

Perfil leucocitário de árbitros assistentes antes e após partidas de futebol

Perfil leucocitário de árbitros assistentes antes e após partidas de futebol

SILVA AI, NUNES EA, SOBRINHO AB. Perfil leucocitário de árbitros assistentes antes e após partidas de futebol. *R. bras. Ci. e Mov* 2009;17(3):39-44.

Alberto I. da Silva¹
Everson A. Nunes¹
Adalberto B. Sobrinho¹

¹Universidade Estadual de Maringá, Campus de Ivaiporã - PR

RESUMO: Alterações na contagem de células imunitárias sanguíneas, promovidas por sessões agudas de exercício, já estão bem documentadas em muitos estudos. Contudo, a relevância clínica das mudanças agudas em variáveis imunitárias, após a atividade física, ainda é foco de intenso debate, pois podem refletir momentâneas mudanças na homeostase promovendo abertura a infecções oportunistas. Investigações envolvendo parâmetros imunitários de jogadores de futebol profissional são escassas na literatura científica, fato que se torna mais expressivo quando a atenção é direcionada aos árbitros assistentes. Este estudo analisou a contagem leucocitária (CL) de cinco árbitros, com idade $33,4 \pm 3,3$ anos, antes e após partidas do Campeonato Paranaense de Futebol 2000, série A. Amostras de sangue venoso, 10mL, foram coletadas em tubos contendo EDTA e levadas para contagem em analisador Cell DYN 1400 com revisão em microscopia. A análise estatística foi realizada através de teste “t” de student. A CL total apresentou aumento significativo de 25,8% após a partida, $p < 0,05$. Este incremento, no número de células, foi decorrente principalmente do acréscimo da população de neutrófilos segmentados (maduros) (3397 ± 1139 vs. 5386 ± 1417 céls./mm³) e neutrófilos bastonados (jovens) ($142,4 \pm 74,85$ vs. $342,8 \pm 177,8$ céls./mm³). No entanto não houve mudanças significativas nas contagens de linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos, $p > 0,05$. O padrão de mudança na CL segue o descrito em outras investigações, onde indivíduos bem condicionados fisicamente não apresentaram linfopenia ou alterações na contagem de monócitos, eosinófilos e basófilos, as quais são frequentes em indivíduos não-treinados, após a sessão aguda de exercício.

Palavras-chave: Árbitro assistente; Futebol; Sistema imune.

ABSTRACT: Changes in blood immune cell counting are common after acute exercise bouts. Are well documented in scientific literature. However there is an intense debate about the clinical relevance of these changes because they might reflect disbalances in homeostasis possibiliting opportunistic infections. There are few studies on immune parameters of soccer player professional and rare in assistant referees. This study aimed to analyze the blood leukocyte containing (LC) of five male assistant referees, age of 33.4 ± 3.3 years before and after the matches of 2000 Paranaense soccer Championship serie. A Venous blood samples, 10 mL, were harvested in tubes contending EDTA and the counting was done in the Cell DYN 1400 analyzer, with microscope revision. Statistical analysis was done by student’s “t” test. It was observed a 25.8% increase in LC after the matches ($p < 0.05$). This was due mainly to the increase of segmented neutrophils (mature) (3397 ± 1139 vs. 5386 ± 1417 cells/mm³) and non-segmented (young) (142.4 ± 74.85 vs. 342.8 ± 177.8 cells/mm³). There were no significative changes in lymphocytes, monocytes, eosinophils and basophils counting ($p > 0.05$). The LC change pattern corroborates the findings of other studies where well trained individuals didn’t show lymphopenia or modifications in monocytes, eosinophils and basophils counting, which is quite frequent in non-conditioned individuals after an acute exercise bout.

Key Words: Assistant referee; Soccer; Immune system.

Recebido em: 30/11/2009
Aceito em: 30/11/2009

Contato: Alberto Inácio da Silva - albertoinacio@bol.com.br

Introdução

Numerosos estudos têm investigado mudanças no número e tipo de leucócitos circulantes em resposta a vários tipos e durações de exercício, mas poucos utilizaram o futebol como modelo de investigação¹⁴. A investigação desses parâmetros, em árbitros, é algo ainda mais escasso na literatura atual, pois a atenção é voltada principalmente aos jogadores. Trabalhos de cunho científico, envolvendo árbitros de futebol, são muito recentes, principalmente se tomarmos como referência os estudos envolvendo jogadores de futebol^{5,13}.

A leucocitose (aumento do número de leucócitos) pode sofrer alterações em decorrência de fatores intrínsecos e extrínsecos. O aumento do tráfego celular da medula óssea para o sangue, demarginação das paredes dos vasos sanguíneos e diminuição da saída para os tecidos, seriam alguns dos fatores intrínsecos. Ainda não existe completo entendimento da liberação das células sanguíneas da medula óssea. Tem sido sugerido que fatores similares, quando não os mesmos que controlam o recrutamento de células em tecidos inflamados, também regulam a mobilização da medula óssea²⁴. No entanto, exceções têm sido encontradas, por exemplo, a mobilização de leucócitos depende de interações adesivas distintas daquelas formadas durante a diapedese de polimorfonucleares, granulócitos do tipo neutrófilos (PMN) para os tecidos inflamados¹⁸. PMN possuem papel importante na defesa contra infecções, especialmente as bacterianas. Existe grande reserva de PMN na medula óssea, a qual pode ser mobilizada durante infecções ou inflamações. No sangue, aproximadamente metade da população de PMN está circulando livre em equilíbrio dinâmico com os PMN marginais. Estes últimos são encontrados nos pulmões, fígado, baço e medula óssea–aderidos ou em contato com o endotélio de pequenos vasos. PMN, assim como outros tipos de leucócitos, podem ser rapidamente liberados (demarginalizados) por estímulos tais como a adrenalina ou o exercício físico⁴.

Numerosos estudos têm demonstrado que o exercício com intensidade entre 70–85% VO₂máx.

induz a perturbação bifásica na contagem dos leucócitos circulantes (fator extrínseco). Imediatamente após o exercício, os leucócitos totais podem aumentar em taxas de 50-100%. Após 30 min. de recuperação, a contagem de linfócitos começa a diminuir a valores entre 30-60% abaixo dos valores basais, permanecendo baixas por 3-6 horas. No entanto, se o exercício for moderado por volta de 50% do VO₂máx., a contagem linfocitária não diminui no período de recuperação²⁷. Em contraste, a concentração de PMN aumenta, tendo em vista que as células são liberadas da reserva da medula óssea, e permanece alta por muitas horas³². Estudos utilizando modelos de exercício de resistência e força demonstraram que expressiva granulocitose pode ser provocada sem a presença detectável de nenhum dos fatores geralmente relacionados a mobilização de PMN dos estoques da medula óssea, no entanto existe aumento, de origem desconhecida, da atividade quimiotática dos PMN plasmáticos 30-60 min após o exercício²⁹.

Visando melhorar a performance física do árbitro de futebol, a partir do ano 2000, começaram a surgir estudos acadêmicos voltados à preparação física dos árbitros⁹. Contudo, estes estudos não apresentaram estratégias para o aperfeiçoamento dos árbitros assistentes.

Os árbitros assistentes surgiram ainda no século XIX⁵, entretanto trabalhos científicos visando conhecer as dificuldades e limitações deste profissional² surgiram somente recentemente, isto é, no início do século XXI. Os árbitros assistentes, assim como os indivíduos que atuam com árbitro principal, sofrem a todo o momento críticas sobre sua conduta durante o jogo. Não é raro de se ouvir ou ver, durante a transmissão de um jogo, os assistentes serem objetos de críticas levando-se em consideração às suas sinalizações durante a partida⁷.

A preocupação em se melhorar a performance física dos árbitros assistentes fez com que alguns trabalhos fossem desenvolvidos. Sua perda hídrica foi investigada por Da Silva e Fernandez⁶. O seu gasto calórico no transcorrer da partida, assim como do

árbitro já foram determinados¹⁰. Entre os vários trabalhos desenvolvidos para se determinar das ações motoras do árbitro durante o jogo, encontram-se dois que foram realizados com os assistentes^{11 20}, em que a intensidade de suas ações foram determinadas por meio da frequência cardíaca⁸. Alguns estudos determinando e comparando a capacidade física e o perfil antropométrico dos árbitros com os dos assistentes, demonstraram que os assistentes, de forma geral, estão melhor fisicamente quando comparados com os dos árbitros¹².

Durante a fundamentação técnica deste estudo não encontramos nenhum relato sobre a variação dos leucócitos em decorrência da intensidade da atividade física do árbitro assistente de futebol, seja no treinamento ou no jogo. Pesquisas sobre este tema poderiam dar suporte aos argumentos de que o árbitro assistente possui um preparo físico condizente com as exigências físicas hoje necessárias para a condução de partidas de futebol de elite. A ausência de artigos sobre este tema pode ser explicada, talvez, pelo recente interesse em se investir em estudos científicos envolvendo a arbitragem do futebol e pela dificuldade que os pesquisadores têm de obterem acesso a dados que envolvam avaliação física de árbitros profissionais ligados às federações de futebol. O objetivo deste estudo foi o de investigar as mudanças ocorridas na contagem leucocitária sanguínea de árbitros que atuam como assistentes durante partidas oficiais de futebol profissional.

Materiais e métodos

Este trabalho foi desenvolvido durante o Campeonato Paranaense 2000 de futebol, série A, categoria masculina. Para tanto foram avaliados 5 árbitros assistentes de futebol do sexo masculino, com idade média de $33,4 \pm 3,3$. Todos foram voluntários, escolhidos de forma aleatória, credenciados pela Comissão de Arbitragem (CA) da Federação Paranaense de Futebol. Cada voluntário antes de se submeter a este experimento, assinou um termo de anuência que esclarecia o procedimento experimental a

que seria submetido e autorizava a utilização dos dados coletados no trabalho científico aqui proposto. Os voluntários não receberam nenhum estímulo econômico para participar desta pesquisa. Os procedimentos aqui adotados estão de acordo com a RESOLUÇÃO N.º 196, DE 10 OUTUBRO DE 1996 do Conselho Nacional de Saúde que trata sobre procedimentos de pesquisa em seres humanos. Este projeto foi aprovado pelo comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de Clínicas da UFPR (Protocolo CEP-HC 007 – Ext. 005/2000.06).

Amostras de sangue venoso foram coletadas da veia ante-cubital (10mL), em tubos contendo EDTA e levadas para contagem em analisador Cell DYN 1400 com revisão em microscopia. As coletas foram realizadas 10 minutos antes e dez minutos após o fim de cada partida, respeitando as normas internacionais vigentes. A coleta e análise de sangue foram realizadas por uma técnica do Laboratório Hemolab, instituição esta responsável pelas análises clínicas do material coletado. Do sangue coletado foi feito o eritograma para se estudar as seguintes variáveis: leucócitos total (as frações jovem e maduro), linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos.

Todos os procedimentos aqui descritos (para a coleta de sangue) foram realizados nos vestiários dos estádios designados para arbitragem durante partidas oficiais do Campeonato Paranaense de Futebol.

Os resultados estão apresentados como média e seu respectivo desvio padrão e foram submetidos ao teste “t” de Student, pareado, com significância para $p < 0,05$.

Como limitação do trabalho, se destacam as coletas invasivas realizadas antes de cada jogos oficial, alguns árbitros assistentes não permitiam a retirada da amostra de sangue, alegando desconforto, não gostavam de agulhas ou que tal procedimento prejudicavam sua concentração. Em alguns estádios também alguns árbitros ou dirigentes não se permitiam a entrada de pessoas estranhas ao vestiário designado a equipe de arbitragem, isto contribuiu para que a amostra aqui apresentada fosse reduzida. Contudo, a

metodologia aplicada não deixa dúvidas nos resultados aqui apresentados.

Resultados

A contagem de células sanguíneas obtidas dos árbitros pré e pós-partida de futebol estão apresentadas nas tabelas 1 e 2. O número de leucócitos total aumentou de 37,3% após a partida, incremento

estatisticamente significativo (tabela 2). Esta alteração no número de células foi decorrente principalmente do acréscimo da população de neutrófilos segmentados (maturados) e neutrófilos bastonados (jovens), ambos os aumentos extremamente significativos (tabela 2). No entanto, não houve mudanças significativas nas contagens de linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos ($p > 0,05$).

Tabela 1. Contagem de células imunitárias sanguíneas obtidas de árbitros assistentes antes da partida de futebol

Leucócitos Total	Neutrófilos Maduros	Neutrófilos Jovens	Linfócitos	Eosinófilos	Monócitos
5740±695	3397±1139	142,4±74,85	1968±475,5	185,8±74,2	130,6±97,04

Tabela 2. Contagem de células imunitárias sanguíneas obtidas de árbitros assistentes após a partida de futebol

Leucócitos total	Neutrófilos Maduros	Neutrófilos Jovens	Linfócitos	Eosinófilos	Monócitos
7740±1734*	5386±1417*	342,8±177,8*	1539±264,1	197,0±109,8	107,0±36,0

*Diferença estatisticamente significativa. Os valores correspondem a céls./mm³

Discussão

Como observado na tabela 2 os neutrófilos são as células sanguíneas que apresentaram maior modificação em seu número decorrente dos efeitos da sobrecarga fisiológica a qual o árbitro assistente é submetido durante a partida de futebol, o que corrobora os resultados obtidos por outros trabalhos, nos quais o foco foi centrado nos jogadores²².

Os jogadores de futebol percorrem uma distância entre 9 a 12km durante a partida^{23,28}. O árbitro de futebol percorrer distância semelhante a dos jogadores, ou seja, de 9 a 12km no transcorrer do jogo¹⁹. Mesmo o árbitro assistente apresentando desgaste físico menor durante a partida, quando comparado ao árbitro ou aos jogadores, pois seu deslocamento é em média 7 km durante o jogo¹¹²⁰, ele apresentou alterações significativas no número de leucócitos totais e nas frações (tabela 2), tal como ocorre nos jogadores profissionais.

Conclusões provindas de estudos anteriores sugerem que, em resposta a uma sessão de exercício, o número de neutrófilos circulantes aumenta uniformemente enquanto o aumento no número de linfócitos pode variar de acordo com o protocolo de exercício utilizado^{15,21,25}. Estas observações também

foram corroboradas. Neste estudo, pois a contagem de linfócitos totais não apresentou alteração ao estado pré-partida (tabela 1 e 2). Este resultado pode ser decorrente do método de treinamento utilizado pelos assistentes, bem como de seu estado de preparação física.

Sessões agudas de exercícios têm sido demonstradas modificar a densidade de moléculas sinalizadoras na superfície das células em circulação³¹. Em adição, o aumento na densidade de receptores nos leucócitos circulantes sugere aumento na capacidade de adesão e sinalização quando compara-se indivíduos treinados e não treinados¹⁶. Interações entre moléculas de adesão de superfície celular de leucócitos e seus ligantes em células vasculares endoteliais regulam a migração para dentro e fora da circulação¹. Pedersen²⁵ sugere que o cortisol é parcialmente responsável pela manutenção da linfopenia e neutrocitose depois do exercício. Completando esta idéia, Mackinnon²¹ afirma que o cortisol pode ter sua ação sobre essas células mediada pela influência na capacidade de adesão. Malm *et al.*²² demonstraram que após duas partidas de futebol consecutivas, permaneceram na circulação sanguínea células imunitárias com baixa densidade de moléculas de

adesão. A sinalização gerada pela adesão pode influenciar regulação do ciclo celular, organização do ciclo esquelético, receptores de fatores de crescimento e quinases citoplasmáticas¹⁷. Malm *et al.*²² sugerem que as mudanças na expressão de moléculas sinalizadoras ou de adesão têm como propósito a adaptação ao exercício, no intuito de melhorar a regulação entre as células circulantes e outros tipos celulares como endoteliais e musculares esqueléticas via sinalização por adesão. No entanto, não foi realizado no presente estudo, a dosagem do cortisol sérico para uma possível observação de correlação entre a concentração deste hormônio e as mudanças nas contagens celulares.

Jogadores de futebol com maior capacidade aeróbica experimentaram menores mudanças nas moléculas de adesão celular após duas partidas consecutivas²². Em um estudo envolvendo jogadores da categoria adulta do futebol profissional paranaense foi observado vo_2 máx. Médio de $52,5 \pm 7,49 \text{ ml.kg}^{-1}\text{min}^{-1}$ ³⁰. No entanto, em outro estudo³ desenvolvido em São Paulo, os jogadores profissionais, apresentaram vo_2 máx de $56,2 \pm 6,23 \text{ ml.kg}^{-1}\text{min}^{-1}$. Sendo que, durante um teste de espirometria os árbitros apresentaram vo_2 máx de $52,8 \pm 6,82 \text{ ml.kg}^{-1}\text{min}^{-1}$ ¹⁸. Estas similaridades, digo, entre o deslocamento durante a partida e a capacidade cardiovascular dos árbitros versus os jogadores de futebol, corrobora para que as alterações no sistema imunitário sejam em ambos muito semelhantes. O estado fisiológico e imunitário do atleta antes do exercício físico, parcialmente determina à magnitude de algumas das mudanças induzidas pelo exercício. Possivelmente a mesma afirmação possa ser referida aos árbitros de futebol, após a realização de novos estudos. Se forem confirmadas essas colocações, a capacidade física do indivíduo poderá ser predita pela resposta apresentada pela contagem de células sanguíneas após exposição ao exercício, servindo de parâmetro para caracterização da carga de treinamento e da intensidade da atividade competitiva, ou seja, da sobrecarga fisiológica que é submetido o indivíduo durante a competição.

Conclusões

Em resumo, os parâmetros imunitários estudados dos árbitros assistentes mostraram mudanças na contagem leucocitária, condizentes com o padrão apresentado por indivíduos treinados. Foram observados aumentos significativos apenas na contagem de leucócitos totais e nas populações de neutrófilos. Em adição, sugerimos a aplicação da análise nas mudanças da contagem de células imunitárias sanguíneas no monitoramento de respostas ao treinamento, porém a padronização de resultados da literatura, adequação ao tipo de atividade assim como avaliação de respostas individuais se faz necessária.

Referências

1. Abbas AK. **Cellular and Molecular Immunology**. W.B. Saunders Company; Philadelphia, 2000.
2. Baldo MVC, Ranvaud RD, Morya E. Flag errors in soccer games: the flash-lag effect brought to real life. **Perception** 2002;31:1205-1210.
3. Barros TL, Lotufo RF, Mine F. Consumo máximo de oxigênio em jogadores de futebol. **Revista Treinamento Desportivo** 1996;1(1):24-26.
4. Benestad HB, Laerum OD. The neutrophilic granulocyte. **Curr Top Pathol** 1989;79:7-36.
5. Da Silva AI. **Bases científicas e metodológicas para o treinamento do árbitro de futebol**. Curitiba, Imprensa da UFPR. 2005.
6. Da Silva AI, Fernández R. Dehydration of football referees during a match. **Br J Sports Med** 2003;37:502-506.
7. Da Silva AI, Frausino NMS. Análise dos comentários da imprensa em relação ao árbitro de futebol. Buenos Aires. **Lecturas Educación Física y deportes** 2005;10(84):15-26.
8. Da Silva AI, Rodriguez-Añez CR. Frequência cardíaca e a intensidade da atividade física do árbitro assistente durante a partida de futebol. **Rev Edu Fís /UEM** 2003;14(1):53-57.
9. Da Silva AI, Romero EF. Preparación física del árbitro de fútbol utilizando ejercicios de atletismo. **Rev. Ciências do movimento humano** 2004;5(1):32-39.
10. Da Silva AI, Rodriguez-Añez CR. Dispendio energético do árbitro de do árbitro assistente de futebol. **Rev Edu Fís /UEM** 2001;12(2):113-118.
11. Da Silva AI, Rodriguez-Añez CR. Ações motoras do árbitro assistente de futebol durante a partida. **Rev Bras Cie e Mov** 2002; 10(1):29-34.
12. Da Silva AI, Rodriguez-Añez CR. Níveis de aptidão física e perfil antropométrico dos árbitros de elite do

- Paraná credenciados pela Confederação Brasileira de Futebol (CBF). **Rev Port Ci Desp** 2003;3(3):18-26.
13. D'ottavio S, Castagna C. Analysis of match activities in elite soccer referees during actual match play. **J Strength Cond Res** 2001;15(2):167-171.
14. Ekblom B. **Football (Soccer)**. Blackwell Scientific Publications, London-England, 1994.
15. Gabriel H, Rothe G, Korpys M, Schmitz G, Kindermann W. Enhanced expression of HLA-DR, Fc gamma receptor 1 (CD64) and leukocyte common antigen (CD45) indicate activation of monocytes in regenerative training periods of endurance athletes. **J Sports Med** 1997;18:136-141.
16. Gabriel H, Kindermann W. The acute immune response to exercise: what does it mean? **J Sports Med** 1997;18(Suppl. 1):S28-S45.
17. Giancotti FG, Ruoslahti E. Integrin signaling. **Science** 1999;285:1028-1032.
18. Jagels MA, Chambers JD, Arfors K E, Hugli TE. C5a and tumor necrosis factor-alpha-induced leukocytosis occurs independently of beta 2 integrins and L-selectin: differential effects on neutrophil adhesion molecule expression in vivo. **Blood** 1995;85:2900-2909
19. Krstrup P, Bangsbo J. Physiological demands of top-class soccer refereeing in relation to physical capacity: effect of intense intermittent exercise training. **J Sports Sci** 2001;19:881-891.
20. Krstrup P, Bangsbo J. Activity profile and physiological demands of top-class soccer assistant refereeing in relation in relation to training status. **J Sports Sci** 2002;20:861-871.
21. Mackinnon LT. **Advances in Exercise Immunology**. Human Kinetics, Champaign - IL, EUA. 1999
22. Malm C, Ekblom O, Ekblom B. Immune system alteration in response to two consecutive soccer games. **Acta Physiol Scand** 2004;180:143-155.
23. Mohr M, Krstrup P, Bangsbo J. Match performance of high-standard soccer players with special reference to development of fatigue. **J Sports Sci** 2003;19:881-891.
24. Opendakker G, Fibbe WE, Van Damme J. The molecular basis of leukocytosis. **Immunol Today** 1998;19:182-189.
25. Pedersen BK. **Exercise Immunology**, R. G. Landes Company, Austin-TX, EUA. 1997.
26. Pedersen BK, Rohde T, Ostrowski K. Recovery of the immune system after exercise. **Acta Physiol Scand**. 1998;162:325-332.
27. Pedersen BK. Influence of physical activity on the cellular immune system: Mechanisms of action. **J Sports Med** 1991;23-29.
28. Rienzi E, Drust B, Rielly T, Carter JEL, Martins A. Investigation of anthropometric and work-rate profiles of elite South American international soccer players. **J Sports Med Phys Fitness** 1998;40:162-169.
29. Risøy BA, Raastad T, Hallén J, Lappegård KT, Bæverfjord K, Kravdal A *et al*. Delayed leukocytosis after hard strength and endurance exercise: Aspects of regulatory mechanisms. **BMC Physiol** 2003;3(14):1-12.
30. Silva SG, Pereira JL, Kaiss L, Kulaitis A, Silva M. Diferenças antropométricas e metabólicas entre jogadores de futebol. **Treinamento Desportivo** 1997;2(3):35-39.
31. Shephard RJ, Gannon G, Hay JB, Shek PN. Adhesion molecule expression in acute and chronic exercise. **Crit Rev Immunol** 2000;20:245-266.
32. Suzuki K, Totsuka M, Nakaji S, Yamada M, Kudoh S, Liu Q *et al*. Endurance exercise causes interaction among stress hormones, cytokines, neutrophil dynamics, and muscle damage. **J Appl Physiol** 1999;87:1360-1367.