunity* 2008;22(1):105-113.

Brines R, Hoffman-Goetz L, Pedersen BK. Can you exercise to make your immune system fitter? *Immunology Today* 1996;17(6):252-4.

Brugger NAJ. Respostas imunes agudas ao exercício aeróbio contínuo e cíclico. *Atividade Física e Saúde* 1998;3(4):49-65.

Bruunsgaard H, Pedersen BK. Effects of exercise on the immune system in the elderly population. *Immunology and Cell Biology* 2000;78:523-531.

Cardia JLA, Castro JPSW, Peçanha R, Figueiredo PRC, Castro BD. Exercício e ciclo circadiano induzem variações na contagem de leucócitos sanguíneos em jovens jogadores de futebol. *Arquivos em Movimento* 2006;2(2):55-67.

Castell LM, Newsholme EA. The Effects of Oral Glutamine Supplementation on Athletes After Prolonged, Exhaustive Exercise. *Nutrition* 1997;13:738-742.

Castell LM, Poortmans JR, Leclercq R, Brasseur M, Coelho CW, Araújo CGS. Relação entre aumento da flexibilidade e facilitações na execução de ações cotidianas em adultos participantes de programa de exercício supervisionado. *Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano* 2000.

Castell LM, Poortmans JR, Leclercq R, Brasseur M, Duchateau J, Newsholme EA. Some aspects of the acute phase response after a marathon race, and the effects. *Eur. J. Appl Physiol Occup Physiol* 1997;75(1):47-53.

Castell LM. Can glutamine modify the apparent immunodepression observed after prolonged, exhaustive exercise ? *Nutrition* 2002;18:371-375.

Costill DL, Maglischo EW, Richardson AB. *Swimming*. FINA Blackwell Scientific Publications.1992.

Crespilho DM, Paulf JR, Leite JACA, Luciano E. Effects of physical training on metabolic and immunology aspects in rats administered with dexamethasone. *Biosci. J.* 2006;22(2):109-118.

Curi R, Newsholme P, Pithon-Curi TC, Pires de Melo M, Garcia C, Homem BJPI, Guimarães ARP. Metabolic fate of glutamine in lymphocytes, macrophages and neutrophils. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 1999;32:15-21.

Dias R, Frollini AB, Prestes J, Ferreira CKO, Donatto FF, Verlengia R, Palanch AC, Cavaglieri CR. Efeito do exercício agudo de curta duração em leucócitos circulantes e linfócitos teciduais de ratos. *Ver. bras. Educ. Fís. Esp* 2007;21(3):229-43.

Dishman RK, Warren JM, Hong S, Bunnell BN, Mougey EH, Meyerhoff JL, Jaso-Friedmann L, Evans DL. Treadmill exercise training blunts suppression of splenic natural killer cell cytotoxicity after footshock. *J. Appl. Physiol.* 2000;88:2176-2182.

Domingues MR, Araújo CLP, Gigante DP. Knowledge and perceptions of physical exercise in an adult urban population in Southern Brazil. *Cad. Saúde Pública* 2004;20(1):204-15.

Duchateau J, Newsholme EA. Some aspects of the acute phase response after a marathon race, and the effects of glutamine supplementation. *Eur J. Appl Physiol* 1996;vol 75;pp 47-53.

Falduto MT, Young AP, Smyrniotis G, Higgs RC. Reduction of glutamine synthetase mRNA in Hypertrophied skeletal muscle. *American Physiological Society* 1992; R1131-R1136.

Ferreira CKO, Prestes J, Donatto FF, Vieira WHB, Palanch AC, Cavaglieri CR. Acute effects of short-duration exercise on the phagocytic capacity of peritoneal macrophages in sedentary rats. *Rev. bras. Fisioter* 2007;11(3)

Flynn MG, Fahlman M, Braun WA, Lambert CP, Bouillon LE, Brolinson PG, Armstrong W. Effects of resistance training on selected indexes of immune function in elderly women. *American Physiological Society* 1999;1905-1913.

Fontana KE, Valdes H, Valdissera V. Glutamina como suplemento ergogênico. *R. bras. Ci. e Mov.* 2003;11(3):91-96.

Forte WCN. *Imunologia: do básico ao aplicado*, 2ª Edição, Artmed 2007, Porto Alegre, RS.

Fox EL, Bowers RW, Foss ML. *Bases fisiológicas da Educação Física e dos Desportos*. 4ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991:10-27.

França SC, Barros Neto TL, Agreste MC, Lotufo RB, Kate CE. Resposta divergente da testosterona e do cortisol séricos em atletas masculinos após uma corrida de maratona. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* 2006;50(6):1082-1087.

Freitas AL, Marangon AFC. Consumo excessivo de oxigênio após atividade física – EPOC: uma breve explicação. *Ciências da Saúde* 2004;2(2):291-306.

Fry AC, Kraemer WJ. Resistance exercise overtraining and overreaching. *Sports med* 1997; 23(2):106-124.

Fry RW, Morton AR, Keast D. Acute intensive interval training and T-lymphocyte function. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 1991;339-345.

Gabriel HHW, Kindermann W. The Acute Immune Response to Exercise: What Does It Mean? *Int. J. Sports Med.* 1997;18 (Suppl.1):S28-S45.

Gabriel HHW, Urhausen A, Valet G, Heidelberg U, Kindermann. Overtraining and immune system: a prospective longitudinal study in endurance athletes. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 1998;30(7):1151-7.

Garcia JR Jr, Mortatti AL. Overtraining: Aspectos Fisiológicos. *Treinamento Desportivo* 1998;3(3):73-84.

Garcia JR Jr, Phiton-Curi TC, Curi R. Consequências do exercício para o metabolismo da glutamina e função imune. *Revista Brasileira Med. Esporte* 2000;3:99-107.

Garcia JR Jr. Exercício Físico, Metabolismo de Aminoácidos e Função Imune. *Uniará* 2000;8:115-124.

Gatti RGO, Erichsen OA, Melo, SIL. Respostas fisiológicas e biomecânicas de nadadores em diferentes intensidades de nado. *Rev. Bras. Cineantropom Desempenho Hum.* 2004 6(1):26-35.

Gleeson M, Bishop NC. Modification of immune responses to exercise by carbohydrate, glutamine and anti-oxidant supplements. *Immunology and Cell Biology* 2000;78:554-561.

Gleeson M, Bishop NC. Immunology. In: MAUGHAN, Basic and Applied Sciences for Sports Medicine 1999;199-236.

Gleeson M, Pyne DB. Exercise effects on mucosal immunity. Immunology and Cell Biology 2000;78:536-544.

Gleeson M. Immune function in sport and exercise. J. Appl. Physiol. 2007;103:693-699.

Gleeson M. Overview: Exercise immunology. Immunology and Cell Biology 2000; 78:483-484.

Guyton AC, Hall JE. Tratado de Fisiologia Médica. 11^a ed. Traduzido por Martins BA et al. Rio de Janeiro:Elsevier;2006.

Hoffman-Goetz L, Pedersen BK. Exercise and the immune system: a model of the stress response? Immunology Today 1994;15(8)382-387.

Hong S, Mills PJ. Effects of an exercise challenge on mobilization and surface marker expression of monocyte subsets in individuals with normal vs. elevated blood pressure. Brain, Behavior, and Immunity 2008;22(4):590-99.

International Council for Standardization in Haematology (ICSH). The Assignment of Values to Fresh Blood Used for Calibrating Automated Cell Counters, Clinical and Laboratory Hematology 1988,10:203-212.

Issurin VB, Kaufman LE, Tenebaum G. Modeling of velocity regimes for anaerobic and aerobic power exercises in high-performance swimmers. J. Sports Med Phys Fitness. 2001,41(4):433-440.

Jonsdottir IH. Neuropeptides and their interaction with exercise and immune function. *Immunology and Cell Biology* 2000;78:562-570.

Kaplan A, Szabo LL, Opheim KE. *Clinical Chemistry: Interpretation and Techniques*. Philadelphia: Lea & Febiger,1988:288-293.

Karacabey K, Saygin O, Ozmerdivenli R, Zorba E, Godekmerdan A, Bulut V. The effects of exercise on the immune system and hormones in sportswomen. *Neuroendocrinol Lett* 2005;26(4):361-366.

Keast D, Arstein D, Harper W, Fy RW, Morton AR. Depression of plasma glutamine concentration after exercise stress and its possible influence on the immune system. *The Medical Journal of Austrália* 1995;162:15-18.

Keast D, Cameron K, Morton AR. Exercise and Immune Response. *Sports Medicine* 1988;5:248-267.

Kiss MAPDM, Bohme MTS, Mansoldo AC, Degaki E, Regazzini M. Desempenho e Talento Esportivos. *Rev. Paul. Educação Física* 2004;18:89-100.

Kohut ML, Boehm GW, Moyniban JA. Moderate exercise is associated with enhanced antigen-specific cytokine, but not IgM antibody production in aged mice. *Mechanisms of Ageing and Development* 2001;12:1135-1150.

Kokallas N, Tsalis G, Tsigilis N, Mougis V. Hormonal responses to three training protocols in rowing. *Eur J Appl Physiol*.2004,92:128-132.

Koyama K, Kaya M, Tsujita J, Hori S. Effects of decreased plasma glutamine concentrations on peripheral lymphocyte proliferation in rats. *Eur J Appl Phisiol* 1998;77:25-31.

Kraemer,WJ; Häkkinen K; Newton RU; McCormick M;Nindl BC; Volek JS; Gotshalk LA; Fleck S; Campbell WW, GordonSE; Farrell PA; Evans WJ. Acute hormonal responses to heavy resistance exercise in younger and older man.Eur j Appl Occup Physiol.77(3),1998,206-211.

Leandro CG, Castro RM, Nascimento E, Pithon-Curi TC, Curi R. Mecanismos adaptativos do sistema imunológico em resposta ao treinamento físico. Revista Brasileira de Medicina do Esporte 2007;13(5):343-348.

Lima HC. Role of regulatory T cells in the development of skin diseases. An Bras Dermatol 2006;81(3):269-81.

Lin YS, Jan MS, Chen HI. The Effect of Chronic and Acute Exercise on Immunity in Rats. Int. J. Sports Med 1993;14(2):86-92.

Lund P, Williamson DH. Inter-tissue nitrogen fluxes. British Medical Bulletin 1985;41(3): 251-256.

Mackinnon LT, Hooper SL, Jones S, Gordon RD, Bachmann AW. Hormonal, immunological, and hematological responses to intensified training in elite swimmers. Med Sci. Sports Exerc 1997; 29(12):1637-1645.

Mackinnon LT, Hooper SL. Plasma glutamine and upper respiratory tract infection during intensified training in swimmers. Med Sci Sports Exerc. 1996;28(3):285-290.

Mackinnon L.T. Overtraining effects on immunity and performance in athletes. Immunology and Cell Biology 2000;78:502-509.

Mackinnon LT. Immunity in Athletes. Int. J. Sports Med 1997;18:S62-S68.

Mackinnon LT. Current challenges and future expectations in exercise immunology: back to the future. *Medicine and Science in Sports and exercise* 1994;191-196.

Malm C, Ekblom O, Ekblom B. Immune system alteration in response to two consecutive soccer games. *Acta Physiol Scand* 2004;180:143-155.

Maughan RJ. *Basic and Applied Sciences for Sports Medicine*. Butterworth Heinemann 1999, 1^a ed.

Mavehan RJ, Shirreffs SM. *Biochemistry of exercise IX human kinetics*. Aberdesn Scotland 1996.

Migeon C.J, Lanes R.L., Adrenal cortex: hypo and hyperfunction. IN Litshitz F(ed): *Pediatric Endocrinology, A Clinical Guide*, second edition. Marcel Dekker INC, New York 1990;333-352.

Mitchell J, Pizza FX, Paquet A, Davis BJ; Forrest MB, Braun WA. Influence of carbohydrate status on immune responses before and after endurance exercise. *American Physiological Society* 1998;1917-1925.

Nascimento SB, Sousa RB, Martins MJB, Gomes AS, Souza MHLP, Guerrant RL, Cunha FQ, Ribeiro RA, Brito GAC. Glutamine depletion potentiates leucocyte-dependent inflammatory events induced by carrageenan or *Clostridium difficile* toxin A in rats. *Blackwell Publishing Ltd, Immunology* 2005;116:328-336.

Nagel D, Seiler D, Franz H. Biochemical, Hematological and Endocrinological Parameters during Repeated Intense Short-Term Running in Comparison to Ultra-Long-Distance Running. *Int. J. Sports Med.* 1992;13(4):337-343.

Nash MS. Exercise and immunology. *Official Journal of the American College of Sports Medicine* 1994;125-127.

Natale VM, Brenner IK, Modoveanu AI, Vasiliou P, Shek P, Shephard RJ. Effects of exercise on blood leukocyte count during and following exercise. *São Paulo Medical Journal* 2003;121(1):9-14.

Newsholme EA, Calder PC. The Proposed Role of Glutamine in Some Cells of the Immune System and Speculative Consequences for the Whole Animal. *Nutrition* 1997;13:728-730.

Newsholme EA, Curi R, Pithon-Curi TC, Murphy CJ, Garcia C, Pires-de-Melo M. Glutamine metabolism by lymphocytes, macrophages, and neutrophils: Its importance in health and disease. *J. Nutr. Biochem.* 1991;10:316-321.

Newsholme EA, Leech T, Duester G. *Keep on Running: The Science of Training and Performance*. Chichester: John Wiley & Sons, 1994.

Newsholme EA, Pithon-Curi TC, Pires-de-Melo M, Homem-de-Bittencourt Jr PI, Guimarães ARP. Metabolic fate of glutamine in lymphocytes, macrophages and neutrophils. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 1999;32:15-21.

Nieman DC, Nehlsen-Cannarella, SL, Fagoaga, OR, Henson DA, Utter A, Davis JM, Williams F, Butterworth, DE. Effects of mode and carbohydrate on the granulocyte and monocyte response to intensive, prolonged. *Journal of Applied Physiology* 1998;84(4):1252-1259.

Nieman DC. Exercise effects on systemic immunity. *Immunology and Cell Biology* 2000;78:496-501.

Nieman DC, Pedersen BK. Exercise and Immune Function. *Sports Medicine* 1999;75-80.

Nieman DC. Influence of carbohydrate on the immune response to intensive, prolonged exercise. *Exercise Immunological* 1998;4:64-76.

Nieman DC. Exercise Immunology: Practical Applications. *Int. J. Sports Med* 1997a; 18(S1):91-100.

Nieman DC. Immune response to heavy exertion. *The American Physiological Society* 1997b;161:7567-7597.

Nieman DC. Effect of Long-Term Training on the Immune System and on Resistance to Infectious Diseases. *Biochemistry of Exercise* 1996;9:383-398.

Nieman DC. Exercise, upper respiratory tract infection, and the immune system. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 1993;128-139.

Nogueira GP, Barnabe RC, Bedran-de-Castro JC, Moreira AF, Fernandes WR, Mirandola RMS, Howard L. Serum cortisol, lactate and creatinine concentrations in Thoroughbred fillies of different ages and states of training. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci* 2002;39(1):54-57.

Okutsu M, Suzuki K, Ishijima T, Peake J, Higuchi M. The effects of acute exercise-induced cortisol on CCR2 expression on human monocytes. *Brain, Behavior, and Immunity* 2008.

Oliveira CAM, Rogatto GP, Luciano E. Efeitos do treinamento físico de alta intensidade sobre os leucócitos de ratos diabéticos. *Rev Bras Méd Esporte* 2002;8(6):219-224.

Pedersen BK, Bruunsgaard H, Klokke M, Maclean DA, Nielsen HB, Rohde T, Ullum H, Zacho M. Exercise-Induced Immunomodulation – Possible Roles of Neuroendocrine and Metabolic Factors. *Int. J. Sports Med.* 1997;18:S2-S7.

Pedersen BK, Hoffman-Goetz L. Exercise and the Immune system: regulation, integration, and adaptation. *Physiological Reviews* 2000;80(3):1055-1081.

Pedersen BK, Nieman DC. Exercise immunology: integration and regulation. *Immunology Today* 1998;19(5):204-206.

Pedersen BK, Rohde T, Ostrowski. Recovery of the immune system after exercise. *Acta Physiol Scand* 1998;162:325-332.

Pedersen BK, Rohde T, Zacho M. Immunity in athletes. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness* 1996;36:236-245.

Pedersen BK, Woods JA, Nieman DC. Exercise-induced immune changes – an influence on metabolism? *Trends Immunol.* 2001;22(9):473-5.

Pedersen BK. Exercise and cytokines. *Immunology and Cell Biology* 2000;78:532-535.

Pedersen BK. Acute, Time-Limited Exercise Stress and the Immune System: Role of Stress Hormones. *Biochemistry of Exercise* 1996;9:377-382.

Peres PM, Koury JC. Zinc, Immunity, Nutrition and Exercise. *Ceres* 2006;1(1):9-18.

Perna FM, Schneiderman N, La Parriere A . Psychological Stress, Exercise and Immunity. *Int. J. Sports Med.* 1997;18(S1):S78-S83.

Peters EM. Exercise, Immunology and Upper Respiratory Tract Infections. *Int. J. Sports Med.* 1997;18(S1):S69-S77.

Pizza FX, Peterson JM, Baas JH, Koh TJ. Neutrophils contribute to muscle injury and impair its resolution after lengthening contractions in mice. *J. Physiol.* 2005;562(3):899-913.

Price CP, Spencer K. and Whicher J. Light-scattering immunoassay of specific proteins: a review. *Ann Clin Biochem* 1983;20:1-14.

Ribeiro JP. Limiares Metabólicos e Ventilatórios durante o exercício. Aspectos fisiológicos e metodológicos. Arq. Bras. Cardiol. 1995;64(2):171-181.

Risoy BA, Raastad T, Hallén J, Lappegard KT, Baeverfjord K, Kravdal A, Siebke EM, Benestad HB. Delayed leukocytosis after hard strength and endurance exercise: aspects of regulatory mechanisms. BMC Physiol. 2003;3:14.

Rogatto GP, Luciano E. Leukocytes profile of rats (*Rattus norvegicus albinos, Wistar*) submitted to chronic exercise. Biosci J. 2002;18(1):51-63.

Rohde T, Maclean DA, Hartkopp A, Pedersen BK. The immune system and serum glutamie during a triathlon. Eur. J. Appl Physiol 1996;74:428-434.

Roitt I, Brostoff J, Male D, Gubert IC. Imunologia. 6ª edição. Editora Manole;2003.

Rosa LFPBC, Vaisberg MW. Influências do exercício na resposta imune. Rev. Bras. Méd. Esporte 2002;8(4):167-172.

Rowbottom DG, Keast D, Garcia-Webb P, Morton A. Training adaptation and biological changes among well-trained male triathletes. Oficial Journal of the American College of Sports Medicine 1997:1233-1239.

Rowbottom DG, Keast D, Goodman C, Morton AR. The haematological, biochemical and immunological profile of athletes suffering from the overtraining syndrome. Eur J Appl Physiol 1996;70:502-509.

Rushall BS. Haematological responses to training in elite swimmers. Can J Appl Sports Sci 1980;5:164.

Samartin S, Chandra RK. Obesity, overnutrition and the immune system. *Nutrition Research* 2001;21:243-262.

Santos JAR, Candeias J, Magalhães MC. Alterações imunológicas e antropométricas induzidas por uma ultramaratona em Kayak. Um estudo de caso. *Ver Port Cien Desp* 2006;6(2):143-153.

Shapiro, Howard, *Practical Flow Cytometry*, 1984.

Sharp NCC, Koutedakis Y. Sport and the overtraining syndrome: Immunological aspects. *British Medical Bulletin* 1992;48(3):518-533.

Shephard RJ, Rhind S, Shek PN. Exercise and the Immune System. *Sports Med* 1994;18(5):340-369.

Shephard RJ, Shek PN. Heavy Exercise, Nutrition and Immune Function: Is There a Connection? *Int. J. Sports Med.* 1995;16:491-497.

Shephard RJ. Overview of the epidemiology of exercise immunology. *Immunology and Cell Biology* 2000;78:485-495.

Shinkai S, Shore S, Shek PN, Shephard RJ. Acute Exercise and Immune Function. *Int. J. Sports Medicine* 1992;13:452-461.

Shinkai S, Watanabe S, Asai H, Shek PN. Cortisol response to exercise and post-exercise suppression of blood lymphocyte subset counts. *Int J Sports Med* 1996;17(8):597-603.

Silva AI, Nunes EA. Contagem leucocitária em árbitros profissionais antes e após partidas oficiais de futebol. *Fitness & Performance Journal* 2006;5(2):65-69.

Smith JA. Exercise Immunology and Neutrophils. *Int. J. Sports Med.* 1997;18(1):S46-S55.

Spring. Clinical Applications of Flow Cytometry, ASCP National Meeting, 1990.

Stites D, Terr AI, Praslow TG. *Imunologia Médica*, 9ª ed., Editora Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro, 2000.

Tuan TC, Hsu TG, Fong MC, Hsu CF, Tsai KKC, Lee CY, Kong CW. Deleterious effects of short-term, high-intensity exercise on immune function: evidence from leucocyte mitochondrial alterations and apoptosis. *British Journal of Sports Medicine* 2008;42:11-15.

Urhausen A, Gabriel H, Kindermann W. Blood Hormones as markers of Training Stress and Overtraining. *Sports Med* 1995;251-276.

Van Hall G. Lactate as a fuel for mitochondrial respiration. *Acta Physiol Scand* 2000; 168:643-656.

Vieira AK. Hormonal, immunological and physiological changes during the overtraining state. *Revista Brasileira de Nutrição Esportiva* 2007;1(2):23-29.

Walsh NP, Blannin AK, Clark LC, Robson PJ, Gleeson M. The effects of high-intensity intermittent exercise on the plasma concentrations of glutamine and organic acids. *Eur. J. Appl Physiol* 1998;77:434-438.

Watanabe SS, Asai H, Sheck PN. Cortisol response to exercise and post-exercise suppression of blood lymphocyte subset counts. *Int J Sports Med* 1996;17(8):597-603.

Watford M, Darcy-Vrillon B, Duée PH. Dietary Glutamine Suppresses Endogenous Glutamine Turnover in the Rat. *Metabolism* 2000;49(1):141-145.

Weicker H, Werle E. Interaction between hormones and immune system. *International Journal of Sports Medicine* 1991;12(1):S30-7.

Windmueller HG, Spaeth AE. Uptake and metabolism of plasma glutamine by small intestine. *J Biol Chem* 1974;249:5070-9.

Woods JA, Ma Ceddia LU, Lowder T. Exercise-induced modulation of macrophage function. *Immunology and Cell Biology* 2000;78:545-553.

Yalcin O, Bor-Kucudatay M, Senturk UK, Baskurt. OK. Effects of swimming exercise on red blood cell rhology in trained and untrained rats. *Journal applied Physiology* 2000;88(6):2074-2080.

Yaqoob P, Calder DPC. Glutamine requirement of proliferating T lymphocytes. *Nutrition* 1997;13(7-8):646-652.

ABSTRACT

The effect of physical exercise in immune function has been extensively studied. The intensity and duration of physical exercise have considerable influence in immunologic parameters. However, few studies have compared different exercise intensities in different stages of a physical training program. To this point, we aimed to verify the metabolic, hormonal and immunologic changes before and after acute intermittent swimming exercise following different stages of training program. Seventeen male swimmers were analyzed in three stages of training, using the intensity of the three sessions was 90% (anaerobic potency – ANP), 70% (aerobic potency - AEP) and 98% (anaerobic ability – ANA) of the maximal speed from the best time of the distance, resulted from peak performance in competition. Blood samples were collected pre and immediately after exercise. Lactate increased significantly after the three different stages of training program, glucose post exercise in the ANP and AEP sessions, respectively. Glutamine increased significantly in AEP and ANA. Increased cortisol levels were also observed in AEP and in ANP. Leukocytes increased significantly after the three different sessions. There were no significant differences in lymphocytes, neutrophils e basophils. The eosinophils decreased in AEP and ANA. Monocytes no significant differences after the three different stages of training program, however decreased significantly on AEP. The immunoglobulins did not change of the three exercise patterns of pre and post-exercise. In summary, the protocol intermittent swimming exercise following different stages of training the alterations capacity metabolic, hormones parameters and leukocytes any populations, favoring however health condition, so illnesses to not present.