

Concentração plasmática de glutamina e glutamato em ciclistas de elite durante duas temporadas de treinamentos e competições

CDD. 20.ed. 612.04

Helio Antonio Correa de SOUZA*

Ronaldo Vagner Thomathiele dos SANTOS*

Elias José Correa de SOUZA*

Patrícia ROGERI*

Marco Carlo UCHIDA*

Antonio Herbert LANCHÁ JUNIOR**

Luís Fernando Bicudo Pereira COSTA ROSA* (*in memoriam*)

*Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo;

**Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo.

Resumo

É bem descrito que atletas que praticam atividade física exaustivas podem apresentar, ao final de um macrociclo de competições, sinais de "overtraining"/"overreaching" que incluem a diminuição no desempenho e muitas mudanças fisiológicas, metabólicas e psicológicas. Na tentativa de identificar possíveis sinais do "overreaching", nós estudamos um grupo de 10 ciclistas profissionais, peso $72,1 \pm 3,5$ kg, consumo máximo de oxigênio (VO_2 máx) $73,96 \pm 3,7$ mL.kg⁻¹.min⁻¹, idade $23 \pm 4,01$ anos, durante dois macrociclos anuais consecutivos. O VO_2 máx e a concentração sangüínea de lactato, durante um teste incremental máximo, foram utilizados para avaliar o desempenho dos atletas e a concentração plasmática de cortisol, glutamina e glutamato, como marcadores metabólicos do "overreaching". Durante o período de dois anos, nove amostras de sangue foram coletadas por punção venosa após os períodos de treinamento de alta intensidade e de competições. O VO_2 máx ($74,9 \pm 1,69$ mL.kg⁻¹.min⁻¹ e $77,62 \pm 3,37$ mL.kg⁻¹.min⁻¹, respectivamente início e final do primeiro macrociclo) e a concentração plasmática de lactato não tiveram alterações durante o estudo, contudo, ao final de ambos macrociclos, os atletas apresentaram sinais de fadiga, percebidos através da escala de esforço subjetivo de Borg e pelo fato de não conseguirem suportar as mesmas cargas ao final dos testes (exaustão precoce). A concentração plasmática de glutamina ($559,8 \mu\text{mo.l}^{-1}$ para $531,7 \mu\text{mo.l}^{-1}$ no primeiro macrociclo e $438,7 \mu\text{mo.l}^{-1}$ para $393,06 \mu\text{mo.l}^{-1}$ no segundo macrociclo) e do glutamato ($214 \mu\text{mo.l}^{-1}$ para $167,2 \mu\text{mo.l}^{-1}$ no primeiro macrociclo e $244,2 \mu\text{mo.l}^{-1}$ para $205,64 \mu\text{mo.l}^{-1}$ no segundo macrociclo) diminuíram e a concentração plasmática de cortisol ($363,15 \mu\text{mo.l}^{-1}$ para $569,66 \mu\text{mo.l}^{-1}$ no segundo macrociclo) aumentou. Com isso, nós concluímos que durante um macrociclo competitivo as mudanças na concentração plasmática de glutamina, glutamato e cortisol, podem ser utilizadas como marcadores precoces de um estágio de "overreaching".

UNITERMOS: Glutamina; Glutamato; "Overreaching"; Cortisol; Ciclismo.

Introdução

Ciclistas profissionais especialistas em provas de estrada percorrem grandes quilometragens anuais entre treinos e competições, muitas vezes sem permitir ao organismo um período suficiente de recuperação.

Esse quadro favorece o surgimento da síndrome do "overtraining" que pode ser definida como o aumento do "estresse" em decorrência do excesso

de treinamento e/ou competições com um período insuficiente de recuperação e ainda a associação destes com outros fatores. Esse quadro faz com que o atleta ultrapasse a sua capacidade de adaptação, provocando diminuição no desempenho esportivo e acarretando alterações fisiológicas e/ou psicológicas, cujo tempo necessário para a recuperação pode

variando de algumas semanas até alguns meses (KREIDER, FRY & O'TOOLE, 1997; MACKINNON & HOOPER, 2000).

A condição cujos sintomas são semelhantes aos do "overtraining", porém com natureza transitória recebe o nome de "overreaching". A recuperação, nesse caso, é mais rápida e fácil sendo necessário apenas alguns dias de descanso ou a diminuição da sobrecarga de treinamento (MACKINNON & HOOPER, 2000).

Um grande número de estudos tem se dedicado a investigar as possíveis alterações fisiológicas após a instalação do "overreaching" e/ou do "overtraining" (HALSON & JEUKENDRUP, 2004; LAC & MASO, 2004). A concentração plasmática de glutamina e de glutamato são algumas das alterações fisiológicas desencadeadas nos atletas que estão submetidos a grandes sobrecargas de treinos e competições (HALSON, LANCASTER, JEUKENDRUP & GLEESON, 2003; SMITH & NORRIS, 2000).

SMITH e NORRIS (2000) observaram, respectivamente, diminuição e aumento das concentrações plasmáticas de glutamina e glutamato em atletas

de diversas modalidades, após um macrociclo de treinamentos e competições. A partir dessas observações esses autores sugeriram ser a diminuição da relação glutamina/glutamato (Gln/Glu) um indicador de um quadro de "overreaching" e/ou "overtraining" já que a concentração plasmática de glutamina parece ser sensível à sobrecarga de treinamento enquanto que a concentração plasmática de glutamato pode ser um indicativo da recuperação das sessões de treinamento extenuante (SMITH & NORRIS, 2000).

HALSON e JEUKENDRUP (2004) em sua revisão sobre "overtraining" enfatizaram que um grande número de estudos relacionados a essa síndrome não analisaram o desempenho dos atletas. Como a diminuição no desempenho é uma das alterações características do "overreaching" e/ou "overtraining", o presente estudo realizou diversos testes para analisar o desempenho dos atletas, correlacionando-os às modificações na relação Gln/Glu. Assim, o objetivo do presente estudo foi o de analisar se a relação Gln/Glu plasmática é alterada durante um período de dois anos de treinamentos e competições em ciclistas profissionais.

Sujeitos

Foram utilizados 12 atletas profissionais do ciclismo de estrada, pertencentes à categoria elite que é a principal categoria do ciclismo brasileiro, sendo esta categoria a mais competitiva e com o maior nível técnico e de desempenho. A idade dos atletas ficou entre 18-35 anos, VO_2 máx $73,96 \pm 3,7$ mL.kg⁻¹.min⁻¹, peso $72,1 \pm 3,5$ kg, estatura 1,63-1,89 metros, todos com experiência em competições internacionais, competindo a pelo menos quatro anos no ciclismo de estrada, com no mínimo dois anos competindo na categoria elite e que estivessem federados e ranqueados entre os 20 primeiros pela Confederação Brasileira de Ciclismo, que é o principal órgão responsável pela administração do ciclismo brasileiro.

Todos os atletas que participaram do experimento assinaram um termo de consentimento informativo para a participação no projeto. No termo de consentimento informativo constavam os objetivos e regras do mesmo, assim como a possibilidade de acesso garantido a todos os dados obtidos. Os atletas também foram informados dos riscos envolvidos e da possibilidade de desistência a qualquer momento. Todos os procedimentos realizados neste experimento foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Humanos do Instituto de Ciências Biomédicas (ICB) da Universidade de São Paulo (USP).

Delineamento experimental

O estudo teve a duração de dois anos consecutivos (dois macrociclos), sendo que, aproximadamente, a cada três meses foram realizados as coletas de sangue e os testes físicos.

No primeiro macrociclo, as coletas de sangue e os testes físicos foram realizados nos meses de fevereiro,

abril, junho, setembro e dezembro. No segundo macrociclo a primeira coleta aconteceu no mês de março e as demais aconteceram respectivamente nos meses de maio, julho e outubro. A escolha das datas das coletas se deu de acordo com a disponibilidade dos atletas e com o calendário esportivo.

A cada coleta realizada no primeiro macrociclo, os atletas doaram 10 ml de sangue para a dosagem plasmática de glutamina e do glutamato e realizaram testes de VO_2 máx.

No macrociclo seguinte, a cada coleta os atletas doaram 10 ml de sangue para a dosagem plasmática de glutamina, glutamato e do cortisol. Além disso, foram acrescentados, o fichário de treinamento onde os atletas tiveram que descrever a quilometragem

semanal percorrida em treinos e competições e substituídos os testes de VO_2 máx pelos testes de lactato, pois os valores de VO_2 máx obtidos no primeiro macrociclo não sofreram alterações significativas.

As coletas, assim como os testes de lactato e VO_2 máx foram realizados cerca de 24 horas após a última competição de um mesociclo com grande sobrecarga de treinos e competições.

Coleta de sangue

As coletas de sangue foram realizadas por um médico habilitado, seguindo todos os preceitos éticos e normas de higiene e segurança. Foi retirado de cada atleta 10 ml de sangue, por punção venosa, no período entre 7:00 e 8:30h, para se evitar a influência das

variações circadianas, e em estado de jejum “overnight”. Após o sangue ser retirado e centrifugado a 2000 rpm por 15 minutos, o plasma foi aliquoteado em tubos plásticos de 1,5 ml para microcentrífugas e armazenados em “freezer” -80°C para posteriores dosagens.

Lactato sanguíneo

Utilizando-se de luvas cirúrgicas, e após assepsia local com álcool foi feita punção do lóbulo da orelha por meio de lanceta descartável. A primeira gota de sangue foi descartada para evitar a contaminação com o lactato eliminado no suor, e a seguir, 25 microlitros de sangue arterializado foram coletados, utilizando-se de capilares heparinizados e calibrados.

O sangue coletado foi depositado em tubos plásticos de 1,5 ml para microcentrífugas, contendo 50 microlitros de fluoreto de sódio a 1%, que por

ser hipotônico, provoca a hemólise e também a inibição da enzima glicolítica enolase, interrompendo assim a atividade glicolítica, contribuindo também para evitar a coagulação sanguínea.

As concentrações sanguíneas de lactato foram determinadas utilizando-se um analisador de lactato - método eletro-enzimático, modelo YSI 1500 Yellow Springs Inc. - (USA). Os valores de lactato foram expressos em mmol.l^{-1} .

Dosagens plasmáticas

Glutamina - A concentração de glutamina no plasma foi determinada enzimaticamente segundo método descrito por WINDMUELLER e SPAETH (1974) adaptado a partir de COONEY, DAVIS e VAN ATTA (1971) e RAMADAN e GREENBERG (1963).

Glutamato - A concentração de glutamato no plasma foi determinada segundo o método descrito por BERNT e BERGMAYER (1974).

Cortisol - Para a quantificação do cortisol foi utilizado o Kit por radioimunoensaio COAT-A-COUNT®, DPC-MedLab.

Protocolos e testes realizados

Foi recomendado aos atletas permanecerem por um período de 24 h em descanso (ou apenas treinos bem

leves), dormir bem na noite anterior ao dia do teste, não consumir bebidas que contivessem cafeína ou

álcool e para não fumar. A temperatura da sala onde os testes foram realizados foi controlada e ficou em $22^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ e a umidade entre 55-65%. Os testes foram realizados no período da manhã entre 9:00 e 11:00 hs (LUCIA, HOYOS & CHICHARRO, 2000).

Foi utilizado um cicloergômetro da marca TECHNOGYM (SPIN TRAINER), que permitiu aos atletas utilizarem sua própria bicicleta de competição durante o teste.

Os critérios para interrupção dos testes foram: a exaustão voluntária e valores máximos na escala de Borg de percepção subjetiva ao esforço, ou seja,

quando o atleta não conseguiu sustentar a carga pelo tempo requerido.

Também foram considerados o início de angina ou de sinais anginosos, sinais de perfusão precária (tonteira, confusão, atáxia, palidez, cianose, náuseas, ou pele fria ou úmida), falha no equipamento, elevação excessiva na pressão sistólica ($> 230 \text{ mm Hg}$) e diastólica (115 mm Hg), redução significativa na pressão diastólica (20 mm Hg) ou ausência de elevação da pressão sistólica com o aumento da intensidade do exercício. (PATON & HOPKINS, 2001). Os testes foram realizados simultaneamente a um eletrocardiograma de esforço.

Determinação do limiar anaeróbio

Após o aquecimento de 15 minutos em uma carga de 80 Watts e rpm oscilando entre 90-100 rpm, o teste teve início. A carga inicial foi de 100 Watts e a cada estágio de quatro minutos houve um aumento de 50 Watts até a exaustão. A determinação do limiar

anaeróbio individual foi feita traçando-se uma tangente à curva de concentração do lactato sanguíneo a partir do ponto em que a lactacidemia pós-exercício se igualou ao valor máximo registrado no final do teste (STEGMANN, KINDERMANN & SCHNABEL, 1981).

Determinação do VO_2 máximo

O equipamento para as análises dos gases foi Vista / Turbofit série ouro Vacu Med (analisador de oxigênio, modelo 17518A e analisador de CO_2 , modelo 17515A), que utiliza uma mistura de gases conhecida nas concentrações de 16% O_2 e 0,03% CO_2 para a calibração.

O protocolo utilizado foi de rampa, com acréscimo de 25 Watts a cada minuto, com carga inicial de 100 Watts e após um aquecimento de 15 minutos a 80 Watts. Os atletas selecionaram sua própria rpm durante o teste e esta foi mantida entre 90 e 110 (LUCIA, HOYOS & CHICHARRO, 2000).

Fichário de treinamento

Todos os atletas receberam uma ficha para que fossem anotados a quilometragem percorrida em

treinos e competições, durante o período entre as coletas.

Tratamento estatístico

Verificada as concentrações das variáveis plasmáticas e resultado dos testes de VO_2 máx, a análise de variância foi realizada considerando as diferentes coletas realizadas ao longo dos dois anos de estudo. Quando níveis de significância foram identificados testes “post hoc” (Tukey) foram

realizados para comparação e identificação das diferenças relacionadas a somatórias dos treinamentos e competições. Todas as análises estatísticas foram testadas com nível de significância $p < 0,05$. Para isso utilizou-se do programa SPSS (SPSS para Windows - versão 12.0, SPSS, Inc.).

Resultados

As flutuações na concentração plasmática de glutamina, glutamato e na razão Gln/Glu tiveram um padrão semelhante nos dois anos de análises. No entanto, os valores da concentração plasmática de glutamina e de glutamato foram, respectivamente, 54,26% e 12,8% maiores no primeiro macrociclo quando comparados ao segundo macrociclo (FIGURAS 1 e 3).

Durante os dois anos de estudo, a concentração plasmática de glutamina e do glutamato apresentaram os valores mais elevados nas primeiras coletas realizadas no início de cada macrociclo com conseqüente redução significativa nas últimas coletas (FIGURAS 1 e 3).

Em todas as coletas realizadas durante os dois macrociclos, os valores apresentados para a

relação Gln/Glu foram menores que 3,58 e não apresentaram mudanças significativas (FIGURAS 2 e 4).

Com o decorrer das análises realizadas no segundo macrociclo, a concentração plasmática de cortisol tendeu ao aumento, mas somente na quarta e última coleta resultou em um aumento significativo de 56,87% (FIGURA 3).

Os valores de VO_2 máx não apresentaram mudanças significativas em nenhuma das cinco coletas realizadas no primeiro macrociclo (FIGURA 2). As principais mudanças referem-se à diminuição das cargas máximas finais (Watts) de 13% e também no aumento do relato de percepção subjetiva de esforço nas cargas submáximas.

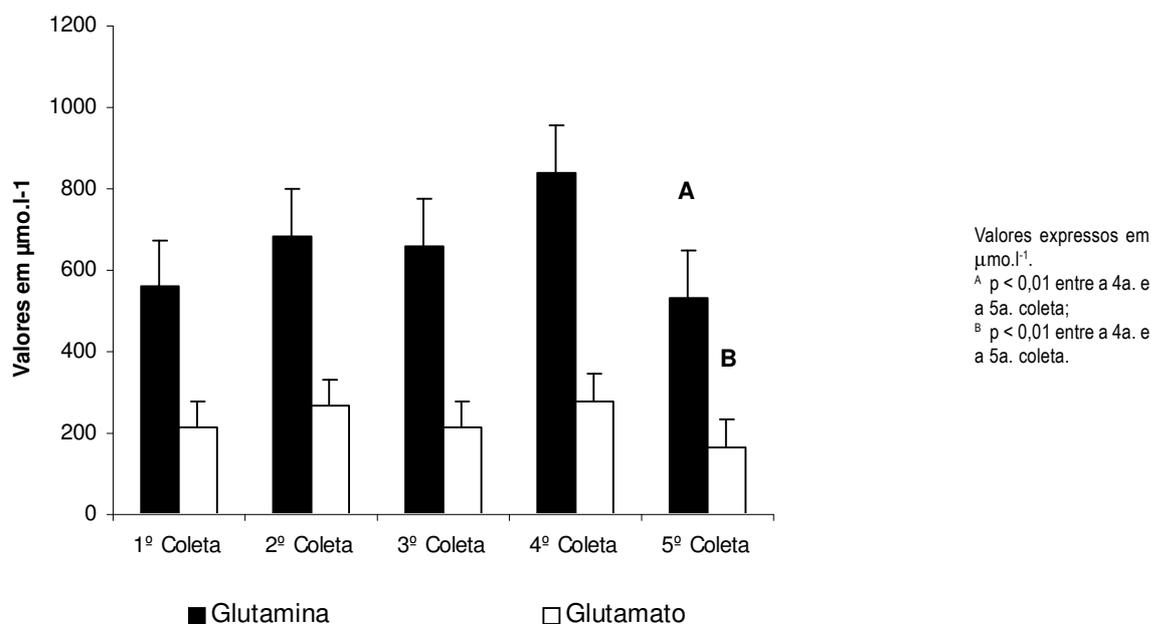


FIGURA 1 - Concentração plasmática de Gln e Glu nas cinco coletas realizadas ao longo do primeiro macrociclo.

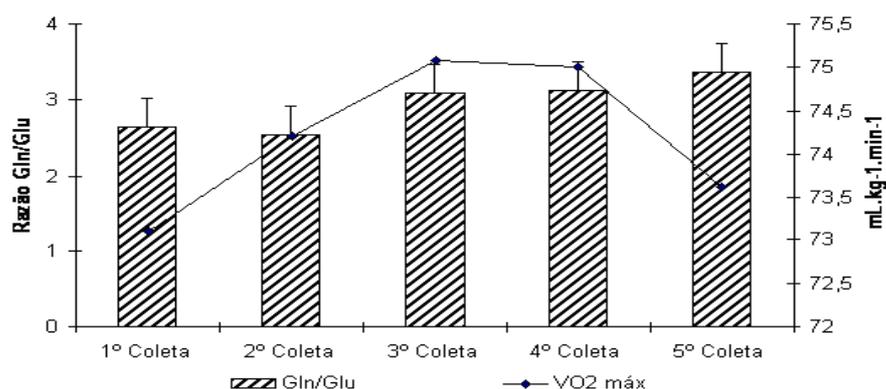
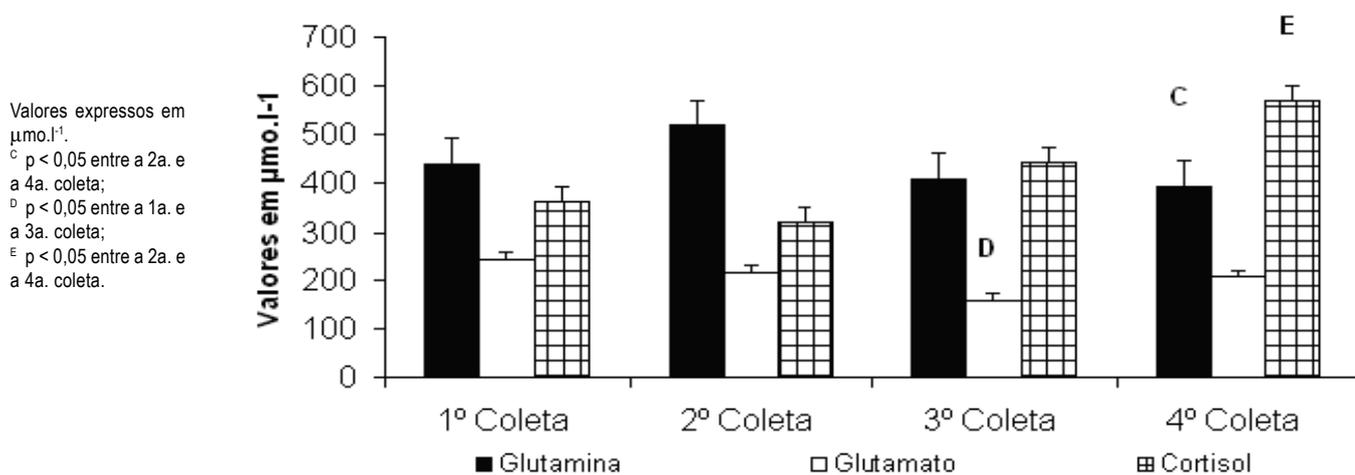


FIGURA 2 - Relação Gln/Glu e VO₂ Max nas cinco coletas realizadas ao longo da primeira temporada.



Valores expressos em $\mu\text{mo.l}^{-1}$.
^C $p < 0,05$ entre a 2a. e a 4a. coleta;
^D $p < 0,05$ entre a 1a. e a 3a. coleta;
^E $p < 0,05$ entre a 2a. e a 4a. coleta.

FIGURA 3 - Concentrações plasmáticas de Gln, Glu e Cortisol nas quatro coletas realizadas ao longo do segundo macrociclo.

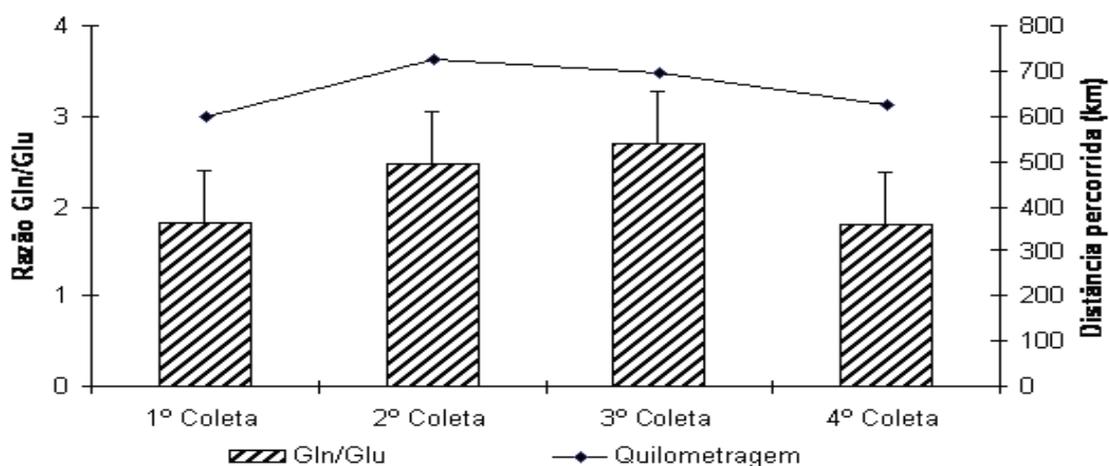


FIGURA 4 - Relação Gln/Glu e Distância semanal percorrida nas quatro coletas realizadas ao longo do segundo macrociclo.

A concentração de lactato obtida um minuto após o final do teste foi considerada como lactato pico. A concentração sanguínea de lactato não apresentou mudanças significativas nos testes realizados no segundo macrociclo. Os valores mais altos do lactato pico foram atingidos nas duas primeiras baterias de testes, sendo que nas demais houve uma tendência a redução (TABELA 1).

Assim como observado nos testes de VO_2 máx, nos testes de lactato os atletas não conseguiram desempenhar as mesmas cargas máximas finais nas últimos testes, apresentando uma redução de 14,36% em conjunto com aumentos na percepção subjetiva de esforço nas cargas submáximas. (FIGURA 5).

Em todos os testes de VO_2 máx e de lactato sanguíneo os atletas atingiram suas frequências cardíacas máximas previstas (220-idade) e apontaram para os valores máximos de percepção subjetiva de esforço ao final do teste (TABELA 1).

Nos testes de VO_2 máx os valores de RER ficaram acima de 1,10 (1,10 - 1,21), assim como nos testes de determinação do limiar anaeróbio os valores do lactato sanguíneo de pico foram maiores que 8 mMOL/L (TABELA 1), demonstrando o caráter máximo desses testes.

TABELA 1 - Média + Desvio Padrão dos valores máximos dos testes de VO_2 máx e IAT (Limiar Anaeróbio Individual), determinados nos dois macrociclos.

	Carga Máxima (Watts)	Frequência Cardíaca máxima (bpm)	Lactato Pico (μ Mol/L)	RER
VO_2 máx	475 \pm 34,17	194 \pm 7,01	-	14 \pm 5,86
IAT	444 \pm 36	193 \pm 5,8	9,24 \pm 2,17	

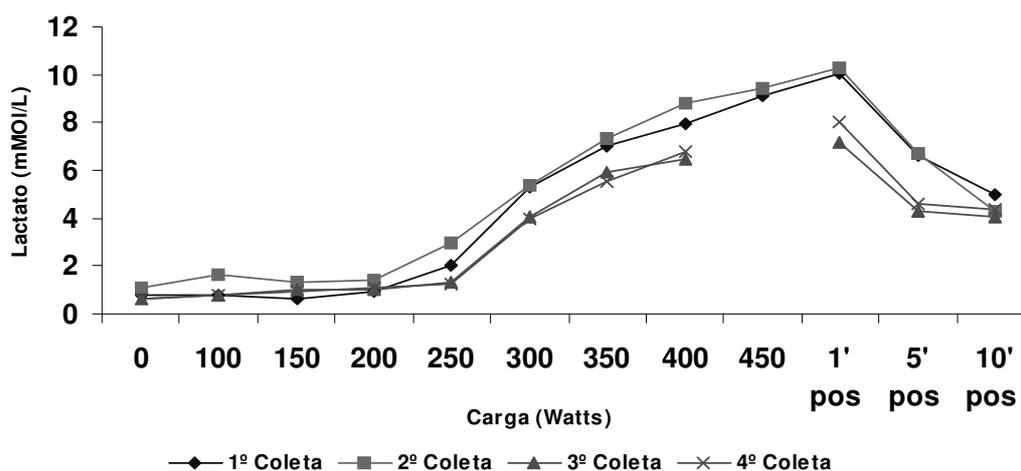


FIGURA 5 - Curvas médias das concentrações sanguíneas de lactato nos quatro testes realizados ao longo da segunda temporada.

Discussão

O objetivo dos atletas ao se submeterem a grandes sobrecargas de treinamentos é a melhoria do rendimento esportivo. O desempenho de um atleta em uma competição depende e pode ser influenciado por diversos fatores, e o resultado de uma competição nem sempre reflete a situação física real do atleta. Essa é uma das justificativas para a utilização de testes físicos para a análise da melhoria do desempenho físico de atletas (PATON & HOPKINS, 2001).

Dentre os testes físicos utilizados para verificar a melhoria no desempenho físico de atletas em modalidades esportivas onde predomina a resistência de longa duração, estão os testes de VO_2 máx e os testes de lactato (WILBER, ZAWADZKI, KEARNEY, SHANNON & DISALVO, 1997). Baseado nisso, realizamos, em nosso estudo, os testes de VO_2 máx e de lactato sanguíneo para analisar o desempenho dos atletas.

A diminuição no rendimento físico é uma das características de atletas que apresentam um quadro de “overreaching” e/ou “overtraining”. Neste estudo, o VO_2 máx dos atletas não sofreu alterações em nenhuma das cinco coletas realizadas no primeiro macrociclo, porém as cargas máximas finais atingidas durante os testes diminuíram com o decorrer das análises. Os atletas também relataram maiores índices de percepção subjetiva de esforço em cargas submáximas, através do uso da escala de Borg. Além disso, nenhuma mudança foi encontrada nos valores de frequência cardíaca relativos ao ponto de compensação respiratória (TABELA 2).

TABELA 2 - Média + Desvio Padrão dos valores correspondentes ao IAT (Limiar Anaeróbio Individual) e o ponto de compensação respiratória (PCR) nas diferentes coletas realizadas ao longo dos dois macrociclos.

	1a. Coleta	2a. Coleta	3a. Coleta	4a. Coleta	5a. Coleta
Frequência Cardíaca (PCR)	169 ± 3,07	170 ± 2,12	168 ± 3,35	167 ± 4,02	167 ± 2,87
Frequência Cardíaca (IAT)	164 ± 4,92	166 ± 1,49	165 ± 3,99	162 ± 2,44	-

LUCIA, HOYOS e CHICHARRO (2000) em um estudo envolvendo ciclistas profissionais submetidos a sobrecargas progressivas de treinos e competições observaram aumentos no VO_2 máx e nas cargas máximas finais (Watts) em testes realizados no decorrer de um macrociclo. Em nosso estudo, o perfil de distribuição das cargas, com a manutenção de grandes volumes de treinos durante o ano, não permitiram identificar as alterações relatadas por LUCIA, HOYOS e CHICHARRO (2000), levando, no entanto, a um aumento progressivo nos relatos de cansaço e na percepção subjetiva de esforço pelos atletas.

Os resultados deste estudo assemelham-se com os resultados observados por JEUKENDRUP, HESSELINK, SNYDER, KUIPERS e KEIZER (1992), que relataram a diminuição no desempenho em ciclistas que realizaram um teste máximo com duração de aproximadamente 15 minutos, após um período de grande sobrecarga de treinos e competições. Assim como neste estudo, JEUKENDRUP et al. (1992) também relataram que os atletas apresentaram maiores índices de percepção subjetiva de esforço em cargas submáximas após um período extenuante de treinamento, sem alteração nos valores de frequência cardíaca correspondentes ao IAT (TABELA 2).

Após a constatação de que o VO_2 máx não sofreu alteração no primeiro macrociclo, no macrociclo

seguinte o teste de VO_2 máx foi substituído pelo teste de lactato.

Nos quatro testes de lactato realizados durante o segundo macrociclo, não houve diferenças significativas nas cargas relativas ao limiar anaeróbio individual (TABELA 1). As cargas máximas finais atingidas, assim como nos testes de VO_2 máx, sofreram redução. Nos dois primeiros testes de lactato realizados no segundo macrociclo, o desempenho dos atletas foi superior aos demais testes.

Estudos de PELAYO, MUJICA, SIDNEY e CHATARD (1996) e JEUKENDRUP e HESSELINK (1994) identificaram menores concentrações sanguíneas de lactato durante testes progressivos, após aumentos significativos nas cargas de treinamento, contudo, assim com no presente estudo, as mudanças não foram significativas. Neste caso uma possível explicação para este fenômeno seria a redução da atividade simpática e ou uma menor sensibilidade às catecolaminas. Já na vigência de “overreaching” e/ou “overtraining”, BOSQUET, LEGER e LEGROS (2001) encontraram menores concentrações sanguíneas de lactato em resposta à mesma solicitação, mesmo na presença de concentrações adequadas de glicogênio muscular. Desta forma, nossos dados indicam que a resposta dos atletas ao grande volume de treinamento estaria levando os mesmos a um quadro de “overreaching”.

Em nosso estudo a concentração de lactato sanguíneo e a frequência cardíaca correspondentes ao IAT não apresentaram mudanças significativas ao longo das quatro coletas do segundo macrociclo (TABELA 2). Este fato se justifica devido a distribuição das cargas de treinamento dos atletas ser bastante linear, com muitos intervalos preventivos, sem permitir que os atletas atingissem grandes variações no desempenho esportivo, mas que proporcionasse a manutenção do rendimento esportivo durante todo o macrociclo.

Para termos uma idéia de como foi distribuído o volume de treino ao longo do ano, os atletas preencheram um fichário descrevendo os valores da quilometragem diária e semanal percorrida entre treinos e competições. Os valores da quilometragem semanal não apresentaram mudanças significativas nos diferentes períodos do estudo e foram semelhantes à quilometragem percorrida por ciclistas profissionais em fase competitiva (FIGURA 4) (LUCIA, HOYOS & CHICHARRO, 2000).

Em nosso estudo, o perfil de distribuição das cargas, com a manutenção de grandes volumes de treinos durante o ano, não permitiu a identificação das mesmas alterações descritas por LUCIA, HOYOS

e CHICHARRO (2000), que, ao realizarem um estudo com ciclistas profissionais, relataram um aumento progressivo das cargas de treino respectivamente nos períodos de transição (267 ± 60 km), pré-competitivo (713 ± 46 km) e competitivo (810 ± 30 km). No entanto, a distribuição do volume de treino adotado pelos atletas participantes deste estudo resultou, ao longo da temporada, em um aumento progressivo nos relatos de cansaço e na percepção subjetiva de esforço.

Como a glutamina tem papel destacado em diversas funções do nosso organismo, tais como a regulação do balanço ácido-básico e a síntese de neurotransmissores, os efeitos agudos e crônicos do exercício sobre a concentração plasmática de glutamina têm sido alvo de diversos estudos. (CASTELL & NEWSHOLME, 2001; GREENHAFF, GLEESON & MAUGHAN, 1998; ROHDE, MACLEAN, HARTKOPP & PEDERSEN, 1996).

A concentração plasmática de glutamina apresentou mudanças significativas ao longo de modo que encontramos significativa diminuição de sua concentração ao final dos dois macrociclos, evidenciando o efeito da somatória dos treinos e competições. Estas observações são similares àquelas descritas por KEAST, ARSTEIN, HARPER, FRY e MORTON (1995) e ROWBOTTOM, KEAST e MORTON (1996), que detectaram uma diminuição da concentração plasmática de glutamina em atletas apresentando um quadro de “overreaching” ou submetidos a sessões extenuantes de treinamento sem descanso apropriado como em nosso estudo.

A utilização, como critério para a caracterização do quadro de “overreaching” e/ou “overtraining” somente das flutuações na concentração plasmática de glutamina tem sido, no entanto, bastante questionada. Contudo, a utilização deste parâmetro associado à queda no rendimento, serviria como um alerta para os atletas da ocorrência eminente de “overreaching”, indicando aos atletas a necessidade de avaliações complementares (HALSON et al., 2003; SMITH & NORRIS, 2000)

Para melhor entendermos o significado das flutuações na glutaminemia nos atletas avaliados, determinamos, também, a concentração plasmática de glutamato, pois se trata do principal precursor para a síntese de glutamina. A concentração plasmática de glutamina permaneceu elevada em todas as coletas realizadas nos dois macrociclos, com valores semelhantes aos encontrados por HALSON et al. (2003) em atletas submetidos a um quadro de “overreaching”.

O mecanismo que relaciona o aumento na concentração plasmática de glutamato e o treinamento

físico ainda é desconhecido (HALSON et al., 2003). O aumento nas concentrações plasmáticas de glutamato tem sido observado em quadros catabólicos como o do câncer, imunodeficiência humana por infecção viral e “sepsis” (HACK, STUTZ, KINSCHERF, SCHYKOWSKI, KELLERER, OLMO & DROGE, 1996).

Elevada concentração plasmática de glutamato em pacientes com câncer foi relatado como indicativo da diminuição do consumo de glutamato pelo tecido muscular periférico, possivelmente como consequência da redução na atividade de transporte deste aminoácido (HACK et al., 1996). Assim, KINSCHERF, HACK, FISCHBACH, FRIEDMANN, WEISS, EDLER, BARTSCH e DROGE (1996) sugeriram que o aumento na concentração plasmática de glutamato, em conjunto com a baixa concentração plasmática de glutamina, pode resultar do maior catabolismo em sujeitos “saudáveis” após um período de treinamentos com grande intensidade. Esses autores sugeriram que a atividade do transportador de glutamato pode estar inibida quando há uma grande atividade glicolítica na musculatura esquelética. Assim, as alterações na concentração plasmática de glutamato podem estar associadas a um quadro de “overreaching” e/ou “overtraining”, muito embora sua importância, função e o seu significado ainda não estejam totalmente esclarecidos.

Desta forma SMITH e NORRIS (2000) sugeriram que a relação Gln/Glu poderia ser uma ferramenta útil na detecção precoce do “overtraining” e/ou “overreaching” e, portanto poderia ser importante na controle do equilíbrio entre treinamento e recuperação. Posteriormente HALSON et al. (2003) confirmaram a hipótese de SMITH e NORRIS (2000) encontrando diminuição dessa relação em atletas apresentando sinais de “overreaching” e também diminuição do desempenho esportivo.

Os mecanismos envolvidos na diminuição da relação Gln/Glu durante períodos de treinamento extenuantes não são totalmente conhecidos até o momento. ROWBOTTOM, KEAST e MORTON (1996) sugerem que as lesões celulares provocadas pelo exercício poderiam comprometer a atividade do ciclo de Krebs e conseqüentemente a síntese de glutamina no músculo esquelético. No entanto, estudo recente, com roedores em nosso laboratório, demonstrou que após um período de treinamento extenuante a diminuição na concentração plasmática de glutamina se deve ao comprometimento da síntese de glutamina pelo músculo esquelético já que um período de treinamento extenuante é acompanhado pela

diminuição na atividade da enzima glutamina sintetase que tem papel chave na síntese de glutamina no tecido muscular (SANTOS, 2004). Dessa forma, acreditamos que a diminuição na relação Gln/Glu poderia ser em função do impedimento parcial na síntese de glutamina e no acúmulo de glutamato ou simplesmente devido ao desequilíbrio anabolismo/catabolismo, como sugerido em nosso estudo pela diminuição na concentração plasmática de glutamina e aumento do glutamato e cortisol nos períodos com maior sobrecarga de treinamento.

SMITH e NORRIS (2000) sugerem que o valor da razão abaixo de 3,58 é um indicativo de um quadro de "overtraining". Assim, se considerarmos estes valores como referência, nossos atletas estariam permanentemente em "overtraining", o que nos leva a considerar a necessidade de um número maior de estudos com diferentes modalidades e atletas com diferentes níveis e histórico esportivo de treinamento. Para uma determinação mais precisa de valores de referência para a utilização da relação Gln/Glu como indicativo da presença de um quadro de "overtraining".

Outra variável analisada foi a concentração plasmática de cortisol, que apresentou um aumento significativo na última coleta da segunda temporada. Provavelmente essas mudanças estão associadas ao somatório das cargas de treinos e competições durante o segundo macrociclo.

A concentração plasmática de cortisol aumentada durante o repouso tem sido relatada em quadros de "overtraining" ou mesmo como resposta ao aumento da carga/volume de treinamento em nadadores (BARRON, NOAKES, LEVY, SMITH & MILLAR, 1985; KIRWAN, COSTILL, FLYNN, MITCHELL, FINK, NEUFER & HOUMARD, 1988), muito embora alguns autores não tenham detectado esta

mesma alteração no "overreaching" e em atletas amadores (ROWBOTTOM, KEAST, GARCIA-WEBB & MORTON, 1997; SNYDER, KUIPERS, CHENG, SERVAIS & FRANSEN, 1995).

De fato, o cortisol plasmático apresenta uma resposta que pode ser descrita como lenta, atuando mesmo depois do término da atividade. O tempo durante o qual o cortisol permanece elevado após o exercício varia em função da intensidade e duração do estímulo, assim como da forma como o organismo responde ao mesmo (NIEMAN & PEDERSEN, 1999; PEDERSEN, BRUUNSGAARD, KLOKKER, KAPPEL, MACLEAN, NIELSEN, ROHDE, ULLUM & ZACHO, 1997). Ao considerarmos as propostas de ERIKSEN, OLFF, MURISON e URSIN (1999), de que a resposta adequada ao estímulo deve durar horas, e que a manutenção prolongada das alterações do cortisol plasmático, como parte de uma ativação sistêmica sustentada do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, seriam indicativas de baixa tolerância ("coping"), podemos propor que para ciclistas altamente treinados, a determinação da cinética de cortisol seria indicador adequado da tolerância ao esforço.

Assim, constatamos ao longo deste estudo, que as flutuações nas concentrações plasmáticas de glutamina, glutamato e cortisol assim como na relação Gln/Glu estão associadas ao menor desempenho nos testes de lactato e VO_2 máx e na maior precocidade no relato de percepção subjetiva do esforço, sugerindo que no final de ambos macrociclos os atletas apresentavam um quadro de "overreaching", e que os parâmetros utilizados, se analisados em conjunto, constituem importante mecanismo para a detecção dos quadros de "overreaching", tornando-se uma importante ferramenta para os fisiologistas envolvidos no acompanhamento de atletas de alto nível.

Abstract

Plasma glutamine and glutamate in road cyclists during two seasons of training and races

It is well known that athletes practicing exhaustive exercise may present, at the end of a competitive season, signs of "overtraining"/"overreaching", that comprise loss of performance and many physiological, metabolic and psychological changes. In an attempt to identify possible signs of "overreaching" we studied a group of ten professional cyclists, mass 72.1 ± 3.5 kg, VO_2 máx 73.96 ± 3.7 mL.kg⁻¹.min⁻¹, age 23 ± 4.01 yr, for 2 consecutive competitive seasons. The maximal consumption of oxygen and blood lactate concentration, during an maximal incremental test, as a mean to evaluate changes in athletes performance, and plasma cortisol, glutamine and glutamate concentrations, as metabolic markers for "overreaching" were assessed. Blood samples were collected from the antecubital vein 9 times during the two years period, after bouts of high intensity training and competition. The maximal consumption of oxygen (74.9 ± 1.69 mL.kg⁻¹.min⁻¹ and 77.62 ± 3.37 mL.kg⁻¹.min⁻¹, beginning and the end of first

season) and plasma lactate concentration did not change during the experiment, but at the end of both seasons the athletes reported early fatigue symptoms, evaluated by using Borg scale, and could not reach the same load at the end of the tests (early exhaustion). Plasma glutamine ($559.8 \mu\text{mo.l}^{-1}$ to $531.7 \mu\text{mo.l}^{-1}$ in the first season and $438.7 \mu\text{mo.l}^{-1}$ to $393.06 \mu\text{mo.l}^{-1}$ in the second season) and glutamate ($214 \mu\text{mo.l}^{-1}$ to $167.2 \mu\text{mo.l}^{-1}$ in the first season and $244.2 \mu\text{mo.l}^{-1}$ to $205.64 \mu\text{mo.l}^{-1}$ in the second season) concentration were reduced at the end of both seasons, and plasma cortisol ($363.15 \mu\text{mo.l}^{-1}$ to $569.66 \mu\text{mo.l}^{-1}$ in the second season), increased. Therefore, we conclude that the changes in plasma glutamine, glutamate and cortisol during a competitive season could be used as an early indicative of "overreaching".

UNITERMS: Glutamine; Glutamate; Cycling; Overreaching; Cortisol.

Referências

- BARRON, J.L.; NOAKES, T.D.; LEVY, W.; SMITH, C.; MILLAR, R.P. Hypothalamic dysfunction in overtrained athletes. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabism*, Springfield, v.60, n.4, p.803-6, 1985.
- BERNT, E.; BERGMAYER, H.U. L-glutamate UV-assay glutamate dehydrogenase and NAD. In: BERGMAYER, H.U. *Methods of enzymatic analysis*. London: Academic Press, 1974. p.1704-8.
- BOSQUET, L.; LEGER, L.; LEGROS, P. Blood lactate response to overtraining in male endurance athletes. *European Journal of Applied Physiology*, Berlin, v.84, n.1-2, p.107-14, 2001 .
- CASTELL, L.M.; NEWSHOLME, E.A. The relation between glutamine and the immunodepression observed in exercise. *Amino Acids*, Wien, v.20, n.1, p.49-61, 2001.
- COONEY, D.; DAVIS R.; VAN ATTA, G. A spectrophotometric method for the simultaneous measurement of L-glutamine and L-aparagine in biological materials. *Analytical Biochemistry*, New York, v.40, n.2, p.312-26, 1971.
- ERIKSEN, H.R.; OLFF, M.; MURISON, R.; URSIN, H. The time dimension in stress responses: relevance for survival and health. *Psychiatry Research*, Amsterdam, v.85, n.1, p.39-50, 1999 .
- GREENHAFF, P.L.; GLEESON, M.; MAUGHAN, R.J. The effects of a glycogen loading regimen on acid-base status and blood lactate concentration before and after a fixed period of high intensity exercise in man. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, Berlin, v.57, n.2, p.254-9, 1988.
- HACK, V.; STUTZ, O.; KINSCHERF, R.; SCHYKOWSKI, M.; KELLERER, M.; HOLM, E.; DROGE, W. Elevated venous glutamate levels in (pre)catabolic conditions result at least partly from a decreased glutamate transport activity. *Journal of Molecular Medicine*, Amsterdam, v.74, n.6, p.337-43, 1996.
- HALSON, S.L.; JEUKENDRUP, A.E. Does overtraining exist? An analysis of overreaching and overtraining research. *Sports Medicine*, Auckland, v.34, n.14, p.967-81, 2004.
- HALSON, S.L.; LANCASTER, G.I.; JEUKENDRUP, A.E., GLEESON, M. Immunological responses to overreaching in cyclists. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Madison, v.35, n.5, p.854-61, 2003 .
- JEUKENDRUP, A.E.; HESSELINK, M.K. Overtraining-what do lactate curves tell us? *British Journal Sports Medicine*, London, v.28, n.4, p.239-40, 1994.
- JEUKENDRUP, A.E.; HESSELINK, M.K.; SNYDER, A.C.; KUIPERS, H.; KEIZER, H.A. Physiological changes in male competitive cyclists after two weeks of intensified training. *Internacional Journal of Sports Medicine*, Stuttgart, v.13, n.7, p.534-41, 1992.
- KEAST, D.; ARSTEIN, D.; HARPER, W.; FRY, R.W.; MORTON, A.R. Depression of plasma glutamine concentration after exercise stress and its possible influence on the immune system. *The Medical Journal of Australia*, Sydney, v.162, n.1, p.15-8, 1995.
- KINSCHERF, R.; HACK, V.; FISCHBACH, T.; FRIEDMANN, B.; WEISS, C.; EDLER, L.; BARTSCH, P.; DROGE, W. Low plasma glutamine in combination with high glutamate levels indicate risk for loss of body cell mass in healthy individuals: the effect of N-acetyl-cysteine. *Journal of Molecular Medicine*, Amsterdam, v.74, n.7, p.393-400, 1996.
- KIRWAN, J.P.; COSTILL, D.L.; FLYNN, M.G.; MITCHELL, J.B.; FINK, W.J.; NEUFER, P.D.; HOUMARD, J.A. Physiological responses to successive days of intense training in competitive swimmers. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Madison, v.20, n.3, p.255-9, 1988.
- KREIDER, R.B.; FRY, A.C.; O'TOOLE, M.L. Overtraining and overreaching in sport: terms, definitions, and prevalence. In: _____. (Eds.). *Overtraining and overreaching in sport*. Champaign: Human Kinetics, 1997. p.vii-ix.

- LAC, G.; MASO, F. Biological markers for the follow-up of athletes throughout the training season. *Pathologie Biologie*, Paris, v.52, p.43-9, 2004.
- LUCIA, A.; HOYOS, J.; CHICHARRO, J.L. Physiological response to professional road cycling: climbers vs time trialists. *Internacional Journal of Sport Medicine*, Stuttgart, v.21, p.505-12, 2000.
- MACKINNON, L.T.; HOOPER, S.L. Overtraining and overreaching: causes, effects, and prevention. In: GARRETT JUNIOR, W.E.; KIRKENDALL, D.T. (Eds.). *Exercise and sport science*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p.487-98.
- NIEMAN, D.C.; PEDERSEN, B.K. Exercise and immune function. Recent developments. *Sports Medicine*, Auckland, v.27, n.2, p.73-80, 1999.
- PATON, C.D.; HOPKINS, W.G. Tests of cycling performance. *Sports Medicine*, Auckland, v.31, n.7, p.489-96, 2001.
- PEDERSEN, B.K.; BRUUNSGAARD, H.; KLOKKER, M.; KAPPEL, M.; MACLEAN, D.A.; NIELSEN, H.B.; ROHDE, T.; ULLUM, H.; ZACHO, M. Exercise-induced immunomodulation-possible roles of neuroendocrine and metabolic factors. *International Journal of Sports Medicine*, Stuttgart, v.18, p.S2-7, 1997. Supplement 1. Review.
- PELAYO, P.; MUJICA, I.; SIDNEY, M.; CHATARD, J.C. Blood lactate recovery measurements, training, and performance during a 23-week period of competitive swimming. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, Berlin, v.74, n.1-2, p.107-13, 1996.
- RAMADAN, M.E.; GREENBERG, D.M. An enzymic micromethod for determination of glutamine and asparagine in blood. *Analytical Biochemistry*, New York, v.6, p.144-52, 1963.
- ROHDE, T.; MACLEAN, D.A.; HARTKOOP, A.; PEDERSEN, B.K. The immune system and serum glutamine during a triathlon. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, Berlin, v.74, n.5, p.428-34, 1996.
- ROWBOTTOM, D.G.; KEAST, D.; GARCIA-WEBB, P.; MORTON, A.R. Training adaptation and biological changes among well-trained male triathletes. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Madison, v.29, n.9, p.1233-9, 1997.
- ROWBOTTOM, D.G.; KEAST, D.; MORTON, A.R. The emerging role of glutamine as indicator of exercise stress and overtraining. *Sports Medicine*, Auckland, v.2, p.80-97, 1996.
- SANTOS, R.V.T. *Efeitos do treinamento extenuante sobre o metabolismo de glutamina e seu papel na interação entre o exercício físico, sistema imunológico e tecido muscular*. 2004. Tese (Doutorado) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- SMITH, D.J.; NORRIS, S.R. Changes in glutamine and glutamate concentrations for tracking training tolerance. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Madison, v.32, n.3, p.684-9, 2000.
- SNYDER, A.C.; KUIPERS, H.; CHENG, B.; SERVAIS, R.; FRANSEN, E. Overtraining following intensified training with normal muscle glycogen. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Madison, v.27, n.7, p.1063-70, 1995.
- STEGMANN, H.; KINDERMANN, W.; SCHNABEL, A. Lactate kinetics and individual anaerobic threshold. *Internacional Journal of Sports Medicine*, Stuttgart, v.2, n.3, p.160-5, 1981.
- WILBER, R.L.; ZAWADZKI, K.M.; KEARNEY, J.T.; SHANNON, M.P.; DISALVO, D. Physiological profiles of elite off-road and road cyclists. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Madison, v.29, n.8, p.1090-4, 1997.
- WINDMUELLER, H.G.; SPAETH, A.E. Uptake and metabolism of plasma glutamine by the small intestine. *The Journal of Biological Chemistry*, Baltimore, v.249, n.16, p.5070-9, 1974.

Agradecimentos

Agradecemos à FAPESP, pela concessão da Bolsa de Iniciação Científica (processo n.º 109865-7) e, em especial, aos atletas que participaram do projeto.

ENDEREÇO

Helio Antonio Correa de Souza
Laboratório de Metabolismo
Instituto de Ciências Biomédicas - USP
Av. Prof. Lineu Prestes, 2415
05508-900 - São Paulo - SP - BRASIL
e-mail: helioesporte@uol.com.br

Recebido para publicação: 15/02/2005

1a. Revisão: 04/04/2006

2a. Revisão: 15/05/2006

Aceito: 29/05/2006