



# Efeitos do aumento na sobrecarga de treinamento sobre parâmetros bioquímicos e hormonais em ratos\*

Ronaldo Vagner Thomatieli Santos, Érico Chagas Caperuto e Luis Fernando Bicudo Pereira Costa Rosa<sup>1</sup>

## RESUMO

Para o treinamento ser bem sucedido deve ser suficientemente intenso para provocar a quebra da homeostase, a adaptação e, por fim, a supercompensação. Todavia, condições de estresse excessivo induzido pelo exercício físico podem provocar efeitos indesejáveis. Este trabalho tem como objetivo avaliar se o aumento na sobrecarga de treinamento altera parâmetros hormonais e bioquímicos similares ao *overreaching*. Os animais foram divididos em três grupos: SED (animais sedentários), MOD (animais que treinaram de forma moderada durante seis semanas) e grupo EXT (que treinaram de forma semelhante ao grupo MOD por quatro semanas, duas sessões diárias de treinamento na quinta semana e três sessões na sexta semana). Houve aumento da concentração plasmática de glutamato no grupo EXT ( $p < 0,05$ ) em relação ao SED e da relação GLN/GLU em relação aos animais dos grupos SED e MOD ( $p < 0,05$ ). Além disso, o grupo MOD apresentou aumento de glicogênio no músculo sóleo e fígado e de GH, enquanto a testosterona foi menor do que no grupo SED ( $p < 0,05$ ). O grupo EXT apresentou comportamento semelhante ao grupo MOD com relação ao glicogênio hepático e muscular e a testosterona. Quanto ao GH, o grupo EXT apresentou concentração menor do que o grupo MOD ( $p < 0,05$ ) e aumento de uréia ( $p < 0,05$ ) em relação aos animais sedentários. Assim, concluímos que o protocolo do grupo EXT não foi capaz de induzir sinais de *overreaching* nos animais.

## ABSTRACT

### Effects of increase of overload training on biochemical and hormonal parameters in rats

The training will be efficient if it is intensive enough to promote homeostasis break, adaptation and super compensation consequently. On the other hand, excessive stress conditions induced by exercise may promote undesirable effects. This paper aims to evaluate the effects of the increase in overload training upon some hormonal and biochemical parameters similar to *overreaching*. The animals were divided in three groups: SED (sedentary animals), MOD (moderate training during six weeks) and EXT (similar training to MOD for four weeks and increase to two and three daily training sessions in the 5<sup>th</sup> and 6<sup>th</sup> weeks, respectively). There was an increase in glutamate in EXT group ( $p < 0.05$ ) in relation to SED and in GLN/GLU ratio in relation to SED and MOD groups ( $p < 0.05$ ). Moreover, the MOD group presented increase in soleum muscle and liver glycogen and GH plasmatic concentration ( $p <$

**Palavras-chave:** Glutamina. Overtraining. Overreaching. Ratos. Supercompensação. Estresse.

**Keywords:** Glutamine. Overtraining. Super compensation. Rats and stress.

**Palabras-clave:** Glutamina. Overtraining. Overreaching. Ratonos. Supercompensación. Estrés.

0.05), whereas a testosterone decrease was found ( $p < 0.05$ ) in relation to SED. The EXT group showed similar changes to MOD as to muscle and liver glycogen. The GH concentration in EXT group was smaller than in the MOD group ( $p < 0.05$ ) and urea increased ( $p < 0.05$ ) in relation to SED. Thus, we came to the conclusion that the EXT group protocol was not able to induce signs of *overreaching* in the animals.

## RESUMEN

### Efectos del aumento de sobrecarga de entrenamiento sobre parámetros bioquímicos y hormonales en ratones

Para que el entrenamiento tenga éxito, éste debe ser lo suficientemente intenso para provocar la quebra de homeostasis, la adaptación y por fin la supercompensación. Sin embargo, condiciones de estrés excesivo inducidos por el ejercicio físico pueden provocar efectos indeseables. Este trabajo tiene como objetivo evaluar si el aumento en la sobrecarga de entrenamiento altera parámetros hormonales y bioquímicos similares al *overreaching*. Los animales fueron divididos en tres grupos: SED (animales sedentarios), MOD (animales que entrenaron de forma moderada durante 6 semanas) y EXT (que entrenaron de forma semejante al grupo MOD por 4 semanas, 2 sesiones diarias de entrenamiento en la quinta semana y 3 sesiones la sexta semana). Hubo aumento en la concentración plasmática de glutamato en el grupo EXT ( $p < 0,05$ ) con relación al grupo SED y del cociente GLN/GLU respecto a los animales de los grupos SED y MOD ( $p < 0,05$ ). Además, el grupo MOD presentó aumento de glicógeno en el músculo sóleo e hígado y de GH, mientras que la testosterona fue menor que en el grupo SED ( $p < 0,05$ ). El grupo EXT presentó comportamiento semejante al grupo MOD respecto al glicógeno hepático y muscular y a la testosterona. Con relación al GH, el grupo EXT presentó una concentración menor que el grupo MOD ( $p < 0,05$ ) y un aumento de urea ( $p < 0,05$ ) en los animales sedentarios. Así, concluimos que el protocolo del grupo EXT no fue capaz de inducir señales de *overreaching* en los animales.

## INTRODUÇÃO

Para que o treinamento surta o efeito desejado, as sessões de treino devem ser suficientemente intensas para promover a quebra da homeostase celular e, conseqüentemente, a adaptação e a melhora da *performance*<sup>(1,2)</sup>. Dessa forma, o exercício pode ser considerado um excelente modelo para o estudo das respostas do organismo aos eventos estressantes, assim como da capacidade de seres humanos se adaptarem ao estresse<sup>(2)</sup>.

Quando há um sincronismo adequado entre a intensidade e o volume de treinamento com o tempo para o descanso, ocorre uma

\* Laboratório de Metabolismo – Instituto de Ciências Biomédicas/Universidade de São Paulo.

1. *In memoriam*.

Recebido em 17/8/05. Versão final recebida em 16/11/05. Aceito em 17/11/05.

**Endereço para correspondência:** Ronaldo V.T. Santos, Centro de Estudos em Psicobiologia e Exercício (CEPE), Universidade Federal de São Paulo (Unifesp), Rua Marselhesa, 535 – 04022-060 – São Paulo, SP, Brasil. E-mail: rvca@usp.br

situação propícia para a adaptação e, conseqüentemente, a supercompensação. Todavia, quando o agente estressante for excessivo e/ou a recuperação insuficiente, efeitos indesejados podem surgir<sup>(3,6)</sup>. Se o tempo de descanso não é apropriado, a capacidade de se adaptar pode diminuir, impedindo que o indivíduo responda de forma apropriada ao treinamento em função do estresse excessivo, que pode culminar com uma inexplicável diminuição da *performance* conhecida como *overreaching* se for transitório ou *overtraining* se for crônico<sup>(4)</sup>.

Existem várias hipóteses para tentar explicar o surgimento dessa condição de estresse excessivo e diminuição na *performance*<sup>(4,5,7,8)</sup>. Entretanto, a grande variação individual nos parâmetros estudados dificulta o diagnóstico precoce e o entendimento de mecanismos envolvidos na progressão dessa síndrome<sup>(8)</sup>.

Dentre as alterações que são observadas nessas condições, podem se destacar as alterações neuroendócrinas, imunológicas, bioquímicas e psicológicas<sup>(2,4,8,9)</sup>. As alterações neuroendócrinas que mais se destacam são aquelas relacionadas à menor atividade dos eixos hipotálamo-hipófise-glândulas alvo, que está no centro da dificuldade de responder ao estresse e se adaptar ao exercício<sup>(1,2,4,5,9)</sup>, enquanto que as alterações bioquímicas e metabólicas freqüentemente observadas são, dentre outras, a diminuição nos estoques de glicogênio<sup>(3)</sup>, alterações no metabolismo de aminoácidos, principalmente no músculo esquelético<sup>(3,8)</sup>, e aumento da incidência de lesão celular em função do treinamento excessivo<sup>(5)</sup>.

Em seres humanos, duas semanas de treinamento extenuante têm sido suficientes para indução de *overreaching* e o aparecimento dos primeiros sinais da síndrome<sup>(3,4,8,9)</sup>. Todavia, o estudo sobre os efeitos do treinamento excessivo em seres humanos é difícil de ser realizado, já que, por questões éticas, não é permitido submeter seres humanos a um período prolongado de treinamento extenuante, assim como realizar investigações por meio de técnicas invasivas, tais como biópsia muscular e hepática. Dessa forma, o estudo dos efeitos do exercício extenuante em modelo animal pode ser de grande valia no entendimento dos mecanismos envolvidos no surgimento do *overreaching* e do *overtraining*, assim como na capacidade do organismo responder e se adaptar ao estresse.

Assim, este estudo teve como objetivo avaliar se um protocolo de aumento acentuado no volume de treinamento, impondo excessivo estresse aos animais, é capaz de induzir sinais de *overreaching* em ratos.

## MÉTODOS

**Animais:** Foram utilizados ratos Wistar machos pesando 150-200g no início do experimento. Os animais foram obtidos a partir do Biotério Central do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo. Todos os procedimentos ao longo do estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal do Instituto, segundo normas do Colégio Brasileiro para Experimentação Animal. Os animais foram mantidos em sala com ciclo claro/escuro de 12:12 horas, com início do período claro às 7:00, temperatura controlada em  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  e umidade relativa do ar constante em  $60 \pm 5\%$ . Todos os animais foram mantidos em gaiolas coletivas contendo cinco animais e tiveram água e ração *ad libitum*.

**Grupos experimentais:** Os animais foram divididos em três grupos: SED, que não foi submetido a qualquer tipo de treinamento ( $n = 10$ ); MOD: cujos animais treinaram 60 minutos por dia, cinco dias por semana durante seis semanas ( $n = 10$ ); EXT ( $n = 10$ ), que treinaram de forma similar ao grupo MOD por quatro semanas. Na quinta semana passaram a treinar duas sessões de 60 minutos cada separadas por cinco horas e, na sexta semana, treinaram três sessões de 60 minutos intercaladas por duas horas e meia de descanso entre elas.

**Treinamento:** Os animais foram submetidos ao treinamento de natação. Após a primeira semana de treinamento, que teve

como objetivo a adaptação ao meio líquido, os animais treinaram com sobrecarga extra equivalente a 5,5% do peso corporal de cada um preso à cauda, garantindo assim a sobrecarga predominantemente aeróbia<sup>(10)</sup>. A fim de reajuste das sobrecargas ao longo do estudo, os animais foram pesados semanalmente. O treinamento foi realizado em um sistema de natação individual, com fluxo constante de água, cuja temperatura foi mantida em  $31 \pm 1^\circ\text{C}$ .

**Sacrifício e extração da amostra:** Vinte e quatro horas após a última sessão de treinamento e seis horas de jejum, os animais foram sacrificados por decapitação para retirada do sangue, dos músculos sóleo e gastrocnêmio e do fígado para posterior dosagem.

Após sacrifício, o sangue foi colocado em tubos contendo heparina de sódio ( $125\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$ ) e mantidos no gelo até a centrifugação. O sangue foi então centrifugado a  $690 \times g$  por 15 minutos e, a  $4^\circ\text{C}$ , o plasma foi coletado e armazenado em freezer a  $-80^\circ\text{C}$  até a realização das dosagens.

Os músculos sóleo e gastrocnêmio foram retirados imediatamente após o sacrifício, pesados e homogeneizados em PBS ( $1:9 \text{ p}\cdot\text{v}^{-1}$ ). Na seqüência, os homogeneizados foram centrifugados durante cinco minutos a  $5000 \times g$  e a  $4^\circ\text{C}$  e estocados em freezer a  $-80^\circ\text{C}$ , para dosagem posterior.

## Determinações bioquímicas e hormonais

**Glutamina:** Foi determinada enzimaticamente segundo método descrito por Windmueller e Spaeth<sup>(11)</sup> em um meio contendo  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (50mM), glicerol 50%, NADH (4mM), BSA 10%, GDH ( $5\text{U}\cdot\text{ml}^{-1}$ ),  $\alpha$ -cetoglutarato (4,0M) e asparaginase ( $5,0\text{U}\cdot\text{ml}^{-1}$ ), pH 8,0.

**Glutamato:** Foi determinado enzimaticamente em um meio contendo glicina (300mM), hidrato de hidrazina (250mM), ADP (1mM), NAD (1,6mM) and GDH ( $4,5\text{U}\cdot\text{ml}^{-1}$ ), pH 9,0, de acordo com método descrito por Bernt e Bergmeyer<sup>(12)</sup>.

**Glicose:** Determinada colorimetricamente usando *kit* comercial da Sigma em um meio contendo NAD (1,5mM), ATP (1mM), hexokinase ( $1\text{U}\cdot\text{ml}^{-1}$ ), glicose-6-fosfato desidrogenase ( $1\text{U}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) e azida sódica (0,05%).

**Lactato:** Foi realizado enzimaticamente em um meio contendo glicina (0,55mM), EDTA (11,3mM), hidrato de hidrazina (0,7mM), NAD (0,43mM) e lactato desidrogenase ( $100\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) em pH 9,0, de acordo com o método descrito por Engle e Jones<sup>(13)</sup>.

**Uréia:** Determinada colorimetricamente usando *kit* comercial da Bioclin cujo meio continha tampão fosfato (100mM) pH 7,5, nitroprussiato de sódio (10mM), salicilato de sódio (60mM), NaOH (1,5M), hipoclorito de sódio (10mM) e urease ( $10.000\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$ ).

**Creatina kinase:** A atividade máxima da CK foi determinada enzimaticamente através de *kit* comercial da Bioclin cujo meio foi formado por glicose-6-fosfato, creatina fosfato (30mM); ADP (2mM); AMP (5mM); diadenosina pentafofato (10mM); acetato de imidazol (pH 6,7) (100mM); glicose (20mM); EDTA (2mM); NADP+ (2mM); hexoquinase ( $3500\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$ ), acetato de magnésio (10mM) e N-acetilcisteína (20mM).

**Glicogênio muscular e hepático:** O glicogênio nos músculos sóleo e gastrocnêmio e hepático foi extraído em KOH (30%) após uma hora em banho fervente. O precipitado foi então lavado com etanol (70%) e centrifugado por 20 minutos a  $243 \times g$  como descrito por Sjörgreen *et al.*<sup>(14)</sup>. Na seqüência, o conteúdo de glicogênio foi determinado em meio contendo ácido sulfúrico e antrona segundo Hassid e Abrahams<sup>(15)</sup>.

**Hormônios:** As concentrações de insulina, testosterona e GH foram determinadas por radioimunoensaio com *kits* comerciais da DPC (Coat-a-coat, DPC, Brazil).

**Análise estatística:** Todos os resultados estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Para análise estatística foi utilizada análise de variância de duas vias seguida por pós-teste de Tukey com nível de significância de  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

Em nosso estudo, avaliamos a concentração plasmática de diversos parâmetros bioquímicos e hormonais, além da concentração muscular e hepática de glicogênio. Na tabela 1 observamos a concentração plasmática de glutamina e glutamato, assim como a relação entre esses dois aminoácidos. Não houve diferença na concentração plasmática de glutamina entre os três grupos, enquanto a concentração de glutamato foi significativamente maior no grupo EXT ( $504,12 \pm 26,12 \text{ nmol}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) em relação aos grupos SED ( $293,43 \pm 50,19 \text{ nmol}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) e MOD ( $370,23 \pm 23,8 \text{ nmol}\cdot\text{ml}^{-1}$ ). Essa alteração se refletiu sobre relação GLN/GLU, uma vez que não houve diferença entre os grupos SED e MOD; porém, no grupo EXT ( $1,71 \pm 0,11$ ) essa relação foi significativamente menor que nos grupos SED e MOD ( $3,38 \pm 0,34$  e  $2,89 \pm 0,49$ , respectivamente).

TABELA 1

Concentração plasmática de glutamina e glutamato (valores expressos em  $\text{nmol}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) e da relação glutamina/glutamato (GLN/GLU) nos grupos sedentário (SED), moderado (MOD) e extenuante (EXT)

	SED	MOD	EXT
Glutamina	$993,21 \pm 172,01$	$1.072,01 \pm 98,82$	$900,40 \pm 31,76$
Glutamato	$293,43 \pm 50,19$	$370,23 \pm 23,8$	$504,12 \pm 26,12^*$
GLN/GLU	$3,38 \pm 0,34$	$2,89 \pm 0,49$	$1,71 \pm 0,11^{*#}$

\* diferente em relação ao grupo SED,  $p < 0,05$ ; # diferente em relação ao grupo MOD,  $p < 0,05$ .

Avaliamos, também, a concentração plasmática de insulina, testosterona e GH. A concentração plasmática de insulina foi significativamente menor no grupo MOD ( $22,67 \pm 1,26 \mu\text{UI}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) em relação ao grupo SED ( $55,53 \pm 10,5 \mu\text{UI}\cdot\text{ml}^{-1}$ ). De forma semelhante, no grupo EXT ( $37,92 \pm 7,52 \mu\text{UI}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) houve ligeira diminuição da concentração desse hormônio em relação aos animais sedentários. Não houve diferença entre os grupos MOD e EXT (tabela 2). Como a concentração de insulina, a concentração plasmática de testosterona foi significativamente menor nos grupos MOD ( $4,00 \pm 0,63 \text{ ng}\cdot\text{dl}^{-1}$ ) e EXT ( $2,41 \pm 0,45 \text{ ng}\cdot\text{dl}^{-1}$ ) em relação aos animais do grupo SED ( $7,63 \pm 1,07 \text{ ng}\cdot\text{dl}^{-1}$ ). Não houve, todavia, diferença entre os grupos treinados. Além disso, na tabela 2 está demonstrada a concentração plasmática de GH. Observamos que houve significativo aumento de GH no grupo MOD ( $5,42 \pm 0,84 \text{ ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) em relação ao grupo SED ( $2,01 \pm 0,48 \text{ ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ ). Ao contrário do observado para o grupo MOD, no grupo EXT ( $1,31 \pm 0,10 \text{ ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) a concentração plasmática de GH foi significativamente menor em relação ao grupo MOD e não houve diferença entre os grupos EXT e SED (tabela 2).

TABELA 2

Concentração plasmática de insulina ( $\mu\text{UI}\cdot\text{ml}^{-1}$ ), testosterona ( $\text{ng}\cdot\text{dl}^{-1}$ ) e GH ( $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) nos grupos sedentário (SED), moderado (MOD) e extenuante (EXT)

	SED	MOD	EXT
Insulina	$55,5 \pm 10,5$	$22,67 \pm 1,26^*$	$37,92 \pm 7,54$
Testosterona	$7,63 \pm 1,07$	$4,00 \pm 0,63^*$	$2,41 \pm 0,45^*$
GH	$2,01 \pm 0,48$	$5,42 \pm 0,84^*$	$1,31 \pm 0,10^{\#}$

\* diferente em relação ao grupo SED,  $p < 0,05$ ; # diferente em relação ao grupo MOD,  $p < 0,05$ .

Na tabela 3 estão demonstrados os resultados para as concentrações plasmáticas de glicose, lactato, uréia e CK. Não houve diferença entre os grupos com relação às concentrações de glicose, lactato e CK. Por outro lado, a concentração de uréia foi significativamente maior no grupo EXT ( $65,01 \pm 6,21 \text{ mg}\cdot\text{dl}^{-1}$ ) em relação ao grupo SED ( $52,33 \pm 3,28 \text{ mg}\cdot\text{dl}^{-1}$ ), não havendo diferença, todavia, entre os grupos treinados.

TABELA 3

Concentração plasmática glicose ( $\text{mg}\cdot\text{dl}^{-1}$ ), lactato ( $\text{nmol}\cdot\text{ml}^{-1}$ ), CK ( $\text{U}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) e uréia ( $\text{mg}\cdot\text{dl}^{-1}$ ) nos grupos sedentário (SED), moderado (MOD) e extenuante (EXT)

	SED	MOD	EXT
Glicose	$99,88 \pm 15,65$	$112,42 \pm 18,33$	$118,70 \pm 3,15$
Lactato	$1,25 \pm 0,10$	$1,41 \pm 0,96$	$1,32 \pm 0,09$
CK	$1281,7 \pm 170,21$	$1113,93 \pm 160,06$	$907,17 \pm 152,50$
Uréia	$52,33 \pm 3,28$	$57,99 \pm 5,04$	$65,01 \pm 6,21^*$

\* diferente em relação ao grupo SED,  $p < 0,05$ .

Por fim, os protocolos de treinamento não promoveram alteração na concentração muscular de glicogênio, tanto no músculo sóleo como no gastrocnêmio; todavia no fígado encontramos significativo aumento de glicogênio no grupo MOD em relação aos animais sedentários, como demonstrado na tabela 4.

TABELA 4

Concentração hepática e no músculo sóleo e gastrocnêmio de glicogênio (valores expressos em  $\text{mg}\cdot 100 \text{ mg tecido}^{-1}$ ) nos grupos sedentário (SED), moderado (MOD) e extenuante (EXT)

	SED	MOD	EXT
Sóleo	$11,79 \pm 1,53$	$17,3 \pm 3,95^*$	$15,4 \pm 4,01^*$
Gastrocnêmio	$5,39 \pm 1,49$	$4,37 \pm 1,13$	$3,48 \pm 0,65$
Fígado	$0,97 \pm 0,3$	$2,83 \pm 0,52^*$	$2,07 \pm 0,31^*$

\* diferente em relação ao grupo SED,  $p < 0,05$ .

## DISCUSSÃO

A diminuição da *performance* provocada pelo estresse excessivo do treinamento é um problema enfrentado pela maioria dos atletas de alto nível em todas as partes do mundo. Cerca de 40% dos atletas de esportes coletivos e cerca de 70% dos de esportes individuais sofrem de *overreaching/overtraining* pelo menos uma vez ao longo da carreira<sup>(16)</sup>.

Os mecanismos que explicam o surgimento do *overreaching* são diversos, dependendo da relação entre a sobrecarga de treino, com o tempo inapropriado para o descanso e o acréscimo de problemas de ordem social e psicológica sobre o atleta. Por se tratar de uma síndrome, diversos sinais e sintomas devem estar presentes simultaneamente para poder classificar o atleta sofrendo de *overreaching*<sup>(8,17)</sup>.

Os mecanismos envolvidos no desenvolvimento dessa situação são: desequilíbrio de aminoácidos, desequilíbrio simpático/parassimpático, diminuição de glicogênio e desequilíbrio neuroendócrino<sup>(8)</sup>. Entretanto, a grande variação individual dos resultados em testes laboratoriais dificulta o diagnóstico precoce e o entendimento preciso dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos na síndrome. Dessa forma, diante da necessidade de estudos mais aprofundados para o entendimento dos mecanismos desencadeadores do *overreaching*, o estudo com animais poderia trazer inúmeros avanços.

Em nosso estudo submetemos os animais do grupo MOD ao treinamento moderado por seis semanas, enquanto os animais do grupo EXT sofreram acentuado aumento na sobrecarga de treino nas duas últimas semanas em uma tentativa de indução do *overreaching*.

Diversos estudos recentes têm mostrado que as concentrações plasmáticas de glutamina e de glutamato podem ser usadas como marcadoras de *overreaching* e *overtraining*<sup>(18-20)</sup>. Em nosso estudo encontramos significativo aumento da concentração plasmática de glutamato no grupo EXT, demonstrando que esse parâmetro se mostra sensível ao aumento da sobrecarga de treinamento, influenciando diretamente a relação GLN/GLU.

Várias hipóteses podem ser usadas para explicar o aumento da concentração plasmática de glutamato. Rowbottom *et al.*<sup>(18)</sup> sugerem um comprometimento das mitocôndrias das células musculares associado à lesão celular, provocado pelo aumento no volume de treinamento como sendo responsável pelo impedimento da síntese de glutamina, o que poderia, portanto, acarretar o acúmulo de glutamato. Todavia, essa hipótese não pode ser usada em nosso estudo, uma vez que não houve aumento da atividade da enzima CK, que indicaria maior índice de lesão. Além disso, observamos aumento da concentração de glicogênio no músculo sóleo e manutenção no músculo gastrocnêmio, que são alterações clássicas em função do treinamento juntamente com o aumento de glicogênio hepático de forma similar, demonstrando a integridade do músculo esquelético nos grupos MOD e EXT.

Santos<sup>(19)</sup> demonstrou que o aumento na sobrecarga de treinamento diminui a síntese de glutamina pelo impedimento parcial da atividade da enzima glutamina-sintetase como sugerido por Smith e Norris<sup>(20)</sup> e Hischock e Pedersen<sup>(21)</sup>, favorecendo, portanto, o acúmulo de glutamato, justificando o resultado encontrado em nosso estudo. Além disso, não pode ser esquecido que o treinamento com elevada sobrecarga pode ter aumentado o catabolismo protéico que, por sua vez, aumentaria a concentração plasmática de glutamato proveniente dos aminoácidos de cadeia ramificada (BCAA), notadamente a leucina<sup>(22)</sup>. Como consequência, poderíamos ter aumento da concentração plasmática de amônia, que no fígado pode ser transformada em uréia pelo ciclo da uréia<sup>(23-25)</sup>. Essa hipótese confirma nossos resultados para o grupo EXT, que apresentou significativo aumento de uréia, sugerindo que o aumento no volume de treinamento pode promover acúmulo de glutamato pelo impedimento parcial da síntese de glutamina, assim como pelo maior catabolismo protéico em função do desequilíbrio entre treinamento e recuperação.

Diversos hormônios têm suas concentrações avaliadas em atletas sofrendo de *overtraining* e em condições de estresse crônico e excessivo<sup>(4,26)</sup>. A concentração plasmática de testosterona tem-se mostrado sensível ao aumento no volume de treinamento, pois o treinamento extenuante tem sido associado à diminuição da sua concentração<sup>(25,27)</sup>. Corredores de maratona, assim como atletas em *overtraining*, podem apresentar menor concentração plasmática de testosterona, de modo que esse hormônio pode estar associado ao estresse agudo do exercício ou à fadiga provocada pelo exercício<sup>(25,27)</sup>. Dessa forma, nossos resultados confirmam estudos anteriores, uma vez que a diminuição de testosterona encontrada foi proporcional à sobrecarga de treinamento. Assim como o estresse crônico e o *overtraining* podem promover menor ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, levando a diminuição da liberação de cortisol<sup>(1,2,5,19)</sup>, nosso resultado sugere que o aumento no volume de treinamento pode prejudicar o eixo hipotálamo-hipófise-gônadas, podendo de alguma forma estar associado à piora da função reprodutiva, tanto em homens como em mulheres, relatada nessas situações<sup>(9)</sup>.

Com relação à insulina, observamos que o grupo treinado moderadamente (MOD) apresentou menor concentração desse hormônio em relação aos animais SED, confirmando diversos estudos que observaram diminuição da concentração plasmática de insulina em função do treinamento<sup>(25)</sup>. Todavia, chama-nos a atenção que o grupo EXT, apesar do treinamento, apresentou insulinemia semelhante à dos animais sedentários e, portanto, maior que o grupo MOD, opondo-se aos estudos que observaram diminuição da concentração plasmática de insulina devido ao treinamento<sup>(3,28,29)</sup>.

Esses resultados demonstram claramente que seis semanas de treinamento são efetivas na diminuição da insulinemia, provavelmente pelo aumento na sensibilidade à insulina, em repouso, e maior captação de glicose pelo tecido periférico durante o exercício. Todavia, quando a sobrecarga de treino foi repentinamente aumentada por duas semanas, esse efeito parece ser perdido, já que não houve diferença entre os grupos SED e EXT, o que nos

permite especular que elevadas sobrecargas de treinamento físico, sem tempo adequado para a recuperação, por um período prolongado da vida, poderiam levar ao desenvolvimento de resistência periférica à insulina.

De fato, estudos anteriores têm sugerido que o treinamento extenuante por período prolongado pode aumentar a resistência periférica à insulina em eventos mediados pelo aumento de lesão celular, resposta inflamatória e aumento da concentração de citocinas pró-inflamatórias tais como IL-6 e TNF- $\alpha$ , que podem aumentar até 100 vezes em função do exercício<sup>(5,19,29,30)</sup>.

A concentração muscular de glicogênio pode ser diminuída quando o descanso não é suficiente<sup>(3,8)</sup>. Em nosso estudo não houve diminuição na concentração muscular de glicogênio em qualquer dos três sítios avaliados. Esses resultados estão em paralelo com a manutenção da glicemia nos três grupos em nosso trabalho. A diminuição da concentração muscular de glicogênio tem sido apontada como principal causa da diminuição da glicemia quando há aumento na sobrecarga de treinamento ou *overtraining*<sup>(30)</sup>. Nossos resultados confirmam essa hipótese; todavia, opõem-se a estudos clássicos demonstrando que o aumento na sobrecarga de treinamento sem tempo adequado para o descanso diminui cronicamente os estoques musculares de glicogênio<sup>(3)</sup>. Ao contrário, quando o treinamento apresenta tempo adequado para a recuperação, aumentos das concentrações endógenas de glicogênio são esperados, sugerindo que em nosso estudo os animais do grupo EXT se adaptaram ao aumento do volume de treino, não induzindo, dessa forma, as alterações clássicas do excesso de treinamento que eram esperadas nessas circunstâncias. Talvez, o aumento da sobrecarga de treino de forma proporcional nas últimas duas semanas possa ter contribuído para a adaptação e supercompensação, o que justificaria a ausência de sinais de *overreaching* e *overtraining* no grupo EXT, limitando, portanto, a utilização desse protocolo para o estudo do *overreaching*. Além disso, apesar das semelhanças fisiológicas e metabólicas entre seres humanos e roedores e de estes serem ótimos modelos para estudos em fisiologia e bioquímica do exercício, a extrapolação de resultados em animais para seres humanos sempre deve ser feita com cautela.

Dessa forma, podemos concluir que o protocolo de treinamento empregado para o grupo EXT, com aumento acentuado do volume de treinamento nas duas últimas semanas, a despeito do aumento da concentração plasmática de glutamato e diminuição da relação GLN/GLU, não foi capaz de promover alterações similares ao *overreaching* nesse grupo, não sendo, portanto, um protocolo adequado para o estudo do treinamento excessivo, *overreaching* ou *overtraining*.

Apoio financeiro Fapesp: Processo nº 01/13766-4.

---

*Todos os autores declaram não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.*

---

## REFERÊNCIAS

1. Smith DJ. A framework for understanding the training process leading to elite performance. *Sports Med* 2003;33:15,1103-26.
2. Armstrong LE, Vanheest JL. The unknown mechanism of the overtraining syndrome. *Sports Med* 2002;32:3,185-209.
3. Costill D, Flynn MG, Kirwan JP. Effects of repeated days of intensified training on muscle glycogen and swimming performance. *Med Sci Sport Exerc* 1988;3:249-54.
4. Adlercreutz H, Haerkoenen M, Kuoppasalmi K, Naeveri H, Karvonen J. Effect of training on plasma anabolic and catabolic steroid hormones and their response during physical exercise. *Int J Sports Med* 1986;7:27-8.
5. Smith LL. Cytokine hypothesis of overtraining: a physiological adaptation to excessive exercise. *Med Sci Sport Exerc* 2000;32:2,317-31.
6. Angeli A, Minetto M, Dovic A, Paccotti P. The overtraining syndrome in athletes: a stress-related disorder. *J Endocrinol Invest* 2004;27:603-12.

7. Krause S, Langrock M, Weib M. Influence of seasonal variations in training loads on selected amino acids and performance of the psychoimmunological network in a swimming team. *Int J Sports Med* 2002;23:380-7.
8. Lehmann M, Foster C, Keul J. Overtraining in endurance athletes: a brief review. *Med Sci Sports Exerc* 1993;25:854-62.
9. Filaire E, Legrand B, Lac G, Pequignot JM. Training of elite cyclists: effects on mood state and selected hormonal responses. *J Sports Sci* 2004;22:1025-33.
10. Gobatto CA, Mello MA, Sibuya CY, Azevedo JR, Santos LA, Kokubun E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comp Biochem Physiol* 2001;130:21-7.
11. Windmuller HG, Spaeth AE. Uptake and metabolism of plasma by small intestine. *J Biol Chem* 1974;249:5070-9.
12. Bernt E, Bergmeyer HU. L-glutamate UV-assay glutamate dehydrogenase and NAD. In: Bergmeyer HU, editor. *Methods of enzymatic analysis*. London: Academic Press, 1974;1704-8.
13. Engle PC, Jones J. Causes and elimination of erratic blanks in enzymatic metabolic assays involving the use of NAD in alkaline hydrazine buffers: improved conditions for the assays of L-glutamate, L-lactate and other metabolites. *Anal Biochem* 1978;88:457-84.
14. Sjörgreen B, Nordenskjöld T, Holmgren H, Wöllerström J. Beitrag zur Kenntnis des lebensrhythmik. *Pflügers Arch Gesamte Physiol Menschen Tiere* 1938;240:247.
15. Hassid WZ, Abrahams S. Chemical procedures for analysis of polysaccharides. *Methods Enzymol* 1957;3:34-51.
16. Robson PJ. Elucidating the unexplained underperformance syndrome in endurance athletes. *Sports Med* 2003;10:771-81.
17. Lehmann M, Baumgartl P, Wieseneck C. Training-overtraining: influence of a defined in training volume vs training intensity on performance, catecholamines and some metabolic parameters in experienced middle-and long distance runners. *Eur J Appl Physiol* 1992;64:169-77.
18. Rowbottom DG, Keast D, Morton AR. The emerging role of glutamine as an indicator of exercise stress and overtraining. *Sports Med* 1996;21:80-97.
19. Santos RVT. Efeitos do treinamento extenuante sobre o metabolismo de glutamina e seu papel na integração entre o exercício físico, sistema imunológico e o tecido muscular [tese]. São Paulo, 2004. Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.
20. Smith DJ, Norris SR. Changes in glutamine and glutamate concentrations for tracking training tolerance. *Med Sci Sport Exerc* 2000;32:684-9.
21. Hiscock N, Pedersen BK. Exercise-induced immunodepression – Plasma glutamine is not the link. *J Appl Physiol* 2002;93:813-22.
22. Gabirotto G. Muscle amino acid metabolism and the control of muscle protein turnover in patients with chronic renal failure. *Nutrition* 1999;2:145-55.
23. Wagenmakers AJM. Muscle amino acid metabolism at rest and during exercise: role in human physiology and metabolism. *Exerc Sport Sci Rev* 1998;26:287-314.
24. Graham TE, Turcotte LP, Kiens B, Richter EA. Effects of endurance training on ammonia and amino acid metabolism in humans. *Med Sci Sports Exerc* 1997;5:646-53.
25. Urhausen A, Gabriel H, Kindermann W. Impaired pituitary hormonal response to exhaustive exercise in overtraining endurance athletes. *Med Sci Sport Exerc* 1998;30:407-14.
26. Steinacker JM, Brkic M, Simsch C, Nething K, Kresz A, Prokopchuk O, Liu Y. Thyroid hormones, cytokines, physical training and metabolic control. *Horm Metab Res* 2005;37:538-44.
27. Urhausen A, Gabriel H, Kindermann W. Blood hormones as markers of training stress and overtraining. *Sports Med* 1995;4:251-76.
28. Snyder AC. Overtraining and glycogen depletion hypothesis. *Med Sci Sport Exerc* 1998;7:1146-50.
29. Snyder AC, Kuipers H, Cheng B, Servis RM, Fransen E. Overtraining following intensified training with normal muscle glycogen. *Med Sci Sports Exerc* 1995;27:1063-70.
30. Febbraio MA, Pedersen BK. Muscle-derived interleukin-6: mechanisms for activation and possible biological roles. *FASEB J* 2002;16:1335-47.