



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

NESTOR PERSIO ALVIM AGRICOLA

**PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E CONCENTRAÇÃO
DE ÓXIDO NÍTRICO SALIVAR EM ATLETAS DE JIU
JITSU: UM ESTUDO OBSERVACIONAL**

**GOIÂNIA – GO
2016**



TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS (TEDE) NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: Dissertação Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor (a):	Nestor Persio Alvim Agrícola		
E-mail:	nestoralvim@hotmail.com		
Seu e-mail pode ser disponibilizado na página?	<input checked="" type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	
Vínculo empregatício do autor	UFG Regional Jataí		
Agência de fomento:		Sigla:	
País:	Brasil	UF:GO	CNPJ:
Título:	Parâmetros hematológicos e concentração de óxido nítrico salivar em atletas de Jiu Jitsu: um estudo observacional		
Palavras-chave:	Óxido nítrico; Hematologia; Exercício Físico; Saliva; Jiu Jitsu		
Título em outra língua:	Haematological parameters and salivary nitric oxide concentration in Jiu Jitsu Athletes: an observational study		
Palavras-chave em outra língua:	Nitric oxide; Hematology; Physical exercise; Saliva; Jiu Jitsu		
Área de concentração:	Dinâmica do processo Saúde Doença		
Data defesa: (dd/mm/aaaa)	09 de maio de 2016		
Programa de Pós-Graduação:	Ciências da Saúde		
Orientador (a):	Dr ^a Lidia Andreu Guillo		
E-mail:	Lidia.guillo@gmail.com		
Co-orientador (a):			
E-mail:			

3. Informações de acesso ao documento:

Liberação para disponibilização?¹ total parcial

Em caso de disponibilização parcial, assinale as permissões:

Capítulos. Especifique: _____

Outras restrições: _____

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O Sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Data: 20 / 05 / 2016

Assinatura do (a) autor (a)

¹ Em caso de restrição, esta poderá ser mantida por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Todo resumo e metadados ficarão sempre disponibilizados.

NESTOR PERSIO ALVIM AGRICOLA

**PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E CONCENTRAÇÃO
DE ÓXIDO NÍTRICO SALIVAR EM ATLETAS DE JIU
JITSU: UM ESTUDO OBSERVACIONAL**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás, para obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Lidia Andreu Guillo.

**GOIÂNIA – GO
2016**

FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha catalográfica elaborada automaticamente
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob orientação do Sibi/UFG.

Agricola, Nestor Persio Alvim

Parâmetros hematológicos e concentração de óxido nítrico salivar em atletas de Jiu Jitsu: um estudo observacional [manuscrito] / Nestor Persio Alvim Agricola. - 2016.

Cl, 101 f.: il.

Orientador: Profa. Dra. Lidia Andreu Guillo.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Medicina (FM) , Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Goiânia, 2016.

Bibliografia. Anexos.

Inclui fotografias, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Óxido nítrico. 2. Hematologia. 3. Exercício Físico. 4. Jiu Jitsu. I. Guillo, Lidia Andreu, orient. II. Título.

**Programa de pós-graduação em ciências da saúde
Da Universidade Federal de Goiás**

BANCA EXAMINADORA DA TESE DE DOUTORADO

Aluno: Nestor Persio Alvim Agricola

Orientadora: Dr^a Lídia Andreu Guillo

Membros:

1. _____
Lidia Andreu Guillo (Presidente)
2. _____
Maria Sebastiana Silva
3. _____
Maria Alves Barbosa
4. _____
Viviane Soares
5. _____
Ricardo de Mattos Santa Rita

Data: 09 / maio / 2016

Dedico este trabalho

*À minha família,
Iêda e Jarbas, pais amados;
Jarbinhas, Monica e Marcelo, irmãos queridos;
Joyce, Orestes e Camila, estimados familiares;
e especialmente
Josie e Rafael,
Alicerces de todas as conquistas.*

AGRADECIMENTOS

À professora Lidia Andreu Guillo, que me aceitou como orientando e tanto me ensinou e contribuiu para a conclusão deste doutorado.

Aos professores Wagner Gouveia dos Santos e Alessandro Martins, diretor e vice da Regional Jataí da UFG, pelo esforço em viabilizar nossa turma de doutorado.

À professora Levi Carina, assessora de pesquisa e pós graduação, a época, pela luta em possibilitar a qualificação dos professores da Regional Jataí.

Aos colegas professores do curso de Educação Física da Regional Jataí pelo apoio e auxílio em todas as situações que requereram sua atenção.

À professora Maria Alves Barbosa, madrinha da turma, que nos auxiliou e se sacrificou para que pudéssemos concluir esta etapa de qualificação.

À nossa Secretária Executiva Marinalva de Oliveira Teixeira, por nunca medir esforços para me ajudar em questões relacionadas a afastamento e bolsa.

Aos colegas da turma de Doutorado em Ciências da Saúde da Regional Jataí, pelo companheirismo e auxílio no desenvolvimento do trabalho de cada um.

Ao amigo João Batista Alves de Sousa, técnico do laboratório de ciências biomédicas III da UFG Regional Jataí, pelo inestimável apoio nas coletas e nos procedimentos laboratoriais desenvolvidos na pesquisa.

Ao amigo professor Gecirlei Francisco da Silva, pelas contribuições e ensinamentos da parte estatística da tese.

Ao amigo Regisnei Aparecido, pelas discussões e trocas de idéias durante a construção deste trabalho.

Aos atletas participantes do Projeto tatame, atletas de Jiu Jitsu, que se dedicaram e deram o “sangue” para que fosse possível a realização desta pesquisa.

Em especial aos atletas, acadêmicos, bolsistas PROBEC, Frederico de Campos Franco e Silva, Leonardo Assis Furtado Salama e Hardyere Chrystofer Castro Lima que além de participarem como voluntários na pesquisa foram essenciais na organização e na mobilização dos participantes.

SUMÁRIO

Tabelas, gráficos, figuras e anexos.....	9
Siglas e símbolos	11
Resumo	13
Abstract	14
1. Introdução	15
1.1 Revisão sobre a pesquisa em óxido nítrico	16
1.2 Revisão sobre a pesquisa em parâmetros hematológicos	22
1.3 O Jiu Jitsu brasileiro	26
2. Objetivos	29
2.1 Objetivo geral	29
2.2 Objetivos específicos	29
3. Metodologia	30
3.1 Tipo de estudo	30
3.2 Critérios de inclusão	30
3.3 Critérios de exclusão	30
3.4 Aspectos éticos	31
3.5 Caracterização dos sujeitos da pesquisa	31
3.6 Delineamento do estudo	33
3.7 Tratamento das amostras e dos dados	34
3.8 Análise dos resultados encontrados	40
4. Publicações	41
4.1 <i>Chronic Haematological Profile Study in Brazilian Jiu Jitsu Athletes</i>	42
4.2 <i>Acute Hematological Changes in Jiu Jitsu Athletes</i>	49
4.3 <i>Óxido nítrico salivar em atletas de Jiu Jitsu esportivo</i>	56
5. Considerações finais	76
Referências	80
Anexos	85

TABELAS, GRÁFICOS, FIGURAS E ANEXOS

3. Metodologia

Quadro 1: cronograma da pesquisa	32
Imagem 1: Kit de coleta de saliva	35
Imagem 2: esterilização dos kits de saliva	35
Microplaca 1	37
Microplaca 2	37
Microplaca 3	37
Microplaca 4	37
Microplaca 5	37
Microplaca 6	37
Microplaca 7	38
Microplaca 8	38

Artigo 1

Figure 1: Monthly mean heart rate	43
Table 1: Data of red series	43
Figure 2: Variation of red blood cells	43
Figure 3: Hemoglobin variation	44
Table 2: White series data	44
Figure 4: Variation of total leukocytes	44
Figure 5: Variation of neutrophils	45
Figure 6: Variation of lymphocytes	45

Artigo 2

Graph 1: Weekly meanheart rate	50
Table 1: Acute changes in red series	50
Graph 2: Variation in platelets	50
Table 2: Acute variations in White series	51
Graph 3: Total leukocytes variation	51
Graph 4: Variation in neutrophils	51

Graph 5: Variation in lymphocytes	51
Graph 6: Variation in monocytes	52
Graph 7: Variation in eosinophils	52

Artigo 3

Figura 1: Reação catalisada pela NOS	57
Figura 2: Ação do NO no relaxamento muscular liso	58
Tabela 1: Médias de concentração de nitrito do grupo de atletas em μM	64
Gráfico 1: Médias mensais de concentração de nitrito salivar	65
Gráfico 2: Médias mensais de frequência cardíaca de treinamento	65
Tabela 2: Dados de nitrito salivar separados por coletas realizadas, expressos em intervalo de confiança, média, erro padrão da média e coeficiente de variação	66
Gráfico 3: Média geral das coletas manhã, tarde e noite	67

Anexos

Anexo 1: Parecer CEP	85
Anexo 2: TCLE	88
Anexo 3: Normas de publicação AJSSM	90
Anexo 4: Curvas padrão da quantificação de nitrito salivar	97
Anexo 5: Fotos da pesquisa	100

SIGLAS E SÍMBOLOS

NO – óxido nítrico

NOS – óxido nítrico sintase

iNOS – óxido nítrico sintase induzida

eNOS – óxido nítrico sintase endotelial

nNOS – óxido nítrico sintase neuronal

NPC – Núcleo de Práticas Corporais

PSTU – Programa Segundo Tempo Universitário

IMC – Índice de Massa Corporal

BD – Becton Dickinson

FDA – Food and Drug Administration

EDTA – etilenodiamino tetraacetico

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute

ISCH – International Council for Standardization in Hematology

VCM – Volume Corpuscular médio

HCM – Hemoglobina Corpuscular Média

CHCM – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

RDW – Amplitude de Distribuição dos Heritrócitos

EDRF – Endothelial Derivated Relaxing Factor

GMPc – Guanosina Monofosfato cíclica

mRNA – Ácido Ribonucleico mensageiro

NADPH – nicotinamida-adenina-dinucleotídeo-fosfato-hidrgênio

GC – Guanilato Ciclase

GTP – Guanosina Trifosfato

TNG – Nitroglicerina

NPS – Nitroprussiato de sódio

PH – Potencial Hidrogeniônico

LDL – Low Density Lipoprotein

HDL – High Density Lipoprotein

GH – Growth Hormone

RPM – Rotações por minuto

μL – Microlitro

μM - Micromolar

mL – Mililitro

RESUMO

O exercício físico é considerado uma variável importante no estudo da saúde humana, principalmente pelas alterações induzidas em diversos marcadores. No treinamento físico, as adaptações do organismo são bastante específicas para cada modalidade esportiva ou tipo de esforço. A quantificação de parâmetros bioquímicos relacionados com a saúde humana, mediados pelo exercício físico em suas diversas variações, possibilita novos olhares da ciência, não só em relação a interação entre os diversos sistemas, mas também em relação aos efeitos fisiológicos e adaptativos gerados. Esta pesquisa consiste no acompanhamento sistemático de atletas de Jiu Jitsu, quantificando as variações de alguns parâmetros bioquímicos ligados à saúde, na intenção de avaliar a modalidade em suas potencialidades para a saúde e verificar as variações nesses parâmetros em função do tipo e intensidade do esforço e das particularidades da modalidade. O Jiu Jitsu é uma modalidade esportiva que tem ganhado destaque e se popularizado. Ao longo do ano de treinamento, os atletas alternam períodos de alta intensidade do treinamento, com períodos de baixa intensidade. O dispêndio de energia é elevado e o esforço máximo ou submáximo frequentemente leva às lesões musculares, articulares e ósseas. Este é um estudo observacional descritivo longitudinal de mensuração que contou com a participação de 14 voluntários que foram acompanhados durante 9 meses em sua rotina de treinamento. Foram coletadas amostras de sangue e saliva e a frequência cardíaca foi monitorada durante todo o período. A saliva foi usada para a quantificação de óxido nítrico e o sangue para os parâmetros hematológicos. Os resultados dos experimentos foram submetidos a testes estatísticos. Os parâmetros hematológicos da séria vermelha são influenciados pelo esforço físico de forma crônica, ao longo do período de treinamento, respondendo à intensidade do esforço realizado. A séria branca, relacionada ao sistema imune, sofre influência de forma aguda, respondendo aos estímulos do exercício com alterações significativas conforme o esforço é mais ou menos intenso. A produção de NO no organismo tende a acompanhar o nível de esforço realizado, contudo, a modalidade estudada tem a característica de promover o estímulo do sistema nervoso simpático, o que reduziu a atividade da glândula salivar e as concentrações de nitrito após o treinamento realizado. As lesões músculo-esqueléticas são típicas da modalidade e muito frequentes o que acaba por modular, em parte, a resposta orgânica ao treinamento. Essa estimulação, entretanto, deve ser considerada positiva por ativar a resposta adaptativa e a interação entre diversos sistemas.

PALAVRAS CHAVE: Óxido nítrico; Hematologia; Exercício físico; Saliva; Jiu Jitsu

ABSTRACT

Physical exercise is considered an important variable in the study of human health, especially due the changes induced in several biomarkers. In physical training, body adaptations are quite specific for each type of sport and effort. The quantification of biochemical parameters related to human health, mediated by physical activity in its many variations, provides new scientific eyes, not only for what relates to the interaction between the various systems, but also in relation to physiological and adaptive effects generated by them. This research consists of the systematic monitoring of Jiu Jitsu athletes, quantifying the variations of some biochemical parameters linked to health, in an attempt to assess the modality of sport in its potential for health and verify the variations in these parameters depending on the type and intensity of the effort and the special characteristics of the sport. Jiu Jitsu is a kind of sport that has gained prominence and become popular. Throughout the year of training, athletes alternate periods of high intensity training with low intensity periods. The energy expenditure is high and the maximum or submaximal effort often leads to muscle, joint and bone injuries. This is a longitudinal descriptive observational study of measurement that had the participation of 14 volunteers who were monitored for 9 months in their training routine. Blood and saliva samples were collected and the heart rate was monitored throughout this period. Saliva was used to quantify nitric oxide and blood for hematological parameters. The results of the experiments were submitted to statistical tests. Hematological parameters of the red series are influenced by the physical effort when performed in a long-lasting mode, during the training period, responding to the intensity of the effort made. The white series, related to the immune system, is influenced acutely, responding to the exercise stimulus with significant changes as the effort is more or less intense. The production of NO in the organism tends to follow the level of effort made; however, the modality studied has the characteristic of promoting the stimulation of the sympathetic nervous system, what reduced the activity of salivary gland and nitrite concentrations after training is performed. Musculoskeletal injuries are typical of this kind of sport and very typical, which ends up modulating partly the organic response to training. This stimulation, however, must be seen as positive for activating the adaptive response and the interaction of several systems.

KEYWORDS: Nitric oxide; Hematology; Physical exercise; Saliva; Jiu Jitsu

1. INTRODUÇÃO

A atividade física é indicada como fator preventivo em diversas doenças, tanto relacionadas ao sistema vascular quanto ao sistema imunológico em seu aspecto mais amplo. Os estudos envolvendo parâmetros bioquímicos de saúde se multiplicam na literatura internacional, mostrando que o interesse por esses parâmetros é cada vez maior por representarem possibilidades efetivas na compreensão da saúde humana. As pesquisas desenvolvidas procuram evidenciar a relação entre o exercício físico, em suas mais diversas variações, e parâmetros bioquímicos da saúde humana. É bastante expressivo o quantitativo de estudos dessa natureza que optam pelo experimento em animais. Os estudos em seres humanos se mostram em menor quantidade, mas não menos importantes, visto que permitem associações mais diretas com a saúde humana. Mesmo diante das limitações impostas pelas possibilidades de pesquisas em seres humanos, diversos modelos e delineamentos são testados na intenção de verificar os efeitos reais, em humanos. As especificidades variam em tempo, espaço, sujeitos, procedimentos, possibilitando um acervo variado de descobertas a respeito do exercício e as interações com os diversos sistemas, o que tem instigado novos estudos e associações.

A análise de parâmetros bioquímicos relacionados com a saúde humana, mediados pelo exercício físico, possibilita novos olhares da ciência, não só em relação a interação entre os diversos sistemas, mas também em relação aos efeitos fisiológicos e adaptativos gerados. As possibilidades de contribuição para o avanço da pesquisa em saúde são muitas. Os achados científicos são frequentemente refutados por novas evidências, verificadas por metodologias pioneiras, que levam a criação de produtos, protocolos seguros, fármacos, terapêuticas, etc.

Contudo, ainda existem temas que relacionam o exercício físico com a saúde que são pouco estudados e que necessitam de estudos de caráter introdutório. O universo das lutas, em especial aquelas que não são olímpicas, mesmo apresentando características específicas em relação a outras formas de exercício físico, é frequentemente preterido como objeto de investigação. As razões para a pequena quantidade de estudos envolvendo as lutas não olímpicas são desconhecidas, entretanto, suas particularidades quanto à forma de treinamento, a

intensidade e o volume e ainda a popularidade que algumas dessas lutas alcança, fazem dessas modalidades objetos profícuos de pesquisas. Nesta pesquisa, o objeto de estudo é o atleta de Jiu Jitsu, modalidade de luta que se torna cada vez mais popular no Brasil e na qual os atletas melhor classificados nos campeonatos mundiais são dessa nacionalidade. Ao que parece, os atletas brasileiros mantêm certa hegemonia a vários anos, mesmo essa luta tendo origem japonesa.

Como o Jiu Jitsu apresenta algumas particularidades e características próprias quanto ao treinamento do atleta, espera-se que o estudo de alguns parâmetros bioquímicos de atletas dessa modalidade, mesmo que de caráter introdutório, possa revelar dados relevantes para o tema da saúde humana mediada pelo exercício físico.

1.1. Revisão sobre a pesquisa em óxido nítrico

O óxido nítrico é uma molécula inorgânica, de baixo período de meia vida, gasosa e que possui um elétron desemparelhado em sua última camada, tornando-a uma molécula iônica altamente reativa se combinando facilmente com o oxigênio e com alguns metais de transição. É considerado um radical livre que pode ser tanto agente oxidante quanto redutor, dependendo do meio em que se encontra, e sua reação com o oxigênio gera nitritos e nitratos (CERQUEIRA & YOSHIDA, 2002). Em condições normais de temperatura e pressão o NO é um gás, incolor com moderada solubilidade em água, e que reage com alguns metais de transição, entre eles o ferro. Sua forte reatividade com o ferro ocasiona a ligação do NO com as metaloproteínas (proteínas com metais de transição em sua composição), entre elas a hemoglobina que contem ferro em seu grupo heme (DUSSE / VIEIRA / CARVALHO, 2003). Apesar do potencial citotóxico que teria como prejuízo imediato as células sanguíneas, o NO, devido ao seu breve período de meia vida, assume o papel de mensageiro químico, ativando ou inibindo outras moléculas principalmente do sistema imunológico, e não é armazenado in-vivo no organismo, e sim sintetizado por demanda, atacando os sítios invasores com seu alto poder oxidativo, principalmente células tumorais e bactérias.

Em meados dos anos 1980, descobriu-se que o óxido nítrico (NO), além de ser uma substância potencialmente tóxica, pode contribuir positivamente no metabolismo humano (ZILBERSTEIN, 2000). Sua ação aponta para o controle da

pressão arterial e para a regulação de radicais livres no organismo. Entretanto, o que motivou esta pesquisa é a relação que o óxido nítrico apresenta com o exercício físico. Pesquisas recentes apontam o exercício físico como estimulador da produção do óxido nítrico, especificamente em níveis saudáveis para o organismo humano (D'ÁVILA et al. 2008), (De OLIVEIRA et al. 2012), (HIDARI et al. 2012), (DIAZ et al. 2013). O mecanismo para esse aumento está relacionado com o *shear stress* (atrito de cisalhamento) induzido pelo exercício. Estudos em seres humanos e em animais mostram que o *shear stress* induzido pelo exercício físico é um poderoso estímulo para a liberação de fatores vasorrelaxantes produzidos pelo endotélio vascular.

O óxido nítrico além de atuar de forma direta na vasodilatação, ainda possui a propriedade de inibição da agregação plaquetária, prevenindo a formação de trombos, inibe também a adesão plaquetária e leucocitária, de forma geral na parede dos vasos (FLORA FILHO & ZILBERSTEIN, 2000). Atuando de forma não muito bem conhecida ainda, exerce ação também modificando a diapedese neutrofílica e diminuindo a permeabilidade vascular do endotélio, impedindo com isso, a circulação de células inflamatórias (KUBES & GRANGER, 1992).

A NOS (enzima produtora de óxido nítrico) se relaciona com o sistema imune na medida em que tem a produção de NO estimulada pela presença de patógenos, em grande quantidade e longo tempo, que, por conseqüência, podem tornar o NO citotóxico. Assim, o NO produzido no organismo pelas enzimas especializadas, embora seja apontado como fator preventivo e benéfico ao sistema cardiovascular, pode, em específicas condições, ser produzido em níveis tóxicos e prejudiciais à saúde.

A enzima óxido nítrico sintase (NOS) possui três isoformas, sendo uma delas induzida e outras duas constitutivas. São hemeoproteínas e as três isoformas possuem o mesmo mecanismo catalítico e utilizam os mesmos substratos, co-fatores e co-substratos. A isoforma 1, nNOS, ou óxido nítrico sintase neuronal, é constitutiva e está presente em neurônios principalmente e órgãos sexuais masculinos, é cálcio-calmodulina dependente e regula a transmissão sináptica no sistema nervoso central. Atua na regulação central da pressão sanguínea, no relaxamento da musculatura lisa de artérias e na regulação do fluxo sanguíneo ao cérebro (CERQUEIRA & YOSHIDA, 2002).

A isoforma 2 é induzida (iNOS) por citocinas e lipopolisacarídeos no endotélio vascular, não é cálcio dependente e é regulada pelo estímulo imunológico,

produzindo grandes quantidades de NO para a defesa contra patógenos invasores. A síntese de NO pela iNOS não é verificada em condições basais e dura em torno de 24 horas após o estímulo inicial. Requer a síntese de mRNA e pode ser suprimida por outras citocinas e por glicocorticóides. A ativação da iNOS produz óxido nítrico até 1000 vezes mais do que as isoformas constitutivas, e é responsável pela ação citotóxica do NO (WONG & MARSDEN, 1996). A iNOS é expressa em resposta inflamatória devido a infecção ou dano tecidual. Se a expressão for parte de uma resposta adaptativa então sua ação é benéfica ao organismo, no entanto, se a expressão não for parte de resposta imunológica, pode ser extremamente prejudicial e até sinal de doença autoimune (CERQUEIRA & YOSHIDA, 2002).

A isoforma 3, também constitutiva, é a óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), que produz o NO continuamente no endotélio em condições basais. O aumento do fluxo sanguíneo, ao produzir maior atrito (*shear stress*), leva a eNOS a aumentar a produção de NO. Também é cálcio-calmodulina dependente (CERQUEIRA & YOSHIDA, 2002). Atua na regulação da pressão sanguínea e do tônus vascular da musculatura lisa, inibe a proliferação de células da musculatura lisa das artérias, e ainda exerce influência na contratilidade da musculatura cardíaca (MURREL, et al, 1996). A inibição da eNOS pode provocar aumento da permeabilidade vascular e acentuar a agregação plaquetária e a aderência de leucócitos ao endotélio. A eNOS fica estrategicamente ancorada à membrana da célula endotelial, em estruturas denominadas cavéolas localizadas na membrana plasmática, favorece a liberação de quantidades suficientes de NO para a camada muscular do vaso sanguíneo (DIAS; NEGRÃO; KRIEGER, 2011).

Com a conclusão de que o NO é uma molécula extremamente importante para diversas funções do organismo humano, a possibilidade de encontrar formas de potencializar ou otimizar a entrega deste composto ao organismo passou a ser tema de diversas pesquisas (BARRETO & CORREIA, 2005). O que se verifica é que há uma grande diversidade de estruturas químicas capazes de gerar NO. Dentre os compostos mais estudados estão os nitratos orgânicos, que apresentam grande potencial liberador de NO, como a nitroglicerina (TNG) e o nitroprussiato de sódio (NPS), que possuem severas limitações ao seu uso que confrontam com seus benefícios, como a posterior formação de cianeto pela metabolização da molécula (PAULO, 2011).

A busca por doadores de NO com potenciais usos terapêuticos levou ao incremento das pesquisas envolvendo o óxido nítrico e sua diversidade de funções. Dentre as descobertas mais recentes, deve-se destacar o *terpy*, composto inorgânico da classe dos nitrosil-rutênio, libera NO após metabolização celular. É estável em PH fisiológico e atóxico nas condições testadas. Apresenta resposta hipotensora lenta e de longa duração em ratos hipertensos e não leva à taquicardia reflexa como os nitratos orgânicos (PAULO, 2011).

Outra inovação recente entre os doadores de NO estão as NO-aspirinas que consiste na hibridação de porções liberadoras de NO em drogas comercialmente disponíveis, reduzindo, com isso, a toxicidade e potencializando a atividade biológica. As NO-aspirinas não apresentam gastrotoxicidade e tem forte propriedade antitrombótica, agindo diretamente na agregação plaquetária. São recomendadas para tratamento terapêutico de longa duração na prevenção de infarto e em pacientes com artrite (BARRETO & CORREIA, 2005).

Além do uso terapêutico, as pesquisas em doadores e precursores de NO buscam meios de aumentar o desempenho atlético esportivo. A busca mais comum entre os precursores de NO ligados ao desempenho atlético se firma na hipótese de que o óxido nítrico está ligado à melhora da perfusão sanguínea ao nível muscular, contribuindo para maior aporte de nutrientes e de oxigênio, ao mesmo tempo que atua como sinalizador no sistema imune e na rede neuronal (PAULO, 2011). Suplementos protéicos ricos em determinados aminoácidos são teoricamente precursores da produção de óxido nítrico no organismo. As proteínas ingeridas são degradadas até arginina, que podem ser diretamente absorvidas ou transformadas em ornitina que, juntamente com a glutamina secretada como glutamato, são convertidas em citrulina. A citrulina absorvida se transforma em arginina no ciclo da uréia (BARRETO & CORREIA, 2005). Entretanto, ainda não há confirmação dessa hipótese e os doadores de NO, relacionados ao desempenho físico, permanecem no campo experimental.

O exercício físico é caracterizado por uma saída do organismo de seu estado de homeostase, pela demanda energética imediata que ocorre na musculatura, de modo geral. A todo o momento da execução do exercício, novas adaptações fisiológicas ocorrem. O exercício pode ser descrito de duas formas, quanto ao movimento: exercício estático (isométrico) e exercício dinâmico (isotônico). No exercício estático são observadas elevações na pressão arterial devido à obstrução

mecânica gerada pela contração muscular e o acúmulo de metabólitos produzidos durante a contração (WILMORE & COSTILL, 2003), (BRUM, et al, 2000). No exercício dinâmico as contrações musculares geram movimento articular e por isso não ocorre obstrução mecânica da corrente sanguínea, em consequência se observa a diminuição da pressão arterial. Ambos os tipos de exercício ocasionam o aumento da frequência cardíaca. Outro fator a ser considerado é a intensidade do exercício, que tem como referência principal o limiar anaeróbico (limite da intensidade do exercício a partir do qual a musculatura produz ácido láctico). As diferentes intensidades do exercício podem produzir diferentes efeitos fisiológicos, marcadamente quando se toma o limiar anaeróbico como referência (MCARDLE, 2003).

A quantidade de seções semanais de exercício, o tempo de exercício e a intensidade com que é realizado parecem interferir nos efeitos hipotensores (HAMER, 2006). A diminuição da pressão arterial produzida pelo exercício diz respeito, tanto ao efeito hipotensor pós exercício, que perdura pelo tempo de recuperação, quanto pelo efeito anti-hipertensivo duradouro, que se verifica em indivíduos treinados pelo tempo que durar a condição de treinado (BRUM, et al, 2000). Verifica-se, no entanto, que o efeito de controle da pressão arterial ocorre mais acentuadamente quando o exercício é de intensidade moderada, em torno de 50 a 65% da intensidade máxima (FORJAZ, et al, 1998). Em esforços mais intensos não são verificados tais efeitos (GRAHAM & RUSH, 2004).

Ainda assim, alguns resultados parecem apontar conclusões seguras, tais como: os exercícios moderados, abaixo do limiar anaeróbico, realizados até por volta de 65% da capacidade máxima de esforço, tem melhores resultados na produção de NO e conseqüentemente nos efeitos que este composto pode proporcionar. Isto porque o esforço mais elevado gera uma produção de metabólitos indesejáveis que caracterizam o chamado estresse oxidativo, com efeitos antagônicos aos apontados por concentrações ótimas de NO. As atividades físicas que envolvem grandes grupamentos musculares, como caminhadas, corridas e natação, também se destacam em relação a exercícios mais localizados. Isso devido ao aumento da frequência cardíaca, do volume sistólico e do débito cardíaco que em atividades desse tipo são mais pronunciados (BRANDÃO & MARTINS-PINGE, 2007).

A medição da concentração dos níveis de óxido nítrico raramente se dá pela detecção do gás propriamente dito, devido ao seu curto período de meia vida. Em geral essa medição se faz pela quantificação do produto da reação de oxidação do NO, nitratos e nitritos, que são mais estáveis; pelo composto precursor da formação do NO, a L-arginina, ou por seus subprodutos como a L-citrulina ou a guanosina monofosfato cíclica (GMPc) e também pela expressão gênica da enzima NOS. A maioria dos estudos voltados para a mensuração do óxido nítrico faz uso das concentrações plasmáticas deste composto, pela resposta e associação direta com o NO endotelial. Raros e controversos são os estudos que fazem uso da saliva para quantificar o NO. No campo da atividade física, a saliva é usualmente utilizada na busca de se estabelecer um protocolo seguro e confiável para a testagem de respostas fisiológicas do organismo ao esforço e a definição de parâmetros de controle do exercício que sejam não invasivos. No entanto, os resultados ainda são controversos (ZUARDI, 2012).

Para Silva et al (2009) a secreção de saliva é controlada por uma combinação de estímulos simpáticos e parassimpáticos do sistema nervoso autônomo. É composta por uma mistura complexa de secreções das glândulas parótidas, submandibular, sublingual e de outras pequenas glândulas que possuem inervação simpática e parassimpática. A inervação parassimpática provoca vasodilatação, o que aumenta a quantidade e a fluidez da saliva. A inervação simpática provoca vaso constrição, ocasionando um baixo volume do fluxo salivar (MAGALHÃES, 2012).

A utilização de marcadores salivares ganhou popularidade na década passada, principalmente em pesquisas biomédicas e psicológicas (PFAFFER, et al. 2011). Como importante marcador biológico, a saliva se revela um produto de fácil utilização em pesquisas por ser de baixo custo e pouco invasivo. Alguns marcadores salivares, como cortisol e imunoglobulina já vem sendo empregados na clínica, uma vez que os níveis encontrados na saliva e no plasma se correlacionam significativamente (SOO-QUEE KOH D; CHOON-HUAT KOH G. 2007).

A associação entre o NO sanguíneo ou plasmático e o salivar é o novo desafio dos pesquisadores dedicados ao estudo deste composto e seus derivados. Os resultados de estudos dessa natureza são controversos e não têm identificado as variáveis envolvidas na controvérsia. Enquanto alguns estudos confirmam as variações de nitrito salivar com nitrito plasmático ou outras variáveis relevantes, como o exercício físico, outros estudos demonstram e afirmam a não associação

entre nitrito salivar e plasmático, ou qualquer outra variável não relacionada diretamente à cavidade bucal. Algumas pesquisas relatam que o exercício físico não produz variações significativas nas concentrações de nitrito salivar, afirmando que não há associação entre essas duas variáveis (GONZALEZ et al, 2008), (ZAMBRANO et al, 2009), (CLODFELTER et al, 2015). Por outro lado, outros estudos relatam variações significativas na concentração de nitrito salivar a partir do exercício físico (PANOSSIAN et al, 1999), (DIAZ et al, 2013). Nesses estudos são relatados aumento na concentração de NO salivar a partir do exercício, corroborando a hipótese de que o exercício, ao potencializar a produção de NO circulante, expressa esse mesmo potencial também no nitrito salivar.

1.2. Revisão sobre a pesquisa em parâmetros hematológicos

Os parâmetros indicadores de saúde para o homem são variados. Dentre os que se relacionam com o sistema cardiovascular estão os parâmetros hematológicos que podem fornecer informações importantes sobre o transporte de gases expresso pela séria vermelha, e sobre o sistema imune, expresso pela séria branca. A séria vermelha é composta por parâmetros relacionadas às hemácias e compreende também:

- Hemoglobina – molécula localizada no interior da hemácia responsável pelo transporte de oxigênio para os tecidos;
- Hematócrito – Percentual do sangue ocupado pelas hemácias;
- Volume Corpuscular Médio (VCM) – indica o tamanho das hemácias;
- Hemoglobina Corpuscular Média (HCM) – indica o peso da hemoglobina no interior da hemácia;
- Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) – indica a concentração de hemoglobina dentro da hemácia;
- Curva de Distribuição dos eritrócitos (RDW) – índice que avalia se há diferença no tamanho das hemácias (LORENZI, 2006).

A séria branca é composta pelos leucócitos que são um conjunto de células diferentes, com distintas funções, relacionadas ao sistema imunológico. Os leucócitos compreendem:

- Neutrófilos – célula de defesa responsável mais diretamente pelo combate a bactérias;
- Linfócitos – células responsáveis pelo combate a vírus invasores e a tumores. Envolvida também na produção de anticorpos;
- Monócitos – célula circulante que atua tanto em infecções bacterianas como virais e é precursor dos macrófagos;
- Eosinófilos – célula responsável pelo combate direto a parasitas. Está envolvida também em processos alérgicos;
- Basófilos – célula associada também a processos alérgicos e também a infecções crônicas (LORENZI, 2006).

As plaquetas são células responsáveis pela ativação do processo de coagulação sanguínea, pelo mecanismo de formação de trombos.

A relação desses parâmetros com a saúde já foi estabelecida há tempos, contando com valores de referência internacionais, indicativos, não só da saúde, mas de uma série de doenças que apresentam alterações nesses parâmetros. O exercício físico, no entanto, é uma variável que pode produzir modificações inesperadas e até provocar adaptações na hematologia que colocariam em questão os valores de referência.

Os parâmetros hematológicos de saúde humana foram definidos nos anos de 1960 estabelecendo valores de referência a partir de estudos populacionais de larga escala, com variações amplas do que pode ser considerado normal. Diversas condições, entretanto, podem afetar as variáveis hematológicas e pôr em questão tanto a saúde humana quanto o intervalo de valores considerados normais em hemogramas. Fatores que podem interferir nos parâmetros hematológicos, como a altitude, o stress, a dieta ou o nível de aptidão física, bem como o exercício físico, se mostram como importantes campos de investigações (LORENZI, 2006). Em se tratando do treinamento físico, as adaptações do organismo são bastante específicas para cada modalidade ou tipo de esforço.

A intensidade e duração do treinamento são indicadas como importantes fatores na variabilidade de diversos analitos. Sanchis-Gomar e Lippi (2013) colocam que o tipo de exercício, a modalidade e suas variações de volume e intensidade, podem produzir efeitos diversos nos marcadores hematológicos. Estes autores afirmam que os testes com valores fora dos intervalos de referência convencionais,

em atletas, não só podem refletir a presença de uma determinada doença, mas podem, muitas vezes, revelar uma adaptação ao treinamento regular ou mudanças que ocorreram durante/após o exercício, e que precisam ser claramente reconhecidas para evitar má interpretação de dados laboratoriais (LIPPI et al, 2014). Assim, os valores de alguns marcadores em atletas ou indivíduos fisicamente ativos devem ser interpretados com cautela.

Muitos são os estudos que abordam parâmetros hematológicos em atletas ou praticantes de atividade física. Eles diferem, basicamente, em estudos de efeitos crônicos, verificados pelo acompanhamento das modificações nos parâmetros ao longo do tempo de prática do treinamento, e estudos de efeitos agudos, verificados pela comparação, nos valores dos parâmetros, antes e depois da sessão ou seções de treinamento. Os estudos de efeitos crônicos, em geral buscam modificações de caráter duradouro e que possam apontar relações mais diretas com a saúde dos sujeitos. Os estudos de efeitos agudos, embora levem em conta as modificações de caráter transitório, buscam, nessas modificações consequências relacionadas à saúde. Neste estudo procurou-se verificar tanto efeitos crônicos quanto efeitos agudos, com resultados significativos.

Dentre os resultados mais comuns encontrados em estudos de efeitos crônicos, destaca-se a diminuição na concentração de hemoglobina ao longo do tempo de treinamento (BOYADJIEV & TARALOV, 2000), (BANFI & DEL FABBRO 2007), (WIRNITZER & FAULHABER, 2007), (HU et al, 2008). Ao que parece, o treinamento de longo prazo aperfeiçoa a capacidade de transporte gasoso das hemácias e, em consequência, diminui a necessidade de hemoglobina, que por sua vez, diminui sua concentração. Esse efeito, contudo, se apresenta em atletas de elite submetidos a treinamento sistemático voltado para competição. A diminuição na concentração de hemácias (BANFI & DEL FABBRO 2007), nos valores de hematócrito (WIRNITZER & FAULHABER, 2007) e na concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) (HU et al, 2008) também são citadas como resultado do treinamento intenso e regular. Porém, estas alterações observadas não se referem a uma modificação morfológica das células, mas a um aperfeiçoamento em todo o sistema de captação e transporte de gases, como efeito do treinamento de *endurance*. Por outro lado, no estudo de Diaz et al. (2011) não se verificou diminuição na concentração de nenhum parâmetro da série vermelha e no estudo de

Lombardi, Ricci e Banfi (2011) verificou-se o efeito inverso, de aumento na concentração de hemoglobina após período de treinamento.

Em relação aos parâmetros da série branca, o resultado mais comum encontrado em estudos semelhantes é a leucocitose (LOMBARDI, RICCI e BANFI, 2011), (HAMMOUDA et al, 2012), (OLIVEIRA, ROGATTO e LUCIANO, 2002). Os autores atribuem esse aumento de leucócitos a uma desmarginação de células brancas que, com o aumento do fluxo sanguíneo, caem na corrente sanguínea, recrutadas como uma possível resposta imunológica causada por microlesões dos tecidos. Além do aumento de leucócitos, há relatos de aumento na concentração de neutrófilos e de monócitos e diminuição na concentração de eosinófilos (LOMBARDI, RICCI e BANFI, 2011), (HAMMOUDA et al, 2012), (OLIVEIRA, ROGATTO e LUCIANO, 2002), e de linfócitos (BACHUR et al, 2008). A neutrofilia é atribuída também à mobilização de células da medula óssea, e a linfopenia está associada a altas concentrações de cortisol, próprias do esforço intenso. Os relatos de diminuição nas concentrações de linfócitos e eosinófilos estão também associados à migração destas células aos sítios inflamatórios musculares originados por microlesões de esforço.

Dentre os efeitos agudos mais comuns relatados em estudos de hematologia relacionada ao exercício estão a diminuição na concentração de hemácias, hemoglobina, hematócrito e RDW, e ainda um aumento na concentração de plaquetas (LIPPI et al, 2014), (REIS et al, 2009), (BRANDÃO et al, 2014). Os autores relatam que essas alterações podem perdurar de 30 minutos a 20 horas do término da sessão de treino e alguns sugerem que esse efeito esteja relacionado com a síndrome do *overtraining*. É preciso considerar que indivíduos treinados em geral podem apresentar maior volume sanguíneo, e a hemoconcentração transitória pela perda de água, própria do exercício, pode levar a resultados de testes alterados, mas que na realidade seriam decorrência da simples diminuição do volume plasmático (SANCHIS-GOMAR & LIPPI, 2014).

Por outro lado, há relatos de aumento no volume plasmático em decorrência de exercício intenso causando hemodiluição e diminuição transitória dos níveis de hemácias e hemoglobina, o que pode ser confundido com anemia. Além disso, o metabolismo de ferro é apontado como fator importante no mecanismo de transporte gasoso, na manutenção da concentração de hemoglobina e no volume das hemácias (LATUNDE-DADA, 2012). O aumento na geração de espécies reativas do

oxigênio nos tecidos musculares, ocasionado pelo esforço intenso, gera um quadro de estresse oxidativo que tem por consequência danos celulares graves (SANCHIS-GOMAR & LIPPI, 2014). As microlesões musculares e articulares são resultados desse processo que é apontado como causador de hemólise de hemácias e pode levar à diminuição na concentração dessas células (LATUNDE-DADA, 2012).

Em relação à série branca, verifica-se uma diferença entre efeitos pós exercício moderado e pós exercício intenso, descritos de forma que o esforço moderado tende a estimular o aumento dos parâmetros relacionados ao sistema imune, enquanto que o esforço intenso irá produzir um decréscimo desses parâmetros (OTT & DE OLIVEIRA, 2013). Dentre os efeitos relacionados ao exercício intenso, são comuns os relatos de leucocitose ocorrendo imediatamente após o exercício e envolvendo aumento de neutrófilos, monócitos e linfócitos (BACHUR et al, 2008), (GABRIEL & KINDERMANN, 1997), (COSTA ROSA & VAISBERG, 2002). O desequilíbrio no estado de homeostase provocado pelo esforço intenso acarreta aumento na secreção de cortisol e de epinefrina e ainda um aumento na concentração de células *Natural killer*, apontados como causadores das variações de leucócitos (BACHUR et al, 2008), (GABRIEL & KINDERMANN, 1997). No estudo de Bachur et al. (2008) há relato, também, de diminuição na concentração de linfócitos bem como de eosinófilos após exercício intenso, se estendendo até 48 horas após o término do esforço.

1.3. O Jiu Jitsu brasileiro

O foco principal deste estudo é o exercício físico, especificamente aquele realizado com o objetivo da luta corporal, envolvendo a disputa constante e individual no cotidiano dos praticantes. Verificar como essa preparação atlético-desportiva específica influencia nas concentrações de óxido nítrico e nos parâmetros usuais da hematologia humana possibilita avançar na discussão sobre a bioquímica relacionada ao esforço físico e ao modo de preparação atlética realizada nessa modalidade de luta.

O Jiu Jitsu, usualmente chamado Jiu Jitsu brasileiro, é uma modalidade esportiva que tem ganhado destaque e se popularizado, alcançando uma quantidade de praticantes no Brasil que nenhuma outra modalidade de luta jamais atingiu (DEL VECCHIO et al, 2007). É uma luta de contato intenso e que se realiza

predominantemente no chão, no qual os lutadores tentam subjugar o oponente utilizando de quedas, chaves, alavancas e estrangulamentos. Entre suas características principais está a semelhança com as lutas agarradas, como o Judô, a Greco Romana e a Luta Livre diferindo basicamente no conjunto de regras. O fato da luta se desenvolver predominantemente no chão, traz características próprias para o seu treinamento, marcado por intenso esforço isométrico e grande capacidade aeróbica (BRANDÃO et al. 2013). A luta dura em torno de 8 minutos e requer elevada resistência além de força, flexibilidade e coordenação motora. Durante a luta, o atleta é frequentemente levado ao esforço máximo e para suportar 5, 6 ou 7 lutas, como é frequente em campeonatos da modalidade, o atleta necessita de uma condição cardiorrespiratória excelente. Del Vecchio et al. (2005) mostram que o período de recuperação entre lutas, numa competição, é, em muitos casos, 10 vezes menor do que o tempo das lutas somados, revelando a necessidade, para os atletas, de uma condição física realmente apurada.

Embora o esforço despendido seja de caráter predominantemente anaeróbico láctico, a necessidade de recuperação e de eliminação do lactato exige do atleta grande capacidade aeróbica. O treinamento do jiu jitsu envolve e requer o desenvolvimento de valências físicas como força, agilidade, flexibilidade e resistência muscular local (ZAKHAROV; GOMES, 2003). Constantemente é requerida a execução de movimentos a partir de máxima amplitude articular, desenvolvendo a flexibilidade ativa. O atleta é ensinado a respirar e se acalmar em posições de grande pressão sobre as articulações, tórax e abdômen. O nível de esforço pode variar conforme o período de preparação do atleta que pode ir de treinamento moderado, com intensidade entre 60 a 75% da capacidade máxima, a treinamento intenso, com intensidade entre 75 a 85%, chegando a intensidade máxima em períodos pré competitivos.

Ao longo do ano de treinamento, os atletas alternam períodos de alta intensidade do treinamento, próximo às competições, com períodos de baixa intensidade e até de descanso, ao término das competições previstas. O dispêndio de energia é elevado e o esforço máximo ou submáximo frequentemente leva à lesões musculares, articulares e ósseas (ANDREATO et al, 2013). O atleta de Jiu Jitsu raramente treina sem a presença de dores provenientes de lesões ou microlesões adquiridas em seções de treinamento anteriores. As seções de treinamento duram 2 horas e são divididas em três partes:

1. Preparação física, composta de exercícios individuais mais ou menos intensos, com ou sem sobrecarga de trabalho, voltados para o condicionamento.

2. Ensino / treinamento das técnicas e posições, composto pelas técnicas, posições e movimentações básicas da modalidade, sempre em duplas, simulando situações típicas da luta.

3. “O rola”, a luta propriamente dita, em que os atletas da equipe vão alternando os parceiros e lutando entre si por 3, 4 ou 5 vezes consecutivas, ou até mais, com intervalos curtos.

As seções de treinamento de Jiu Jitsu sempre terminam com a luta. Os atletas se confrontam em disputas que duram de 6 a 8 minutos e cada atleta faz pelo menos 3 lutas antes do encerramento da seção. Essas lutas são sempre acompanhadas de uma ansiedade natural, de um estado de estresse e até medo, visto que são lutas reais que procuram preparar o sujeito para possíveis situações de conflito. O Jiu Jitsu é considerado um esporte de competição, na medida em que a preparação do atleta visa a participação em competições. No entanto, é uma luta na qual o objetivo final é a autodefesa. Os atletas tendem a valorizar as competições esportivas por ser a situação que mais se aproxima do objetivo real da luta, qual seja, a autodefesa contra agressões físicas.

Em períodos pré competitivos as seções de treinamento são estendidas e a quantidade de lutas travadas é aumentada. O principal parâmetro indicador de que o atleta está preparado para a competição é a somatória do tempo de “rola” em cada treino, isto é, quanto tempo o atleta passou dedicado unicamente à luta. Alguns conseguem fazer 60 minutos, outros 40, outros 30 minutos de lutas, e esses tempos indicam o nível de preparação de cada atleta para a competição.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

O objetivo dessa pesquisa é analisar o comportamento das concentrações de óxido nítrico e dos parâmetros hematológicos e a relação com o treinamento de Jiu Jitsu, em atletas, para inferir sobre a modalidade e suas potencialidades para a saúde humana, procurando avançar nos conhecimentos sobre a temática da fisiologia e da bioquímica do exercício físico.

2.2. Objetivos específicos

- Mensurar as variações nos parâmetros hematológicos, ao longo do 6 meses de treinamento;
- Mensurar as variações do óxido nítrico salivar ao longo de 9 meses de treinamento;
- Mensurar as variações na intensidade do treinamento realizado;
- Correlacionar os valores hematológicos e de óxido nítrico com parâmetros relacionados à preparação atlética desportiva;
- Avaliar a ação do Jiu Jitsu como exercício físico voltado à saúde humana.

A problemática principal que se pretende responder com esta pesquisa é: que alterações são causadas pelo tipo de exercício físico realizado no treinamento de Jiu Jitsu nos níveis de NO salivar e nos parâmetros hematológicos em humanos saudáveis?

3. METODOLOGIA

3.1. Tipo de estudo:

Este estudo se configura como observacional descritivo longitudinal de mensuração (HULLEY et al, 2003), no qual foram monitorados três parâmetros ao longo de um ano de rotina de treinamento: a hematologia, o óxido nítrico e a intensidade do treinamento. Para o estudo da hematologia foram utilizadas amostras de sangue. Para o estudo do óxido nítrico, amostras de saliva. E para a verificação da intensidade do treinamento foi utilizada a frequência cardíaca em treinamento. A coleta de dados ocorreu no município de Jataí GO e foi realizada em 9 meses do ano de 2014. Após a coleta, o material foi submetido a ensaios laboratoriais a fim de se analisar as concentrações, das células e dos parâmetros relacionados à hematologia e do óxido nítrico salivar.

3.2. Critérios de inclusão:

Os Participantes foram selecionados a partir dos seguintes critérios:

- Participante do Projeto Tatame com no mínimo 2 anos de prática do Jiu Jitsu esportivo;
- Tenha participado de pelo menos duas competições na modalidade nos últimos dois anos, configurando-os como competidores e dedicados ao treinamento;
- Entre 20 e 35 anos de idade.

3.3. Critério de exclusão:

Os seguintes critérios foram adotados como critérios de exclusão de participantes:

- Apresentar enfermidade grave que possa fazer com que o treinamento regular do Jiu Jitsu seja considerado de risco;
- Ser hipertenso ou diabético.

- Dedicar menos do que 6 horas semanais à modalidade;

3.4. Aspectos éticos

Os procedimentos realizados nesta pesquisa obedeceram às resoluções do Conselho Nacional de Saúde. O estudo foi desenvolvido em conformidade com a Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde e ainda da Resolução 196/1996 do mesmo conselho, respeitando os termos da Declaração de Helsinque e do Código de Nuremberg. O projeto original foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás, obtendo aprovação pelo parecer 692.581 / 2014. Para que a pesquisa fosse conduzida dentro dos mais elevados padrões éticos que regem os estudos em humanos, todas as facilidades e meios foram oferecidos aos participantes, como gratuidade e acesso às instituições de saúde, transporte quando necessário, esclarecimentos sobre os procedimentos do estudo e dúvidas, a possibilidade de abandonar a pesquisa a qualquer momento, entre outros. Além disso, foram tomados todos os cuidados para garantir a confidencialidade dos dados e da identidade dos voluntários. Todos assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), antes do início da coleta de dados concordando com os termos da pesquisa.

3.5. Caracterização dos sujeitos da pesquisa

Os voluntários desta pesquisa são atletas da modalidade esportiva Jiu Jitsu brasileiro, que foram acompanhados ao longo de um ano de treinamento.

A Regional Jataí da UFG oferece à comunidade acadêmica a prática de exercícios físicos regulares que acontecem no Núcleo de Práticas Corporais (NPC), com a orientação e o controle de professores e bolsistas dos cursos de Educação Física. Diversas modalidades de atividades físicas são oferecidas no NPC integrando o Programa Segundo Tempo Universitário (PSTU). O Programa Segundo Tempo Universitário no Câmpus Jataí, tem a adesão de muitos estudantes dos diferentes cursos de graduação e pós graduação, que se dividem entre as várias modalidades de atividades oferecidas. Esses estudantes passam por constante avaliação física, que inclui dados antropométricos, de desempenho físico e de gasto energético.

Dentre as atividades físicas desenvolvidas pelo programa Segundo Tempo, a modalidade “Jiu Jitsu” apresenta a proposta de treinamento de atletas de competição por meio do Projeto Tatame. Este projeto congrega, no espaço do NPC, cerca de 60 praticantes de Jiu Jitsu, sendo que boa parte com experiência de mais de 2 anos, qualificando-os nas faixas azul, roxa, marrom e preta. O projeto Tatame tem por objetivo desenvolver o Jiu Jitsu competitivo e qualificar os participantes a competirem nos mais diversos torneios da modalidade. Desde o início do projeto, em setembro de 2012, o grupo participou das duas etapas do campeonato goiano da modalidade e obteve resultados satisfatórios, com vários atletas pontuando no ranking da Federação de Jiu Jitsu do Estado de Goiás. Parte dos participantes do Projeto Tatame podem, assim, serem caracterizados como atletas. O treinamento desses atletas competidores envolve não somente as 6 horas semanais oferecidas pelo Projeto Tatame, mas também treinamentos extras realizados em outras academias da cidade, como forma de aprimoramento da condição física e técnica.

O Jiu Jitsu esportivo é uma modalidade em que o esforço despendido é de caráter predominantemente anaeróbico láctico. As lutas duram de 5 a 10 minutos (5 minutos na faixa azul, 7 minutos na faixa roxa, 8 minutos na faixa marrom e 10 minutos na faixa preta) e o esforço despendido é máximo ou submáximo, levando o atleta sempre próximo à exaustão. Ao longo do ano de treinamento, os atletas alternam períodos de alta intensidade do treinamento, próximo às competições, com períodos de baixa intensidade e até descanso, ao término das competições previstas. A proposta desta pesquisa foi selecionar 14 atletas desse grupo de competidores do Jiu Jitsu de Jataí e acompanhar sua preparação, com coletas regulares de amostras biológicas.

O grupo de atletas participantes foi definido a partir de critérios de inclusão dentre os participantes do Projeto Tatame, competidores na modalidade de Jiu Jitsu, em amostra não probabilística. A escolha dos atletas voluntários foi motivada unicamente pela conveniência, uma vez que este grupo realiza os treinamentos dentro das dependências da UFG, o que oferece grandes possibilidades de acesso.

O grupo foi composto por 14 sujeitos com pelo menos 2 anos de prática da modalidade, com participação regular em torneios e campeonatos. Além desse parâmetro, os participantes do grupo dedicaram, no mínimo, 6 horas semanais à modalidade Jiu Jitsu, o que seria suficiente para garantir um nível significativo de condição atlética que os caracterizariam como atletas. Como a modalidade

selecionada é um esporte individual e por isso apresenta categorias de pesos nas competições, não utilizamos o índice de massa corporal (IMC) para a caracterização da condição atlético-desportiva, uma vez que, mesmo o atleta estando com IMC “acima do peso”, ele ainda pode ser considerado atleta de alto rendimento. É importante ressaltar que as modalidades de luta mantêm categorias de peso diferentes para as disputas, enquadrando os competidores numa ou noutra categoria, e que mesmo os lutadores mais pesados, com IMC “acima do peso ideal”, podem apresentar níveis de condição cardiorrespiratória (aeróbia) e de força explosiva e força pura (anaeróbia), bastante significativos.

3.6. Delineamento do estudo:

Como o estudo é de caráter descritivo observacional longitudinal, o delineamento consistiu no acompanhamento do grupo de atletas por 9 meses, com coletas regulares de amostras de sangue, de saliva e de frequência cardíaca. O ano de treinamento foi estabelecido de abril a dezembro de 2014. O quadro abaixo descreve as datas de todos os procedimentos realizados, separadamente por etapas cumpridas e também especifica que tipo de dado foi coletado.

Quadro 1: *Cronograma da pesquisa*

	Datas	Etapas	Material coletado
1.	21 de novembro 2013	Submissão ao CEP	-
2.	29 de janeiro 2014	Assinatura do TCLE	-
3.	14 de abril 2014	Coleta de dados	Freq. Cardíaca
4.	28 de abril 2014	Coleta de dados	Freq. cardíaca; saliva
5.	5 de maio 2014	Coleta de dados	Freq. cardíaca
6.	19 de maio 2014	Coleta de dados	Freq. cardíaca
7.	21 de maio 2014	Coleta de dados / início dos hemogramas	Saliva e sangue
8.	2 de junho 2014	Coleta de dados	Freq. cardíaca
9.	16 de junho 2014	Coleta de dados	Freq. cardíaca
10.	18 de junho 2014	Coleta de dados	Saliva e sangue
11.	29 de junho 2014	Participação em competição	-
12.	30 de junho 2014	Coleta de dados	Freq. cardíaca
13.	7 de julho 2014	Coleta de dados	Freq. cardíaca

14.	9 de julho 2014	Coleta de dados	Saliva e sangue
15.	14 de julho 2014	Coleta de dados	Freq. cardíaca
16.	11 de agosto 2014	Coleta de dados	Freq. Cardíaca
17.	20 de agosto 2014	Coleta de dados	Saliva e sangue
18.	25 de agosto 2014	Coleta de dados	Freq. Cardíaca
19.	8 de setembro 2014	Coleta de dados	Freq. Cardíaca
20.	17 de setembro 2014	Coleta de dados	Saliva e sangue
21.	22 de setembro 2014	Coleta de dados	Freq. Cardíaca
22.	28 de setembro 2014	Participação em competição	-
23.	6 de outubro 2014	Coleta de dados	Freq. Cardíaca
24.	20 de outubro 2014	Coleta de dados	Freq. Cardíaca
25.	22 de outubro 2014	Coleta de dados / fim dos hemogramas	Saliva e sangue
26.	3 de novembro 2014	Coleta de dados	Freq. Cardíaca
27.	17 de novembro 2014	Coleta de dados	Freq. Cardíaca
28.	19 de novembro 2014	Coleta de dados	Saliva
29.	8 de dezembro 2014	Coleta de dados	Freq. Cardíaca
30.	10 de dezembro 2014	Coleta de dados	Saliva
31.	15 de dezembro 2014	Coleta de dados	Freq. Cardíaca
32.	10 de janeiro 2015	Elaboração do texto sobre hematologia	-
33.	15 de abril 2015	Início da quantificação da saliva em laboratório	-
34.	10 de junho 2015	Submissão dos textos sobre hematologia	-
35.	15 de setembro 2015	Fim da quantificação da saliva em laboratório	-
36.	01 de outubro 2015	Elaboração do texto sobre óxido nítrico	-
37.	15 de dezembro 2015	Elaboração da tese	-

Durante o período de coletas, os atletas participaram de duas competições oficiais, a 1ª (29 de junho) e a 2ª (28 de setembro) etapas do Campeonato Goiano de Jiu Jitsu organizados pela “Centro Oeste Jiu Jitsu” (Federação Goiana de Jiu Jitsu). Assim, foram coletados dados tanto em períodos próximos a competições, quanto em períodos de transição entre competições.

3.7. Tratamento das amostras e dos dados:

Sangue

O sangue foi coletado antes da seção de treinamento, no dia estabelecido para coleta, conforme Quadro 1. Nas coletas de junho e de outubro foram coletadas também amostras de sangue imediatamente ao final da seção de treinamento, a fim de se testar os efeitos agudos do treinamento nos parâmetros hematológicos. Os atletas foram instruídos a descansarem por 10 minutos antes da coleta de sangue. O sangue foi coletado por pessoal habilitado, ligado ao laboratório de Ciências Biomédicas III da UFG Regional Jataí.

Para a coleta de amostras de sangue utilizou-se os tubos BD Vacutainer® (Juiz de Fora, Brasil) de 4 ml (aprovados pelo FDA para serem utilizados em bancos de sangue) contendo etilenodiamino tetraacético (EDTA) jateado na parede interna do tubo. O EDTA é o anticoagulante recomendado pela CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) e pelo ISCH (International Council for Standardization in Hematology) para hematologia por ser um anticoagulante que preserva a morfologia celular. Utilizou-se também agulhas BD Eclipse, próprias para coleta de sangue a vácuo com um dispositivo de segurança que recobre toda a agulha após seu uso. Esta agulha atende por completo a normativa NR32. Em cada retirada foram coletados 4 ml de sangue.

Para armazenagem do sangue, o material foi mantido em gelo até o término da coleta de todos os participantes, a qual levou cerca de 30 minutos, quando então o material foi levado ao Laboratório de Ciências Biomédicas III da Regional Jataí da UFG e submetido aos procedimentos de quantificação.

A dosagem dos parâmetros hematológicos foi feita em parte no Laboratório de Imunologia III do curso de Biomedicina da UFG Regional Jataí, e em parte em laboratório de análises clínicas particular, localizado no município de Jataí. Os hemogramas foram feitos no aparelho KX-21N Sysmex® (Kobe, Japão) e incluiu contagem de hemácias, hemoglobina, hematócrito, VCM, HCM, CHCM, RDW, contagem de plaquetas, leucócitos totais, neutrófilos, linfócitos e a soma de monócitos, eosinófilos e basófilos. Também foram feitos esfregaços, os quais foram corados pelo método panótico rápido, para obter contagem de monócitos, basófilos e eosinófilos separadamente.

Saliva

Para a coleta de saliva, os participantes coletaram amostras, pela manhã em jejum, antes do treinamento (após descanso de 10 minutos) e, imediatamente, após o treinamento (após descanso de 10 minutos), em dias idênticos aos da coleta de sangue, em 9 momentos específicos distribuídos ao longo do ano de treinamento (Quadro1).

Os participantes receberam, na seção de treinamento anterior, o kit de coleta de saliva embalado individualmente (imagem 1) e foram instruídos de como proceder para a coleta em jejum em suas residências. Os kits de coleta de saliva foram idealizados e montados pelos pesquisadores e consistiram em um criotubo de 2 mL, uma tampa para o criotubo embalada em papel alumínio, um canudo plástico de 5 mm de diâmetro, tudo dentro de um envelope de papel cirúrgico lacrado e autoclavado alguns dias antes da coleta (imagem 2). O voluntário abriu o envelope, retirou o criotubo e o canudo, colocou o canudo dentro do criotubo e a outra extremidade na boca. Aos poucos foi empurrando a saliva para dentro do canudo. Antes da saliva encher completamente o criotubo, retirou o canudo, e tampou o criotubo com a tampa que estava embalada em papel metálico.

Imagem 1: kit de coleta de saliva



Imagem 2: esterilização dos kits de saliva



A salivação não foi estimulada e foi então coletada pelos participantes, em criotubos de 2 ml e mantidas no gelo até acondicionamento final em freezer -20°C . A coleta de saliva no local do treinamento foi feita de maneira idêntica à realizada em casa pelos participantes, com o acompanhamento do pesquisador responsável.

Foi solicitado aos participantes do estudo que na noite anterior ao dia da coleta e também no dia da coleta, não se alimentassem de verduras e vegetais, em

função do aumento na concentração de nitratos, que são reduzidos a nitrito, provocados por essa dieta e que poderiam interferir nos resultados do estudo.

Nos dias de coleta de material foi oferecido aos participantes um lanche, que ficou disponível imediatamente após a coleta de saliva realizada depois da seção de treinamento.

Após o período de coletas, a saliva coletada foi transportada de Jataí, em embalagem térmica contendo gelo seco até o Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, em Goiânia. Nesse laboratório foram feitas os experimentos de dosagem.

Para a dosagem do óxido nítrico optou-se por quantificar o nitrito, devido à estabilidade da molécula, e para isso foi utilizado o reagente de Griess, produzido pela Molecular Probes® (Eugene, EUA), que possibilita a determinação colorimétrica da concentração de nitrito. A densidade óptica (absorbância) foi medida por espectrofotometria, utilizando filtro de 550nm, em espectrofotômetro ELx 800 Biotek® (Winooski, USA). O uso do reagente de Griess é baseado no método proposto por Green et al. (1982). As amostras foram descongeladas e mantidas resfriadas. Em seguida foram centrifugadas em centrífuga refrigerada, marca Eppendorf 5804R (Hamburgo, Alemanha), por 5 minutos a 10.000 rpm para precipitação de impurezas e de proteínas mais pesadas como a mucina.

O kit reagente de Griess para detecção de nitrito produzido pela Molecular Probes, contem 3 componentes:

- Componente A: N-(1-naftil)etilenodiamina dihidrocloridrato, com 25 mL a 0,1% (1 mg/mL)
- Componente B: ácido sulfanílico, com 25 mL a 1% (10 mg/mL)
- Componente C: solução padrão de nitrito contendo 1 mL de nitrito de sódio com 1 mM diluído em água deionizada.

Para a preparação do ensaio o reagente de Griess é obtido da união do componente A com o componente B, na proporção de 1/1.

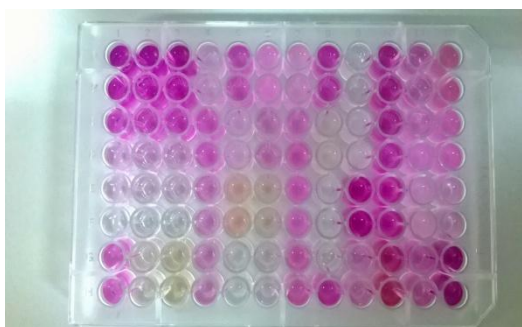
Foi utilizada microplaca de 96 poços, de fundo chato com capacidade para 300 µL. Os poços foram preenchidos com 150 µL de amostra de saliva, 130 µL de água deionizada e 20 µL de mix reagente (A + B). Os padrões foram obtidos do componente C, diluído para 5 concentrações diferentes: 150, 100, 50, 10 e 5 µL de nitrito de sódio e por ultimo água pura. Os padrões foram utilizados para obtenção da curva padrão e foram feitos em triplicatas.

A montagem da microplaca seguiu o protocolo:

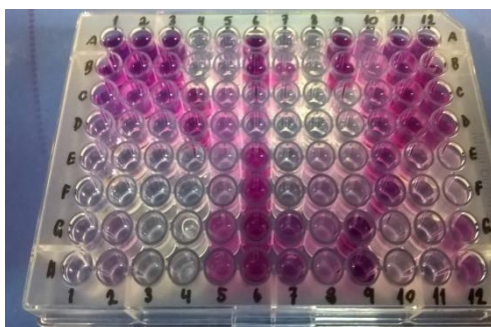
1. Obtenção dos padrões a partir da diluição do componente C.
2. Leitura da microplaca vazia no espectrofotômetro.
3. Colocação de água deionizada nos poços.
4. Adição de amostras de saliva nos poços em duplicatas.
5. Preparação do reagente de Griess (componentes A + B).
6. Adição do reagente de Griess nos poços.
7. Incubação da microplaca por 30 minutos à temperatura ambiente
8. Leitura da microplaca no espectrofotômetro

A leitura das placas forneceu valores de absorbância que foram aplicados à equação da curva padrão para obtenção de valores de concentração de nitritos. Foram produzidas 8 microplacas. Na leitura espectrofotométrica a cor violeta indica a presença de nitrito. As três primeiras colunas, a esquerda de cada placa, até a linha F (sexta linha de cima para baixo) são os poços padrões produzidos em triplicatas, com diferentes concentrações de nitrito de sódio. Quanto mais intensa for a cor violeta, maior será a concentração de nitrito na amostra de saliva.

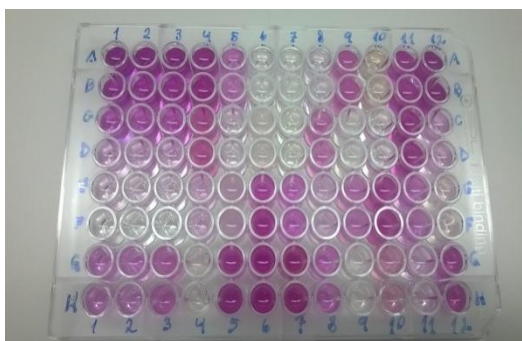
Microplaca 1



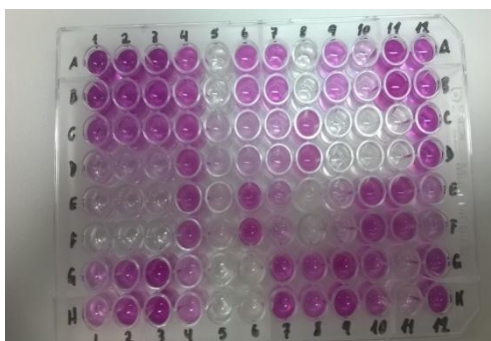
Microplaca 2



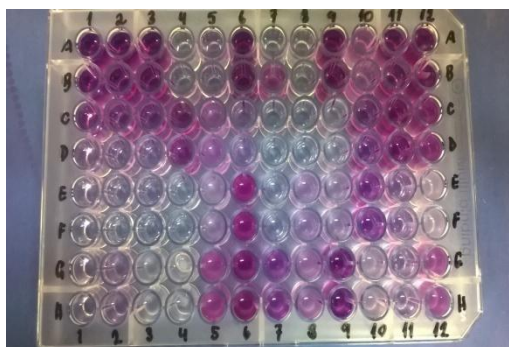
Microplaca 3



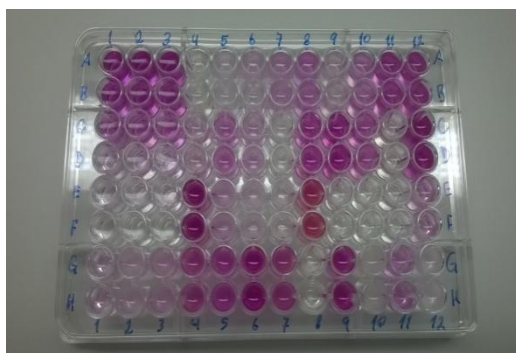
Microplaca 4



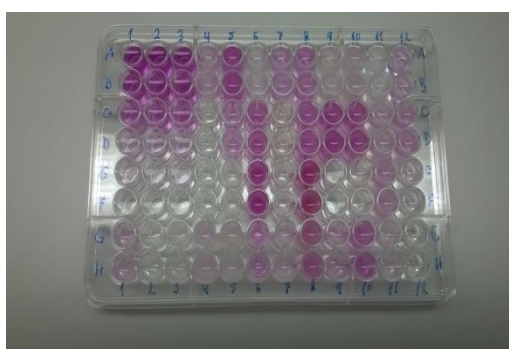
Microplaca 5



Microplaca 6



Microplaca 7



Microplaca 8



Após o experimento, as amostras foram descartadas como material biológico em local adequado, assim como todos os materiais utilizados, como, ponteiros, microplacas, criotubos de 2 mL e tubos *ependorffs* de 1,5 mL.

Frequência cardíaca

Durante os 9 meses de coleta de material biológico a frequência cardíaca dos atletas foi monitorada 2 vezes no mês, durante os treinamentos utilizando aparelho frequencímetro. Monitorou-se a frequência cardíaca nos treinamentos, nas mesmas semanas em que foram feitas as coletas de material biológico, exceto nos meses de agosto e setembro devido a particularidades do calendário acadêmico, a fim de procurar estabelecer a intensidade do treinamento que foi realizado, conforme procedimento descrito por Djordjevic, et al (2012). A cada medição, 5 aparelhos frequencímetros, marca Polar® (Kempele, Finlândia), foram ajustados em 5 participantes da pesquisa selecionados aleatoriamente. O aparelho utilizado fornece,

ao final da seção de treinamento, a frequência cardíaca média durante o período em que o atleta estava em treinamento.

A utilização do cálculo de intensidade de esforço baseado na frequência cardíaca média revela inconsistências em relação a outros testes mais acurados (RONDON et al, 1998). Entretanto, pode oferecer um parâmetro relativamente seguro, levando em consideração o tempo de treinamento e aferição (cerca de 2 horas). Utilizou-se o cálculo genérico de intensidade de trabalho que consiste em subtrair de 220 a idade do indivíduo, estabelecendo assim a frequência cardíaca máxima para esforço (CÉSAR et al, 2002). As intensidades variadas foram calculadas da fração dessa frequência cardíaca máxima, obtidas por cálculo utilizando regra de três simples.

Neste experimento utilizou-se a média de idade do grupo ($27 \pm 4,56$) para se estabelecer a frequência cardíaca indicativa da máxima intensidade:

$$220 - 27 = \underline{193 \text{ bpm}} \implies \text{Frequência cardíaca máxima, 100\% de intensidade}$$

As frações desse valor indicaram as diversas faixas de intensidade a que os voluntários foram submetidos em treinamento.

3.8. Análise dos resultados encontrados:

A análise dos dados coletados foi de caráter estatístico, no qual foi utilizado o software R i386, versão 3.2.1, e ainda o software Office Excel, versão 2010. As ferramentas de construção de gráficos foram dos mesmos softwares citados e os testes estatísticos utilizados foram:

- teste Shapiro wilk (paramétrico) para verificação da normalidade dos dados;
- teste Wilcoxon (não paramétrico) para comparação entre dois agrupamentos de dados pareados que não apresentaram distribuição normal;
- teste t-student (paramétrico) para comparação entre dois agrupamentos de dados pareados com distribuição normal;
- teste Análise de Variância (ANOVA) (paramétrico) para comparação entre três ou mais agrupamentos de dados, com pos teste de Tukey, que identifica quais agrupamentos apresentam diferenças;

- teste Kruskal Wallis (não paramétrico) que tem o mesmo objetivo do ANOVA, porém em dados sem distribuição normal;
- teste de correlação (paramétrico) produto momento de Pearson que identifica se existe correlação entre dois conjuntos de dados.

Além destes, utilizou-se também a elaboração de equação de regressão linear para o estabelecimento de curva padrão e de valores de concentração de óxido nítrico.

4. PUBLICAÇÕES

Artigo 1 - Chronic Haematological Profile Study in Brazilian Jiu Jitsu Athletes

Autores: Nestor Persio Alvim Agricola; João Batista Alves de Souza; Martha Ribeiro Bonilha; Lídia Andreu Guillo

Artigo publicado na American Journal of Sports Science and Medicine
ISSN 2333 4592 - [DOI:10.12691/ajssm-4-1-3](https://doi.org/10.12691/ajssm-4-1-3)

Artigo 2 - Acute Hematological Changes in Jiu Jitsu Athletes

Autores: Nestor Persio Alvim Agricola; Lídia Andreu Guillo

Artigo publicado na American Journal of Sports Science and Medicine
ISSN 2333 4592 - [DOI:10.12691/ajssm-3-4-1](https://doi.org/10.12691/ajssm-3-4-1)

Artigo 3 – Óxido nítrico salivar em atletas de Jiu Jitsu esportivo.

Autores: Nestor Persio Alvim Agricola; Lídia Andreu Guillo

Artigo não submetido

Chronic Haematological Profile Study in Brazilian Jiu Jitsu Athletes

Nestor Persio Alvim Agricola^{1,*}, João Batista Alves de Souza², Martha Ribeiro Bonilha³, Lidia Andreu Guillo⁴

¹Universidade Federal de Goiás, Regional Jataí, Departamento de Educação Física,
 Av. Voluntários da pátria 1132, Vila Fátima, Jataí, Goiás, Brasil

²Universidade Federal de Goiás, Regional Jataí, Departamento de Biomedicina,
 R. André Luiz, 42, Vila Fátima, Jataí, Goiás, Brasil

³Universidade Federal de Goiás, Regional Jataí, Departamento de Biomedicina,
 Av. Petrobras, 91 – bloco 1 apt. 403, Jardim Goiás, Jataí, Goiás, Brasil

⁴Universidade Federal de Goiás, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Campus II,
 Jardim Samambaia, CP 131, Goiania, Goiás, Brasil

*Corresponding author: nestoralvim@hotmail.com

Abstract This paper will treat about hematological parameters in Brazilian Jiu Jitsu athletes, linking their training with some variations of these parameters. The aim of this study was to evaluate the potentialities of this sport modality in what it has to do with promotion and maintenance of human health. Fourteen athletes have participated in this study that consisted in accompanying them during their training for six months, when monthly blood samples were collected and weekly monitoring of heart rate training were done. Variations in hematological parameters have been compared with the intensity of the training performed all this long. Statistical analyzes performed were Student t test for paired samples when data showed a normal distribution, and Wilcoxon test for paired samples, when data didn't show a normal distribution. Results show that erythrocytes and lymphocytes varied in a very similar way to the intensity of training. Hemoglobin, hematocrit, total leukocytes, neutrophils and platelets varied oppositely to training intensity. RDW, monocytes and eosinophils varied randomly, with no relation to the intensity of training. The training stimulates an increase in the production of red blood cells and hemoglobin, however, the kind of intense training and full contact, with frequent injuries, might cause hemolysis, maintaining low concentrations of these parameters. Jiu Jitsu promotes specific effects both in the red data series as in white ones; and it can be recommended for health maintenance, since, despite the detected variations, all parameters remained under the reference values.

Keywords: *Brazilian Jiu Jitsu, haematological parameters, health*

Cite This Article: Nestor Persio Alvim Agricola, João Batista Alves de Souza, Martha Ribeiro Bonilha, Lidia and Andreu Guillo, "Chronic Haematological Profile Study in Brazilian Jiu Jitsu Athletes." *American Journal of Sports Science and Medicine*, vol. 4, no. 1 (2016): 13-19. doi: 10.12691/ajssm-4-1-3.

1. Introduction

Hematological parameters of human health have some factors that can interfere with the interpretation of results, such as altitude, stress, diet, level of physical fitness and exercise. These variables show up as relevant fields of research. In terms of physical training, body adaptations are quite specific to each type or kind of effort. Some authors propose the establishment of reference values of normality for trained people, slightly different from the general parameters [1].

The intensity and duration of training have been indicated as important factors in the variability of several analytes. The nature of the exercise or the sport practice in their volume and intensity can produce various effects demonstrated on several biomarkers, including hematological ones [2]. In this context, test results that come apart from the conventional reference ranges, in athletes, not only can reflect the presence of a particular disease, but can often

reveal an adaptation to regular training or changes that occurred during/after the exercise; and it must be clearly recognized to avoid misinterpretation of laboratory data. Thus, the values of some biomarkers in athletes or physically active individuals should be interpreted with some attention.

Brazilian Jiu Jitsu is a fight of intense contact, which takes place predominantly on the ground, in which the fighters try to subdue the opponent using drops, armbars, levers and bottlenecks. The fact of the fight to be developed predominantly on the ground brings some peculiar characteristics to the training itself, marked by intense isometric effort and aerobics [3]. The fight lasts around 8 minutes and requires great endurance in addition to strength, flexibility and motor coordination. During the fight, the athlete is often taken to maximum effort and in order to support five, six or seven fights, as it is common in those kinds of championships, the athlete must hold an excellent cardiorespiratory fitness. The recovery time in a competition between bouts is, mostly, 10 times lower than

the total time of the fights added up, revealing the need of a physical condition that's actually ascertained [4].

Although that effort is predominantly of an anaerobic lactic character, the need for recovery and discarding of lactate requires the athlete a great aerobic capacity [4]. Throughout the year of training, athletes alternate periods of high intensity of training when the competitions are near, with periods of low intensity and even a period of rest at the end of the scheduled competitions. The energy expenditure is high and this maximum or submaximal effort often leads to muscle, joint and bone injuries. A Jiu Jitsu athlete rarely practices with any pain from injuries or microlesions acquired in previous training sessions.

There are several studies on hematological parameters in athletes or people who work out regularly. These are divided primarily on studies of chronic effects, checked by monitoring the changes in parameters during training practice time, and the severe effects, checked by comparison, in the values of the parameters, before and after the section or sections of training. Studies of chronic effects in general seek modifications of a long-lasting character and that can point direct correlations with human health.

Among most of standard results found in chronic effects studies, the decrease stands out in hemoglobin concentration during the training period [5,6,8,9]. Apparently, the continuing training enhances the gas transport capacity of erythrocytes and consequently reduces the need for hemoglobin, which in its turn, reduces its concentration. However, this effect is obtained in elite athletes that undergo systematic training that aims competitions, and not in moderately trained people. The isolated training, done sporadically, does not change the hemoglobin parameters in people who work out in various practices, compared to baseline [7]. The decreases in concentration of erythrocytes, in hematocrit values and in the concentration of mean corpuscular hemoglobin (MCHC) are also mentioned as a result of intense and regular training [6,8,9]. However, these observed changes do not refer to a morphological change in the cells, but an improvement in the entire system of capitation and transport of gases as one effect of *endurance* training. On the other side, some studies have not observed any decrease in the concentration of any red blood parameter, and there are also studies that observed the opposite effect, an increase in hemoglobin concentration after the training period [10,11].

Concerning the white series parameters, the most common result found in similar studies is leukocytosis [11,12,13]. Authors attribute this increase of leukocytes to a white blood cell demargination which, due the increase in blood flow, falls into the bloodstream, enlisted as a possible inflammatory response caused by microlesions in the tissues. In addition to the increased leukocyte, there are reports of an increase in neutrophils and monocytes concentration, and a decrease in the concentration of eosinophils [11,12,13] and lymphocytes [14]. Neutrophilia is also attributed to the mobilization of bone marrow cells, and lymphopenia is associated with high concentrations of cortisol, typically originated from an intense effort. Reports of decrease in concentrations of lymphocytes and eosinophils are also associated with the migration of these cells to those inflammatory sites caused by microlesions due muscular effort.

Thus, this paper aims to discuss the results of hematological parameters in Brazilian Jiu Jitsu athletes

checked over six months compared with heart rate training data, characteristic in intense physical effort, in order to recognize this modality in its particularities related to intensity and physical effort and its effects on the body, and also to consider its potential in relation to human health.

2. Materials and Methods

This study involved 14 volunteers with a mean age of 27 (± 4.56) years, Jiu Jitsu athletes with at least 2 years of practice in this modality and competitors in regional and national tournaments. The athletes were monitored for six months in their training routine (2014), when monthly blood samples collection were done before each training session.

4 ml of whole blood was collected using BD Vacutainer™ tubes containing EDTA K2, in vacuum puncture needle BD Eclipse™ about 10 minutes before starting each training session. CBCs were performed on the KX-21N Sysmex™ device and included erythrocytes, hemoglobin, hematocrit, MCV (Mean Corpuscular Volume), MCH (Mean Corpuscular Hemoglobin), MCHC (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration), RDW (Red Cell Distribution Width), platelets count, total leukocytes, neutrophils, lymphocytes, and the sum of monocytes, eosinophils and basophils. Smears were also made, which were stained by quick panoptic method for obtaining differential counting of monocytes, basophils and eosinophils. The blood counts were performed at the Laboratory of Biomedical Sciences II of the course of Biomedicine in UFG Regional Jataí.

Heart rate was weekly monitored, during the trainings, by a frequency counter. The heart rate monitoring meant to compare the variations in blood counts with the intensity of training, and for this, the mean heart rate was calculated for each month of training. All statistical analysis was performed using the software R i386 version 3.1.1. Tables and graphs were constructed using the software Office Excel 2007. Statistical tests performed in this study were Test t-student for paired samples, when data showed a normal distribution, and the Wilcoxon test for paired samples, when data did not show a normal distribution.

That study was submitted to the Ethics Committees in Research of the Federal University of Goiás and was approved by the opinion 692.581 on 05/16/2014. Volunteers signed a Free and Clarified Consent Term before the start of the study, ensuring the confidentiality, according to the ethical standards in research with human beings. This study was conducted in accordance with Resolution 466/2012 of the National Health Council and with Resolution 196/1996 from the same council and the Declaration of Helsinki.

3. Results

3.1. Evaluation of Cardiac Frequency

During these six months follow-up of Brazilian Jiu Jitsu athletes, results of the mean heart rate (Figure 1) reflected the variation of the intensity used in trainings [15].

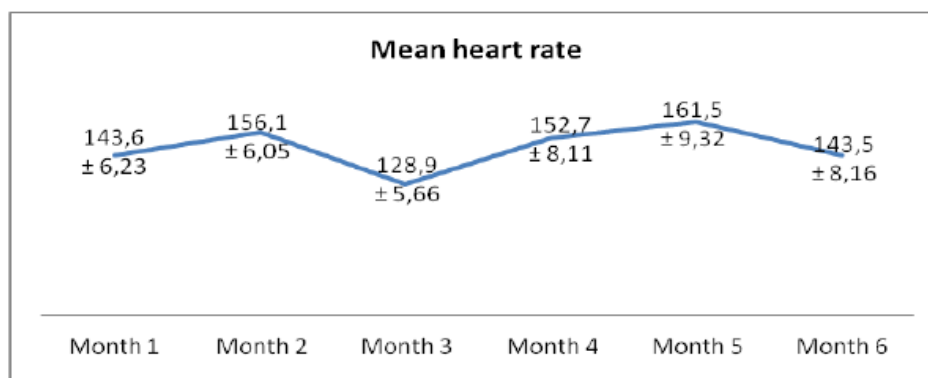


Figure 1. Monthly mean heart rate

As shown in Figure 1, the monitored training period had two peaks of greater intensity over 6 months: the first peak happened circa the second month and the other near the fifth month of training. This occurred due to competitions in which the athletes have participated, thus the training sessions were carried out with more intensity. Periods of lower mean heart rate were periods of preparation and recovery, characterized by lower intensity.

3.2. Red Series

Erythrocytes data (million/mm³), hematocrit (%), hemoglobin (g/dl), MCV (f), MCH (pg), MCHC (g/dl), RDW (%) and platelets (mil/mm³), are expressed in Table 1 as mean ± standard deviation.

Table 1. Data of red series

	Month 1	Month 2	Month 3	Month 4	Month 5	Month 6
Red blood cells (million/mm ³)	5,25 ± 0,424	5,27 ± 0,463	4,93 ± 0,402*	5,14 ± 0,342*	5,17 ± 0,422	5,38 ± 0,446
Hematocrit (%)	44,00 ± 3,24	43,85 ± 2,32	44,60 ± 3,06	43,90 ± 2,83	44,74 ± 3,17	47,75 ± 3,73*
Hemoglobin (g/dl)	14,16 ± 1,21	14,34 ± 1,19	15,32 ± 1,14**	14,36 ± 1,17	14,99 ± 1,39	15,37 ± 1,49*
MCV (f)	84,35 ± 9,71	83,83 ± 8,37	91,04 ± 10,45**	85,77 ± 8,44	87,02 ± 9,39	89,20 ± 9,09**
MCH (pg)	27,28 ± 3,63	27,49 ± 3,71	31,28 ± 3,96**	28,06 ± 3,24	29,16 ± 3,84**	28,73 ± 3,78
MCHC (g/dl)	32,27 ± 0,74	32,69 ± 1,73	33,96 ± 0,83*	32,65 ± 0,83	33,42 ± 1,04**	32,10 ± 1,10
RDW (%)	13,74 ± 0,72	12,97 ± 1,54	13,07 ± 0,95**	14,02 ± 0,96**	13,12 ± 1,03	13,02 ± 0,81**
Platelets (mil/mm ³)	225,0 ± 50,31	240,3 ± 55,18*	264,6 ± 67,64*	213,6 ± 56,35	182,1 ± 60,29	248,5 ± 61,59*

* significant difference from month # 1, with p<0,05 (Student t-test for paired samples).

** significant difference from month # 1, with p<0,05 (Wilcoxon test for paired samples)

The behavior of the red series parameters can be compared with data from heart rate or from intensity of training. For red blood cell values (Figure 2) it was showed a significant decrease between the first month and the third month, with P-value = 0.0004 and also between the first and the fourth month, with P-value = 0.025. The

measurement of erythrocytes concentration showed a normal distribution by the Shapiro-wilk test over the 6 months of follow-up. Red blood cells ranged from a very similar way to the heart rate itself, markedly differing only in the sixth month of follow-up.

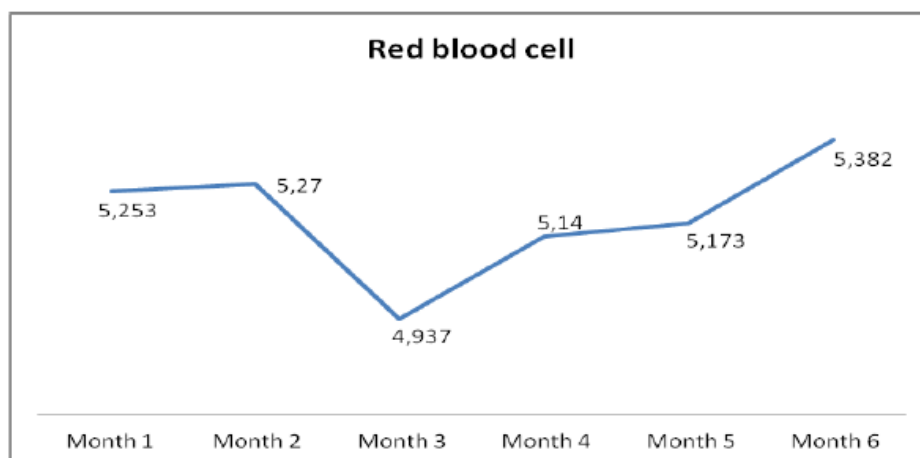


Figure 2. Variation of red blood cells

In hematocrit data a significant difference was only detected in the sixth month of study (P-value = 0.002), compared to the values of the first month. The distribution

of hematocrit presented normality in five out of the six months of tests and it may vary in a less intense way.

Hemoglobin (Figure 3) presented significant increase in the third month (P-value = 0.014) and in the sixth month (P-value = 0.01). As for the distribution of hemoglobin levels it didn't show normal distribution to four of the six months tested. The hemoglobin values varied differently

from the intensity of training, by having higher peaks in the values during the months that came after higher intense training. Months of higher mean hemoglobin are the months of lower intensity of training (Figure 3).

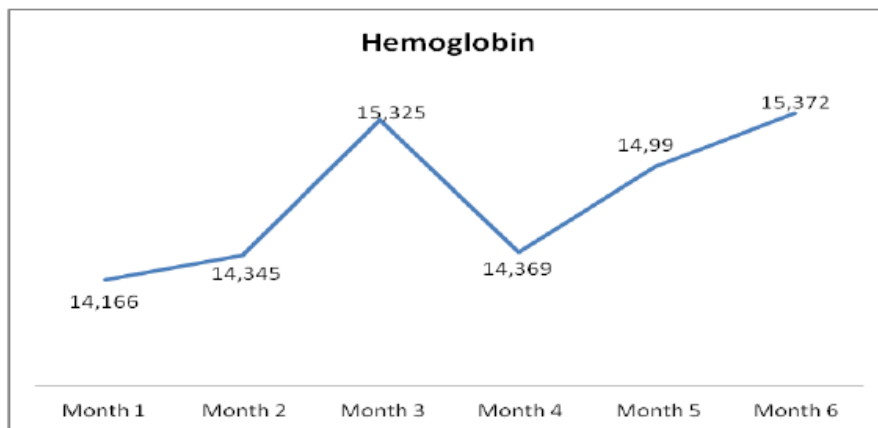


Figure 3. Hemoglobin variation

RDW values varied randomly with no reference to the intensity of those training data. However, there was significant statistical difference between the first and third month (P-value = 0.023), between the first and the fourth month (P-value = 0.024) and between the first and sixth month (P-value = 0.021).

MCV, MCH and MCHC data rarely presented normal distribution, thus they were tested by paired Wilcoxon test. MCV showed significant difference in third month (P-value = 0.015) and sixth month (P-value = 0.015)

compared to the first month. As for MCH and MCHC values, there was a significant difference in the third and fifth month, if compared to the first month.

3.3. White Series

Total leukocytes, neutrophils, lymphocytes, monocytes and eosinophils data (all measured in cells/mm³ of blood) are shown in Table 2 as mean ± standard deviation:

Table 2. White series data

	Month 1	Month 2	Month 3	Month 4	Month 5	Month 6
Total leukocytes	6966,6 ± 1305,7	7218,1 ± 1373,9	7966,6 ± 1527,5*	7292,3 ± 1694,3	7340,0 ± 1119,7	7518,1 ± 2059,5
Neutrophils	3792,3 ± 1028,0	3842,7 ± 1410,1	4576,6 ± 1348,2*	4047,2 ± 1756,9	4117,5 ± 947,7*	4478,4 ± 1810,0
Lymphocytes	2852,5 ± 716,5	2839,0 ± 519,1	2760,0 ± 441,7	2767,3 ± 730,9	2777,6 ± 507,3	2597,1 ± 515,4
Monocytes	234,8 ± 58,5	323,0 ± 135,3	401,5 ± 120,2*	314,8 ± 81,7*	304,4 ± 110,3	279,7 ± 78,4
Eosinophils	86,8 ± 41,7	194,0 ± 85,3*	177,0 ± 71,7*	162,8 ± 67,6*	139,7 ± 60,8*	162,8 ± 66,3*

* significant difference from month # 1, with p<0,05 (Student t-test for paired samples).

All white series parameters showed normal distribution (Shapiro-Wilk test), except for eosinophils in months 1 and 4.

Basophils statistically could not be tested because they are cells that were rarely observed throughout the study period.

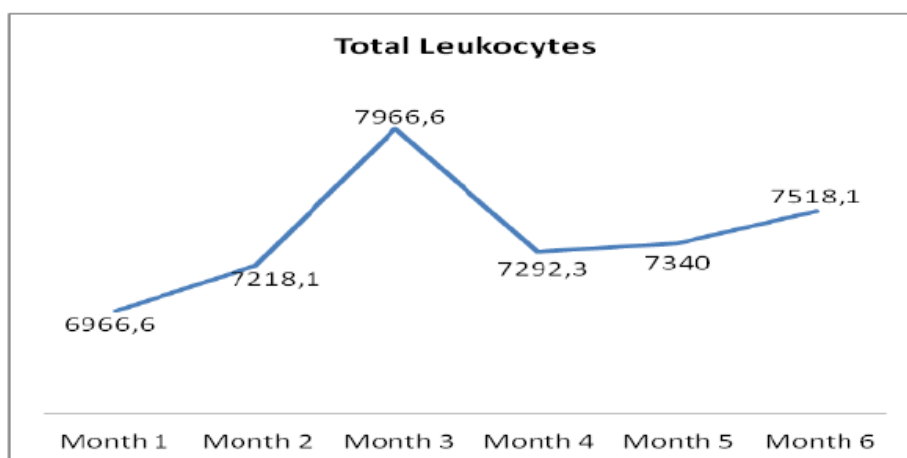


Figure 4. Variation of total leukocytes

Among the total leukocytes values, there is a significant difference only in month # 3 when compared to month # 1, with P-value = 0.004 (Figure 4). Month # 6, compared with # 1, did not show significant difference due to a high standard deviation. The mean values of total leukocytes presented subsequent peaks to those two of training

intensity ones, indicating an increase in months 3 and 6 when compared to month # 1, coinciding with those peaks of high hemoglobin values. Neutrophils values follow the same increasing tendency in months succeeding months of higher intensity in the training (months 3 and 6), following also the hemoglobin peaks (Figure 5).

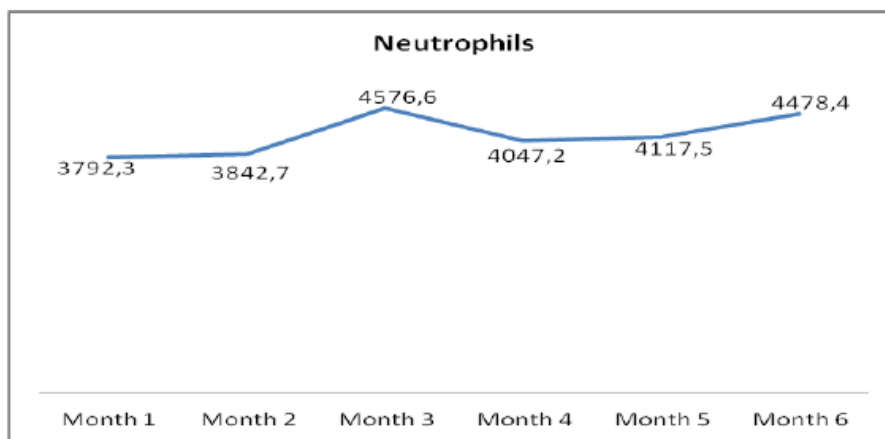


Figure 5. Variation of neutrophils

For neutrophils values, month # 3 shows significant difference from month # 1 (P-value = 0.002). Although the sixth month shows an increase compared to the first

month, this increase was not statistically significant. However, month # 5 shows significant difference from month # 1 (P-value = 0.032).

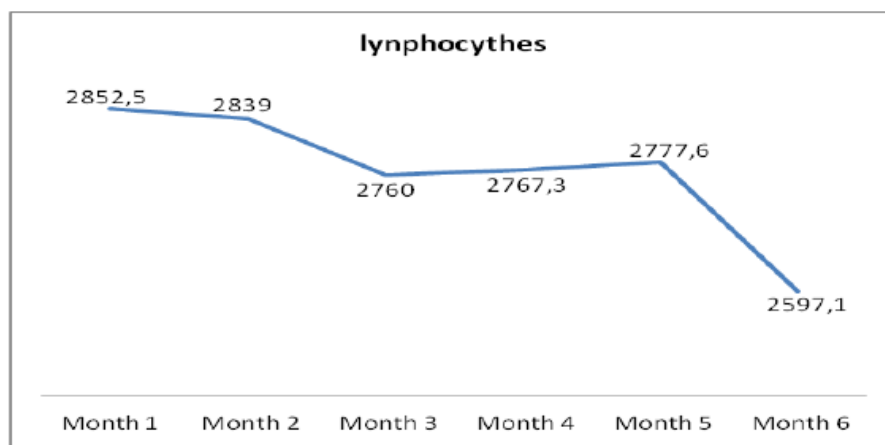


Figure 6. Variation of lymphocytes

Lymphocytes have a continuous decline over the study period, but there was no statistically significant variation in any month when compared to month # 1. Lymphocyte values may vary subtly, but inversely to the values of total leukocytes and neutrophils, with the lowest values found exactly in months # 3 and # 6. This variation, however, was not significant from a statistical point of view. Lymphocytes behave in an inverse way to red blood cells, hematocrit, hemoglobin, total leukocytes and neutrophils, revealing an almost steady decline over the 6 months (Figure 6).

Monocytes vary randomly and do not appear to follow the patterns of the other cell types. A significant variation was observed in third month (P-value = 0.003) and in fourth month (P-value = 0.033), relative to the first month. Eosinophils also vary out of the established patterns checked in neutrophils and lymphocytes, with significant variation over all months compared to month # 1.

Platelet parameters showed statistically significant changes in months 2 (P-value = 0.044), 3 (P-value = 0.002) and 6 (P-value = 0.006) compared to month 1. The variation in mean platelet in athletes draws a graph similar to neutrophils one, signifying a possible relationship between these two variables. The striking difference between the two graphs is observed only in the fifth month, which in neutrophil graph shows an increase if compared to the fourth month, and in the platelet graph shows a decrease when compared to the fourth month.

4. Discussion

Hematologic parameters seem to show no variation according to a well-defined pattern associated with body exercise. What can be perceived in most of those cited studies is that physical exercise influences these

parameters, but it seems to vary according to the intensity and exercise's duration, and especially according to the type of training. The findings are not unanimous much less conclusive and require new and deeper studies. There is no single concept that can discourse and explain the variability between different sports practices or how they may be compared to each other. The level of physical effort or the volume/intensity of work can't characterize the difference between the different categories. Data from blood counts collected in this study and in other similar ones demonstrate this. Athletic modalities with similarities in training intensity present hematological parameters that vary differently, which requires, therefore, other classifications or concepts that can find justification for the phenomenon.

Erythrocytes values may vary similarly to the values obtained for heart rate. Hemoglobin values vary in a reverse way from the heart rate, showing higher values in months of lower intensity. This tends to confirm the explanation in which the most intense training enhances the gas transport system, reducing the need for hemoglobin [6,16]. Thus, in months of lower intensity, the body starts producing hemoglobin again in greater quantity, as seen in months 3 and 6, because the improvement is only checked in really intense training periods.

However, this result may have another explanation. In months of higher intensity of training, low concentrations of hemoglobin has been observed. This might suggest that the stress due intense training after the preparation for competitions has led to a loss of erythrocytes. Oxidative stress, cause of cellular damages in muscle tissue, leads to micro lesions originated from high tension and effort, causing hemolysis and maintaining low concentrations of erythrocytes, even before an intense stimulus of production of those cells [2,17]. Thus, in months of post competition characterized by a lower intensity of effort, the micro lesions would be less frequent, and the hemolysis in decrease, revealing higher concentration of erythrocytes. Reports of decrease in hemoglobin concentrations, including values below the international standard of normality, due to the high physical effort, are related to the stress in muscle and joint structures underwent to high stress [18,19]. Combat sports, and specifically the Brazilian jiu jitsu, are propitious to these lesions [19,20,21].

Regarding the white series, the leukocyte count varied very similarly to hemoglobin one, i.e., in months after a stronger intensity there is an increase in leukocyte concentration. This graph says much more in what relates to neutrophils, as long as the lymphocytes vary inversely. The specialized literature reports an increase in the concentration of neutrophils and a decreased in lymphocytes induced by exercise [23,24]. However, this reaction occurs only under maximum or submaximal effort [25,26]. In this study the same effect can be observed mainly in months of lower intensity of training.

5. Conclusion

Brazilian Jiu Jitsu fight has as characteristic a very intense contact between athletes, which may facilitate the dissemination of viral or bacterial infections within the

group, like in school environments, and it may affect the average values of some of these parameters, mainly in white series. In addition, the Jiu Jitsu exposes the athlete to high physical effort, demanding a lot from joints and tendons, which ends up turning to a very common inflammation in these structures, changing parameters of blood cells associated with the immune system.

However, it can't be stated that the training has no influence in those parameters, and therefore the hypothesis that the blood count parameters are affected by physical effort is sustained. The maintenance of lower hemoglobin concentrations in high-intensity training periods is evidence that the athlete suffers frequent injuries, which would be responsible for hemolysis of those cells. The body would have stimulated an increase in the production of red blood cells in intense training; however, the oxidative stress generated by that same intense training would lead to a decrease in concentrations of red blood cells and especially hemoglobin. Notwithstanding, this reaction doesn't confirm itself in white series, demonstrating an immune response mobilization, with an increase of neutrophils and lower lymphocyte, precisely in the subsequent months to the greater intensity.

This type of fight shows to be indicated for the maintenance of human health parameters, since all parameters verified during the study were within the reference standards accepted worldwide. It should be highlighted, however, the fact that several studies have come to affirm that parameters of normality must be reviewed when it's about trained athletes, with consequences that can reach issues related to doping in sports [2,6,16,18,22]. Further studies, with different designs, are necessary to confirm some of the hypotheses raised here for more accurate conclusions.

Statement of Competing Interests

The authors have no competing interests

References

- [1] Nunes L A S. Estudo dos parâmetros hematológicos em pessoas fisicamente ativas. Campinas (SP): Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, 2006.
- [2] Sanchis-Gomar F, Lippi G. Physical activity - an important pre-analytical variable. *Biochemia Medica* 2014; 24(1):68-79.
- [3] Bradão F, Fernandes H M, Alves J V, Fonseca S, Reis V M. Hematological and biochemical markers after a Brazilian Jiu-Jitsu tournament in world-class athletes. *Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano*.
- [4] Del Vecchio F B, Bianchi S, Hirata S M, Chacon-Mikahil M P T. Análise Morfo-funcional de praticantes de Brazilian Jiu Jitsu e estudo da temporalidade e da quantificação das ações motoras na modalidade. *Movimento & Percepção, Espirito Santo do Pinhal, SP, v.7, n.10, jan./jun. 2007*.
- [5] Boyadjiev N, Taralov Z. Red blood cell variables in highly trained pubescent athletes: a comparative analysis. *Br J Sports Med* 2000;34:200-4.
- [6] Banfi G, Del Fabbro M. Behaviour of reticulocyte counts and immature reticulocyte fraction during a competitive season in elite athletes of four different sports. *Int J Lab Hematol* 2007;29:127-31.
- [7] Schumacher Y O, Schmid A, Grathwohl D, Bultermann D, Berg A. Hematological indices and iron status in athletes of various sports and performances. *Med Sci Sports Exerc* 2002;34:369-75.
- [8] Winitzer K C, Faulhaber M. Hemoglobin and hematocrit during an 8 day mountainbike race: A field study. *Journal of Sports Science and Medicine* 2007;6:265-66.

- [9] Hu M, Finni T, Sedliak M, Zhou W, Alen M, Cheng, S. Seasonal variation of red blood cell variables in physically inactive men: effects of strength training. *Int J Sports Med* 2008;29:564-8.
- [10] Diaz V, Lombardi G, Ricci C, Jacobs R A, Montalvo Z, Lundby C. Reticulocyte and haemoglobin profiles in elite triathletes over four consecutive seasons. *Int J Lab Hematol* 2011;33:638-44.
- [11] Lombardi G, Ricci C, Banfi G. Effect of winter swimming on haematological parameters. *Biochem Med* 2011;21:71-8.
- [12] Hammouda O, Chbouou H, Chahed H, Ferchichi S, Chaouachi A, Kallel C. High intensity exercise affects diurnal variation of some biological markers in trained subjects. *Int J Sports Med* 2012;33:886-91.
- [13] Oliveira C A M, Rogatto G P, Luciano E. Efeitos do treinamento físico de alta intensidade sobre os leucócitos de ratos diabéticos. *Rev Bras Med Esporte* _ Vol. 8, Nº 6 – Nov/Dez, 2002.
- [14] Bachur J A, Quemelo Q R, Bachur C A K, Domenciano J C, Martins C H G, Stoppa M A, Neto T L B, Garcia S B. Evaluation of the effect of hypothermia by cold water immersion on blood neutrophils and lymphocytes of rats submitted to acute exercise. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* 2008;30(6):470-474.
- [15] Henríquez O C, Báez S M E, Von Oetinger A, Cañas J R, Ramírez C R. Autonomic control of heart rate after exercise in trained wrestlers. *Biology of Sport*, Vol. 30 No2, 2013.
- [16] Lippi G, Salvagno G L, Danese E, Tarperi C, Guidi G C, Schena F. Variation of Red Blood Cell Distribution Width and Mean Platelet Volume after Moderate Endurance Exercise. *Advances in Hematology*, Volume 2014, Article ID 192173, 4 pages.
- [17] Latunde-Dada G O. Iron metabolism in athletes – achieving a gold standard. *European Journal of Haematology* 90 (10-15), 2012.
- [18] Rietjens G J, Kuipers H, Hartgens F, Keizer H A. Red blood cell profile of elite olympic distance triathletes. A three-year follow-up. *Int J Sports Med.* 2002 Aug;23(6):391-6.
- [19] Bledsoe G H, Hsu E B, Grabowski J G, Brill J D, Li G. Incidence of injury in professional Mixed Martial Arts competitions. *Journal of Sports Science and Medicine* (2006) CSSI, 136-142. <http://www.jssm.org>.
- [20] Scarpi M J, Conte M, Rossin R A, Skubs R, Lenk R E, Brant R. Association between two different types of strangling and intraocular pressure variation in jiu-jitsu athletes. *Arq Bras Oftalmol.* 2009;72(3):341-5.
- [21] Ide B N, Padilha D A. Possíveis lesões decorrentes da aplicação das técnicas do jiu-jitsu desportivo. *Efdeportes*, Buenos Aires - Año 10 - Nº 83 - Abril de 2005. <http://www.efdeportes.com>.
- [22] Schumacher Y O, Jankovits R, Bültmann D, Schmid A, Berg A. Hematological indices in elite cyclists. *Scand J Med Sci Sports.*
- [23] Costa Rosa L F P B, Vaisberg M W. Influências do exercício na resposta imune. *Rev Bras Med Esporte* 2002; 8(4):167-72.
- [24] Oliveira C A M, Rogatto G P, Luciano E. Effects of high intensity physical training on the leukocytes of diabetic rats. *Rev Bras Med Esporte* _ Vol. 8, Nº 6 – Nov/Dez, 2002.
- [25] Bradão F, Fernandes H M, Alves J V, Fonseca S, Reis V M. Hematological and biochemical markers after a Brazilian Jiu-Jitsu tournament in world-class athletes. *Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano.*
- [26] Gonçalves L C, Bessa A, Freitas-Dias R, Wernick-de-Castro J P S, Bassini A, Cameron L C A. sportomics strategy to analyze the ability of arginine to modulate both ammonia and lymphocyte levels in blood after high-intensity exercise. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* 2012, 9:30. <http://www.jissn.com/content/9/1/30>.

Acute Hematological Changes in Jiu Jitsu Athletes

Nestor Persio Alvim Agricola^{1,*}, Lidia Andreu Guillo²

¹Universidade Federal de Goiás, Regional Jataí, Departamento de Educação Física Av. Voluntários da pátria 1132, Vila Fátima, Jataí, Goiás, Brasil

²Universidade Federal de Goiás, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular Jardim Samambaia, CP 131. Goiania, Goiás, Brasil

*Corresponding author: nestoralvim@hotmail.com

Abstract This study deals with acute changes in hematological parameters in athletes of the Brazilian fight Jiu Jitsu. The aim is to discuss the variations of these parameters in athletes who underwent some training in two different levels of intensity in order to identify the effects of this kind of sport, in what relates to effort intensity features in the organism, and also analyze the possibilities in what has to do with human health. Fourteen volunteers participated in this study, athletes with at least 2 years of practice in this type of fight and competitors. The athletes were monitored for over 2 months in their training routine. Blood samples were collected formerly and immediately after the training sessions in two specific moments, the first collection happened right next to one of the team target competitions and the second collection in post competition period. There was a statistically significant increase in total leukocytes and platelets (both months), neutrophils (month #1), lymphocytes and monocytes (month #2) and significant decrease in eosinophils (both months). The changes induced by exercising in a state of organic homeostasis don't seem to affect the red series, acutely. However, the white series is largely affected by physical effort, and its magnitude keeps depending on the intensity of effort and the modality of fight.

Keywords: *physical exercise, haematological parameters, immune system, injuries, competition*

Cite This Article: Nestor Persio Alvim Agricola, and Lidia Andreu Guillo, "Acute Hematological Changes in Jiu Jitsu Athletes." *American Journal of Sports Science and Medicine*, vol. 3, no. 4 (2015): 70-76. doi: 10.12691/ajssm-3-4-1.

1. Introduction

Physical exercise has been considered an important variable in the study of human health, mostly by changes induced in several biomarkers. In physical training, adaptations of the body are quite specific for each kind of sport or type of effort. Intensity and duration of training have been indicated as relevant factors in the variability of several biomarkers, including hematological ones [1].

Tests results, done outside the conventional reference ranges in athletes, not only can reflect the presence of diseases, but can often reveal an adaptation to regular training or changes that have occurred during/after the exercise, and that must be clearly recognized to avoid misinterpretation of laboratory data. Thus, the values of some biomarkers in athletes or in physically active individuals should be interpreted with caution.

Jiu Jitsu is a sport which has gained prominence and has become popular. It is a full contact fight that takes place predominantly on the floor, where the fighters try to subdue the opponent using drops, locks, levers and rear-naked. Among its main features is the similarity with grappling fights, such as Judo, Greco Roman and Wrestling, differing primarily in the rule set. The fight lasts about 8 minutes and the fact that it takes place predominately on the ground brings some of the own characteristics to the training, marked by intense isometric effort and the development of large aerobic capacity [2,3].

Throughout the whole year of training, athletes alternate periods of high intensity training, when the competitions are near, with periods of low intensity and even periods of some rest. The energy outlay is high and the maximal or submaximal effort often leads to muscle, joint and bone injuries. The athlete of fighting sports rarely trains without the presence of pain from injuries or micro lesions acquired in previous training sessions [4].

Our goal with this study is to discuss the changes in some hematological parameters in Brazilian Jiu Jitsu athletes who underwent training in two different levels of intensity in order to know the effects of this type of fight in what relates to its effort intensity features to the body, and also evaluate the possibilities in what has to do with human health.

There are many studies that address hematological parameters in athletes or physically active individuals, separated in studies of chronic effects checked by monitoring the changes in parameters over the training practice time, and studies of acute effects verified by comparison, in parameters values before and after the training section or sections. Studies on acute effects, even they taking into account the transient changes, search for, in these modifications, consequences related to health.

Among the most common effects reported are the decrease in the concentration of red blood cells [5,6], hemoglobin [5,6], hematocrit [6] and RDW [5,7]; and also an increase in the concentration of platelets [5,7]. Authors report that these alterations can last from 30 minutes to 20 hours from the end of the training section and some of

them suggest that this effect is related to the overtraining syndrome. By these results, authors state that reference values for blood counts could only be applied to individuals at rest, since almost all parameters tested during the practice, or soon after, experience variations. It's necessary to consider that trained individuals in general may experience an increase in the blood volume; and the transient hemoconcentration due the loss of water, commonly resulted from the exercise, can lead to results stemmed from altered tests, but which in fact would result from the simple decrease in plasma volume [1]. It has been found recently a relationship between elevated values of RDW and platelet after the exercise and the mortality of exercisers who practice moderate exercises for a long time [1]. This association has not been proven yet, but there is strong suspicion.

On the other hand, there are reports of increase in plasma volume as a result of intense exercise causing hemodilution and transient decrease in levels of red blood cells and hemoglobin, which can be mistaken for anemia [8]. In addition, iron metabolism is pointed as an important factor in gas transport mechanism, in maintenance of hemoglobin concentration and volume of red blood cells [8]. The increase in the generation of reactive oxygen species in muscle tissue, caused by intense effort, generates an oxidative stress condition that has the consequence of severe cellular damage [1]. Muscle and joint microlesions are results of this process that is said to be the cause of hemolysis of red blood cells and it can lead to a decrease in the concentration of these cells [8].

Regarding the white series, it has been demonstrated a difference between effects after post moderate exercise and post intense one, described so that the moderate effort tends to stimulate the increase in parameters related to the immune system, while intense effort will produce a decrease of these parameters [9]. Among the effects related to intense exercise, reports of leukocytosis occurring immediately after the exercise and involving an increase of neutrophils, monocytes and lymphocytes are usual [10,11,14]. The imbalance during the state of homeostasis caused by an intense effort leads to the increase of epinephrine and cortisol secretion, and also an increase in the concentration of "Natural killer" cells, considered the cause of variations in leukocytes [10,12]. However, there are reports also about the decrease in the concentration of lymphocytes and eosinophil after intense exercise, which lasts until 48 hours after the effort is ceased [10].

In studies involving athletes of fight sports, the results don't differ from athletes of other sports. Acute changes induced by Kung Fu training were: an increase of neutrophils, lymphocytes decrease, which ran into the 30%, and eosinophils, whose count was already low, got lower due to training [13]. In elite competitors of Brazilian Jiu Jitsu, the variations followed the same pattern: leukocytosis with increase in neutrophils and monocytes and decrease in lymphocytes and eosinophils after the end of the competition [15]. However, another study with Brazilian Jiu Jitsu athletes describes an increase in the concentration of lymphocytes as a result of intense training [16].

2. Materials and Methods

This study had the participation of 14 volunteers with a mean age of 27 ± 4.56 , athletes with at least 2 years of practice in this modality of fight and competitors from regional and national tournaments. The athletes were monitored for over 2 months in their training routine. Blood samples were collected before and immediately after each training session in two specific moments: the first collection happened close to one of the team target competitions. The athletes were in pre-competitive training period characterized by higher intensity of effort. The second collection was realized during post-competitive training season or recovery period, characterized by lower intensity. Despite the difference in training intensity between the two moments, the training phase and the weekly frequency did not change from one month to the other.

In total, 4 ml of blood was collected, using tubes BD Vacutainer™ with EDTA, in vacuum puncture needles BD Eclipse™ about 10 minutes before the beginning of each training section. The blood samples after the training sessions were collected similarly, about 10 minutes after the end of the sections. During practice, athletes were not deprived of drinking water, but they were not fed. The blood counts were performed on KX-21N Sysmex™ device and involved RBC count, hemoglobin, hematocrit, MCV, MCH, MCHC, RDW, platelet count, total leukocytes, neutrophils, lymphocytes count and the total monocytes, eosinophils and basophils. Smears were also made, which were stained by Quick Panoptic method for counting monocytes, basophils and eosinophils. Blood counts were performed in the laboratory of immunology III of the course of Biomedicine at UFG Regional Jatá.

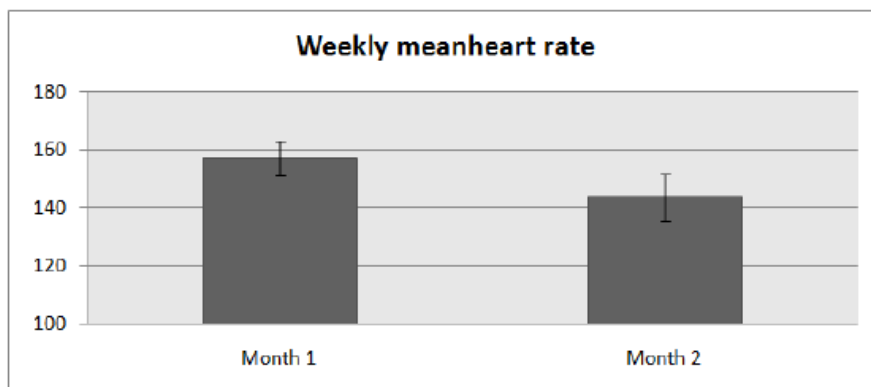
Athletes usually train about 8 hours a week on alternate days and the average heart rate was monitored during training in the weeks in which there were blood collections, using frequencymeter device Polar™, which provided the mean heart rate for training time. It was used 5 devices and volunteers were randomly selected from each training session, among the group, to use the device. The average weekly heart rate was obtained from the arithmetic mean of all the week's measurements.

Statistical calculations were done using the software R i386, version 3.2.1. Tests were realized as follow: Shapiro-Wilk test for normality samples and t-student test for paired samples, with significance level of $p < 0.05$. This study was submitted to the Ethics Committees in Research of the Federal University of Goiás and was approved by the opinion 692.581 on 05/29/2014. Volunteers signed a Free and Clarified Consent Term before the start of the study, ensuring the confidentiality, according to the ethical standards in research with human beings, established by the national and international documents.

3. Results and Discussion

During the monitoring of Brazilian Jiu Jitsu athletes, the average heart rate (Chart 1) reflected the change in intensity of training [17]. They have gone through periods of higher intensity, proper of the preparation for competitions, and of lower intensity ones, proper of the short-term periods between competitions.

Heart rate data were organized in weekly average for each time of blood collection.



Graph 1. Weekly meanheart rate

As observed, the two moments of sample collection had different training intensities. In the first collection, the average rate was higher due to an upcoming competition. In the second collection, the frequency was lower due to a less intense training proper of post competition period. In the week of the first collection the average heart rate was 157.1 bpm ± 6.05. (70%) In the week of the second collection, the average heart rate was 143.5 bpm ± 8.14. (60%)

During the follow-up of Brazilian Jiu Jitsu athletes, blood samples were collected before the training session in two occasions, and immediately after the training session too, in order to perform blood counts. We've opted for the same procedure twice in order to check for any acute changes induced by more intense and less intense training.

In the table below, data of the red series exposed as mean ± standard deviation:

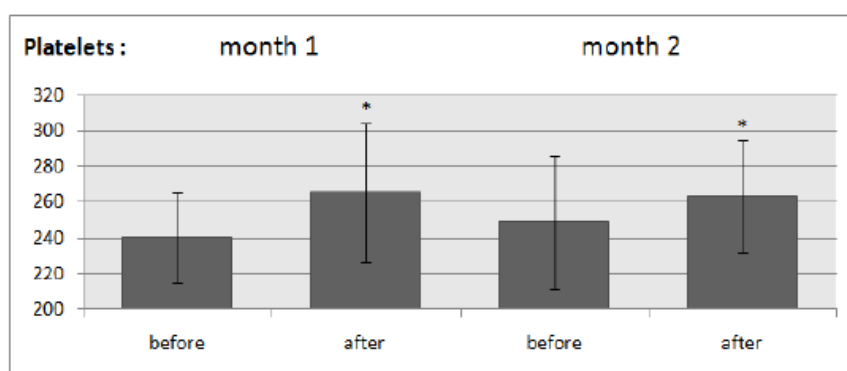
3.1. Results - Red Series

Table 1. Acute changes in red series

	Month 1		Month 2	
	Before	After	Before	After
Red blood cells (million/mm ³)	5,270 ± 0,463	5,255 ± 0,453	5,382 ± 0,446	5,362 ± 0,350
Hematocrit (%)	43,85 ± 2,32	43,57 ± 3,03	47,75 ± 3,73	47,54 ± 3,14
Hemoglobin (g/dl)	14,34 ± 1,19	14,48 ± 1,29	15,37 ± 1,49	15,34 ± 1,42
MCV (fl)	83,83 ± 8,37	83,41 ± 8,02	89,20 ± 9,39	89,09 ± 9,09
MCH (pg)	27,49 ± 3,71	27,76 ± 3,45	28,73 ± 3,78	28,74 ± 3,72
MCHC (g/dl)	32,69 ± 1,73	33,20 ± 1,34	32,10 ± 1,10	32,17 ± 1,12
RDW (%)	12,97 ± 1,54	12,75 ± 1,54	13,02 ± 0,81	13,07 ± 0,87

The statistics showed no significant difference in any of the parameters of the red series in the period before and after the training session. Data indicate that the parameters

of the red series were not affected acutely by physical training even being the two measurement times characterized by different intensities of training.



Graph 2. Variation in platelets

Concerning the platelets, however, there was a significant increase in both, first and second collection. In the first measurement of acute training effects, P-value was 0.048, in the second measurement, P-value was 0.038.

3.2. Results - White Series

In white series, the results were different regarding the influence of physical training. White series parameters are shown below as mean ± standard deviation:

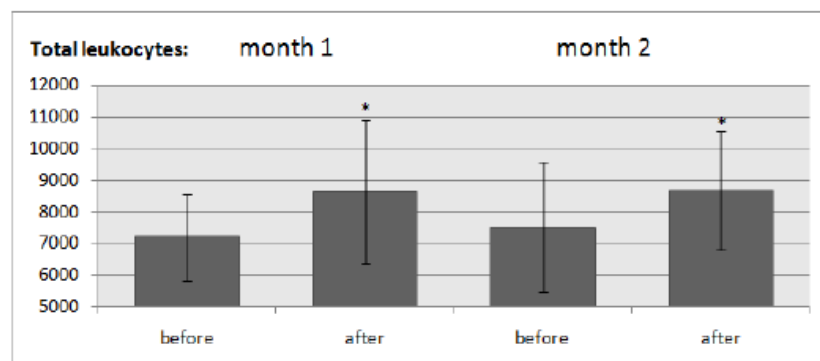
Table 2. Acute variations in white series (cells/mm³)

	Month 1		Month 2	
	Before	After	Before	After
Total leukocytes	7218,18 ± 1373,91	8641,66 ± 2274,94*	7518,18 ± 2059,52	8672,72 ± 1891,60*
Neutrophils	3842,72 ± 1410,18	5122,50 ± 1910,24*	4478,45 ± 1910,04	5238,27 ± 1854,74
Lymphocytes	2839,09 ± 519,16	3004,16 ± 481,10	2597,18 ± 515,44	2907,63 ± 535,97*
Monocytes	323,09 ± 135,38	380,41 ± 233,33	279,72 ± 78,46	378,63 ± 138,57*
Eosinophils	194,00 ± 85,37	115,25 ± 66,91*	162,81 ± 66,33	128,18 ± 52,61*

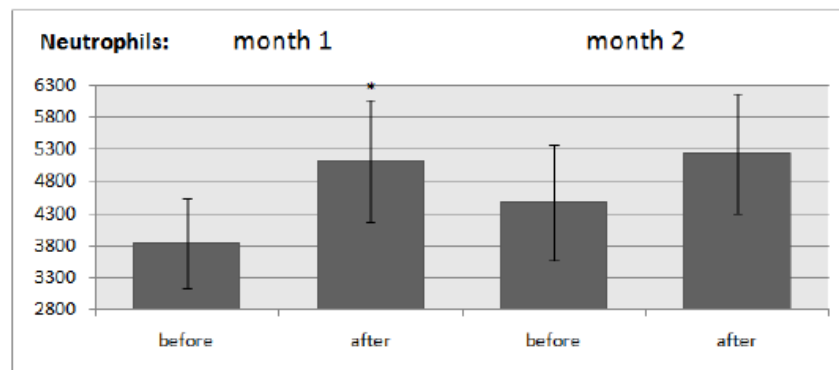
*significant difference compared to the prior with $p < 0.05$.

All parameters increased after the training session, except eosinophils that in both occasions decreased its value after the exercise. Total leukocytes showed a statistically significant increase in both occasions, with P-value=0.044 in month1 and P-value=0.038 in month 2. Neutrophils showed a statistically significant increase only in month 1, with P-value=0.009. In month 2 the increase

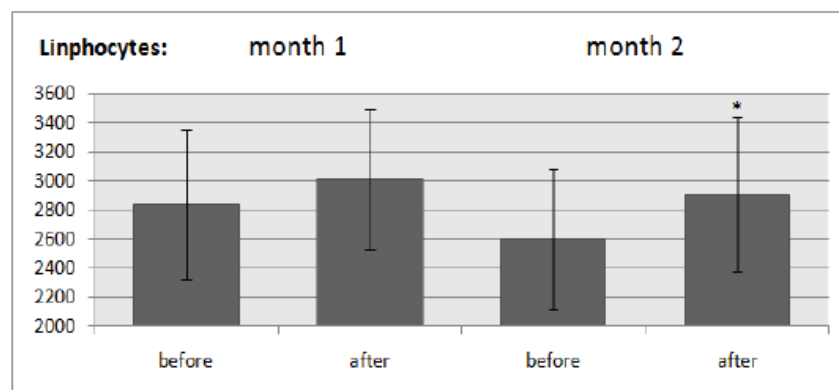
was not significant. Lymphocytes showed a statistically significant increase only in month 2, with P-value=0.002. In month 1 the increase was not significant. Monocytes showed a statistically significant increase only in the month 2, with P-value=0.027. The decrease of eosinophils was significantly detected in both tests. In month 1 the P-value was 0.014 and in month 2 was 0.048.



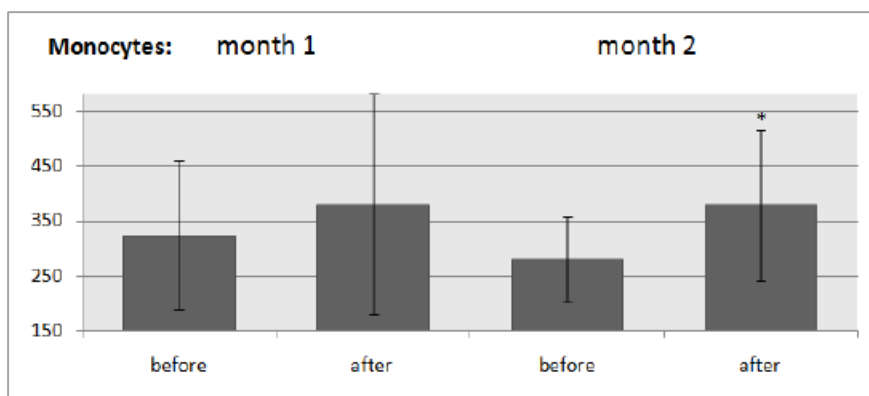
Graph 3. Total leukocyte variation



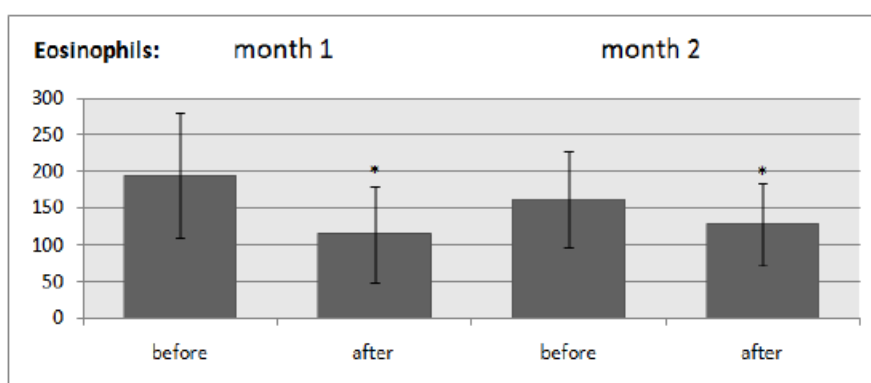
Graph 4. Variation in neutrophils



Graph 5. Variation in lymphocytes



Graph 6. Variation in monocytes



Graph 7. Variation in eosinophils

The intensity of training seems to interfere in the results in a specific way, since as neutrophils increased significantly in the month of higher intensity, lymphocytes and monocytes increased significantly in the month of lower intensity. Eosinophils proved to be susceptible to physical exertion by reducing its concentration significantly before the exercise. How long these variations may last could not be verified in this study, for logistical issues.

As observed, hematological parameters don't seem to vary according to a well-defined pattern associated with physical exercise. What can be perceived in most studies is that the exercise exerts some influence on these parameters, but this influence appears to vary according to the intensity and extent of the exercise, and especially according to the modality of training.

Changes in plasma volume after exercising, as a common effect in studies of this type, may partly explain the results in this study, since there was an acute increase of platelets and almost all white cells [1]. However, the decrease in plasma volume by loss of water caused by the exercise can increase the concentration of red blood cells firstly, what hasn't occurred in this case.

Another aspect to be considered in white cells variations is the high propensity to muscle and joint tissue injuries due to the type of training in Jiu Jitsu. Tissue lesions are associated with the release of chemical mediators of inflammation that generate changes in the function and concentration of white cells.

The use of exercise intensity calculation based on the mean heart rate reveals inconsistencies in relation to other

more accurate tests [18]. However, it may offer a relatively safe parameter, taking into consideration the training duration and measurement (about 2 hours). In the first month of monitoring, next to competition period, the activity can be considered intense, as it reaches nearly 75% of maximum intensity. In the second month, the intensity is classified as moderate, ranging nearly 60% of maximum intensity. The relevance of these data is the finding that principally the white cells vary according to the intensity of the effort.

The increase in leukocytes as an acute training effect comes from the recruitment of these cells, from structures and peripheral tissues to the bloodstream [14]. Increased heart rate produces a reaction of mobilization in the immune system causing the migration of part of the defense cells from lymphoid tissues and organs into the bloodstream. Neutrophils, which are mostly marginalized into lungs, liver and spleen, are mobilized by the higher heart rate; increasing their concentration in the bloodstream [10]. Their concentration shows a clear relationship with the intensity of the effort, since a significant increase was statistically observed in the month of higher effort. Physical exercise seems to recruit those neutrophils that migrated into the tissues, bringing them back to the bloodstream. Another factor to be considered is the largest nitric oxide production caused by the heart rate increase. Nitric oxide leads to reduction in platelet aggregation and in the adhesion of leukocytes in general and platelets, which may explain the increase in concentration of these cells after the exercise [22].

In studies focused on the ratio between exercise and the immune system, some authors suggest a higher incidence of upper respiratory tract infections after intense exercise in elite athletes, as the result of an immunity reduction reaction [12,21]. This reaction appears as an acute leukocytosis followed by a drastic reduction in the concentration of lymphocytes [11]. The gradual and continuous decrease in lymphocytes and eosinophils, unleashed after intense long-term exercise, lasts up to 4 hours after the end. This is reported as a cause of an increased susceptibility to respiratory infections in elite athletes. However, this reaction only occurs when exercising to the fullest intensity.

Physical exercise can produce changes in concentration, ratio and function of leukocytes, even affecting the Natural Killer cells, polymorphonuclear and immunoglobulin ones [19]. These changes are attributed to the state of stress generated by the effort and metabolites that are related to it, such as adrenaline, cortisol and catecholamines, which can generate an immunosuppressive effect [10,14]. The intensification of this chain of reactions is characteristic of overtraining, which is precisely the limit of what may or may not be healthy in physical exercise. Lymphocytes are susceptible to cortisol which tends to decrease their concentration in intense effort. In our experiment there was an increase of lymphocytes in the two measurements, to a lesser extent in the month of higher intensity. It is possible that if the training intensity was elevated up to the maximum effort, it would then be observed the suppressive effect of lymphocytes. This predisposition can be confirmed in studies that report decreased lymphocyte only before a very high stress [7,16]. The concentration of lymphocyte population in an inverse proportion to the intensity of training can be explained by the increasing percentage of apoptosis of these cells induced by high catecholamine concentrations and oxidative stress proper from the intense effort [20].

Regarding eosinophils, as it all points, it seems that the higher the training intensity is, the lower these cells concentration is into the bloodstream. The relation between training intensity, or of the fight itself, and lesions or inflammation seems to be direct [7], which may explain the decrease in the concentration of eosinophils, in the rate that the more intense the fight and training are, the larger the amount of micro-lesions and inflammatory areas and the higher the quantity of eosinophils moved from the bloodstream to these regions.

Intense exercise can lead to oxidative stress manifested in some alteration of endocrine, hematologic and immunologic profile. Although the changes in the immune system caused by oxidative stress are transient and of reversible character, they may explain, in part, the leukocytosis observed as acute effect from the training [6]. In addition, the exhaustive exercise causes an increase in the generation of reactive oxygen species, expanding the oxidative stress sign in cells, resulting in cellular damage [1]. Frequent microlesions, common in fight trainings, especially in muscle tissues, causing up to severe damage due to the volume and intensity, seem to stimulate the mobilization of white blood cells, which start helping in inflammatory areas that are formed since then.

4. Conclusion

Changes originated from the physical exercise during organic homeostasis state do not seem to affect the red series, acutely. However, the white series is largely affected by physical exertion, getting its magnitude depending on the intensity of effort and on the modality too. Fight modalities characterized by causing lots of injuries tend to produce different effects in hematological parameters. Even so, it is reinforced the theory that the very intense physical effort can produce a disorder in the immune response, to the outbreak of infectious diseases. Despite being a high intensity effort fight, Brazilian Jiu Jitsu demonstrates, in its training, a potential for health maintenance. Even generating muscle and joint strain injuries, which is common in this sport modality, hematological parameters showed no alarming data. Despite the variations in these parameters, all remained within internationally accepted normal values.

Statement of Competing Interests

The authors have no competing interests.

References

- [1] Sanchis-Gomar F, Lippi G. Physical activity - an important preanalytical variable. *Biochemia Medica* 2014; 24(1):68-79.
- [2] Andreato L V, Franchini E, Moraes S M F, Pastório J J, Silva D F, Esteves J V D C, et al. Physiological and Technical-tactical Analysis in Brazilian Jiu-jitsu Competition. *Asian Journal of Sports Medicine*, Vol. 4 (Number 2), June 2013, Pages: 137-143.
- [3] Del Vecchio F B, Bianchi S, Hirata S M, Chacon-Mikahil M P T. Análise Morfo-funcional de praticantes de Brazilian Jiu Jitsu e estudo da temporalidade e da quantificação das ações motoras na modalidade. *Movimento & Percepção*, Espírito Santo do Pinhal, SP, v.7, n.10, jan./jun. 2007.
- [4] Bledsoe G H, Hsu E B, Grabowski J G, Brill J D, Li G. Incidence of injury in professional Mixed Martial Arts competitions. *Journal of Sports Science and Medicine* (2006) CSSI, 136-142.
- [5] Lippi G, Salvagno G L, Danese E, Tarpen C, Guidi G C, Schena F. Variation of Red Blood Cell Distribution Width and Mean Platelet Volume after Moderate Endurance Exercise. *Advances in Hematology*, Volume 2014, Article ID 192173, 4 pages.
- [6] Reis L C, Oliveira S F, Oliveira C S E S, Campos L A S, Neto O B. Exercício resistido agudo altera perfil hematológico em atletas praticantes de levantamento de peso. *Coleção Pesquisa em Educação Física - Vol.8, n° 3-2009*.
- [7] Bradão F, Fernandes H M, Alves J V, Fonseca S, Reis V M. Hematological and biochemical markers after a Brazilian Jiu-Jitsu tournament in world-class athletes. *Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano*.
- [8] Latunde-Dada G O. Iron metabolism in athletes - achieving a gold standard. *European Journal of Haematology* 90 (10-15). October 2012.
- [9] Ott J N, De Oliveira K R. Análise hematológica de jogadores de futebol profissional antes e após esforço físico intenso. *Relatório técnico científico: XVIII Jornada de Pesquisa - Salão do Conhecimento, Ciência, Saúde, Esporte*. UNIJUI, Ijuí - RS, 2013.
- [10] Bachur J A, Quemelo P R, Bachur C A K, Domenciano J C, Martins C H G, Stoppa M A, et al. Evaluation of the effect of hypothermia by cold water immersion on blood neutrophils and lymphocytes of rats submitted to acute exercise. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* 2008; 30(6):470-474.
- [11] Gabriel H, Kindermann W. The Acute Immune Response to Exercise: What Does It Mean? *International Journal of Sports Medicine*, vol. 18 n. 1, p. 28-45, 1997.
- [12] Nieman D C. Immune response to heavy exertion. *Journal Applied of Physiology*, vol. 82 n. 5, p. 1385-1394, 1997.

- [13] Cordeiro E M, Gomes A L M, Guimarães M, Silva S G, Dantas E H M. Alterações hematológicas e bioquímicas oriundas do treinamento de combate em atletas de Kung Fu Olímpico. Rio de Janeiro: Fitness & Performance. v 6, n 4, 255-261, jul / ago 2007.
- [14] Costa Rosa L F P B, Vaisberg M W. Influências do exercício na resposta imune. *Rev Bras Med Esporte* 2002; 8(4):167-72.
- [15] Brandão F, Fernandes H M, Alves J V, Reis V M. Hematological and biochemical markers after a Brazilian Jiu-Jitsu tournament in world-class athletes. *Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum* 2014, 16(2):144-151.
- [16] Gonçalves L C, Bessa A, Freitas-Dias R, Werneck-de-Castro J P S, Bassini A, Cameron L C A. sportomics strategy to analyze the ability of arginine to modulate both ammonia and lymphocyte levels in blood after high-intensity exercise. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* 2012, 9:30.
- [17] Henríquez O C, Báez S M E, Von Oetinger A, Cañas J R, Ramírez C R. Autonomic control of heart rate after exercise in trained wrestlers. *Biology of Sport*, Vol. 30 No2, 2013.
- [18] Rondon M U P B, Forjaz C L M, Nunes N, Amaral S L, Barreto A C P, Negão C E. Comparison Between Exercise Intensity Prescription Based on a Standard Exercise Test and Cardiopulmonary Exercise Test. *Arq Bras Cardiol*, volume 70 (n° 3), 159-166, 1998.
- [19] Oliveira C A M, Rogatto G P, Luciano E. Effects of high intensity physical training on the leukocytes of diabetic rats. *Rev Bras Med Esporte* _ Vol. 8, N° 6 – Nov/Dez, 2002.
- [20] Terra R, Silva S A G, Pinto V S, Dutra P M L. Effect of exercise on immune system: response, adaptation and cell signaling. *Rev Bras Med Esporte* – Vol. 18, No 3 – Mai/Jun, 2012.
- [21] Peters E M. Exercise, Immunology and Upper Respiratory Tract Infections. *International Journal Sports of Medicine*, vol. 18 n. 11, p. S69-S77, 1997.
- [22] Barreto R de L & Correia C R D. Óxido nítrico: propriedades e potenciais usos terapêuticos. *Quim. Nova*, Vol. 28, No. 6, 1046-1054, 2005.

ÓXIDO NÍTRICO SALIVAR EM ATLETAS DE JIU JITSU ESPORTIVO

Nestor Persio Alvim Agricola

Lidia Andreu Guillo

RESUMO: Este artigo discute a produção de óxido nítrico sob a interferência do treinamento físico esportivo, expresso pelo nitrito salivar de atletas da modalidade Jiu Jitsu. O objetivo deste estudo foi verificar as potencialidades da modalidade para produção de níveis ideais de óxido nítrico estimulado pelo esforço e quantificar as concentrações de óxido nítrico relacionadas ao treinamento do Jiu Jitsu. O estudo foi conduzido com a participação de 14 atletas voluntários que foram acompanhados por 9 meses em sua rotina de treinamento, fornecendo amostras de saliva não estimulada. Foram coletadas amostras a cada mês, em três períodos do dia: pela manhã ao acordar, imediatamente antes do treino e imediatamente após o treino. O nitrito salivar foi quantificado pelo método colorimétrico de Griess. Também foram monitoradas as frequências cardíacas de treinamento a fim de se estabelecer a intensidade do treinamento realizado. As médias mensais de nitrito salivar demonstraram correlação significativa com as médias mensais de frequência cardíaca, dando indícios de que o nitrito salivar responde ao treinamento físico. Contudo, as concentrações de nitrito salivar medidas imediatamente após o treinamento sempre diminuía em relação ao antes do treino. Isso se deveu à natureza da modalidade estudada, visto que, por ser uma luta, a forte carga de estimulação simpática inibiu a atividade das glândulas salivares, bem como sua irrigação, impedindo que o nitrito salivar expressasse o aumento de óxido nítrico circulante, estimulado pelo treinamento.

PALAVRAS CHAVE: Óxido nítrico; esforço físico; nitrito salivar; saúde

INTRODUÇÃO

O óxido nítrico é uma molécula inorgânica, de baixo período de meia vida, gasosa e que possui um elétron desemparelhado em sua última camada, tornando-a uma molécula iônica altamente reativa que se combina facilmente com o oxigênio e com alguns metais de transição. É considerado um radical livre que pode ser tanto agente oxidante quanto redutor, dependendo do meio em que se encontra, e sua reação com o oxigênio gera nitritos e nitratos (CERQUEIRA & YOSHIDA, 2002). Em condições normais de temperatura e pressão o NO é um gás, incolor com moderada solubilidade em água, e que reage com alguns metais de transição, entre eles o ferro.

Até meados dos anos 1980, não era conhecida a ação biológica do NO para o organismo humano, sendo, até então, considerado apenas membro de uma família

de poluentes ambientais indesejáveis (DUSSE, VIEIRA & CARVALHO, 2003). A investigação acerca de um fator vasodilatador determinante no relaxamento do endotélio vascular levou à hipótese da existência do Endothelial – Derived Relaxing Factor (EDRF) (FURCHGOTT & ZAWADZKI, 1980). Mais tarde descobriu-se que o mecanismo pelo qual a EDRF produzia o relaxamento muscular do endotélio era mediado pela guanosina monofosfato cíclica (GMPc) (RAPAPORT & MURAD, 1983), e a partir daí concluiu-se que o NO era a molécula comum aos processos vasodilatadores, que resultava no relaxamento muscular do endotélio, melhorava o suprimento sanguíneo ao coração e aliviava sintomas como angina (DUSSE, VIEIRA & CARVALHO, 2003).

O NO está envolvido em uma gama de reações no organismo humano e tem a capacidade tanto de ser benéfico, quanto potencialmente tóxico, conforme sua concentração. É produzido de forma endógena por uma variedade de tipos diferentes de células. É o principal mediador citotóxico de células imunes no organismo, sendo o precursor de nitritos e nitratos excretados pelos macrófagos em respostas imunológicas específicas (SNYDERS & BREDET, 1992). O potencial citotóxico do NO se revela oportuno na medida em que é produzido em quantidades significativas durante a resposta imunológica e provoca danos oxidativos letais às células-alvo (BARRETO & CORREIA, 2005). Faz parte da primeira linha de defesa do organismo com seu poder microbicida.

O óxido nítrico além de atuar de forma direta na vasodilatação, ainda possui a propriedade de inibição da agregação plaquetária, prevenindo a formação de trombos, inibe também a adesão plaquetária e leucocitária na parede dos vasos (FLORA FILHO & ZILBERSTEIN, 2000). A variedade de interações e ações possíveis dessa molécula lhe rendeu o título de “molécula do ano” em 1992 na revista Science, quando os estudos, envolvendo uma diversidade de hipóteses, se multiplicavam na comunidade científica (KOSHLAND, 1992).

Síntese e ação

O óxido nítrico é produzido pelas enzimas óxido nítrico sintase (NOS) que são hemoproteínas divididas em três isoformas que possuem o mesmo mecanismo catalítico e utilizam os mesmos substratos, co-fatores e co-substratos. A isoforma 1, nNOS, ou óxido nítrico sintase neuronal, é constitutiva e está presente em neurônios

principalmente e no órgão sexual masculino, é cálcio-calmodulina dependente e regula a transmissão sináptica no sistema nervoso central. Atua na regulação central da pressão sanguínea, no relaxamento da musculatura lisa de artérias e na regulação do fluxo sanguíneo ao cérebro (CERQUEIRA & YOSHIDA, 2002).

A isoforma 2 é induzida (iNOS) por citocinas e lipopolisacarídeos no endotélio vascular, não é cálcio dependente e é regulada pelo estímulo imunológico, produzindo grandes quantidades de NO para a defesa contra patógenos invasores. Sua síntese não é verificada em condições basais e dura em torno de 24 horas após o estímulo inicial.

A isoforma 3, também constitutiva, é a óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), que produz o NO continuamente no endotélio em condições basais. O aumento do fluxo sanguíneo, ao produzir maior atrito (*shear stress*), leva a eNOS a aumentar a produção de NO. Também é cálcio-calmodulina dependente (CERQUEIRA & YOSHIDA, 2002). Atua na regulação da pressão sanguínea e do tônus vascular da musculatura lisa, inibe a proliferação de células da musculatura lisa das artérias, e ainda exerce influência na contratilidade da musculatura cardíaca (MURREL et al, 1996). A inibição da eNOS pode provocar aumento da permeabilidade vascular e acentuar a agregação plaquetária e a aderência de leucócitos ao endotélio.

A reação de formação do óxido nítrico se dá a partir da L-arginina, como substrato, que tem como co-produto o NO e a L-citrulina ao final. A L-arginina é um aminoácido semi-essencial produzido no organismo, também utilizado no ciclo da uréia, a partir de proteínas ingeridas e degradadas e da neo-síntese a partir da citrulina (FLORA FILHO & ZILBERSTEIN, 2000). Na reação de conversão da L-arginina em NO e L-citrulina (figura 1) também é necessária a presença de O_2 e nicotinamida-adenina-dinucleotídeo-fosfato-hidrogênio (NADPH) como co-substratos.

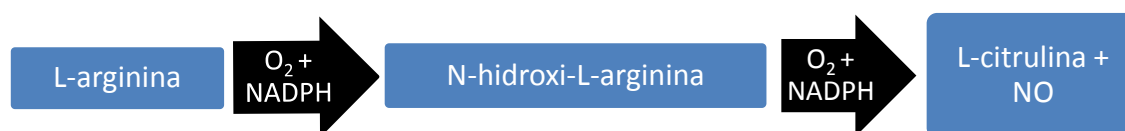


Figura 1: Reação catalisada pela NOS

Após ser produzido nas células do endotélio, o NO migra para o interior da célula muscular lisa, onde irá exercer a ação vasodilatadora. A ação do NO no processo vasodilatador envolve a interação com a enzima guanilato ciclase (GC)

ativando-a (figura 2). A guanilato ciclase ativada irá catalisar a molécula de guanosina trifosfato (GTP), fazendo-a perder dois grupos fosfatos, e se tornar guanosina monofostato cíclica (GMPc). O aumento na quantidade de GMPc irá levar a um relaxamento da célula muscular pelo aumento na concentração de cálcio intracelular (CONGER, 1994).

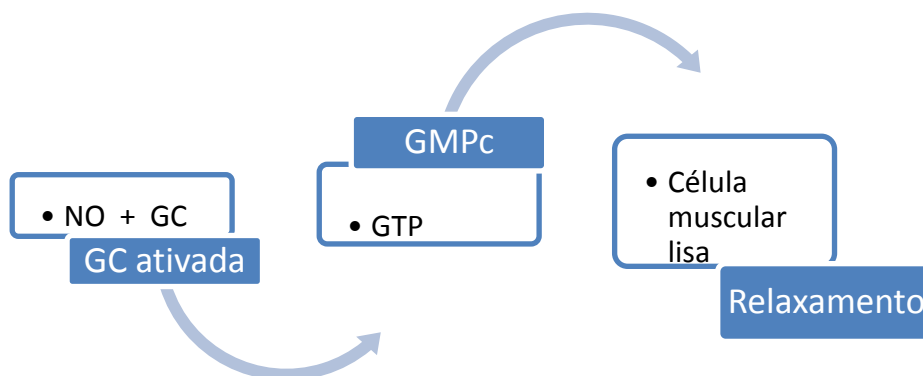


Figura 2: Ação do NO no relaxamento muscular liso

Após a reação, o NO restante deixa a célula muscular e migra para a corrente sanguínea, onde irá penetrar nas plaquetas e hemácias. No interior das plaquetas ocorre o mesmo processo descrito na célula muscular lisa, aumento na GMPc e diminuição de íons cálcio livres, requeridos para o interior da célula, mais especificamente para o retículo endoplasmático (DUSSE, VIEIRA & CARVALHO, 2003). Como os íons cálcio são essenciais na ativação das plaquetas, essa atividade será em parte inibida. O NO que penetra as hemácias será eliminado na forma de nitrato e nitrito, pela reação com o ferro presente na célula.

Com a conclusão de que o NO é uma molécula extremamente importante para diversas funções do organismo humano, a possibilidade de encontrar formas de potencializar ou otimizar a entrega deste composto ao organismo passou a ser tema de diversas pesquisas. O que se verifica é que há uma grande diversidade de estruturas químicas capazes de gerar NO. A busca por doadores de NO com potenciais usos terapêuticos levou ao incremento das pesquisas envolvendo o óxido nítrico e sua diversidade de funções (BARRETO & CORREIA, 2005) (PAULO, 2011).

Além do uso terapêutico, as pesquisas em doadores e precursores de NO buscam formas de aumentar o desempenho atlético esportivo, na medida em que todo o sistema cárdio-circulatório, de trocas gasosas e o metabolismo basal se beneficiam da presença fisiológica deste composto. A busca mais comum entre os precursores de NO ligados ao desempenho atlético se firma na hipótese de que o

óxido nítrico está ligado à melhora da perfusão sanguínea ao nível muscular, contribuindo para maior aporte de nutrientes e de oxigênio, ao mesmo tempo em que atua como sinalizador no sistema imune e na rede neuronal (PAULO, 2011). Suplementos protéicos ricos em determinados aminoácidos são teoricamente precursores da produção de Óxido Nítrico no organismo (BARRETO & CORREIA, 2005). Contudo, ainda não existem estudos que confirmem o aumento de desempenho atlético, via incremento da produção de NO, a partir da ingestão de proteínas ricas em arginina, citrulina ou glutamato.

Óxido nítrico e exercício

O exercício físico é caracterizado por uma saída do organismo de seu estado de homeostase, pela demanda energética imediata que ocorre na musculatura, de modo geral. A todo o momento da execução do exercício, novas adaptações fisiológicas são requeridas.

A quantidade de seções semanais de exercício, o tempo de exercício e a intensidade com que é realizado parecem interferir nos efeitos hipotensores (HAMER, 2006). A diminuição da pressão arterial produzida pelo exercício diz respeito, tanto ao efeito hipotensor pós exercício, que perdura pelo tempo de recuperação, quanto pelo efeito anti-hipertensivo duradouro, que se verifica em indivíduos treinados (BRUM et al, 2000). Verifica-se, no entanto, que o efeito de controle da pressão arterial ocorre mais acentuadamente quando o exercício é de intensidade moderada, em torno de 50 a 65% da intensidade máxima (FORJAZ et al, 1998).

A medição da concentração dos níveis de óxido nítrico raramente se dá pela detecção do gás propriamente dito, devido ao seu curto período de meia vida. Em geral essa medição se faz pela quantificação do produto da reação de oxidação do NO, nitratos e nitritos, que são mais estáveis, pelo composto precursor da formação do NO, a L-arginina, ou por seus subprodutos como a L-citrulina ou a guanosina monofosfato cíclica (GMPc). Também pela expressão gênica da enzima NOS. Os diversos estudos que abordam a questão da concentração de NO em exercício e seus desdobramentos se valem desses parâmetros acima mencionados, cada um deles diferindo no que tange à metodologia e ao protocolo utilizado. Esse talvez seja

o fator fundamental da divergência verificada na literatura quanto aos resultados de estudos dessa natureza.

Ainda assim, alguns resultados parecem apontar conclusões seguras, tais como: os exercícios moderados, abaixo do limiar anaeróbico, realizados até por volta de 65% da capacidade máxima de esforço, tem melhores resultados na produção de NO e conseqüentemente nos efeitos que este composto pode proporcionar. Isto porque o esforço mais elevado gera uma produção de metabólitos indesejáveis que caracterizam o stresse oxidativo, com efeitos antagônicos aos apontados por concentrações ótimas de NO. As atividades físicas que envolvem grandes grupamentos musculares, como caminhadas, corridas e natação, também se destacam em relação a exercícios mais localizados. Isso devido ao aumento da freqüência cardíaca, do volume sistólico e do débito cardíaco que em atividades desse tipo são mais pronunciados (BRANDÃO & MARTINS-PINGE, 2007).

O óxido nítrico é um mediador da microcirculação local do miócito, atuando no fornecimento de energia do músculo esquelético através da modulação hormonal, principalmente do hormônio GH. Segundo estudo recente (DYAKOVA et al, 2015), o NO atua na ativação da biogênese mitocondrial do músculo esquelético, melhorando a respiração do miócito. Interfere diretamente no abastecimento de nutrientes e oxigênio do miócito através da regulação do fluxo sanguíneo. A exposição a longo prazo ao NO, por células musculares, desencadeia a biogênese mitocondrial envolvendo a ativação da GMPc (DYAKOVA et al, 2015). Outro estudo recente vem apontar a relação do exercício físico com doenças como Parkinson e Alzheimer mediadas pela produção de NO no organismo (PAILLARD, ROLLAND & BARRETO, 2015). O exercício físico de caráter aeróbico ativa a liberação de fatores neutróficos e promove a angiogênese, facilitando a neurogênese e a sinaptogênese que por sua vez melhoram as funções cognitivas. Esses estudos demonstraram que os mecanismos protetores induzidos pelo exercício estão ligados a um aumento da síntese endotelial de NO e ainda um aumento do fator de crescimento endotelial vascular.

Óxido nítrico salivar e exercício

A saliva tem sido muito utilizada na quantificação do óxido nítrico principalmente em estudos da cavidade oral, relacionados a doenças periodontais,

implantes dentários, carcinomas, etc. principalmente devido à facilidade que a técnica oferece. A técnica de quantificação colorimétrica de nitrito usando o reagente de Griess é relativamente rápida e de custo não tão elevado, possibilitando a testagem de uma variedade de hipóteses. No campo da atividade física, a saliva é utilizada na busca de se estabelecer um protocolo seguro e confiável para a testagem de respostas fisiológicas do organismo ao esforço e a definição de parâmetros de controle do exercício que sejam não invasivos (ZUARDI, 2012).

A salivação é regulada por estímulos nervosos, principalmente sinais parassimpáticos. A estimulação simpática diminui a atividade glandular e o volume salivar. Outro fator que afeta a salivação é o suprimento de sangue nas glândulas salivares, que são sempre dependentes dos nutrientes adequados para a secreção. Os sinais parassimpáticos que induzem a salivação atuam também na vasodilatação da região glandular. É composta basicamente de água, moléculas orgânicas e eletrólitos. A porção aquosa da saliva vem da irrigação capilar local, passando da corrente sanguínea para as células secretoras por difusão (ZUARDI, 2012).

O óxido nítrico se apresenta na saliva basicamente em duas formas: sob a forma de gás produzido pelas células de defesa contra bactérias e processos inflamatórios presentes na boca, como neutrófilos, macrófagos e plaquetas, e sob a forma convertida e estável de nitrito, proveniente da redução de nitratos e do próprio óxido nítrico. A digestão de folhas como alface, couve, espinafre, produz grande quantidade de nitrato que é absorvido e da corrente sanguínea retorna à boca secretado pelas glândulas salivares. É rapidamente reduzido a nitrito pela ação da enzima nitrato redutase (TAKAHAMA, HIROTA & TAKAYUKI, 2008). O nitrito pode vir também da corrente sanguínea juntamente com o componente aquoso do sangue que chega às células secretoras das glândulas salivares, expressando assim, na saliva, as variações que este metabólito teria na corrente sanguínea (CLODFELTER et al, 2015).

Algumas pesquisas relatam que o exercício físico não produz variações significativas nas concentrações de nitrito salivar, afirmando que não há associação entre essas duas variáveis (GONZÁLES et al, 2008), (ZAMBRANO et al, 2009), (CLODFELTER et al, 2015). Por outro lado, outros estudos relatam variações significativas na concentração de nitrito salivar a partir do exercício físico (PANOSSIAN et al, 1999), (DIAZ, et al, 2013). Nesses são relatados aumento na concentração de No salivar a partir do exercício, corroborando a hipótese de que o

exercício, ao potencializar a produção de NO circulante, expressa essa produção também no nitrito salivar. Há também relato de efeito inverso, isto é, o aumento da produção de NO circulante estimulada pelo exercício, acompanhado pela diminuição na concentração do nitrito salivar (MORAES, 2014).

O objetivo deste estudo é discutir sobre o óxido nítrico no organismo humano a partir de dados de pesquisa que buscam relacionar as variações deste composto com o treinamento específico de atletas de Jiu Jitsu, em suas particularidades de esforço e intensidade, e ainda procurando testar a viabilidade da saliva como marcador seguro de quantificação que possa expressar as variações do óxido nítrico circulante.

MÉTODO

Este estudo foi desenvolvido dentro dos mais elevados padrões de qualidade e da ética em pesquisa envolvendo seres humanos, teve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UFG pelo parecer 692.581. Todos os voluntários assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido antes do início do estudo.

O estudo é do tipo longitudinal de mensuração e contou com a participação de 14 voluntários, atletas da modalidade Jiu Jitsu brasileiro com pelo menos 2 anos de prática, competidores em eventos regionais e nacionais, com média de idade de 27 ($\pm 4,56$) anos. Os atletas foram acompanhados por 9 meses em seu ciclo de treinamento anual. Em cada mês de acompanhamento foi selecionado um dia de coleta de material, que consistiu do seguinte procedimento:

- No dia anterior foi entregue a cada voluntário um kit de coleta de saliva e foi orientado que não se alimentasse de folhas na noite anterior à coleta e nem no dia da coleta.
- Pela manhã, ao acordar, o voluntário deveria se levantar, lavar a boca com água e em seguida fazer a coleta de saliva. Manter essa primeira amostra resfriada até o horário do treinamento e levar ao local.
- Ao chegar ao local de treinamento, os atletas foram orientados a descansar por cerca de 10 minutos, em seguida foi feita nova coleta de saliva.
- Ao término da seção de treinamento, os atletas descansaram por cerca de 10 minutos e nova coleta de saliva foi feita. Nessa coleta, os atletas relataram

dificuldades na salivação, alegando boca seca. Foram orientados que lavassem a boca com água para então proceder à coleta da saliva.

Essas amostras se mantiveram resfriadas durante o procedimento e imediatamente após o término da coleta, foram congeladas a freezer -20° . A salivação não foi induzida por nenhum instrumento ou mecanismo.

O experimento de laboratório foi conduzido após os 9 meses de coleta de amostras. A dosagem de óxido nítrico foi por meio da reação de Griess, método utilizado na quantificação de nitrito. Utilizou-se o kit reagente de Griess para detecção de nitrito produzido pela Molecular Probes® (Eugene, EUA).

Foi utilizada microplaca de 96 poços, de fundo chato. Os padrões foram obtidos da diluição de nitrito de sódio para 5 concentrações diferentes: 150, 100, 50, 10 e 5 μ L. Os padrões foram utilizados para obtenção da curva padrão e foram feitos em triplicatas.

A leitura das placas, com filtro de 550 nm de comprimento de ondas, forneceu valores de absorvância que foram aplicados à equação da curva padrão para obtenção de valores de concentração de nitritos. Foram produzidas 8 microplacas no total.

Após o experimento, as amostras foram descartadas como material biológico em local adequado, assim como todos os materiais utilizados, como, ponteiras, microplacas, criotubos de 2 mL e tubos *ependorffs* de 1,5 mL.

Ao longo do período de treinamento acompanhado, a frequência cardíaca dos atletas foi monitorada a fim de inferir sobre a intensidade do treinamento realizado. A cada duas semanas cinco atletas selecionados aleatoriamente no grupo de 14 realizaram, em dia especificado, o treinamento usando aparelho frequencímetro que forneceu a frequência cardíaca média pelo tempo de medição. A frequência cardíaca média de cada frequencímetro foi utilizada para obtenção da média de frequência cardíaca do grupo. Como foram em torno de duas medições de frequência cardíaca por mês, essas médias foram utilizadas para obtenção da média mensal.

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística, conforme Callegari-Jacques (2008) e Approbato (2010). Os teste utilizados foram: teste de normalidade Shapiro Wilk, teste de correlação de Pearson, teste de Análise de Variância de uma entrada (ANOVA one way), com pós teste de Tukey e ainda teste de Kruskal Wallis para comparação de agrupamento de dados que não apresentaram distribuição normal.

RESULTADOS

Os valores encontrados de concentração de nitrito salivar foram obtidos da média aritmética entre as amostras testadas em duplicatas. O erro experimental aceitável foi da ordem de 15 % de variação entre as duplicatas.

Os dados obtidos foram agrupados e tratados estatisticamente de duas formas:

1. Agrupados mês a mês e expressos em média única mensal (tabela 1);
2. Agrupados em manhã, tarde e noite, expressando média geral e média mês a mês (tabela 2).

Na tabela 1 os dados estão expressos em média \pm erro padrão com unidade de medida em micromolar (Tabela 1). A tabela expressa a média do grupo de atletas participantes em cada coleta realizada.

Tabela 1: médias de concentração de nitrito do grupo de atletas em μM

Coletas	Manhã	Tarde	Noite	Média
Mês 1	31,99 \pm 8,29	56,23 \pm 16,31	35,62 \pm 5,78	42,91 \pm 7,69
Mês 2	49,10 \pm 15,67	66,10 \pm 10,46	42,59 \pm 12,20	52,60 \pm 7,72
Mês 3	30,62 \pm 8,72	58,54 \pm 15,26	40,9 \pm 8,38	43,36 \pm 8,38
Mês 4	19,31 \pm 13,15	57,14 \pm 14,93	45,93 \pm 9,53	40,80 \pm 8,46
Mês 5	29,24 \pm 12,94	57,07 \pm 13,0	38,93 \pm 11,99	41,68 \pm 9,32
Mês 6	30,57 \pm 14,41	89,44 \pm 18,57	80,54 \pm 26,09	68,90 \pm 13,4
Mês 7	30,03 \pm 12,23	47,17 \pm 15,15	41,78 \pm 9,93	39,66 \pm 8,50
Mês 8	31,53 \pm 18,16	48,05 \pm 11,27	31,42 \pm 14,0	37,70 \pm 7,92
Mês 9	11,54 \pm 6,67	23,35 \pm 5,11	29,59 \pm 8,65	21,64 \pm 4,51
Média	29,14 \pm 4,13	55,75 \pm 4,77*	42,65 \pm 4,17	42,52 \pm 4,36

*Diferença significativa em relação à manhã com $p < 0,05$

† Diferença significativa com $p < 0,05$

Esses dados foram testados pelo ANOVA one way com post hoc de Tukey. O resultado do teste ANOVA foi significativo com p-valor de 0,0208. O pós teste Tukey, entre os meses, demonstrou significância somente entre os meses 6 e 9, com p-valor de 0,00246.

As médias mensais na concentração de nitritos apresentaram dois picos, no mês 2 e no mês 6 (gráfico 1), mostrando semelhança com as médias mensais de frequência cardíaca, indicativas da intensidade do treinamento realizado (gráfico 2).

Gráfico 1: Médias mensais de concentração de nitrito salivar

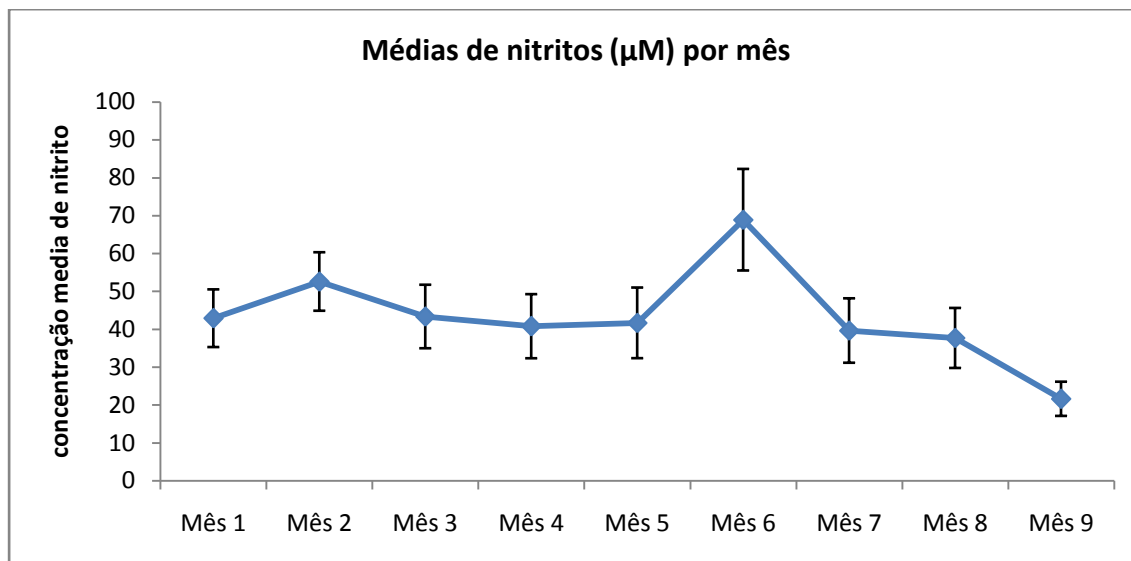
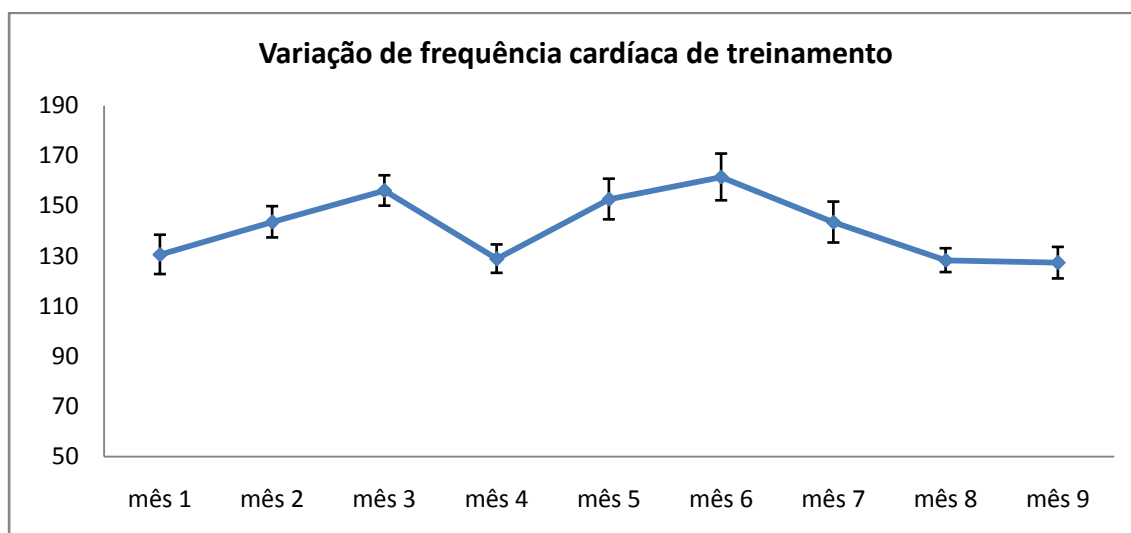


Gráfico 2: Médias mensais de frequência cardíaca de treinamento



Os gráficos 1 e 2 demonstram a relação do nitrito salivar com a intensidade do treinamento. As médias mensais de nitritos apresentaram correlação forte com os dados de frequência cardíaca. O teste de correlação de Pearson ficou em 0,7409 com P-valor de 0,0379 mostrando que as variações de nitrito salivar ao longo do ano de treinamento sofrem influência da intensidade do treinamento realizado. Somente no mês 3 verificou-se um comportamento diferente em relação ao restante dos meses. Neste mês houve um aumento na frequência cardíaca do mês 2 para o 3 (gráfico 2) e uma diminuição na concentração de nitrito (gráfico 1). Nos outros meses, o aumento ou queda na média de frequência cardíaca foi sempre acompanhado pela concentração de nitrito salivar. Durante o tempo de

acompanhamento do grupo de atletas, houve duas competições em que parte dos atletas participou. As competições foram na última semana do mês 2, e na última semana do mês 6.

Tabela 2: dados de nitrito salivar separados por coleta realizada, expressos em intervalo de confiança, média, erro padrão da média e coeficiente de variação

Meses	Confidence interval 95%	Mean	Standard error	Coefficient of variation
Mês 1. Manhã	16,940 a 47,049	31,995	8,665	0,898
Mês 1. Tarde	26,639 a 85,834	56,237	16,311	1,004
Mês 1. Noite	25,121 a 46,132	35,627	5,789	0,562
Mês 2. Manhã	24,468 a 73,731	49,100	15,674	0,957
Mês 2. Tarde	49,653 a 82,556	66,105	10,468	0,475
Mês 2. Noite	23,407 a 61,780	42,594	12,209	0,859
Mês 3. Manhã	14,791 a 46,458	30,625	8,725	0,987
Mês 3. Tarde	30,853 a 86,238	58,546	15,261	0,902
Mês 3. Noite	28,435 a 53,382	40,909	6,874	0,582
Mês 4. Manhã	0,000 a 43,176	19,315	13,150	1,358
Mês 4. Tarde	30,042 a 84,255	57,149	14,938	0,905
Mês 4. Noite	28,641 a 63,234	45,938	9,531	0,718
Mês 5. Manhã	5,757 a 52,732	29,245	12,944	1,533
Mês 5. Tarde	32,521 a 80,628	57,075	13,000	0,821
Mês 5. Noite	16,279 a 61,594	38,937	11,996	1,110
Mês 6. Manhã	7,916 a 53,223	30,570	14,415	1,414
Mês 6. Tarde	58,680 a 120,205	89,443	18,571	0,656
Mês 6. Noite	37,319 a 123,762	80,541	26,092	1,024
Mês 7. Manhã	8,782 a 51,279	30,031	12,230	1,350
Mês 7. Tarde	58,680 a 73,513	47,178	15,159	1,065
Mês 7. Noite	30,528 a 65,033	41,781	9,930	0,788
Mês 8. Manhã	1,446 a 61,625	31,536	18,164	1,821
Mês 8. Tarde	29,386 a 66,731	48,059	10,747	0,741
Mês 8. Noite	8,215 a 54,624	31,420	13,356	1,409
Mês 9. Manhã	1,054 a 22,035	11,545	6,763	1,734
Mês 9. Tarde	14,885 a 31,826	23,356	5,113	0,692
Mês 9. Noite	15,255 a 43,936	29,596	8,657	0,924

De mês a mês, as concentrações de nitrito nas coletas de manhã, tarde e noite variaram pouco (tabela 2). Contudo, a estatística não mostrou diferença significativa em nenhum dos agrupamentos. Como os conjuntos manhã, tarde e noite foram testados separadamente, mês a mês, a maioria não apresentou distribuição normal, devido á elevada variabilidade. Por isso, esses conjuntos foram testados pelo teste

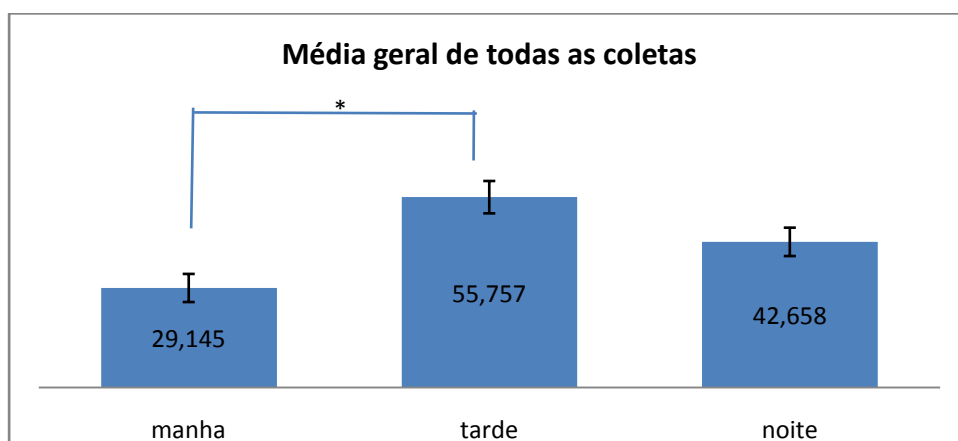
Kruskal Wallis. A distribuição dos conjuntos de dados apresentou normalidade em 12 das 27 coletas, pelo teste shapiro-wilk.

Como se observa, os dados são heterogêneos, contudo a média de cada período desenha um gráfico específico que se repete mês a mês. Eram esperados valores mais homogêneos e baixos para as coletas da manhã, devido a baixa atividade tanto física quanto neuronal, elevação dos valores para o período da tarde, antes do treino e elevação ainda maior para o período da noite, depois do treino, como resposta ao treinamento de modo a expressar no nitrito salivar a maior produção de NO pelo aumento da frequência cardíaca.

Na observação dos dados agrupados em manhã, tarde e noite, sendo manhã: concentração basal de nitrito salivar; tarde: concentração antes da seção de treinamento; noite: concentração após a seção de treinamento, verificou-se um comportamento específico. Como se observa no gráfico 3, a distribuição dos dados, considerando as coletas da manhã, tarde e noite, formam um padrão que varia pouco de mês a mês e que se resume a valores baixos pela manhã, valores altos a tarde, antes do treinamento, e uma queda nos valores logo após o treinamento. O único mês em que esse padrão se modificou foi o mês 9, no qual verificou-se um crescimento constante nas concentrações de nitrito (tabela 2).

Na comparação entre as médias de todas as coletas da manhã, todas da tarde e todas da noite, o teste ANOVA indicou p-valor de 0,000141. O pós teste Tukey revelou diferença significativa somente entre manhã e tarde, com p-valor de 0,004 (gráfico 3). As outras comparações (manhã e noite / tarde e noite) não foram significativas. As três distribuições apresentaram normalidade pelo teste Shapiro-wilk.

Gráfico 3: Média geral das coletas manhã, tarde e noite



* Diferença significativa com p valor < 0,05 ; teste ANOVA one Way com post hoc Tukey

DISCUSSÃO

O nitrito salivar é um composto que se mostra suscetível a uma série de variáveis que podem interferir na sua concentração, tornando a tarefa de associá-lo a uma variável específica algo bem difícil. Nesse estudo verificou-se, não raro, voluntários que pela manhã, ao acordar, já apresentavam valores elevados de nitrito salivar refutando a expectativa de valores baixos em função da baixa atividade. Outro fato intrigante presente nos dados obtidos foi que, contrariamente ao que se esperava, as concentrações de nitritos diminuam após a sessão de treinamento. A literatura específica, quando aponta relação entre nitrito salivar e esforço físico, tem demonstrado aumento nas concentrações de nitrito como resposta ao esforço (PANOSSIAN et al, 1999), (DIAZ, et al, 2013). No presente estudo verificou-se o efeito contrário: a diminuição do nitrito salivar como resposta aguda ao treinamento físico.

O acompanhamento mês a mês por 9 meses dos atletas de Jiu Jitsu permitiu verificar que há uma evidencia estatística de que o nitrito salivar é influenciado pelo treinamento físico e acompanha as variações de intensidade, conforme constatado pelos gráficos 1 e 2. As variações de caráter crônico nos níveis de nitrito salivar tendem a acompanhar as variações de frequência cardíaca média. Essa variação do nitrito salivar se expressa na média mensal do grupo de voluntários e das coletas realizadas no mês. Com base nesses dados, pode-se concluir que o nitrito salivar expressa a intensidade do treinamento realizado, acompanhando suas variações.

Outro fator que indica a susceptibilidade do nitrito salivar ao treinamento físico foi a resposta aguda ao treinamento mostrado na comparação entre os resultados antes e após o treinamento. A resposta ao treinamento verificada por uma queda das concentrações de nitrito salivar se repetiram em 8 dos 9 meses de acompanhamento, conforme mostrado nas tabelas 1 e 2.

O nitrito salivar é proveniente de duas vias principais:

- via endógena, que compreende a secreção pela glândula salivar de nitratos (provenientes da dieta e da conversão do NO pela hemoglobina), que são rapidamente reduzidos a nitrito pela enzima nitrato redutase produzida por bactérias da boca; e pela secreção de nitrito e óxido nítrico (que oxida a nitrito na boca), vindo da corrente sanguínea, e da enzima NOS presente na própria glândula (ZUARDI, 2012), (CLODFELTER et al, 2015).

- via exógena, que se dá pela oxidação da molécula de óxido nítrico produzida por bactérias ou por reações de células de defesa presentes na boca, como macrófagos, neutrófilos e plaquetas (TAKAHAMA, HIROTA & TAKAYUKI, 2008).

Na pesquisa de Clodfelter et al. (2015), os autores afirmaram que o nitrito salivar não é proveniente do NO circulante. Essa afirmação se baseia na comparação entre o nitrito plasmático e o salivar, após exercício físico, em que o primeiro tem sua concentração aumentada ao passo que o segundo não se altera significativamente. O aumento na produção do NO pela NOS endotelial a partir do exercício físico é um mecanismo automático que tem como fator principal o *shear stress*. Esse NO que circula na corrente sanguínea produz o relaxamento do endotélio. Parte dele penetra na hemoglobina e reage com o ferro, convertendo-se em nitrito e alcança todo o organismo. A glândula salivar recebe o NO e o nitrito da corrente sanguínea, juntamente com a água, e o excreta (PANOSSIAN et al, 1999) (DIAZ et al, 2013). Sendo assim, deveria expressar aumento de concentração, e não queda, como foi verificado.

Como se vê, outras argumentações se fazem necessárias para explicar as variações do nitrito salivar em atletas. Estudos têm demonstrado que a produção de NO é largamente influenciada pela estimulação nervosa predominante, na qual a atividade predominantemente parassimpática estimula a produção, ao passo que a atividade simpática está associada à baixa produção de NO (ROSSI et al, 2009). Ao que tudo indica, o estímulo simpático tende a diminuir as concentrações de NO endotelial, e até causar o aumento da pressão arterial. O aumento da atividade simpática, por razões variadas, está associado à diminuição nas concentrações de NO (ROSSI et al, 2009).

O sistema nervoso autônomo é composto pelo ramo parassimpático e pelo ramo simpático, cujos mensageiros são a acetilcolina e a noradrenalina que conduzem mensagens para todo o corpo. A ação simpática capacita ao organismo responder a situações de estresse, de ansiedade e de tensão, como as reações de lutar ou fugir, e são acompanhadas de efeitos como a aceleração da frequência cardíaca, aumento da pressão arterial e descargas de adrenalina (BEAR, 1996). Essa ação modula a distribuição do fluxo sanguíneo nos órgãos e sistemas, direcionando maior fluxo para os órgãos e sistemas envolvidos na reação de alerta geral do organismo e diminuindo para órgãos não envolvidos diretamente. A

atividade das glândulas salivares é controlada por impulsos nervosos que chegam às glândulas por nervos secretores motores pós-ganglionares simpáticos e parassimpáticos. Os impulsos são recebidos pelos quimiorreceptores acetilcolina e noradrenalina que irão ativar os receptores situados na membrana epitelial das glândulas. A estimulação da glândula salivar compreende um processo análogo ao reflexo de relaxamento da musculatura lisa dos vasos sanguíneos com um aumento na concentração intracelular de cálcio e aumento no fluxo sanguíneo localizado (DANTAS, 2011).

As seções de treinamento de Jiu Jitsu sempre terminam com a luta propriamente dita, os atletas se confrontam em disputas que duram 6 a 8 minutos e cada atleta faz pelo menos 3 lutas antes do encerramento da seção. Essas lutas são sempre acompanhadas de uma ansiedade natural, de um estado de estresse e medo, visto que são lutas reais que procuram preparar o atleta para situações de conflito. Não há dúvida que neste momento ocorre larga estimulação simpática com consideráveis descargas de adrenalina. O treinamento das lutas, de forma geral, é sempre acompanhado de estímulos simpáticos, o que gera reações no organismo. A produção da saliva pelas glândulas salivares é inibida, assim como a irrigação sanguínea dessas glândulas. Com isso, ocorre a diminuição da difusão de nitritos provenientes da NO endotelial para o interior da glândula salivar e ocorre também a diminuição na concentração de nitritos provenientes da redução de nitratos e da oxidação do NO na cavidade oral pela simples falta de saliva. Essa tese se confirma também pelo fato de no momento da coleta de saliva realizada ao final do treinamento com os voluntários, estes reclamavam que não conseguiam salivar. Havia uma clara dificuldade de salivação após a seção de treinamento.

Alguns mais que em outros, a ansiedade pela luta em si, pelo resultado incerto e pela presença da possibilidade da derrota, leva os atletas a uma forte descarga de estímulos simpáticos, o que causou a inibição momentânea da atividade das glândulas salivares, gerando queda nas concentrações de nitritos. Foi justamente no mês de menor intensidade de treinamento (mês 9), no qual a ansiedade pela luta e pela disputa seria menor, é que a concentração média de nitrito não diminuiu em relação ao antes do treino. Nesse mês, a concentração de nitrito salivar revelou um discreto aumento. O mesmo efeito foi confirmado em estudantes em período preparatório para exames escolares, conforme o estudo de Minasian et al (2007). No estudo citado verificou-se que a resposta simpatotônica à

ansiedade do exame escolar provocou uma diminuição da atividade glandular com diminuição no volume salivar e também nas concentrações de NO, efeito que foi normalizado por volta de 24 horas após o exame escolar.

No estudo de Rossi et al, (2009), os autores procuraram demonstrar que o exercício físico pode diminuir a atividade simpática, com consequências potencialmente benéficas ao organismo. Contudo, não faz menção à modalidades esportivas que seriam por natureza estimuladoras da atividade simpática, como as lutas por exemplo. Em estudo sobre a associação entre nitrito salivar, fatores de risco cardiovascular e nível de atividade física também foi verificado o mesmo efeito de queda aguda na concentração de nitrito salivar, após teste, em relação a antes do teste. O autor, no entanto, não conseguiu identificar que fator seria responsável pela queda (MORAES, 2014). Possivelmente, a ansiedade de realizar um teste ate então desconhecido pelos voluntários levou a uma maior atividade simpática e conseqüentemente à queda na concentração de nitrito salivar.

CONCLUSÃO

Os estudos sobre o óxido nítrico são muitos, são divergentes e em grande parte inconclusivos, mostrando o quanto esse composto, e suas diversas relações com os processos fisiológicos no homem, precisam continuar sendo estudados. Novas implicações são verificadas a cada novo estudo, bem como diferentes organizações metodológicas, que nem sempre são capazes de permitir a afirmação de hipóteses, justificando assim a continuidade das pesquisas nessa temática.

O nitrito salivar responde ao treinamento alterando sua concentração conforme o óxido nítrico circulante. Na medida em que o treinamento promove *shear stress* suficiente para o aumento na produção de NO, o nitrito salivar expressa esse aumento, contudo sofre influência de outros fatores que podem mascarar essa expressão. O tipo de exercício físico ou a modalidade esportiva é um desses fatores. Na medida em que o exercício é acompanhado por um estado de ansiedade e estresse, como nas lutas, a quantificação da concentração de nitrito salivar é comprometida pela ação simpática direta na glândula, e, nessa situação, o nitrito salivar não expressa o aumento agudo na produção de NO circulante.

Possivelmente, se tivesse sido utilizado outro protocolo, como a coleta de saliva 30 minutos ou 1 hora após o término da seção de treinamento, na tentativa de

minimizar a ação nervosa simpática, poderiam ter sido encontrados valores diferentes que expressassem o aumento de NO circulante. Embora o objetivo deste trabalho fosse quantificar a influência do treinamento específico do Jiu Jitsu nas concentrações de óxido nítrico, considera-se importante o achado, uma vez que há uma conclusão acerca de uma variável que interfere decisivamente nessa quantificação. Novos estudos, no entanto, são requeridos a fim de se estabelecer, com cada vez maior exatidão, as interações do NO com os diversos sistemas do organismo humano e com os estímulos externos.

REFERÊNCIAS

APPROBATO, M. *Manual prático de metodologia científica*. Goiania: Cir/Funape, 2010.

BARRETO, R. de L. & CORREIA, C. R. D. *Óxido nítrico: propriedades e potenciais usos terapêuticos*. *Quim. Nova*, Vol. 28, No. 6, 1046-1054, 2005.

BEAR, M. F. *Neuroscience – Exploring the Brain*. Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland, 1996. 666p.

BRANDÃO, A. F. & MARTINS-PINGE, M. C. *Nitric oxide alteration in the cardiovascular function by exercise training*. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*, Londrina, v. 28, n. 1, p. 53-68, jan./jun. 2007.

BRUM, P. C. / SILVA, G. J. J. / MOREIRA, E. D. / IDA, F. / NEGRÃO, C. E. / KRIEGER, E. M. *Exercise training increases baroreceptor gain sensitivity in normal and hypertensive rats*. *Hypertension*, Dallas, v.36, n.6, p.1018- 1022, dec. 2000.

CALLEGARI-JACQUES, S. M. *Bioestatística: princípios e aplicações*. Porto Alegre RS: Artmed, 2008.

CERQUEIRA, N. F. / YOSHIDA, W. B. *Óxido nítrico: revisão*. *Acta Cir Bras* [serial online] 2002 Nov-Dez;17(6).

CLODFELTER, W. H. / BASU, S. / BOLDEN, C. / DOS SANTOS, P. C. / KING, S. B. / KIM-SHAPIRO, D. B. *The relationship between plasma and salivary NOx*. *Nitric Oxide*. 2015 Apr 21;47:85-90. <http://dx.doi:10.1016/j.niox.2015.04.003>.

CONGER, F. D. *Endothelial regulation of vascular tone*. *Hosp Pract*, 1994; 15:117-26.

DANTAS, A. M. *Estudo da relação entre glândulas salivares e doença periodontal em ratos*. São Paulo / USP, Tese de doutorado, 2011.

DIAZ, M. M. / BOCANEGRA, O. L. / TEIXEIRA, R. R. / SOARES, S. S. / ESPINDOLA, F. S. *Salivary nitric oxide and alpha-amylase as indexes of training intensity and load*. Int J Sports Med. 2013 Jan;34(1):8-13. <http://dx.doi:10.1055/s-0032-1316318>.

DUSSE, L. M. S. / VIEIRA, L. M. / CARVALHO, M. G. *Nitric oxide revision – Review Article*. Jornal Brasileiro de patologia e medicina laboratorial. Rio de Janeiro, v.39, n 4, p. 343 – 350, 2003.

DYAKOVA, E. Y. / KAPILEVICH, L. V. / SHYLKO, V. G. / POPOV, S. V. / ANFINOGENOVA, Y. *Physical exercise associated with NO production: signaling pathways and significance in health and disease*. Frontiers in Cell and Developmental Biology. April 2015; Volume 3, Article 19. <http://dx.doi:10.3389/fcell.2015.00019>.

FLORA FILHO, R. & ZILBERSTEIN, B. *Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade*. Metabolismo, síntese e funções. Rev Ass Med Brasil 2000; 46(3): 265-71

FORJAZ, C. L. M. / SANTAELLA, D. F. / REZENDE, L. O. / BARRETTO, A. C. P. / NEGRÃO, C. E. *A Duração do Exercício Determina a Magnitude e a Duração da Hipotensão Pós-Exercício*. Arq Bras Cardiol, volume 70 (nº 2), 99-104, 1998.

FURCHGOTT, R. F. / ZAWADZKI, J. V. *The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine*. Nature, 1980; 288:373-6.

GONZÁLEZ, D. / MARQUINA, R. / RONDÓN, N. / RODRIGUEZ-MALAVER, A. J. / REYES, R. *Effects of aerobic exercise on uric acid, total antioxidant activity, oxidative stress, and nitric oxide in human saliva*. Res Sports Med. 2008;16(2):128-37. <http://dx.doi:10.1080/15438620802103700>.

HAMER, M. *The anti-hypertensive effects of exercise: integrating acute and chronic mechanisms*. Sports Medicine, Auckland, v.36, n.2, p.109-16. 2006.

KOSHLAND, J. R. D. E. *The molecule of year*. Science, 1992; 258:1861.

MINASIAN, S. M. / GEVORKIAN, E. S. / DAIAN, A. V. / AMBARTSUMIAN, M. K. *Change in salivary nitric oxide levels in students in the examinational period*. Gig Sanit. 2007 Jul-Aug;(4):79-81.

MORAES, J. F. V. N. *Associação entre nível de atividade física, nitrito salivar e fatores de risco cardiovascular em adolescentes portadores de variantes comuns dos genes FTO e ECA*. Brasília / PUC, Tese de doutorado; 2014.

MURREL, G. A. C. / DOLAN, M. M. / JANG, D. / SZABO, C. / WARREN, R. F. / HANNAFIN, J. A. *Nitric oxide: an important articular free radical*. J Bone Joint Surg, 1996; 78-A:265-74.

PAILLARD, T. / ROLLAND, Y. / BARRETO, P. S. *Protective Effects of Physical Exercise in Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease: A Narrative Review.* J Clin Neurol 2015;11(3):212-219. <http://dx.doi.org/10.3988/jcn.2015.11.3.212>.

PANOSSIAN, A. G. / OGANESSIAN, A. S. / AMBARTSUMIAN, M. / GABRIELIAN, E. S. / WAGNER, H. / WIKMAN, G. *Effects of heavy physical exercise and adaptogens on nitric oxide content in human saliva.* Phytomedicine. 1999 Mar;6(1):17-26.

PAULO, M. *Efeito vasodilatador do doador de óxido nítrico [Ru(terpy)(bdq)NO]⁺³ em veia cava e artéria basilar de ratos normotensos e hipertensos renais 2R-1C.* Ribeirão Preto: Tese de doutorado, USP, 159 p. 2011.

RAPAPORT, R. M. & MURAD, F. *Agonist induced endothelium-dependent relaxation in rat thoracic aorta may be mediated through cyclic GMP.* Circ. Res. 52: 352-7, 1983.

ROSSI, B. R. O. / MAZER, D. / SILVEIRA, L. C. R. / JACINTO, C. P. / DI SACCO, T. H. R. / BLANCO, H. D. B. / CESARINO, E. J. / SOUZA, H. C. D. *Physical Exercise Attenuates the Cardiac Autonomic Deficit Induced by Nitric Oxide Synthesis Blockade.* Arq Bras Cardiol 2009;92(1):31-38. doi <http://www.arquivosonline.com.br>

SNYDER, S. H. & BREDT, D. S. *Biological roles of nitric oxide.* Scientific American, may: 28-35, 1992.

TAKAHAMA, U. / HIROTA, S. & TAKAYUKI, O. *Detection of nitric oxide and its derivatives in human mixed saliva and acidified saliva.* Methods Enzymol. 2008;440:381-96. [http://dx.doi:10.1016/S0076-6879\(07\)00824-5](http://dx.doi:10.1016/S0076-6879(07)00824-5).

ZAMBRANO, J. C. / MARQUINA, R. / SULBARÁN, N. / RODRIGUEZ-MALAVIER A. J. / REYES, R. A. *Aerobic exercise reduced oxidative stress in saliva of persons with Down syndrome.* Res Sports Med. 2009;17(3):195-203. <http://dx.doi:10.1080/15438620903120843>.

ZUARDI, L. R. *Concentrações salivares, sanguíneas e plasmáticas de óxido nítrico em pacientes com doença periodontal antes e depois do tratamento periodontal não cirúrgico.* Ribeirão Preto/USP, Dissertação de mestrado, 2012.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O exercício físico promove múltiplas adaptações no organismo, conforme os estímulos que recebe, e este se aproxima mais ou menos do limiar entre o que é e o que não é saudável. A modalidade esportiva investigada nesse estudo flutua neste limiar, produzindo tanto efeitos desejáveis quanto indesejáveis para o praticante. Os estudos sobre exercícios físicos e suas interações com os diversos sistemas do organismo humano buscam as condições ideais para a realização com resultados otimizados. Essa busca levou a uma quase unanimidade na literatura da área, cuja indicação se refere a exercícios realizados em intensidade moderada, e à constatação de que exercícios de intensidade submáxima ou máxima produzem mais efeitos indesejáveis e prejuízos à saúde do que benefícios. O Jiu Jitsu é uma modalidade esportiva em que, mesmo o atleta estando em período de transição entre competições, é levado ao esforço máximo ou submáximo no seu treinamento, o que gera respostas adaptativas não tão favoráveis à condição de saúde desse atleta.

A avaliação do efeito crônico do treinamento de jiu jitsu, ao longo dos meses, mostrou que o sistema de transporte de gases pelos eritrócitos responde de forma positiva ao treinamento, aumentando a quantidade de hemoglobina e otimizando o sistema. Por outro lado, quando a intensidade do treinamento foi diminuída é que se observou este efeito. Em intensidade elevada o efeito adaptativo de aumento de hemoglobina não se manifesta ou sofre influencia de outros fatores. É possível que a intensidade máxima, ao propiciar o aumento de lesões e microlesões por esforço e a geração de espécies reativas do oxigênio pelo estresse oxidativo, esteja causando hemólise localizada especificamente nos sítios inflamatórios. O que se conclui é que a concentração de hemoglobina responde de forma positiva à estímulos moderados do exercício físico.

O óxido nítrico expresso na saliva também responde ao treinamento variando sua concentração à medida que varia a intensidade, e esse composto é muito importante para a manutenção do sistema circulatório. Mesmo tendo constatado que o nitrito salivar acompanha as variações crônicas do esforço físico, conclui-se que a saliva não é um marcador seguro das variações do óxido nítrico induzidas pelo

exercício, por estar sujeita à variação da estimulação nervosa da glândula e dos efeitos fisiológicos dessa estimulação.

Os efeitos imediatos desse treinamento, tratados aqui como efeitos agudos, confirmam a tese de que o treinamento moderado produz melhores efeitos, tanto nos parâmetros hematológicos quanto nas concentrações de óxido nítrico, do que o treinamento máximo e submáximo. A resposta aguda verificada pelos parâmetros da série branca, que é mais pronunciada no mês de menor intensidade, demonstra que o sistema imune responde de forma mais eficiente ao treinamento menos intenso, mobilizando as células de defesa. O aumento da frequência cardíaca, da ordem do exercício moderado, já é suficiente para produzir o aumento na concentração das células de defesa circulantes, células essas que estavam aderidas às paredes dos vasos ou marginadas em órgãos específicos.

Outra observação importante que se faz é que o aumento na concentração de plaquetas, tanto em intensidade mais elevada quando em intensidade moderada, se deve à diminuição da agregação plaquetária ocasionada, entre outras coisas, pelo aumento de óxido nítrico circulante. Ou seja, não há dúvidas quanto ao aumento de NO estimulado pelo exercício, pois o NO tem poder anti trombótico em plaquetas e anti aderente em leucócitos, ambos efeitos verificados nesse estudo. Contudo, a quantificação da magnitude desse aumento de NO e sua relação com a intensidade do treinamento ficou em parte comprometida em função da natureza da modalidade esportiva estudada. A expressão do NO circulante na saliva foi prejudicada pelo tipo de estímulo nervoso predominante na luta de Jiu Jitsu, que tende a uma inibição da glândula salivar.

O fato aqui observado cuja explicação carece de novas investigações foi a diminuição na concentração de eosinófilos como efeito agudo, tanto em exercício mais intenso quanto menos intenso. A hipótese que se levanta sobre o fato é que o local de treinamento (tatame do Núcleo de Práticas Corporais da UFG Jataí) e a vestimenta que os atletas utilizam (Quimono trançado) favorecem a proliferação de bactérias e microrganismos que produzem uma resposta alérgica rápida, causando a mobilização e a migração desses eosinófilos para as vias respiratórias. Os resultados da pesquisa indicam que houve uma migração de eosinófilos, fazendo com que sua concentração fosse diminuída na corrente sanguínea. Para verificar esta hipótese novos estudos se fazem necessários.

O Jiu Jitsu é um esporte de combate que gera grandes descargas de adrenalina devido ao seu treinamento ser constantemente votado para a luta real. A tensão e a ansiedade são constantes, principalmente ao final das seções de treinamento, momento em que os atletas se confrontam em disputas entre si, buscando se preparar para as competições. É clara a predominância dos estímulos nervosos simpáticos, mais acentuadamente entre os mais novos que ainda não conseguem dominar a tensão e a ansiedade geradas pelo confronto. Os atletas mais experientes conseguem permanecer mais tranquilos nesse momento. Esse é um dos objetivos do treinamento do Jiu Jitsu, desenvolver a capacidade de se manter calmo e sob controle numa situação de confronto. Por esse ponto de vista, o Jiu Jitsu é uma modalidade que contribui positivamente para a saúde do sujeito, na medida em que proporciona o controle da tensão, da ansiedade, dos estímulos nervosos simpáticos que são acompanhados por efeitos indesejáveis, como aumento do ritmo cardíaco, aumento da pressão arterial, diminuição da ventilação pulmonar, entre outros.

A hematologia relacionada ao treinamento de jiu jitsu, apesar das variações aparentemente não tão favoráveis, não apresentou sequer um valor fora dos padrões de referência, o que permite concluir que a modalidade contribui para a manutenção de níveis saudáveis dos parâmetros hematológicos. É preciso considerar que, em 6 meses de acompanhamento, é comum que os voluntários de uma modalidade esportiva apresentem infecções de vias aéreas, gripes ou outras enfermidades que poderiam afetar os resultados da hematologia, o que não ocorreu neste estudo.

O acompanhamento do nitrito salivar por 9 meses forneceu dados que permitem concluir que o nitrito salivar expressa a variação de óxido nítrico circulante induzido pelo esforço físico. Contudo, a verificação do efeito agudo do exercício no nitrito salivar foi prejudicada pela estimulação nervosa predominante no Jiu Jitsu esportivo.

Para um estudo de caráter introdutório, considera-se que foi produzido avanço no conhecimento sobre a bioquímica relacionada ao exercício físico, abrindo possibilidades de novas hipóteses e novas investigações acerca dos efeitos do exercício e do treinamento para a saúde humana. Sobre a modalidade esportiva estudada, é necessário que sejam feitos novos estudos e recomendações quanto às condições de sua prática. Por ora, o que se deixa como recomendações é que o Jiu

Jitsu seja praticado, sempre que possível, em intensidade moderada, procurando evitar o esforço máximo, a fim de que sejam evitadas as lesões e o estresse oxidativo. Que um dos objetivos da prática seja mesmo o controle da ansiedade e da tensão. Que os locais de treinamento, bem como a vestimenta que se utilizam, sejam muito bem higienizadas regularmente.

Novos estudos são requeridos a fim de alcançar resultados mais precisos e aqui se sugere a alteração do protocolo utilizado, como a coleta de saliva em vários momentos após o término do treinamento, imediatamente após, 15 minutos após, 30 minutos após, etc. A dosagem do óxido nítrico em atletas de outras modalidades seria também esclarecedora. A pesquisa em hematologia requer especificidades em relação à série branca e à vermelha e deve-se procurar centrar em parâmetros mais específicos e pontuais a fim de possibilitar a investigação das causas e conseqüências dos efeitos verificados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREATO, L.V. / FRANCHINI, E. / MORAES, S.M.F. / PASTÓRIO, J.J. / DA SILVA, D.F. / ESTEVES, J.V.D.C. / BRANCO, B.H.M. / ROMERO, P.V. / MACHADO, F.A. *Physiological and Technical-tactical Analysis in Brazilian Jiu-jitsu Competition*. Asian Journal of Sports Medicine, Volume 4 (Number 2), June 2013, Pages: 137-143

BACHUR, J. A. / QUEMELO, Q. R. / BACHUR, C. A. K. / DOMENCIANO, J. C. / MARTINS, C. H. G. / STOPPA, M. A. / NETO, T. L. B. / GARCIA, S. B. *Evaluation of the effect of hypothermia by cold water immersion on blood neutrophils and lymphocytes of rats submitted to acute exercise*. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2008;30(6):470-474

BANFI, G. & DEL FABBRO, M. *Behaviour of reticulocyte counts and immature reticulocyte fraction during a competitive season in elite athletes of four different sports*. Int J Lab Hematol 2007;29:127-31. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1751->

BARRETO, R. de L. & CORREIA, C. R. D. *Óxido nítrico: propriedades e potenciais usos terapêuticos*. Quim. Nova, Vol. 28, No. 6, 1046-1054, 2005.

BOYADJIEV, N. & TARALOV, Z. *Red blood cell variables in highly trained pubescent athletes: a comparative analysis*. Br J Sports Med 2000; 34:200-4. <http://dx.doi.org/10.1136/>.

BRANDÃO, A. F. & MARTINS-PINGE, M. C. *Nitric oxide alteration in the cardiovascular function by exercise training*. Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, Londrina, v. 28, n. 1, p. 53-68, jan./jun. 2007.

BRANDÃO, F. / FERNANDES, H. M. / ALVES, J. V. / FONSECA, S. / REIS, V. M. *Hematological and biochemical markers after a Brazilian Jiu-Jitsu tournament in world-class athletes*. Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano. 2014 v 16 n 2 p 144. <http://dx.doi.org/10.5007/1980-0037>

BRUM, P. C. / SILVA, G. J. J. / MOREIRA, E. D. / IDA, F. / NEGRÃO, C. E. / KRIEGER, E. M. *Exercise training increases baroreceptor gain sensitivity in normal and hypertensive rats*. Hypertension, Dallas, v.36, n.6, p.1018- 1022, dec. 2000.

CERQUEIRA, N. F. & YOSHIDA, W. B. *Óxido nítrico: revisão*. Acta Cir Bras [serial online] 2002 Nov-Dez;17(6).

CÉSAR, M. D. C. / PELLEGRINOTTI, I. L. / PENATTI, E. S. / CHIAVOLONI, G. A. *Avaliação da intensidade de esforço da luta de caratê por meio da monitorização da frequência cardíaca*. Rev. Bras. Cienc. Esporte, Campinas, v. 24, n. 1, p. 73-81, set. 2002.

CLODFELTER, W. H. / BASU, S. / BOLDEN, C. / DOS SANTOS, P. C. / KING, S. B. / KIM-SHAPIRO, D. B. *The relationship between plasma and salivary NOx*. Nitric Oxide. 2015 Apr 21;47:85-90. <http://dx.doi.org/10.1016/j.niox.2015.04.003>.

COSTA ROSA, L. F. P. B. & VAISBERG, M. W. *Influências do exercício na resposta imune*. Rev Bras Med Esporte 2002; 8(4):167-72.

D'ÁVILA, V. G. de F. G. / JUNIOR, N. B. de S. / SOUSA, F. B. / GUILLO, L. A. *Avaliação da produção de óxido nítrico em ratos, submetidos aos exercícios aeróbio e anaeróbio*. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, vol. 44, n. 4, out./dez., 2008.

DE OLIVEIRA, V. N. / BESSA, A. / JORGE, M. L. / OLIVEIRA, R. J. / DE MELLO, M. T. / DE AGOSTINI, G. G. / JORGE, P. T. / ESPINDOLA, F. S. *The effect of different training programs on antioxidant status, oxidative stress, and metabolic control in type 2 diabetes*. Appl Physiol Nutr Metab. 2012 Apr;37(2):334-44.

DEL VECCHIO, F.B.; BIANCHI, S.; HIRATA, S.M.; CHACON-MIKAHIL, M.P.T. *Análise Morfo-funcional de praticantes de Brazilian Jiu Jitsu e estudo da temporalidade e da quantificação das ações motoras na modalidade*. Movimento & Percepção, Espírito Santo do Pinhal, SP, v.7, n.10, jan./jun. 2007.

DIAS, R. G. / NEGRÃO, C. E. / KRIEGER, M. H. *Nitric Oxide and the Cardiovascular System: Cell Activation, Vascular Reactivity and Genetic Variant*. Arq Bras Cardiol 2011; 96(1): 68-75

DIAZ, M. M. / BOCANEGRA, O. L. / TEIXEIRA, R. R. / SOARES, S. S. / ESPINDOLA, F. S. *Salivary nitric oxide and alpha-amylase as indexes of training intensity and load*. Int. J. Sports Med. 2013 Jan; 34(1):8-13.

DIAZ, V. / LOMBARDI, G. / RICCI, C. / JACOBS, R. A. / MONTALVO, Z. / LUNDBY, C. et al. *Reticulocyte and haemoglobin profiles in elite triathletes over four consecutive seasons*. Int J Lab Hematol 2011;33:638-44. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-553-X.2011.01348.x>.

DJORDJEVIC, D. Z. / DEJAN G. C. / VLADIMIR S. P. / MILENA S. V. / VLADIMIR I. Z. / NEVENA S. B. / DRAGAN S. R. / DRAGAN M. D. / VLADIMIR L. J. *Changes in Athlete's Redox State Induced by Habitual and Unaccustomed Exercise*. Oxidative Medicine and Cellular Longevity Volume, 2012.

DUSSE, L. M. S./ VIEIRA, L. M./ CARVALHO, M. G. *Nitric oxide revision – Review Article*. Jornal Brasileiro de patologia e medicina laboratorial. Rio de Janeiro, v.39, n 4, p. 343 – 350, 2003.

FLORA FILHO, R. & ZILBERSTEIN B. *Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade*. Metabolismo, síntese e funções. Rev Ass Med Brasil 2000; 46(3): 265-71

FORJAZ, C. L. M. / SANTAELLA, D. F. / REZENDE, L. O. / BARRETTO, A. C. P. / NEGRÃO, C. E. *A Duração do Exercício Determina a Magnitude e a Duração da Hipotensão Pós-Exercício*. Arq Bras Cardiol, volume 70 (nº 2), 99-104, 1998.

GABRIEL, H. & KINDERMANN, W. *The Acute Immune Response to Exercise: What Does It Mean?* International Journal of Sports Medicine, vol. 18 n. 1, p. 28-45, 1997.

GONZÁLEZ, D. / MARQUINA, R. / RONDÓN, N. / RODRIGUEZ-MALAVAR. A. J. / REYES, R. *Effects of aerobic exercise on uric acid, total antioxidant activity, oxidative stress, and nitric oxide in human saliva*. Res Sports Med. 2008;16(2):128-37. <http://dx.doi:10.1080/15438620802103700>.

GRAHAM, D. A. & RUSH, J. W. *Exercise training improves aortic endothelium-dependent vasorelaxation and determinants of nitric oxide bioavailability in spontaneously hypertensive rats*. Journal of Applied Physiology, Bethesda, v.96, n.6, p.2088-2096, jun.2004.

GREEN, L.C. / WAGNER, D.A. / GLOGOWSKI, J. / SKIPPER, P.L. / WISHNOK, J.S. / TANNENBAUM, S.R. *Analyses of nitrate, nitrite and [¹⁵N]nitrate in biological fluids*. Analytical Biochemistry. v.126, 1982.

HAMER, M. *The anti-hypertensive effects of exercise: integrating acute and chronic mechanisms*. Sports Medicine, Auckland, v.36, n.2, p.109-16. 2006.

HAMMOUDA, O. / CHTOUROU, H. / CHAHED, H. / FERCHICHI, S. / CHAOUACHI, A. / KALLEL, C. et al. *High intensity exercise affects diurnal variation of some biological markers in trained subjects*. Int J Sports Med 2012;33:886-91. <http://dx.doi.org/10.1055/>.

HIDARI, D. M. / COPP, S. W. / FERGUSON, S. K. / HOLDSWORTH, C. T. / McCULLOUGH, D. J. / BEHNKE, B. J. / MUSCH, T. I. / POOLE, D. C. *Exercise training and muscle microvascular oxygenation: functional role of nitric oxide*. Journal Appl Physiol. 2012.

HU, M. / FINNI, T. / SEDLIAK, M. / ZHOU, W. / ALLEN, M. / CHENG, S. *Seasonal variation of red blood cell variables in physically inactive men: effects of strength training*. Int J Sports Med 2008;29:564-8. <http://dx.doi.org/10.1055/s-2007-989320>.

HULLEY, S. B. / CUMMINGS, S. R. / BROWNER, W. S. B. / GRADY, D. / HEARST, N. / NEWMAN, T. B. *Delineando a pesquisa clínica: uma abordagem epidemiológica*. Porto Alegre: Artmed – 2ª Ed. – 2003.

KUBES, P. & GRANGER, D. N. *Nitric oxide modulates microvascular permeability*. American J Phys 1992, 262: H611-H615.

LATUNDE-DADA, G. O. *Iron metabolism in athletes – achieving a gold standard*. European Journal of Haematology 90 (10–15). October 2012. <http://dx.doi.org/:10.1111/ejh.12026>.

LIPPI, G.; SALVAGNO, G.L.; DANESE, E.; TAPERI, C.; GUIDI, G.C.; SCHENA, F. Variation of Red Blood Cell Distribution Width and Mean Platelet Volume after Moderate Endurance Exercise. *Advances in Hematology*, Volume 2014, Article ID 192173, 4 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/192173>.

LOMBARDI, G.; RICCI, C. e BANFI, G. *Effect of winter swimming on haematological parameters*. *Biochem Med* 2011;21:71-8. <http://dx.doi.org/10.11613/BM.2011.014>.

LORENZI, T. F. Atlas de hematologia: clínica hematológica ilustrada. São Paulo: Guanabara Koogan, 2006.

MAGALHÃES, André Filipe Santos. *Variabilidade da frequência cardíaca, biomarcadores salivares de stress e de disfunção autonômica na obesidade infantil*. Universidade de Coimbra- Coimbra-PO, 2012 (dissertação de mestrado).

MCARDLE, W. *Fisiologia do Exercício: Energia nutrição e Desempenho humano*. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2003.

MORAES, J. F. V. N. Associação entre nível de atividade física, nitrito salivar e fatores de risco cardiovascular em adolescentes portadores de variantes comuns dos genes FTO e ECA. Brasília / PUC, Tese de doutorado; 2014.

MURREL, G. A. C. / DOLAN, M. M. / JANG, D. / SZABO, C. / WARREN, R. F. / HANNAFIN, J. A. *Nitric oxide: an important articular free radical*. *J Bone Joint Surg*, 1996; 78-A:265-74.

OLIVEIRA, C. A. M.; ROGATTO, G. P. e Luciano, E. *Efeitos do treinamento físico de alta intensidade sobre os leucócitos de ratos diabéticos*. *Rev Bras Med Esporte* _ Vol. 8, Nº 6 – Nov/Dez, 2002.

OTT, J. N. & DE OLIVEIRA, K. R. *Análise hematológica de jogadores de futebol profissional antes e após esforço físico intenso*. Relatório técnico científico: XVIII Jornada de Pesquisa – Salão do Conhecimento, Ciência, Saúde, Esporte. UNIJUI, Ijuí – RS, 2013.

PANOSSIAN, A. G. / OGANESSIAN, A. S. / AMBARTSUMIAN, M. / GABRIELIAN, E. S. / WAGNER, H. / WIKMAN, G. *Effects of heavy physical exercise and adaptogens on nitric oxide content in human saliva*. *Phytomedicine*. 1999 Mar;6(1):17-26.

PAULO, M. *Efeito vasodilatador do doador de óxido nítrico [Ru(terpy)(bdq)NO]⁺³ em veia cava e artéria basilar de ratos normotensos e hipertensos renais 2R-1C*. Ribeirão Preto: Tese de doutorado, USP, 159 p. 2011.

PFÄFFER, T; COOPER-WHITE J / BEYERLEIN, P. / KOSTNER, K. / PUNYADEERA, C. *Diagnostic potential of saliva. Current state and future applications*. *Clin. Chem*. May, 57(5): 675-687, 2011.

REIS, L. C. / OLIVEIRA, S. F. / OLIVEIRA, C. S. E. S. / CAMPOS, L. A. S. / NETO, O. B. *Exercício resistido agudo altera perfil hematológico em atletas praticantes de levantamento de peso*. *Coleção Pesquisa em Educação Física - Vol.8, nº 3 – 2009*.

RONDON, M. U. P. B. / FORJAZ, C. L. M. / NUNES, N. Amaral S L, Barretto A C P, Negrão C E. Comparison Between Exercise Intensity Prescription Based on a Standard Exercise Test and Cardiopulmonary Exercise Test. *Arq Bras Cardiol*, volume 70 (nº 3), 159-166, 1998.

SANCHIS-GOMAR, F. & LIPPI, G. Physical activity - an important preanalytical variable. *Biochemia Medica* 2014;24(1):68-79
<http://dx.doi.org/10.11613/BM.2014.009>

SILVA, Rafael Pires. *Imunoglobulina A Salivar (IgA-s) e Exercício: Relevância do Controle em Atletas e Implicações Metodológicas*. Ver. Bras. Med. Esporte – Vol. 15, nº16 – Niterói-RJ Nov/Dez, 2009.

SOO-QUEE KOH D; CHOON-HUAT KOH G. *The use of salivary biomarkers in occupational and environmental medicine*. *Occup. Environ. Med.* 2007;64; 202-210.

WILMORE, J. H. & COSTILL, D. L. *Physiology of Sport and Exercise*. 2 ed. Champaign Illinois, Human Kinetics. 2003.

WIRNITZER, K. C. & FAULHABER, M. *Hemoglobin and hematocrit during an 8 day mountainbike race: A field study*. *Journal of Sports Science and Medicine* 2007;6:265-66.

WONG, G. K. T. & MARSDEN, P. A. *Nitric oxide synthases: regulation in disease*. *Nefrol Dial Transplant*, 1996; 11:215-20.

ZAKHAROV, Andrei / GOMES, A.C. *Ciência do treinamento desportivo*. São Paulo: Grupo Palestra, 2003.

ZAMBRANO, J. C. / MARQUINA, R. / SULBARÁN, N. / RODRÍGUES-MALAVAR, A. J. / REYES, R. A. *Aerobic exercise reduced oxidative stress in saliva of persons with Down syndrome*. *Res Sports Med.* 2009;17(3):195-203.
<http://dx.doi:10.1080/15438620903120843>.

ZILBERSTEIN, B. / FLORA FILHO, R. *Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade. Metabolismo, síntese e funções*. *Rev. Ass. Med. Brasil*, 46(3): 265-71. 2000.

ZUARDI, L. R. *Concentrações salivares, sanguíneas e plasmáticas de óxido nítrico em pacientes com doença periodontal antes e depois do tratamento periodontal não cirúrgico*. Ribeirão Preto/USP, Dissertação de mestrado, 2012.

ANEXOS

Anexo 1: Parecer de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa - UFG

Anexo 2: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Anexo 3: Normas de Publicação, American Journal Of Sports Science and Medicine

Anexo 4: Curvas padrão da quantificação de nitrito salivar

Anexo 5: Imagens da pesquisa

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
GOIÁS - UFG



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo das citocinas e do óxido nítrico em atletas de Jiu Jitsu

Pesquisador: Nestor Persio Alvim Agricola

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 24174714.2.0000.5083

Instituição Proponente: Universidade Federal de Goiás - UFG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 692.581

Data da Relatoria: 16/06/2014

Apresentação do Projeto:

A atividade física tem sido indicada como fator preventivo em diversas doenças, tanto ligados ao sistema vascular quanto ao sistema imunológico, em seus aspectos mais amplos. Os estudos envolvendo parâmetros bioquímicos de saúde se multiplicam na literatura internacional, mostrando que o interesse por esses parâmetros é cada vez maior, por representarem possibilidades efetivas na compreensão da saúde humana. Estudos recentes

tem procurado evidenciar a relação entre o exercício físico, em suas mais diversas variações, e parâmetros bioquímicos da saúde humana. Nesta pesquisa, a proposta é quantificar as variações nas concentrações de óxido nítrico e de citocinas em atletas de Jiu Jitsu, a partir de amostras de sangue e saliva. Este estudo irá verificar a relação entre o treinamento do Jiu Jitsu e os níveis de óxido nítrico e de citocinas em um grupo de atletas ao longo de um ano. Nossa proposta é selecionar 20 atletas do grupo de competidores do Jiu Jitsu de Jataí GO e monitorar, ao longo de um ano, as variações plasmáticas e salivares de óxido nítrico e de citocinas. Esta pesquisa se configura como um estudo observacional descritivo longitudinal de mensuração, no qual iremos coletar amostras de sangue e de saliva de atletas de Jiu Jitsu do município de Jataí GO ao longo de um ano de rotina de treinamento. A coleta será realizada em 15 momentos distribuídos ao longo do ano. Após a coleta, o material será submetido a ensaios laboratoriais a fim de se verificar as concentrações de citocinas e óxido nítrico ao longo do tempo, quando então serão feitas as

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131

Bairro: Campus Samambaia

CEP: 74.001-970

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3521-1215

Fax: (62)3521-1163

E-mail: cep.prppg.ufg@gmail.com

Continuação do Parecer: 692.581

análises descritivas e comparativas possíveis, utilizando ferramentas estatísticas variadas.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: O objetivo dessa pesquisa é analisar o comportamento das citocinas e dos teores de óxido nítrico e a relação com o treinamento de Jiu Jitsu em atletas ao longo de um ano. Objetivo Secundário: Mensurar as variações de um painel de 13 citocinas,(IL-1, IL-2, IL-4,IL-5,IL-6, IL- 8, IL-10, IL-12(p70), IL-13, IL-17, INF, TNF, GM-CSF) no plasma e na saliva. - Mensurar as variações do óxido nítrico plasmático e salivar.

- Correlacionar os valores de citocinas e de óxido nítrico com parâmetros relacionados à preparação atlética desportiva. - Avaliar a ação do Jiu Jitsu como exercício físico voltado à saúde humana.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: A utilização de amostras de sangue envolve o risco de contaminação. Pretendemos minimizar esse risco utilizando material descartável, de punção a vácuo, tubos EDTA e agulha de punção a vácuo BD Eclipse, com dispositivo de segurança que recobre toda a agulha após o uso. O material será coletado por técnico em laboratório da própria UFG, habilitado para tal tarefa. Além disso o procedimento terá o acompanhamento de enfermeiro (professor do curso de enfermagem). A utilização de amostras de saliva envolve risco mínimo de qualquer tipo de contaminação. Pretendemos usar material esterilizado, com mínimo contato dos participantes. Todo o material será conservado em freezer do laboratório de Ciências Biomédicas III - Parasitologia, da UFG, Campus Jataí, até o momento dos ensaios laboratoriais para dosagem, que serão realizados no laboratório de Bioquímica celular do departamento de Bioquímica e Biologia molecular do Instituto de Ciências Biológicas da UFG em Goiânia. O transporte será feito em caixa térmica contendo gelo seco. Benefícios: Esperamos, com esse estudo, contribuir com a compreensão sobre os efeitos dos exercícios físicos para os sistemas fisiológicos do organismo humano. Oferecer um parecer seguro sobre a prática do Jiu Jitsu e sua relação com a saúde e ainda testar a saliva como parâmetro seguro de monitoramento do exercício, abrindo novas possibilidades de procedimentos menos invasivos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto é relevante para o campo de conhecimento da Educação Física, sendo importante a sua realização. O projeto apresenta cronograma com coleta de dados pessoais a partir de maio de 2014 e as primeiras coletas a partir de junho de 2014. Não informa que a coleta acontecerá após autorização do CEP. Houve readequação do TCLE sugerida anteriormente.

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131
Bairro: Campus Samambaia **CEP:** 74.001-970
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 **Fax:** (62)3521-1163 **E-mail:** cep.prppg.ufg@gmail.com

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
GOIÁS - UFG



Continuação do Parecer: 692.581

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresenta todos os termos de apresentação obrigatória. O TCLE se apresenta em linguagem clara e adequada ao grupo pesquisado.

Recomendações:

Que o projeto detalhado (final), tenha correção do Cronograma, alinhando com as Informações Básicas apresentadas na plataforma.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Notificar ao CEP, o alinhamento do cronograma de início da coleta de dados iniciais e da data de coletas sanguíneas no projeto detalhado com as informações básicas da Plataforma Brasil.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Enviar as recomendações acima elencadas sob a forma de NOTIFICAÇÃO

GOIANIA, 20 de Junho de 2014

Assinado por:
João Batista de Souza
(Coordenador)

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131

Bairro: Campus Samambaia **CEP:** 74.001-970

UF: GO **Município:** GOIANIA

Telefone: (62)3521-1215 **Fax:** (62)3521-1163 **E-mail:** cep.prppg.ufg@gmail.com



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Resolução nº 196/96 – Conselho Nacional de Saúde

Resolução 466/2012 – Conselho Nacional de Saúde

O senhor foi selecionado e está sendo convidado a participar da pesquisa intitulada, "*Estudo das citocinas e do óxido nítrico em atletas de jiu jitsu*", que tem como objetivo avaliar os efeitos do Jiu Jitsu, como exercício físico, para alguns parâmetros de saúde humana. Além disso, com a sua participação poderemos avaliar algumas substâncias presentes no sangue e na saliva (citocina e óxido nítrico) que após a conclusão desta pesquisa poderão dar informações importantes para a compreensão dos efeitos do exercício físico nas pessoas. As amostras serão coletadas 9 vezes ao longo do ano de treinamento. A coleta de dados terá início previsto para abril de 2014 e encerramento para dezembro de 2014.

A pesquisa se justifica pela necessidade de compreendermos melhor a interferência do exercício físico em geral, e o Jiu Jitsu especificamente, em diferentes intensidades, para o sistema imunológico e na saúde do sistema cardiovascular.

Sua participação é voluntária, a qualquer momento do estudo você poderá retirar seu consentimento. Sua recusa em participar não acarretará em nenhum prejuízo de qualquer natureza ou na relação com os colegas participantes ou mesmo com o pesquisador responsável.

A coleta de amostras de sangue será realizada por profissional habilitado na prática (Biólogo, técnico responsável pelo laboratório de Ciências Biomédicas III – parasitologia), em agulhas descartáveis BD Eclipse de punção a vácuo e tubos Vacutainer BD jateados com EDTA (anticoagulante) e serão coletados 4 ml de sangue em cada retirada. A coleta de sangue será uma vez ao mês, de maio de 2014 a outubro de 2014, com exceção dos meses em que houver competição oficial de Jiu Jitsu. Nesses meses, a coleta de sangue será uma vez em dia anterior à competição e uma vez em dia posterior à competição, configurando duas coletas nesses meses. Você será informado com a devida antecedência sobre os dias em que se realizará a coleta.

A coleta de amostras de saliva será feita nos mesmos dias das coletas de sangue. A saliva será coletada em três momentos do dia: 1) ao acordar, em jejum (essa coleta será realizada pelo senhor mesmo, após instruções detalhadas que serão dadas pelo pesquisador responsável); 2) imediatamente antes da sessão de treinamento; 3) imediatamente após a sessão de treinamento. Em cada momento desses serão coletadas duas amostras, uma para análise de citocinas e outra para análise de óxido nítrico. As amostras serão coletadas em frascos estéreis e individualmente embalados, fornecidos pelo pesquisador. Após a coleta em jejum, o senhor deverá manter os frascos no refrigerador até o momento da sessão de treinamento, em que deverá ser entregue ao pesquisador responsável.

O senhor não terá nenhum custo ou quaisquer compensações financeiras com a participação nesse estudo. Os riscos decorrentes dos procedimentos (risco de contaminação) serão minimizados com uso de material descartável. Em nenhuma hipótese o material de coleta de amostras será reutilizado. Todo o procedimento de coleta de amostras de sangue será

acompanhado por um enfermeiro credenciado da UFG Campus Jataí GO (ao qual VSa poderá solicitar). O material coletado será utilizado nesta pesquisa.

Os participantes dessa pesquisa poderão ligar para o pesquisador responsável antes, durante e após a realização da pesquisa, em ligação a cobrar, para sanar quaisquer dúvidas ou solicitações relacionadas ao estudo. O Comitê de Ética em Pesquisa da UFG pode ser contatado para sanar dúvidas também pelo telefone (62) 3521 1215.

Após as análises laboratoriais previstas as amostras utilizadas serão descartadas como material biológico. Todos os procedimentos terão garantido o sigilo dos participantes, em nenhum momento será divulgado seu nome em qualquer etapa do estudo. Os resultados desse estudo serão divulgados em publicações de caráter científico e sua identidade será absolutamente preservada, não sendo divulgada em hipótese alguma. Os registros dos resultados da pesquisa serão arquivados e serão mantidos codificados a fim de garantir o sigilo de sua identidade.

Nestor Persio Alvim Agricola
Pesquisador responsável
Tel (64) 3631 43 91 Cel. (64) 9223 3809
Email: Nestoralvim@hotmail.com

Lidia Andreu Guillo
Pesquisador orientador

Participante da pesquisa

RG

CPF

ANEXO 3: NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

AMERICAN JOURNAL OF SPORTS SCIENCE AND MEDICINE

Instructions to Authors

Online submission of manuscript is now mandatory for all types of paper. Please prepare your manuscript following the instructions for authors given below before submitting it online at <http://mts.sciepub.com>. If submission is completed successfully, a paper ID will be allocated to you and an e-mail acknowledgement will follow. All subsequent correspondence should be sent to the Assistant Editor, [David Rain](mailto:David.Rain@sciepub.com), at editor@sciepub.com.

Required files

Manuscripts must be in Microsoft Word format only.

Preparation of Manuscripts

Manuscripts should be in English and written in a concise, straightforward style. Authors not fluent in English are advised to have their manuscript checked by a colleague with a good command of the language. The manuscript should present scientific findings which are essentially new and which have not been published or submitted for publication elsewhere. Review papers are also welcomed.

1. Format:

Prior to submission, authors who believe their manuscript would benefit from professional editing are encouraged to use language-editing and copyediting services. Obtaining this service is the responsibility of the author, and should be done before initial submission. A template ([download](#)) is available to guide authors in the preparation of the manuscript.

2. Length:

Although there is no page limit for a Regular Paper, it is strongly suggested that a complete manuscript be no less than 5 pages and no more than 25 pages (10 pt, double-spaced, including figures, tables, and references).

3. Sections of Manuscript:

Articles should be organized into the following sections:

Reviews and Mini-reviews

Article Title, Authors' names and institutional affiliations, Abstract and Keywords, Introduction, Main text (divided into subheadings), Conclusions, Acknowledgements (if any), Statement of Competing Interests, List of Abbreviations (if any), References.

Research Articles

Article Title, Authors' names and institutional affiliations, Abstract and Keywords, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusions, Acknowledgements (if any), Statement of Competing Interests, List of Abbreviations(if any), References

3.1. Title (20 words or less)

The title should accurately, clearly, and concisely reflect the emphasis and content of the paper. The title must be brief and grammatically correct. Titles do not normally include numbers, acronyms, abbreviations or punctuation. They should include sufficient detail for indexing purposes but be general enough for readers outside the field to appreciate what the paper is about. The title should be no more than 20 words in length.

3.2. Authors' names and institutional affiliations

This should include the full author names (with no titles or qualifications), institutional addresses (Department, Institute, City, Post/Zip code, Country), and email addresses for all authors. Authors and affiliations must be linked using superscript numerals. The corresponding author should also be indicated.

3.3. Abstract and Keywords

The abstract should be comprehensive but concise consisting of no more than 300 words and should be structured to give a brief introduction to the study, main findings of the study, conclusions drawn from the study and their significance. Do not include references, headings and non-standard abbreviation. While the abstract is conceptually divided into three sections (Background, Methodology/Principal Findings, and Conclusions/Significance), please do not apply these distinct headings to the abstract within the article file. Please do not include any citations and avoid specialist abbreviations. Also provide 5-7 carefully chosen keywords.

3.4. Introduction

Here authors should make a case for the study, providing a brief literature survey (avoid citing literature older than ten years, unless absolutely necessary) and background to the study, the hypothesis and the significance of the presented research.

3.5. Materials and Methods

Experimental procedures should be given in sufficient detail to allow these to be replicated by other researchers. The source of the various reagents and materials used in the study should be given, where possible.

3.6. Results

The results section should provide details of all of the experiments that are required to support the conclusions of the paper. There is no specific word limit for this section, but details of experiments that are peripheral to the main thrust of the article and that detract from the focus of the article should not be included. The section may be divided into subsections, each with a concise subheading. Large datasets, including raw data, should be submitted as supporting files; these are published online alongside the accepted article. We advise that the results section be written in past tense.

3.7. Discussion

This section should present comprehensive analysis of the results in the light of any previous research. Discussion may also be combined with results.

3.8. Conclusions

Conclusion section should bring out the significance of your research paper, show how you've brought closure to the research problem, and point out remaining gaps in knowledge by suggesting issues for further research.

3.9. Acknowledgements

The authors should first acknowledge the source of funding for the research presented in their article followed by any personal credits.

3.10. Statement of Competing Interests

Include an explicit disclosure of any competing interests (financial or others) that may have

influenced the study or the conclusions drawn from the study. If none, state 'the authors have no competing interests'.

3.11. List of Abbreviations

Define all non-standard abbreviations in parenthesis on their first appearance in the text as well as provide a list. Standard abbreviations need not to be included in the list.

3.12. References

The reference list appears at the end of your paper. It provides the information necessary for a reader to locate and retrieve any source you cite in the body of the paper. Each source you cite in the paper (with the exception of personal communications) must appear in your reference list; likewise, each entry in the reference list must be cited in your text. Only published or accepted manuscript should be included in the reference list. Papers that have been submitted but not yet accepted should not be cited. Limited citation of unpublished work should be included in the body of the text only as "unpublished data".

Citation

As you write your report, you will cite your references. A citation to a reference in the body of the text is indicated by a bracketed number corresponding to the reference number in the References section. Example: During high stress periods, individuals should focus on the situation-specific tasks rather than rely on general knowledge structures. [1]

Reference Formats

GENERAL INSTRUCTIONS

A complete reference should contain the name(s) of the author(s) and/or editor(s), the title of the article, the name of the book or conference proceedings where appropriate, and bibliographic information about the article such as the name of the publisher, the city of publication, and the page numbers. The basic concept is that the reference should be sufficiently complete so that the reader could readily find the reference and can judge the authority and objectivity of the reference.

All author names appear as Last name, Initials. For example, if Kirsten Patrick is the primary author and Alice M. Agogino is the second author, the correct appearance of the author names would be: Patrick, K., and Agogino, A.M.

Books

Standard format

Authors, *Title*(in italics), Publisher, City of Publication, Year of Publication, page numbers(if appropriate).

Example :

1. Fogg, B.J., *Persuasive technology: using computers to change what we think and do*, Morgan Kaufmann Publishers, Boston, 2003, 30-35.

Journal articles

Standard format

Authors, "Title of the article," *Journal name*(in italics), Volume (Issue), Pages, Month

Year.

Example :

Hirsh, H., Coen, M.H., Mozer, M.C., Hasha, R. and Flanagan, J.L, "Room service, AI-style," *IEEE intelligent systems*, 14 (2). 8-19. July 2002.

Conference Proceedings

Standard format

Authors, "Title of the article," in *Title of conference*(in italics),Publisher, Pages.

Example :

Leclercq, P. and Heylighen, "A. 5,8 Analogies per hour: A designer's view on analogical reasoning," in *7th International Conference on Artificial Intelligence in Design*, Kluwer Academic Publishers, 285-303.

E-Books

Standard format

Authors, *Title of E-book*(in italics),Publisher, Date of original publication.

[Format] Available: Source.

Example :

T. Eckes, *The Developmental Social Psychology of Gender*, Lawrence Erlbaum, 2000.
[E-book] Available: netLibrary e-book.

E-journal

Standard format

Authors, "Title of Article," *Title of Journal*(in italics), Volume (Issue), pages, month year.

[Format] Available: Database Name (if appropriate), article number (if given), internet address. [Accessed date of access].

Example :

A. Altun, "Understanding hypertext in the context of reading on the web: Language learners' experience", *Current Issues in Education*, 6(12), July 2003. [Online].
[Online]. Available: <http://cie.ed.asu.edu/volume6/number12/>. [Accessed Dec. 2, 2004].

3.13. Tables

The table title should be concise, no more than one sentence. The rest of the table legend and any footnotes should be placed below the table. Footnotes can be used to explain abbreviations.

Tables must be cell-based, such as would be produced in a spreadsheet program or in Microsoft Word. Do not provide tables as graphic objects. Tables must be no larger than one printed page (7inches x 9.5inches). Larger tables can be published as online supporting information. Bold and italics formatting will be preserved in the published version; however, more extensive formatting will be lost. Do not include color, shading, lines, rules, text boxes, tabs, returns, or pictures within the table.

All tables must be numbered consecutively (in Arabic numbers). Table headings should be placed (centered) above the table. Place tables as close as possible to where they are mentioned in the main text. All Tables should be referred to in the text as Table 1, Table 2, etc.

3.14. Figures

Figures should be as small and simple as is compatible with clarity. The goal is for figures to be comprehensible to readers in other or related disciplines, and to assist their understanding of the paper. Unnecessary figures and parts (panels) of figures should be avoided: data

presented in small tables or histograms, for instance, can generally be stated briefly in the text instead. Avoid unnecessary complexity, coloring and excessive detail.

All illustrations should be original drawings or photographic prints of originals. Photographs should be glossy prints. Photocopies are often not good enough and should be avoided. All illustrations must be numbered consecutively, as Fig. 1, Fig. 2. Center figure captions beneath the figure. Do not assemble figures at the back of your article, but place them as close as possible to where they are mentioned in the main text. No part of a figure should go beyond the typing area.

3.15. Figure Legends

The aim of the figure legend should be to describe the key messages of the figure, but the figure should also be discussed in the text. Each legend should have a concise title of no more than 15 words. The legend itself should be succinct, while still explaining all symbols and abbreviations. Avoid lengthy descriptions of methods.

3.15. Equations

Number equations consecutively. Equation numbers, within parentheses, are to position flush right, as in Eq. (1) or equation (1), using a right tab stop.

$$d(fu, t) \leq \frac{\beta + \gamma + \delta + \eta}{1 - (\alpha + \beta + \gamma + \delta)} d(t, fu) \quad (1)$$

Note that the formula is centered using a center tab stop. Be sure that the symbols in your formula have been defined before or immediately following the equation. Use “Eq. (1)” or “equation (1)”, not “(1)”, in the sentences.

Notation. Notation must be legible, clear, compact, and consistent with standard usage. In general, acronyms should be defined at first use.

Variables and Vectors. Set single-letter variables in italics (e.g. *m*). Set vectors in boldface (e.g. **E**). Derivative “d,” abbreviations, and multi-letter identifiers should be set in roman (plain) type (e.g. cos, $\int \dots dx$).

4. Submission self-checklist

Before submitting your manuscript online, please check that all style and format requirements have been carefully followed.

- English spelling and punctuations are used throughout the paper.
- The paper is original, not submitted anywhere else.
- The length of the paper is commensurate with content.
- The title and headings are brief and catchy.
- Names and affiliations (including postal codes) of all authors are correct and complete.
- Figures are of sufficient quality for printing, with clear resolution of detail.
- Abstract and keywords are provided.
- All table captions and figure legends are provided.
- Tables/Figures are properly placed and numbered with brief titles/ captions.
- References are in standard style.

Publishing process

The following sections summarize the journals' publishing processes and describe how manuscript are handled from submission to publication. At all stages of the process, you can access the online submission system and find the status of your manuscript.

1) Author submits a manuscript

2) Journal editor screens manuscript

Within one week of being submitted, each journal paper undergoes a preliminary review by the journal editor. The journal editor decides among three options for routing the paper:

The journal editor decides among three options for routing the paper:

Send out for review.

The manuscript meets the basic requirements of SciEP. At least two reviewers will be located by the journal editor, who will send each reviewer a copy of the paper.

Return for revision If your manuscript has not passed the preliminary review, the review comment will be returned to you for revision.

Rejection without peer review While manuscript have to go through the peer review process in order to be published, they can be rejected without peer review. For high-impact, general science journals, the majority of submitted papers may be rejected in this manner. While this may appear surprising or disturbing, it is essential to understand the underlying reasons and the inevitability of this undesired aspect of the research publication process.

There could be many reasons for rejection without review:

- Content of the article is not within the scope of the journal.
- Non-conformity with journal style, format or guidelines.
- Duplication or large overlap with existing work or apparent plagiarism.
- Results are not novel or significant enough; lead to only an incremental advance in field.
- Article is too specialized/in-depth or superficial.
- Limited interest to journal target audience.
- Poor quality of research.
- Results or interpretation are too preliminary or speculative.
- Lack of clarity/conciseness in presentation.

3) Manuscript is peer reviewed

4) Journal editor/editorial board decides whether to publish

Once peer review has been completed, the original author(s) of the article will modify their submission in line with the reviewers' comments, and this is repeated until the editor is satisfied.

Review Decisions by Reviewers and Editors:

1. Accept in present form

The reviewer will decide that the manuscript is ready for publication in its present form when at least two reviewers are in agreement. The associate editor will sum up the results of the review and report them to the chief editors. The secretary will then send an acceptance letter to the author on behalf of the chief editors. The paper will be moved to final editing for online publication.

2. Revision Required

The reviewer will decide that the paper is not ready for publication and needs revision when at least two reviewers are in agreement. The associate editor will send the reviewers' comments to the author for revision. The author should include with his(her) resubmitted version a new cover letter that includes a point-by-point response to the reviewers' and editors' comments, including an explanation of how you have altered your manuscript in response to these, and an estimation of the length of the revised version with figures/tables.

3. Declined final

The reviewers will decide that the paper is inappropriate for publication when at least two reviewers are in agreement. No revisions will be requested for further consideration. The paper may not be resubmitted without substantial revision.

5) Copy Editing and Typesetting

Copy editing seeks to ensure that an article conforms to the journal's house style, that all of the referencing and labelling is correct, and that there are no spelling or grammatical errors. Typesetting deals with the appearance of the article — layouts, fonts, headings etc., both for print and online publication.

Copy editing and typesetting are carried out by copyeditors (also called subeditors), who refine it so that the text and figures are readable and clear to those outside the immediate field; choose keywords to maximize visibility in online searches as well as suitable for indexing services; and ensure that the papers conform to house style. The copyeditors are happy to give advice to authors whose native language is not English, and will edit those papers with special care.

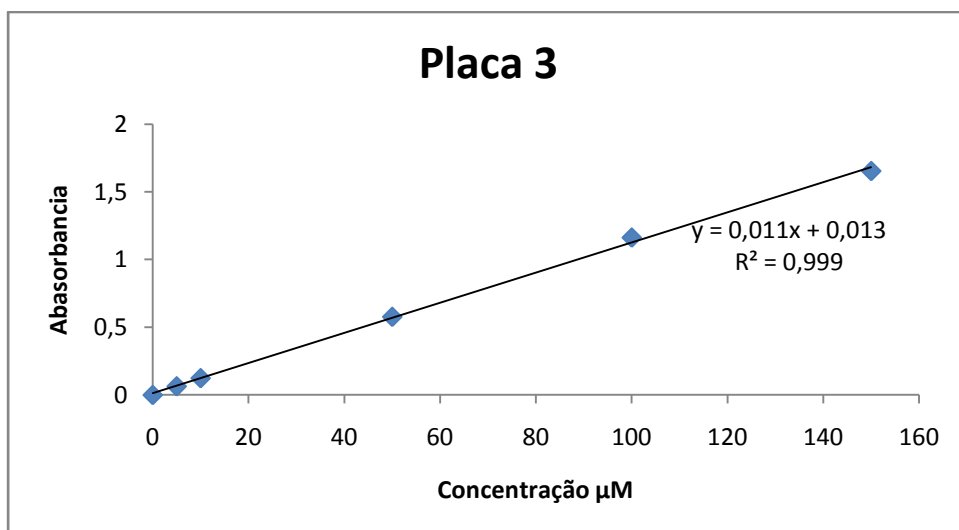
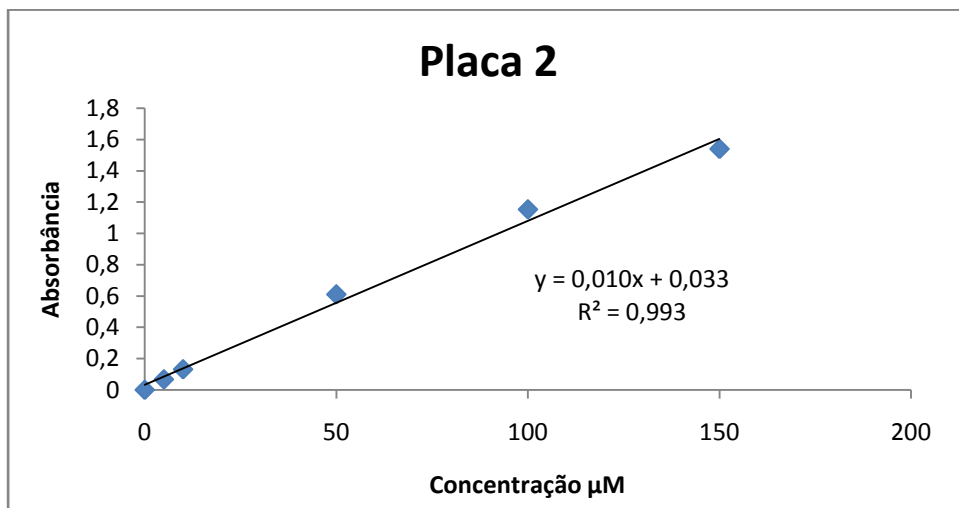
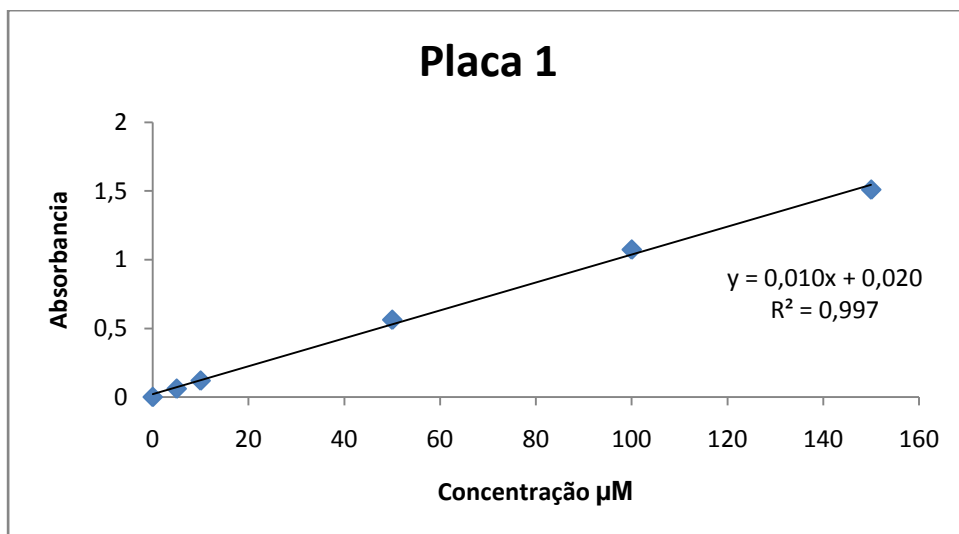
6) Proof Reading

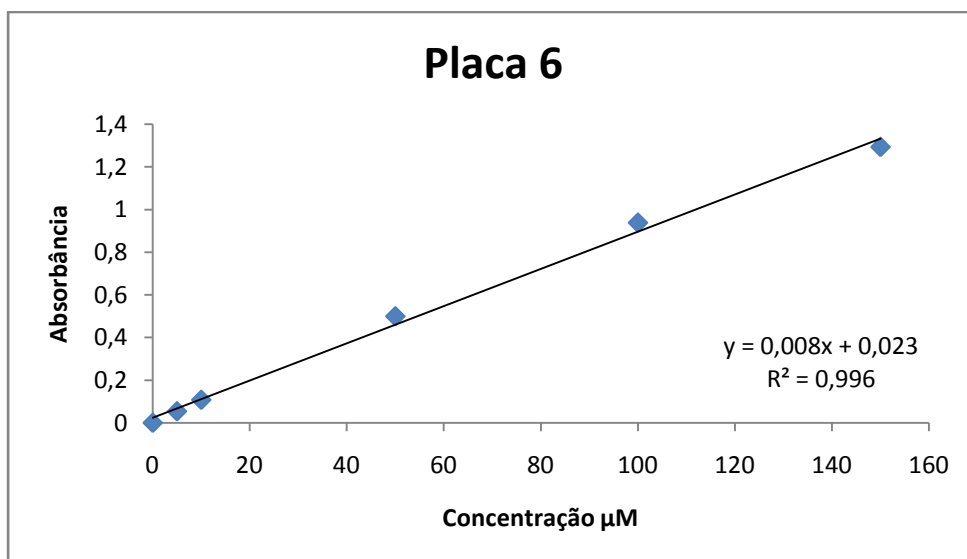
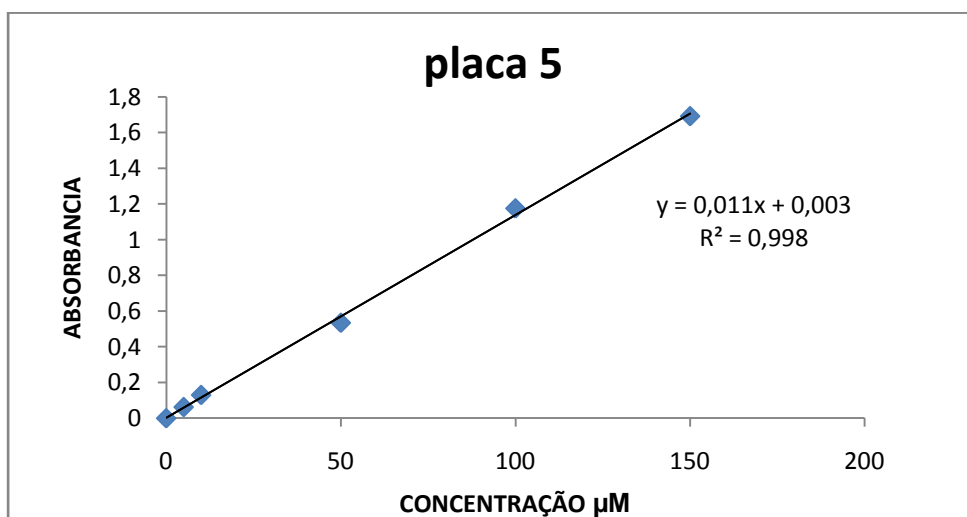
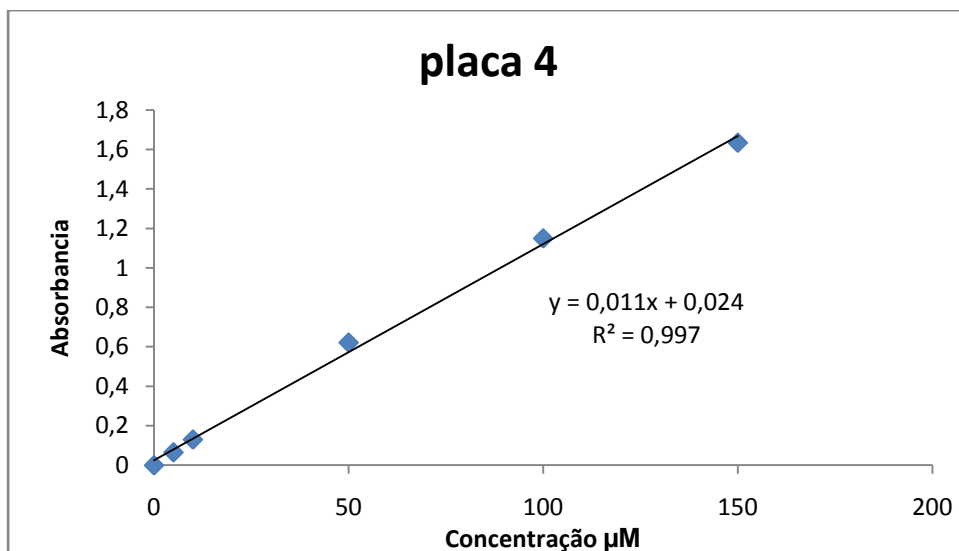
The typeset first proofs are sent to the author electronically as a PDF. Corrections to the proofs should be minor – authors should not rewrite or make substantial additions.

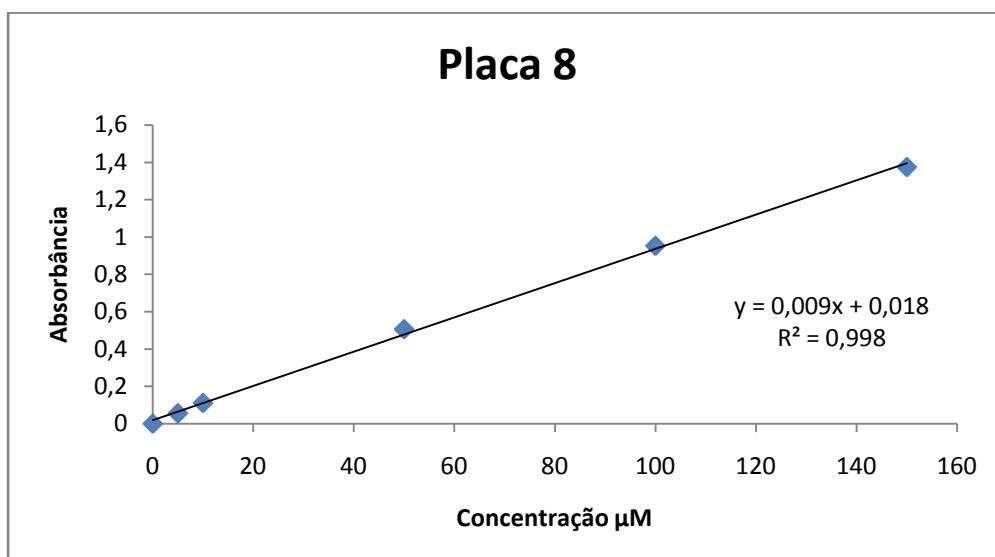
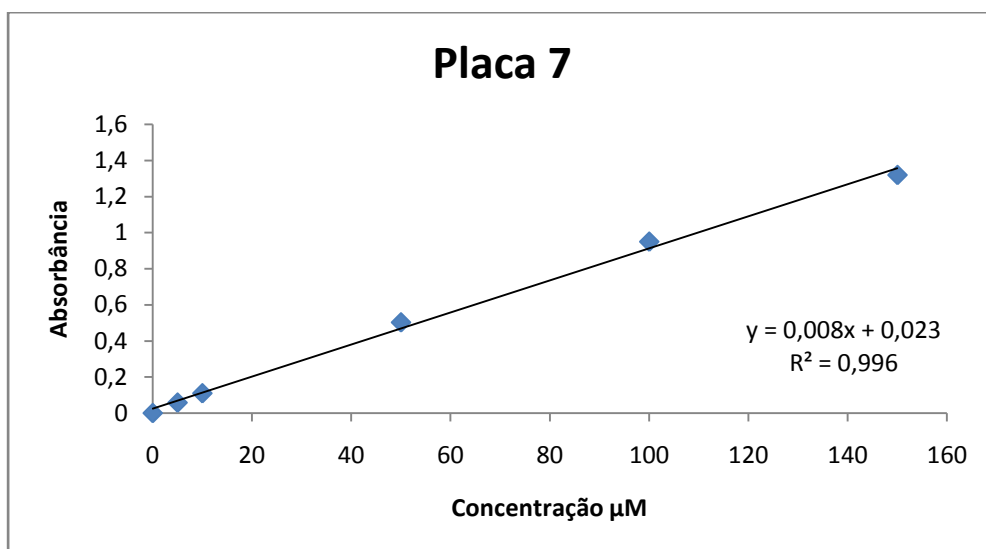
7) Printing

The final text and cover proofs will undergo a thorough editorial review before they are accepted and sent to print. All papers are published in the print edition and, in PDF and HTML format, in the online edition of the journal, in full.

ANEXO 4: Curvas padrão das placas de quantificação de nitrito salivar







ANEXO 5: Imagens da pesquisa



Imagem 1: voluntários participantes



Imagem 2: Treinamento do Projeto Tatame



Imagem 3: Treinamento do Projeto Tatame



Imagem 4: Retirada de sangue de voluntário



Imagem 5: Retirada de sangue de voluntario



Imagem 6: Retirada de sangue devoluntário

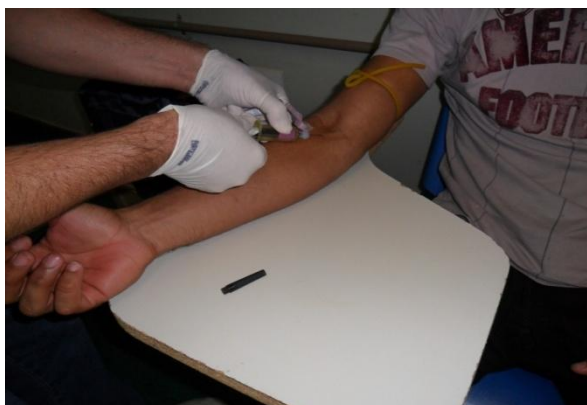


Imagem 7: Retirada de sangue de voluntário

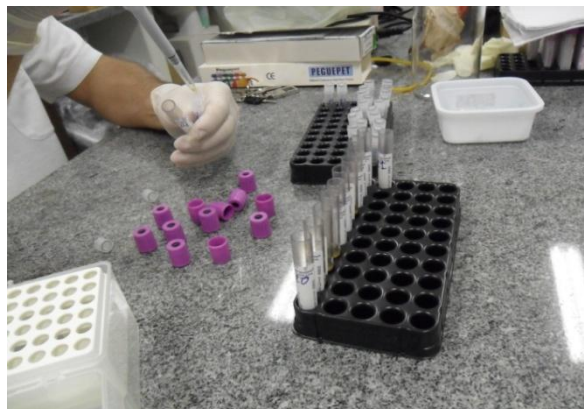


Imagem 8: Dosagem hematológica



Imagem 9: dosagem de nitrito salivar



Imagem 10: Coleta de amostras de saliva



Imagem 11: Kit de coleta de saliva



Imagem 12: Kits de coleta de saliva