

HELIO ANTONIO CORREA DE SOUZA

INDICADORES DE LESÃO E INFLAMAÇÃO EM CICLISTAS  
DE ELITE EM DIFERENTES SITUAÇÕES COMPETITIVAS

Dissertação Apresentada ao Instituto de  
Ciências Biomédicas da Universidade de São  
Paulo, para a obtenção do título de Mestre  
em Ciências (Biologia Celular e tecidual)

São Paulo

2007

HELIO ANTONIO CORREA DE SOUZA

INDICADORES DE LESÃO E INFLAMAÇÃO EM CICLISTAS  
DE ELITE EM DIFERENTES SITUAÇÕES COMPETITIVAS

Dissertação Apresentada ao Instituto de  
Ciências Biomédicas da Universidade de São  
Paulo, para a obtenção do título de Mestre  
em Ciências (Biologia Celular e tecidual)

Área de Concentração:  
Biologia Celular e Tecidual

Orientador: Prof. Dr. Antônio Hebert Lancha  
Júnior

São Paulo  
2007

## DEDICATÓRIAS

Aos meus pais, José e Virginia, que me ensinaram os reais valores da vida. Serei eternamente grato à vocês.

A minha esposa, amiga, companheira... que eu amo muito e que sempre esteve comigo nos momentos mais difíceis. Você me completa.

Aos meus irmãos, Lídia e Elias, que eu amo muito. Obrigado por entenderem as minhas virtudes e os meus defeitos.

Aos meus grandes mestres

Prof. Dr. Costa Rosa (GG), que me ensinou que na Universidade podemos descobrir outros valores além da pesquisa.

Prof. Dr. Ronaldo V. T. Santos que foi fundamental para o meu aprendizado desde o início dos meus estudos na Universidade.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Antonio Hebert Lancha Jr. pela solidariedade, compreensão e por ter aceitado ser meu orientador, obrigado.

À Profa.Dra. Marília Cerqueira Leite Seelaender pela colaboração e vontade de ajudar os órfãos do professor GG.

Ao Prof. Dr. Carlos Ugrinowitsch pela contribuição e por estar sempre solidário aos alunos.

Ao Prof. Dr. Valmor Tricolli pelos questionamentos e pelas valiosas sugestões.

Prof. Dr. Miguel B Jr pela indispensável e generosa ajuda.

Aos meus amigos da EEFE-USP que sempre me apoiaram.

A todos os membros do eterno Laboratório de Metabolismo, saudades.

A todos os ciclistas participantes, obrigado pela contribuição e pela paciência.

À FAPESP- Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo auxílio Financeiro.

## RESUMO

Souza HAC. Indicadores de lesão muscular e inflamação em ciclistas de elite em diferentes situações competitivas. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2007.

O propósito deste estudo foi o investigar o efeito de diferentes competições de ciclismo de estrada e de um período de descanso de 20 dias nos indicadores de lesão muscular Creatina Kinase (CK) e Lactato Desidrogenase (LDH), nos mediadores inflamatórios Interleucina-1 (IL-1), Interleucina-6 (IL-6), Fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) e prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) e na razão Glutamina/Glutamato (Gln/Glu) que é um indicador de tolerância ao treinamento. Para testar este fenômeno, foram utilizados 12 ciclistas profissionais (idade  $23.9 \pm 2.1$ , massa corporal  $70.7 \pm 2.1$  kg, VO<sub>2max</sub>  $69-75$  mL.kg<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>) que completaram 3 diferentes competições de ciclismo de estrada. A primeira e a terceira (C1 e C3) foram 2 competições de uma 1 etapa, com duração de média de 2 horas, realizadas em circuito e em terreno plano. A segunda competição foi uma volta ciclística (C2), realizada ao longo de uma semana. Duas análises foram feitas ao longo do período competitivo (C1 e C2) e uma após um período de descanso de 20 dias (C3). Foram coletadas amostras de sangue 24 horas antes do início e 24 horas após o término de cada competição. Não observamos diferenças significativas para nenhum dos mediadores inflamatórios (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  e PGE<sub>2</sub>;  $p < 0,05$ ). Aumentos ( $p < 0,05$ ) foram encontrados após o término da C2 ( $161,0 \pm 35$  U/l x  $257,2 \pm 29^*$  U/l) e da C3 ( $149,7 \pm 35$  U/l x  $291,3 \pm 16^*$  U/l) para Creatina Quinase, na C2 ( $168,5 \pm 31$  U/l x  $229,8 \pm 40^*$  U/l) e na C3 ( $186,4 \pm 18$  U/l x  $267,3 \pm 32^*$  U/l) para Lactato Desidrogenase e diminuição ( $p < 0,05$ ) na razão Gln/Glu ( $4,2 \pm 0,7$  x  $2,7 \pm 0,4^*$ ) na C3. A conclusão do trabalho foi a de que lesões musculares são diagnosticadas em ciclistas profissionais de estrada 24 horas após o término de uma volta ciclística e de uma competição de 1 etapa precedida por um período de descanso, porém este fenômeno não acontece quando não existe o período de descanso.

Palavras-chave: Lesões musculares, inflamação, ciclismo de estrada, citocinas, gluamina, glutamato, exercício físico.

## ABSTRACT

Souza HAC. Muscle Damage and inflammatory mediators in road cyclists following different road cycling races. São Paulo: Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, SP, Brazil.; 2007.

The main objective of this research was to observe the effect of different road cycling competitions and a 20 days break period in the ratio of muscular damages Creatine Kinase (CK) and Lactate Dehydrogenase (LDH), and the inflammatory mediators Interleukin-1(IL-1), Interleukin-6 (IL-6), Factor necrosis tumoral-alpha (TNF- $\alpha$ ) and prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) and the ratio of Glutamine/Glutamate (Gln/Glu) which is an index of training tolerance were evaluated. In order to analyze this phenomenon tests were conducted with a sample of 12 professional cyclists (age of  $23.9 \pm 2.1$ , weight of  $70.7 \pm 2.1$  kg, VO<sub>2</sub>max  $69-75$  mL.kg<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>) that have completed 3 different road cycling competitions. The first and third ones (C1 and C3) were mass start races during on average 2 hours each in a circuit and flat journey. The second one was a stage racing (C2), which had taken one week to be completed. Two analyses were made during the competition period (C1 and C2) and one after a 20 days break period (C3). Blood samples were collected 24 hours before and 24 hours after each competition. There were no significant differences for the inflammatory mediators (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  and PGE<sub>2</sub>;  $p < 0,05$ ). Increases ( $p < 0,05$ ) were detected after the end of C2 ( $161,0 \pm 35$  U/l x  $257,2 \pm 29^*$  U/l) and C3 ( $149,7 \pm 35$  U/l x  $291,3 \pm 16^*$  U/l) for Creatine Kinase, in C2 ( $168,5 \pm 31$  U/l x  $229,8 \pm 40^*$  U/l) and in C3 ( $186,4 \pm 18$  U/l x  $267,3 \pm 32^*$  U/l) for Lactate Dehydrogenase and low ( $p < 0,05$ ) in the ratio of Gln/Glu ( $4,2 \pm 0,7$  x  $2,7 \pm 0,4^*$ ) in C3. The conclusion of the research was that muscular damages are diagnostified in professional road cyclists 24 hours after the end of the stage racing and after mass start competition preceded by a 20 days break period, however this is not true for the mass start race without the 20 days break period.

Key words: Muscle Damage, inflammation, road cycling, cytokines, glutamine, glutamate, physical exercise.

## **LISTA DE ILUSTRAÇÕES**

<b>Figura 1</b> - Período e ordem que as coletas foram realizadas ao longo do macrociclo anual de treinos e competições dos ciclistas.....	38
--	----

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Características das competições de 1 etapa realizadas em terreno plano.....38
- Tabela 2** - Características da volta ciclística realizada em terreno misto e com 7 dias de duração.....39
- Tabela 3** – Efeito das diferentes competições de ciclismo de estrada sobre a atividade das enzimas CK e LDH.....44
- Tabela 4** – Efeito das diferentes competições de ciclismo de estrada sobre os mediadores inflamatórios: IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  e PGE<sub>2</sub>.....45
- Tabela 5** - Efeito das diferentes competições de ciclismo de estrada sobre a concentração plasmática de glutamina, glutamato e a razão Gln/Glu.....46



## LISTA DE ABREVIATURAS

ADP:	Adenosina Difosfato
ANOVA:	Análise de Variância
C1:	Competição 1
C2:	Competição 2
C3:	Competição 3
CK:	Creatina Quinase
Elisa:	Enzyme-linked immunoabsorbent assay
EROS:	Espécies Reativas de Oxigênio
GDH:	Glutamina Desidrogenase
Gln	Glutamina
Glu:	Glutamato
Gln/Glu:	Razão Glutamina/Glutamato
IL-1:	Interleucina-1
IL-1RA:	Receptor antagonista da interleucina1
IL-6:	Interleucina-6
Km:	Quilometro
LDH:	Lactato Desidrogenase
NAD:	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo
NADH:	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Reduzida
PBS:	Tampão Salina Fosfato
PGE <sub>2</sub> :	Prostaglandina E <sub>2</sub>
RM:	Repetições máximas
SNC:	Sistema Nervoso Central
SPSS:	Statistical Package for the Social Sciences
TNF:	Fator de Necrose Tumoral
VC:	Volta Ciclística
VO <sub>2</sub> máx:	Consumo máximo de oxigênio

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	15
2.1 OBJETIVOS GERAIS.....	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	16
3.1 O CICLISMO DE ESTRADA.....	16
3.2 LESÃO MUSCULAR DECORRENTE DO EXERCÍCIO FÍSICO.....	18
3.3 INFLAMAÇÃO TECIDUAL.....	21
3.4 MEDIADORES INFLAMATÓRIOS.....	22
3.4.1 CITOCINAS PRÓ-INFLAMATÓRIAS.....	24
3.4.2 INTERLEUCINA-6.....	26
3.4.3 INTERLEUCINA-1.....	27
3.4.4 TNF- $\alpha$ .....	29
3.4.5 PROSTAGLANDINA E <sub>2</sub> .....	30
3.5 EXERCÍCIO FÍSICO E A RAZÃO GLUTAMINA/GLUTAMATO.....	32
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	34
4.1 SUJEITOS.....	34
4.2 DESENHO EXPERIMENTAL.....	34
4.3 AS COMPETIÇÕES.....	35
4.4 COLETAS.....	36
4.5 DOSAGENS BIOQUÍMICAS.....	37
4.5.1 LACTATO DESIDROGENASE.....	37
4.5.2 CREATINA QUINASE TOTAL.....	38
4.5.3 GLUTAMINA.....	38
4.5.4 GLUTAMATO.....	39
4.5.5 MEDIADORES INFLAMATÓRIOS.....	39
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	40

<b>5 RESULTADOS</b> .....	41
5.1 INDICADORES DE LESÃO MUSCULAR.....	41
5.2 MEDIADORES INFLAMATÓRIOS.....	42
5.3 GLUTAMINA, GLUTAMATO E RAZÃO GLN/GLU.....	42
5.4 DISCUSSÃO.....	43
<b>6 CONCLUSÕES</b> .....	50
<b>REFERENCIAS</b> .....	51

## 1 INTRODUÇÃO

As respostas dos sistemas biológicos a agentes estressores representam um mecanismo evolutivo conservado de adaptação, da qual as células respondem e se defendem contra mudanças abruptas e adversas do meio ambiente (Welch, 1992). Os trabalhos precursores sobre a adaptabilidade do organismo humano a condição de sobrecarga, há muito tempo, são objetos de estudo e alguns dos seus pressupostos formulados são (Goldstein e Kopin, 2007):

- Agentes indutores de estresse, qualitativamente diferentes, mas de igual toxicidade (ou “potencial estressor”) não induzem exatamente a mesma resposta biológica;
- O mesmo grau de estresse, induzido pelo mesmo agente estressor, pode produzir respostas diferentes em populações distintas (efeito específico).

Neste sentido, surge a importância de se estudar o exercício físico nas suas diversas formas, considerando as particularidades de cada modalidade esportiva e as características dos grupos praticantes (Astrand, 1992).

O ciclismo profissional de estrada não é diferente e, portanto, deve ser estudado e compreendido de maneira específica. Dentre as muitas características desta modalidade, podemos destacar a grande quantidade de competições que os atletas profissionais participam ao longo de um macrociclo anual e a diversidade das competições (Mujica e Padilla, 2001).

Padilla et al. (2000) pesquisaram diferentes tipos de competições de ciclismo de estrada e verificaram que a intensidade das competições é fortemente alterada de acordo com o tipo de terreno (plano, montanhoso ou misto) e a duração de cada competição. Esses pesquisadores também afirmaram que as competições realizadas em mais de uma etapa, diferem das competições de etapa única em relação à intensidade de esforço.

Outro importante aspecto relacionado ao ciclismo de estrada se refere a extensão do calendário de competições. Nos Estados Unidos pode chegar a cerca de 8 meses (Atkinson et al., 2003) e no Brasil a aproximadamente 11 meses (Confederação Brasileira de Ciclismo). As condições climáticas influenciam no

tamanho deste período, pois em alguns países do norte europeu, onde o clima frio predomina durante grande parte do ano, é de aproximadamente 6 meses.

No atual cenário esportivo mundial do ciclismo de estrada, onde os novos modelos de treinamento visam promover picos de desempenho em várias competições ao longo de uma temporada, em função dos elevados valores de premiações e demais interesses comerciais envolvidos, cada vez mais se ressalta a importância do conhecimento da sobrecarga que cada competição proporciona à musculatura esquelética.

O diagnóstico precoce correto dessa sobrecarga é uma das primeiras informações que deve chegar ao departamento técnico, para uma avaliação das interferências no desempenho esportivo do atleta e, muitas vezes, no resultado financeiro da competição (Lopes, 1993).

Embora a participação em competições de ciclismo de estrada seja algo pré-programado pelos atletas e técnicos, a possibilidade do surgimento de lesões musculares é eminente, sendo que o seu diagnóstico ainda é objeto de estudo (Apple et al., 1988). O atleta lesionado além de diminuir a tolerância ao esforço tem que parar suas atividades, sendo que o tempo de recuperação das lesões, dependendo do seu grau, muitas vezes também é extenso.

Uma hipótese recente propõe que o iniciador de um quadro de diminuição do rendimento esportivo associado às lesões musculares seria uma progressão do estágio benigno dos micro-traumas adaptativos na musculatura esquelética e articulações para um estágio de dano sub-clínico no atleta submetido a esforços intensos com pouco tempo de recuperação; ou, numa circunstância de reinício de treinamento antes de recuperação total de um dano crônico, sendo que esta situação poderia exacerbar o dano inicial (Smith, 2000; Smith, 2004). De acordo com esta proposta, a inflamação aguda local em resposta aos traumas se tornaria crônica, e as citocinas liberadas durante esse processo ativariam monócitos circulantes a produzirem mais citocinas pró-inflamatórias, que resultariam num processo inflamatório sistêmico.

Empiricamente ou até por necessidades específicas do ciclismo de estrada, atletas e técnicos adotam períodos de descanso sem a prática de qualquer

atividade física de até 4 semanas, sendo que após este período é comum os atletas retornarem às competições como forma de readquirir um melhor condicionamento físico. Este comportamento difere dos conceitos descritos na literatura esportiva especializada nas bases teóricas do treinamento esportivo, que caracteriza o período entre os macrociclos de competições como de recuperação física e psicológica, onde os atletas praticam atividades físicas diversificadas (Zatsiorsky, 1999).

A partir disso, entender as particularidades do ciclismo de estrada em relação à sobrecarga existente nas diferentes competições, o surgimento de lesões musculares e processos inflamatórios, além do período de descanso tornam-se um grande objeto de estudo.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVOS GERAIS

Verificar se uma volta ciclística e 2 competições de uma etapa foram capazes de provocar lesões musculares, processos inflamatórios e alterar a razão Gln/Gln no pós-exercício.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar a existência de lesão muscular através do aumento da CK e da LDH 24 horas após o término de uma volta ciclística e de duas competições de 1 etapa;
- Verificar a existência de lesão muscular através do aumento da CK e da LDH 24 horas após o término de uma competição de uma etapa posterior a um período de descanso de 20 dias;
- Verificar a resposta inflamatória 24 horas após o término de uma volta ciclística e de uma competição de 1 etapa, através da concentração da PGE<sub>2</sub> e das citocinas IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$ ;
- Verificar a resposta inflamatória 24 horas após o término de uma competição de 1 etapa, posterior a um período de descanso de 20 dias, através da concentração da PGE<sub>2</sub> e das citocinas IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$ ;
- Verificar se a razão Gln/glu é alterada 24 horas após o término de uma volta ciclista e uma competição de uma etapa;
- Verificar se a razão Gln/Glu é alterada 24 horas após o término de uma competição de uma etapa posterior a um período de 20 dias de descanso;

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 O CICLISMO DE ESTRADA

O ciclismo é composto de uma grande variedade de competições com características distintas, desde provas de estrada, até provas de velódromo, passando pelo mountain bike e outras modalidades (Jeukendrup et al., 2000).

Em termos esportivos, o ciclismo é considerado uma das mais duras e complexas modalidades esportivas, além disso, é escasso de informações científicas relacionadas às competições. Inúmeros fatores técnicos, médicos, fisiológicos, tecnológicos e ambientais interrelacionam-se quando se busca compreender as adaptações e as demandas características desta modalidade (Mujika e Padilla, 2001).

A evolução nas provas de ciclismo vem sendo algo em torno de 0,5% a 1% ao ano, em termos de velocidade. Para isso, um ciclista leva cerca  $8 \pm 2$  anos para atingir o pico de rendimento esportivo, o que ocorre em média aos  $25 \pm 2$  anos de idade. Além disso, a rotina de treinamento desses atletas é de cerca de 5 horas diárias, para os profissionais, e a quilometragem percorrida ao longo de uma semana varia entre 700 a 1000 km (Jeukendrup et al., 2000).

De acordo com o órgão máximo que rege o ciclismo profissional, a União Ciclística Internacional, as competições são divididas em: Grandes voltas ciclísticas (3 semanas de duração), as voltas ciclísticas menores (4 a 10 dias de duração) e as competições de 1 etapa (Campeonato mundial, jogos olímpicos e os campeonatos nacionais (Mujika e Padilla, 2001).

Durante as competições de ciclismo de estrada há a interferência de muitas variáveis, não controláveis, que podem interferir no rendimento esportivo, tais como a altitude, as condições climáticas, a direção do vento e as estratégias táticas de competição das equipes concorrentes. É possível generalizar que nas grandes voltas ciclísticas são encontradas todas essas situações e as principais exigências necessárias para o desempenho em competições de ciclismo de estrada.



As grandes voltas ciclísticas como o Tour the France são compostas por etapas de longa e de curta duração, percorridas em grandes pelotões (grande número de ciclistas pedalando em conjunto e formando um grande bloco) ou individualmente (etapas contra o relógio), praticadas em terrenos planos, mistos (variação entre trechos planos, subidas e descidas) e etapas predominantemente em longas subidas (Noakes, 2006).

As voltas ciclísticas menores não obedecem necessariamente o mesmo padrão das grandes voltas ciclísticas. Elas são realizadas em terreno predominantemente plano, misto ou a combinação desses, além de não apresentarem obrigatoriedade de possuírem etapas contra o relógio individual ou por equipes (Lucia, 2000).

Nas competições realizadas em terreno plano geralmente é formado um grupo compacto de cerca de 150 a 200 ciclistas onde a resistência do ar é drasticamente aumentada para os atletas que permanecem à frente deste grupo. Como consequência, a energia necessária para completar o mesmo percurso pode ser reduzida em até 40%, tornando a intensidade média do esforço entre leve e moderada (Lucia, 2001).

Os longos trechos percorridos em montanha também são decisivos para o resultado final de uma volta ciclística. Algumas dessas etapas são compostas por longas subidas com duração de até 60 minutos. Neste tipo de terreno a força da gravidade e a massa corporal exercem papel importante no desempenho esportivo (Jeukendrup, 2000).

A razão entre a carga máxima (Watts) durante a realização de um teste de consumo máximo de oxigênio e a massa corporal (Kg) do ciclista é um bom indicativo do potencial de desempenho que o atleta pode obter durante as subidas (Lucia, 2000). Atletas que apresentam esta razão acima de 6,0 apresentam maior predisposição a obterem bons resultados em terrenos montanhosos.

Outro tipo de competição de ciclismo de estrada são as etapas contra o relógio que podem ser curtas (5 a 10 km), médias (10 a 40 km) ou longas (40 a 60 km). O bom desempenho nestas etapas é extremamente importante para o resultado final de uma volta ciclística. Neste tipo de prova, a resistência do ar e o

tipo de terreno são os principais obstáculos dos competidores, por isso, características antropométricas e a posição aerodinâmica do ciclista durante o evento tornam-se extremamente importantes (Lucia, 2001).

### 3.2 LESÃO MUSCULAR DECORRENTE DO EXERCÍCIO FÍSICO

A situação ideal para que um atleta consiga a melhoria do rendimento esportivo é a realização de forma equilibrada das cargas de treinamento juntamente com os respectivos períodos de recuperação. Quando as cargas são demasiadamente intensas e o período de recuperação é insuficiente, os benefícios proporcionados pela prática do treinamento físico não acontecem e há a possibilidade do surgimento de lesões musculares (Hug et al., 2006).

As lesões musculares dos esportistas continua sendo um tema atualizado e de grande interesse de especialistas que têm responsabilidade de manter em excelentes condições a estrutura osteomioarticular dos atletas, possibilitando assim um melhor rendimento esportivo.

Recentemente, as estratégias de treinamento estão se desenvolvendo e a utilização de técnicas e metodologias inadequadas muitas vezes ainda estão presentes, são muitos os erros de frequência, de intensidade, de volume, de periodicidade, além de um calendário repleto de competições que podem levar à grande sobrecarga com conseqüente surgimento de lesões musculares (Hug et al., 2006).

Os métodos utilizados para análise da lesão muscular induzida pelo exercício físico, podem ser efetuados através de medidas diretas e indiretas. Os métodos diretos são realizados através das análises de amostras do músculo ou de imagens por técnica de ressonância magnética. Já os métodos indiretos são obtidos principalmente por meio do registro de valores de ação voluntária máxima, aquisição de respostas subjetivas de dor (através de escalas de percepção) e análise das concentrações de proteínas musculares e mioglobina no sangue (Prasartwuth, 2006).

O surgimento de proteínas musculares na corrente sanguínea, em decorrência do exercício físico é objeto de estudo, há muito tempo, e considerado um indicativo de lesões às fibras musculares (Tricoli, 2001).

Durante o exercício físico repetitivo de longa duração e de intensidade entre moderada e alta (igual ou superior a 75% do  $VO_2$  máximo) é postulado o aparecimento de lesão nas células musculares em termos de ruptura das fibras contráteis e dos componentes do citoesqueleto, perda de desmina, aumento da permeabilidade da membrana plasmática e aumento de proteínas musculares no plasma, particularmente a Creatina Quinase (CK) e Lactato Desidrogenase (LDH). O exercício físico esporádico também induz alterações estruturais, ultra-estruturais e bioquímicas de caráter focalizado e reversível (Hartmann e Mester, 2000).

Medidas das concentrações sanguíneas de CK e LDH são frequentemente citadas em diversos trabalhos que se referem às lesões às fibras musculares (Tricoli, 2001). A CK é considerada o melhor indicador, pois esta enzima é localizada, na sua maior parte, no tecido muscular esquelético e no músculo cardíaco. (Brown, 1997; Nosaka, 1995).

O mecanismo que explica o aumento dessas enzimas no sangue esta relacionado ao estresse causado pelo exercício, aumentando a permeabilidade da membrana celular e favorecendo o extravasamento destas proteínas, que se encontram especificamente dentro dos músculos, para o plasma.

A CK possui quatro isoenzimas. A CK-MM esta presente nos músculos esqueléticos e cardíaco, a CK-BB esta presente no cérebro, e a CK-MB que é encontrada principalmente no coração. A quarta isoenzima é a CK-Mt que é uma isoenzima mitocondrial que responde por até 15% da atividade da CK cardíaca (Lieber e Fridén, 1993).

A LDH, também utilizada como indicador de lesão muscular, é uma enzima presente em vários tecidos, em particular no músculo esquelético, músculo cardíaco, fígado e eritrócitos, mas também nos rins, ossos e pulmões. Existem cinco isoenzimas conhecidas, que não são comumente analisadas nos laboratórios, isoladamente. Esta enzima não é específica para nenhum órgão. (Hartmann e Mester, 2000).

Lesões musculares de etiologias variadas podem estar relacionadas ao aumento da LDH. Normalmente a LDH aumenta menos rapidamente que a CK, mas também mantém os valores elevados por mais tempo (Hartmann e Mester, 2000). Vale ressaltar que esse comportamento também está associado a forma com que o exercício físico é executado.

Lieber e Fridén (1993) descreveram a importância de se estudar a tensão exercida sobre as fibras musculares de acordo com o tipo de exercício físico, comparando o trabalho os trabalhos realizados de forma excêntrica, isométrica e concêntrica.

Barbosa et al. (2003) submeteram um grupos diferentes de voluntários a dois tipos de exercícios físicos com características distintas, sendo o primeiro executado de forma concêntrica e outro de maneira excêntrica. Esses pesquisadores verificaram que a concentração sanguínea de CK aumentou após os dois trabalhos, mas a CK permaneceu elevada em maior concentração após o exercício excêntrico. Esses pesquisadores concluíram que os dois tipos de exercício podem causar lesões musculares.

Noakes et al. (1983), após análise das isoenzimas da CK, afirmaram que a principal fonte contribuinte para o aumento desta enzima no pós-exercício é o músculo esquelético.

Apesar de todo o conhecimento sobre a atividade da CK e da LDH em eventos de longa duração, poucos foram os trabalhos que verificaram esses marcadores em competições com mais de um dia de duração. Fallon et al. (1999) verificaram que a CK e a LDH aumentam de maneira significativa durante e se mantém elevada após o término de uma corrida com onze dias de duração.

Competições com mais de um dia de duração são comuns no ciclismo de estrada, as voltas ciclísticas. Apesar de serem muito praticadas, estudos que investigaram a sobrecarga proporcionada por estas competições são escassos, principalmente em relação aos indicadores de lesão muscular. Fell et al. (2006) investigaram ciclistas bem treinados que executaram 3 testes máximos de 30 minutos em cicloergômetro, por 3 dias consecutivos e verificaram que o aumento da CK ocorreu após o segundo dia de testes. Após estes resultados, restou a

dúvida destes pesquisadores se esta situação poderia ser transportada para o ambiente competitivo profissional, pois a duração das competições, as condições externas (vento, temperatura, umidade, tipo de terreno) e a população estudada podem contribuir para que os resultados se encontrem diferentes em ciclistas profissionais.

O potencial que as diferentes competições de ciclismo de estrada têm em relacionar-se com o surgimento de lesões musculares ainda é objeto de estudo, principalmente no ambiente competitivo profissional.

### 3.3 INFLAMAÇÃO TECIDUAL

A inflamação ou processo inflamatório é uma resposta dos organismos vivos homeotérmicos a uma agressão sofrida. Entende-se como agressão qualquer processo capaz de causar lesão celular ou tecidual. Esta resposta padrão é comum a vários tipos de tecidos e é mediada por diversas substâncias produzidas pelas tecidos danificados e células do sistema imune que se encontram eventualmente nas proximidades da lesão (Vinay et al., 2005).

O exercício vigoroso pode induzir lesão celular com conseqüente inflamação no músculo esquelético tanto em humanos quanto em animais (Tricoli, 2001). A intensidade com que esse quadro se instala depende do tipo, duração e intensidade do esforço, assim como, o tipo de contração muscular (Smith e Miles, 1999). O surgimento desse processo inflamatório representa uma resposta generalizada do organismo a qualquer dano aos tecidos, provocado por uma grande variedade de estímulos químicos e/ou mecânicos (Malm, 2001).

Embora a inflamação associada ao exercício físico esteja fortemente ligada à lesão tecidual, tornando a extensão do processo inflamatório dependente da magnitude da lesão muscular, certos aspectos estão intimamente associados às funções vitais de defesa do tecido, sendo que, neste contexto, as evidências experimentais mostraram que em resposta a este fato instala-se um processo inflamatório agudo, que ao seu final tem a função de promover a regeneração do tecido normal (Malm, 2001).

Os eventos locais da inflamação podem ser divididos em vasculares e celulares, sendo que os mediadores que modificam estes são derivados do sangue e das células (Smith e Miles, 1999).

A resposta inflamatória, decorrente do exercício físico, é uma resposta muito bem elaborada e sincronizada, com grande capacidade de amplificação em cada passo visando o movimento de fluídos, proteínas plasmáticas e de leucócitos da circulação para o local lesionado (diapedese) e ativação das células do sistema imunitário (Smith e Miles, 1999). Para isso, ocorre vasodilatação periférica e aumento da permeabilidade vascular. A migração de leucócitos (neutrófilos e monócitos ativados) para o local da inflamação induz acúmulo de plasma no espaço intersticial, desencadeando o edema (Fehrenbach e Schneider, 2006).

Alguns autores acreditam que quando a causa do processo inflamatório for o exercício aeróbio de longa duração, os mecanismos responsáveis pela sua instalação serão diferentes, por exemplo, de quando a origem for um trauma. Nesta situação o estresse mecânico, a isquemia local e a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) na musculatura esquelética, principalmente após o exercício de alta intensidade seriam os responsáveis pelo surgimento do processo inflamatório no pós exercício (Venkatraman et al., 2001).

A inflamação é uma condição que se não for tratada através de um processo que permita a recuperação completa do organismo, pode progredir, tornar-se crônica, indesejável e impedir a melhoria do rendimento físico do atleta (Smith e Miles, 1999).

### 3.4 MEDIADORES INFLAMATÓRIOS

É grande o interesse da comunidade científica a cerca do processo inflamatório e o seu papel em resposta ao exercício, particularmente a resposta de mediadores inflamatórios aos diferentes tipos de exercício físico (Smith, 2004). King et al. (2003) realizaram um estudo analisando diferentes modalidades

esportivas e verificaram que algumas formas de exercício estão associadas com a menor elevação desses mediadores.

Componentes da resposta inflamatória, dependentes ou independentes do sistema imune, são ativados em resposta ao trauma, exercício físico e infecções (Moldoveanu et al., 2001).

A produção de mediadores inflamatórios aumenta como consequência de um estímulo inflamatório e pode apresentar uma resposta transitória ou prolongada. Como o exercício físico é um modelo gerador de estresse capaz de provocar uma resposta inflamatória, a potencialidade com que esses mediadores se apresentarão dependerá do tipo de exercício físico e do seu modo de execução (Moldoveanu et al., 2001).

É possível dividir a resposta do organismo ao exercício físico, em função da intensidade e duração do exercício, em resposta aguda, considerada transitória, e em resposta de adaptação crônica para praticantes mais regulares, embora nem sempre esteja bem definido os limites para estas duas situações. Ambas podem alterar a resposta de mediadores da resposta inflamatória e imunitária intervindo nomeadamente em neutrófilos, macrófagos, células NK, linfócitos T e B, proteínas de fase aguda, sistema complemento, proteases, imunoglobulinas e citocinas (Todo-Bom e Pinto, 2007).

As citocinas são mediadores inflamatórios protéicos produzidos por células sanguíneas e de outros tecidos, como linfócitos, macrófagos, células endoteliais, fibroblastos, células da microglia, astrócitos e células musculares (Lowry, 1993).

A resposta inflamatória habitualmente é controlada por mediadores inflamatórios como as citocinas pró-inflamatórias e antiinflamatórias. Algumas das citocinas que fazem parte do processo pró-inflamatório são o TNF- $\alpha$ , a IL-1 e a IL-6, que funcionam como mediadores endógenos do sistema imune. As citocinas estão amplamente envolvidas na resposta inflamatória, exercendo efeitos locais e sistêmicos (Lowry, 1993).

### 3.4.1 CITOCINAS PRÓ-INFLAMATÓRIAS

As citocinas podem ser definidas como moléculas peptídicas glicosadas, envolvidas na comunicação entre as células e que são produzidas por diversas células do nosso organismo, como as células do sistema imunológico (Turnbull e River, 1995).

O aparecimento de citocinas pró-inflamatórias IL-1 e IL-6 e TNF- $\alpha$ , juntamente com o edema muscular e a sensação de dor muscular tardia, indica que o exercício causa inflamação muscular especialmente se for realizado de forma intensa, prolongada e/ou envolver forte contração excêntrica (Malm, 2001).

Coletivamente as citocinas são responsáveis pela coordenação local e sistêmica dos vários tipos celulares envolvidos na inflamação, tais como leucócitos, células progenitoras, células endoteliais e os hepatócitos. As citocinas podem ter atividade pró-inflamatória ou antiinflamatória e estão envolvidas na amplificação de várias vias do processo inflamatório como, por exemplo, a síntese hepática de proteínas de fase aguda (Smith, 2004).

A síntese dessas proteínas citocinas representa um aspecto crucial da resposta inflamatória, pois são elas que ajudam a conter a amplificação potencialmente letal da inflamação. Atuam no reparo tecidual e servem como agentes protetores do dano excessivo resultante do evento inflamatório ocasionado pelas enzimas catabólicas e espécies reativas de oxigênio (EROs) liberadas pelas células fagocitárias (Fehrenbach e Schneider, 2006).

As citocinas não são armazenadas em sua forma completa, são sintetizadas em resposta ao estímulo inflamatório e as diversas formas de estresse. Durante o exercício, a produção das citocinas pode ser afetada pelo tipo de atividade, bem como sua intensidade e duração, além da massa muscular envolvida e o estado nutricional do indivíduo (Turnbull e River, 1995).

De acordo com Moldoveanu et al. (2001), a concentração plasmática de citocinas tem maior aumento após sessões de treinamento com predominância do componente excêntrico, entretanto, aquelas sessões com predominância do



componente concêntrico também induzem a produção de citocinas. Além disso, a magnitude do aumento na concentração plasmática destas substâncias esta intimamente ligada à duração do exercício (Moldoveanu et al., 2001).

Estudos examinando a produção de citocinas no contexto de exercícios de longa duração são mais comuns, mas o efeito crônico nas diversas fases do treinamento ainda é objeto de estudo (Moldoveanu et al., 2001).

As três citocinas que estão mais bem caracterizadas como reguladoras da reação de fase aguda de um processo inflamatório são a IL-1 (interleucina 1), TNF- $\alpha$  (Fator de necrose tumoral alfa) e IL-6 (interleucina 6) (Steinacker et al., 2003; Todo-Bom e Pinto, 2007).

No que diz respeito às citocinas pró-inflamatórias e exercício físico, têm sido observado padrões de resposta contraditórios. A IL-1 pode aumentar no plasma após o término do exercício de corrida e de ciclismo executados a 70% do  $VO_2$ máx, mas também pode apresentar comportamentos diferentes como diminuição após uma competição de triatlon ou a não apresentar mudanças significativas em sua concentração após um exercício máximo em cicloergômetro (Moldoveanu et al., 2001).

Assim como na IL-1 muitos estudos mostraram respostas diferentes para a IL-6. Logo após o término de uma competição de ciclismo de estrada com duração de 6 horas e de um triatlon olímpico, há um aumento significativo da IL-6, porém um exercício em cicloergômetro executado a 90% do  $VO_2$  máx ou 45 minutos de um exercício realizado em circuito na intensidade que variou entre 60 e 70% de um 1 RM não apresentou mudanças significativas na IL-6 após o seu término (Moldoveanu et al., 2001).

Com o TNF- $\alpha$  o comportamento não foi diferente, há estudos que mostraram aumento, diminuição e que não apresentaram mudanças significativas. Suzuki et al. (1999) encontram aumentos na concentração plasmática desta citocina após a pratica competitiva de uma maratona realizada em 2,5 horas, em contrapartida. Rokitzki et al. (1994) não relataram mudanças significativas após o término de uma competição de maratona. Já Brenner et al. (1999) relataram

aumento do TNF- $\alpha$ , com o pico ocorrendo 72 horas após o término de uma competição de corrida que teve a duração de 6 horas.

Com isso, fica evidente a necessidade de se estudar o exercício físico respeitando as diferentes formas como ele é praticado, seja ele executado de maneira regular ou através de competições.

### 3.4.2 INTERLEUCINA-6

A IL-6 é uma citocina secretada por células linfóides e não linfóides, incluindo células T e B, e uma variedade de células não linfóides como macrófagos, células do estroma da medula óssea, fibroblastos, queratinócitos, astrócitos, células endoteliais e células do tecido muscular esquelético (Moldoveanu et al., 2001). Durante a inflamação, a IL-6 pode ser produzida em quantidades significativas por monócitos, macrófagos, células endoteliais, fibroblastos bem como por células de Kupffer (Pedersen e Fischer, 2007).

A atividade física geralmente causa um forte aumento na concentração plasmática de IL-6, particularmente na população adulta. A magnitude da resposta depende da duração e/ou intensidade do esforço. Se o exercício for de intensidade leve a concentração plasmática de IL-6 costuma se normalizar cerca de 6 horas ou menos após o término da atividade (Smith et al., 2007). Há um conflito na literatura sobre as conclusões a cerca do aumento ou diminuição da IL-6 em resposta às diferentes formas de exercício físico com variações no volume e intensidade. Moldoveanu et al. (2001) descreveram diversos trabalhos que verificaram que o aumento da IL-6 logo após o exercício físico em diferentes situações como: 5 minutos em cicloergômetro, executado a 90% do consumo, 4 x 10 repetições executadas de forma excêntrica com intensidade de 100% de 1RM e até após uma corrida de maratona. Desses trabalhos, somente o exercício excêntrico foi capaz de manter elevada a concentração de IL-6 48 horas após o término do exercício.

Alguns estudos, entretanto, demonstraram um papel antiinflamatório da IL-6, sugerindo que a IL-6 produzida localmente durante uma contração muscular estaria positivamente correlacionada com a intensidade de trabalho do músculo e com o consumo de glicose (Febbraio e Pedersen, 2002; Pedersen et al., 2003). Parecem paradoxos esses achados acerca de um papel positivo da IL-6, quando constatado com o pró-inflamatório citado anteriormente. Uma das possíveis explicações seria a de que a IL-6 derivada da contração muscular representasse uma isoforma da IL-6 produzida pelas células inflamatórias (Pedersen et al., 2001)

Gannon et al. (1997) relataram aumentos acentuados na IL-6 nos momentos 10, 25 e 150 minutos após o término de uma competição de ciclismo de estrada com duração de aproximadamente de 6 horas. Já Scharhag et al. (2005) verificaram que a IL-6 aumentou significativamente após a prática de 4 horas de ciclismo de estrada em intensidade moderada (70%  $VO_2$  máx), porém esse aumento foi observado somente após as primeiras horas do término da competição, restando saber se esses valores permaneceriam por um período maior.

### 3.4.3 INTERLEUCINA-1

As citocinas a IL-1 e o TNF- $\alpha$ , liberadas no início da fase aguda pelo estímulo dos macrófagos e monócitos, provocam a liberação de mais citocinas, com destaque para a IL-6 que induz à síntese de proteínas e a resposta de defesa orgânica (Moldoveanu et al., 2001).

A IL-1 foi a primeira citocina estudada no exercício físico e tem recebido grande atenção por parte dos pesquisadores, sendo importante para a iniciação e manutenção da resposta da fase aguda (Cannon et al., 1999).

A interleucina 1 (IL-1) é uma citocina com grande atividade inflamatória e está envolvida em várias manifestações clínicas em humanos. Existem três membros da família da IL-1: IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-1RA (antagonista do receptor). Dois tipos de receptores são encontrados nos humanos: tipo I (IL-1RI), que tem

capacidade de tradução do sinal da IL-1, e tipo II (IL-1RII) que não traduz o sinal da ligação da IL-1, comportando-se como um “depósito” da IL-1 $\beta$  (Dinarello, 1996; Dinarello, 1997). A IL-1 apresenta um importante envolvimento na resposta imune inata que regula as funções do sistema imune adaptativo. O equilíbrio entre a IL-1 e seu antagonista (IL-1RA) nos tecidos influencia o possível desenvolvimento de doenças inflamatórias resultando em lesão tecidual (Arend, 2002).

A IL-1 $\alpha$  e  $\beta$  atuam como pirógenos endógenos, juntamente com a IL-6 e TNF, agindo diretamente no hipotálamo ou indiretamente, levando o endotélio das regiões adjacentes ao centro regulador da temperatura no SNC a produzir PGE<sub>2</sub>, substância esta também desencadeadora de febre. Outros efeitos também estão relacionados com a IL-1 como: adesão endotelial de neutrófilos e/ou monócitos e aumento da atividade pró-coagulante com ativação do fator VIII e da trombina (Dinarello, 1996; Dinarello, 1997).

A IL-1 é considerada uma citocina pró-inflamatória de importância central para a iniciação e manutenção da resposta de fase aguda. Essa citocina estimula ainda o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal com conseqüente aumento dos níveis de glicocorticóides no sangue (Moldoveanu et al., 2001).

Segundo Cannon et al. (1991) o aumento da IL-1 no plasma também está associado à elevação do processo de proteólise muscular, que tem sido considerado uma resposta adaptativa normal devido aos microtraumas induzidos pela atividade física intensa. Todavia, a proteólise excessiva pode ser prejudicial, assim sendo a IL-1 pode participar do processo de inflamação e reparação de tecidos, particularmente do músculo esquelético, após exercícios intensos que causam danos às células musculares (Cannon et al., 1991).

Moldoveanu et al. (2000) submeteram indivíduos a 3 horas de exercício físico divididas entre ciclismo e corrida. A intensidade do exercício foi de 60-65% do consumo máximo de oxigênio. Esses autores encontraram aumentos significativos na concentração plasmática de IL-1 sessenta minutos após o início do teste e também logo após o término do mesmo. Vinte e quatro horas após o término do teste, a concentração plasmática de IL-1 apresentou valores maiores do que os anteriores ao exercício.

Outro estudo que observou o aumento da IL-1 mesmo após o término do exercício físico foi o de Fielding et al. (1998) que submeteu um grupo de voluntários a um protocolo que constava de 3 séries de 15 repetições de um exercício executado de forma excêntrica e com intensidade correspondente a 65% de 1 repetição voluntária máxima. A concentração plasmática de IL-1 aumentou no pós-exercício e permaneceu por um período de 5 dias.

Os dois estudos citados anteriormente mostraram que diferentes tipos de exercícios podem apresentar respostas semelhantes para a IL-1, porém a magnitude desse comportamento e o seu significado fisiológico ainda é objeto de estudo. É possível encontrarmos estudos que apresentaram aumentos de 2,5 vezes até acima de 20 a concentração da IL-1 no pós-exercício (Moldoveanu, 2001).

#### 3.4.4 TNF- $\alpha$

O fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) é um mediador primário da ativação da resposta inflamatória. Esta interleucina é a primeira a ser produzida em processos inflamatórios, além de ser responsável pelo desencadeamento da cascata de ativação de outras citocinas como IL-1, IL-6, outros mediadores e o próprio TNF- $\alpha$ . Apresentam também ações regulatórias em vários tipos celulares como ativação de células endoteliais, estimulação de fibroblastos, agregação e adesão de neutrófilos e regulação da função de linfócitos T e B. Estes efeitos estão associados a determinadas doenças e seu prognóstico (Makhatadze, 1998).

O TNF- $\alpha$  ainda causar mudanças metabólicas que levam à perda do apetite e do peso, atua também na medula óssea estimulando a produção de leucócitos e, conseqüentemente, aumentando o seu volume de sangue. Essa citocina, juntamente com a IL-6, age no endotélio vascular, aumentando a síntese de proteínas de fase aguda (Bruunsgaard, 2005). A produção de TNF- $\alpha$  pode ser inibida pelo exercício físico, principalmente devido à ação inibitória da IL-6, quando produzida e liberada em elevadas quantidades no decorrer do mesmo.

O TNF- $\alpha$  exerce efeito em diversos tipos celulares, incluindo aqueles encontrados no local da inflamação, estimula a expressão de receptores na superfície celular de linfócitos, estimula a produção de citocinas, a proliferação de linfócitos, a liberação de substâncias de fase aguda, o catabolismo protéico e o aumento da temperatura corporal, atuando sinergisticamente à IL-1, como pirógeno endógeno (Janeway e Travers, 1996).

O aumento da concentração plasmática de TNF- $\alpha$  no repouso foi observado em 22 corredores de longa distância (Sprenger et al., 1992). Esses pesquisadores demonstraram a importante correlação entre a concentração plasmática de TNF- $\alpha$  e IL1 em indivíduos treinados em modalidades com predominância aeróbia, sugerindo que estas citocinas podem ser liberadas em resposta a vários tipos de estresse físico, inclusive com a instalação de um processo inflamatório.

Brenner et al. (1999) observaram um aumento na concentração plasmática de TNF- $\alpha$  após a realização de 3 diferentes tipos de exercício físico. Esses pesquisadores afirmaram que a magnitude do aumento desta citocina varia de acordo com o tipo de exercício, intensidade e duração do esforço. Além disso, esses pesquisadores demonstraram que após a execução de 2 horas de ciclismo entre 60-65 % do VO<sub>2</sub> máx, em cicloergômetro, há um aumento transitório da IL-6 nas primeiras 3 horas do pós-exercício com subsequente redução, diferentemente do TNF- $\alpha$  que aumentou vagarosamente e obteve um pico 72 horas após o término do exercício.

#### 3.4.5 PROSTAGLANDINA E<sub>2</sub>

A produção de prostaglandina E<sub>2</sub> aumenta na presença de um quadro inflamatório e por isso alguns pesquisadores acreditam que a diminuição na sua produção poderia amenizar as conseqüências do mesmo (Fruscella, 2001).

A prostaglandina E<sub>2</sub> é uma substância derivada do ácido araquidônico, um ácido graxo insaturado de 20 carbonos que contém 4 ligações duplas. Este é encontrado esterificado nos fosfolipídios da membrana, sendo que vários estímulos podem liberá-lo. Dentre esses estão a trombina nas plaquetas,

bradimicina em fibroblastos, reação antígeno-anticorpo em mastócitos, além da lesão tecidual, que desencadeia o processo (Suzuki et al., 2002).

A resposta inflamatória é sempre acompanhada da liberação de substâncias presentes em locais inflamatórios, sendo uma dessas substâncias a prostaglandina E<sub>2</sub>. Essa prostaglandina é um potente vasodilatador por si só e atua sinergicamente com outros vasodilatadores como a histamina e bradimicina (Suzuki et al., 2002).

A produção de PGE<sub>2</sub> ocorre nas células endoteliais do lúmen do capilar da barreira hematoencefálica por estímulo de citocinas, principalmente IL-1, IL-6 e o TNF- $\alpha$ ; há possibilidade de que alguns constituintes de agentes invasores induzam a formação direta de prostaglandinas sem o intermédio das citocinas (Suzuki et al., 2002).

Venkatraman et al. (2001), observaram o aumento da PGE<sub>2</sub> em uma investigação que utilizou sujeitos que praticaram corrida em esteira rolante. Neste estudo os sujeitos foram testados em diversas situações e nenhuma delas impediu o aumento da PGE<sub>2</sub> imediatamente após o exercício. Já Santos et al. (2004) foram além desses achados verificaram o aumento da PGE<sub>2</sub> 24 horas após uma corrida de 30 km. Para os dois grupos de pesquisa, o aumento da PGE<sub>2</sub> juntamente com aumento de enzimas musculares no sangue caracterizou um estado inflamatório decorrente da lesão muscular provocada pelo exercício físico. Vale lembrar que estes trabalhos foram realizados com corrida e que a mesma resposta pode não acontecer em outras modalidades onde a sobrecarga mecânica é menor, como no ciclismo de estrada.

Diferente dos resultados de Santos et al. (2004) foi o trabalho de Peake et al. (2005), que estudou o exercício físico de corrida, praticado em esteira rolante, executados em diferentes intensidades em terreno plano e sob um declive, que afirmaram que o aumento da PGE<sub>2</sub> no pós-exercício pode não estar relacionado às lesões musculares, mas a intensidade do exercício. Os resultados mostraram que a corrida em declive foi mais lesiva, no entanto esse fato não correspondeu com o aumento da PGE<sub>2</sub> que aumentou mais quando a intensidade do exercício foi maior.

### 3.5 EXERCÍCIO FÍSICO E A RAZÃO GLUTAMINA/GLUTAMATO

As variações na concentração plasmática de glutamina e do glutamato e sua resposta ao exercício foram estudadas por Smith e Norris (2000). Esses pesquisadores utilizaram a razão Glutamina/Glutamato (Gln/Glu) como indicativo de “tolerância ao esforço” em períodos de grande sobrecarga de treinos e/ou competições.

Posteriormente Halson et al. (2003) confirmaram esta hipótese e observaram a diminuição desta razão Gln/Glu após um mesociclo com cargas progressivas de treinamento.

Os mecanismos que explicam a diminuição na razão Gln/Glu ainda não são totalmente conhecidos, no entanto, associações são feitas aos quadros de grande catabolismo relacionados ao exercício (Kinscherf, 1996) ou patologias (Halson, 2003). Além disso, Smith e Norris (2000) atribuíram o aumento da concentração plasmática do glutamato aos períodos de treinamento de alta intensidade, enquanto que a diminuição na concentração plasmática de glutamina representaria o efeito do volume de treinamento.

À diminuição da razão Gln/Glu, é possível associarmos os períodos de grande sobrecarga de treinos e competições sem conseqüente recuperação suficiente deste esforço, pois estes são caracterizados pela diminuição do rendimento esportivo, alterações metabólicas e hormonais e também pelo surgimento de lesões musculares (Hawley, 1998).

A diminuição da razão Gln/Glu pode acontecer devido às alterações da Glutamina ou do glutamato. A glutamina plasmática vem sendo estudada em associação com o exercício físico praticado de maneira intensa ou moderada e, também, pelo fato da prática ou não do exercício físico (Hiscock e Pedersen, 2002), de forma que, tem sido relatado aumento (Babij et al., 1983;) diminuição (Castell et al., 1997) e manutenção (Maughan e Gleeson, 1988) de sua concentração plasmática durante e após o exercício contínuo, enquanto que após a realização de exercício excêntrico, esta pode diminuir (Miles et al., 1999) ou não sofrer alteração (Gleeson et al., 1998). Além disso, a alteração na glutamina e do



glutamato plasmático tem sido sugerida como um indicador de um quadro de “overreaching/overtraining”.

Em nosso projeto de iniciação científica, FAPESP 01.098.65-7, realizado com ciclistas profissionais do Brasil, durante dois anos consecutivos, analisamos o comportamento da razão Gln/Glu sempre ao final de um longo período de competições.

Os resultados mostraram que após uma seqüência de competições totalmente distintas (voltas ciclísticas, competições em terrenos planos, mistos e montanhosos) a razão Gln/Glu tendeu a diminuir, mas somente ao final do macrociclo anual observamos uma redução significativa, mostrando que o acúmulo de treinos e de competições, ao longo do ano, contribuiu significativamente para essas variações.

Apesar do grande avanço dos estudos em compreender os mecanismos envolvidos na redução da tolerância ao esforço, bem como o tipo de sobrecarga proporcionada pelo exercício físico que seja capaz de gerar lesões musculares, até onde sabemos, nenhum estudo analisou diferentes competições de ciclismo de estrada em relação ao surgimento de lesões musculares, processos inflamatórios e a menor tolerância ao esforço.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 SUJEITOS

Foram utilizados 12 ciclistas profissionais de estrada, pertencentes à categoria elite; que é a principal categoria do ciclismo brasileiro, a mais competitiva e com melhor nível técnico e de desempenho, idade 18-35 anos, VO<sub>2</sub>máx 68-74 ml.kg.L<sup>-1</sup>, massa corporal 57-79 kg, estatura 1,63-1,89 metros, todos com experiência em competições internacionais, competindo a pelo menos quatro anos no ciclismo de estrada, e que estivessem federados e ranqueados entre as 20 primeiras posições do ranking da Confederação Brasileira de Ciclismo, que é o principal órgão responsável pela administração do ciclismo brasileiro.

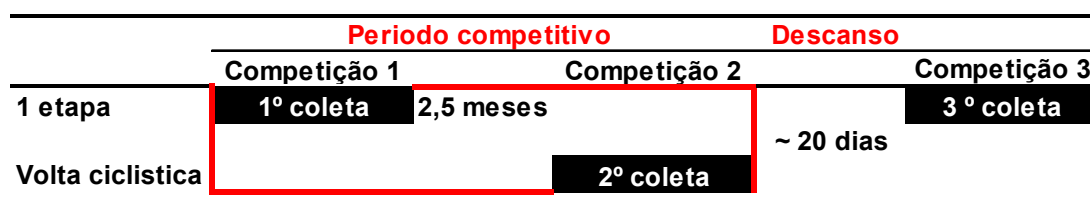
No período de cada coleta foram entregues aos atletas um questionário para que fosse coletadas informações sobre a utilização de drogas ilícitas e substâncias dopantes (nome da substância, a quanto tempo utiliza, dosagem e frequência que utiliza), assim como, através deste questionário foram excluídos os fumantes, aqueles portadores de infecções crônicas, doenças infecto-contagiosas e congênitas, e usuários de medicação, inclusive antiinflamatórios.

A participação no estudo foi condicionada à assinatura de um termo de consentimento informado. Este projeto foi aprovado pelo comitê de ética e pesquisa do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo de acordo com a resolução 196 do ministério da saúde.

### 4.2 DESENHO EXPERIMENTAL

Os mesmos atletas foram avaliados em três situações distintas, chamadas de competição 1 (C1), competição 2 (C2) e competição 3 (C3). Em cada uma das 3 situações os atletas realizaram duas coletas de sangue, sendo a primeira 24 horas antes do início da competição e a segunda no período de 24 horas após o término da competição, totalizando 6 coletas após as 3 competições (Figura 1).

A C1 e a C2 aconteceram durante o período competitivo dos atletas e a C3 aconteceu após um período de descanso de 20 dias. O intervalo entre a C1 e a C2 foi de 2,5 meses (Figura 1). A definição de quais provas seria utilizada neste estudo foi feita após a leitura do calendário de competições. Dentre as competições que os ciclistas participaram, tivemos a preocupação de utilizarmos em nossas análises aquelas que os atletas classificaram como importantes.



**Figura 1** - Período e ordem que as coletas foram realizadas ao longo do macrociclo anual de treinos e competições dos ciclistas.

### 4.3 AS COMPETIÇÕES

A C1 e a C3 foram semelhantes quanto a duração, distância percorrida e o tipo de terreno (plano). A C1 foi realizada em um circuito de 3,1 km e a competição 3 foi realizada em um circuito de 2,5 km. Abaixo seguem as características da C1 e da C3.

**Tabela 1** - Características das competições de 1 etapa realizadas em terreno plano.

	Distância (Km)	Tempo (min)	Numero de dias
C1	90,50	119,58	1
C3	95,00	131,13	1

A C2 ocorreu ao longo de uma semana (7 dias consecutivos). A cada dia os atletas percorreram distâncias diferentes, conforme descrição da tabela 2. Os organizadores do evento chamaram de etapa cada disputa da relacionada à

competição e a estas etapas foram atribuídas uma ordem numérica crescente ao longo dos 7 dias de competição.

A primeira e na segunda etapa foram realizadas no mesmo dia, assim como a quinta e a sexta etapa, todas as demais foram realizadas em dias distintos. Na C2 os atletas percorreram terrenos bastante variados.

**Tabela 2** - Características da volta ciclística realizada em terreno misto e com 7 dias de duração.

	Distância Total percorrida (Km)	Numero de dias
C2	1284,26	7

**Etapa 1** - Distância (km) de competição (manhã): 21,46; **Etapa 2** - Distância (km) de competição (Tarde): 88,50; **Etapa 3** - Distância (km) de competição (manhã): 108,70; **Etapa 4** - Distância (km) de competição (manhã): 249,50; **Etapa 5** - Distância (km) de competição (manhã): 11,30; **Etapa 6** - Distância (km) de competição (Tarde): 116,0; **Etapa 7** - Distância (km) de competição (manhã): 175,0; **Etapa 8** - Distância (km) de competição (manhã): 208,40; **Etapa 9** - Distância (km) de competição (manhã): 259,00; **Etapa 10** - Distância (km) de competição (manhã): 46,40.

#### 4.4 COLETAS

Em todas as fases do projeto foram coletadas amostras de sangue venoso periférico (10ml), 24 horas antes e 24 horas após o término das provas, por um médico habilitado, seguindo todos os preceitos éticos, normas de higiene e de segurança, em condições de assepsia ideais, no período entre 10h30min e 12h30min para se evitar a influência das variações circadianas. Após o sangue ser retirado e armazenado em tubo contendo heparina, foi centrifugado a 1300 x g, por 15 minutos, o plasma foi aliquoteado em tubos do tipo eppendorf e armazenados em *freezer* -80°C para posteriores dosagens.

## 4.5 DOSAGENS BIOQUÍMICAS

### 4.5.1 LACTATO DESIDROGENASE (LDH)

Foram utilizados Kits Labtest Diagnóstica para a determinação da LDH, através de método cinético de tempo fixo e medição de ponto final, contendo:

Tampão (200 nmol/L) pH 8,2, substrato (tampão 200 mmol/L + ácido láctico 260 mmol/L, padrão (150 U/l), reagente de cor (INT 4 mmol/L, NAD 7,5 mmol/L e fenazina 1,6 mmol/L) e estabilizador (ácido clorídrico 200 mmol/L). Todos os reagentes, com exceção do estabilizador e do padrão, continham como conservante azida sódica (0,05 g/dL).

O Método Analítico procedeu-se da seguinte maneira em 3 tubos de ensaio:

	Controle	Teste	Padrão
Tampão	1,0 mL	-	1,0 mL
Substrato	-	1,0 mL	-
Amostra	0,05 mL	0,05 mL	-
Padrão	-	-	0,05

Colocou-se em banho Maria (37° C) por 2 minutos

Reagente de cor	0,2 mL	0,2 mL	-
-----------------	--------	--------	---

Após agitação as amostras foram colocadas em banho Maria (37° C) por 5 minutos

Estabilizador	2,0 mL	2,0 mL	2,0 mL
---------------	--------	--------	--------

Após nova agitação a amostra foi deixada em repouso a temperatura ambiente durante 5 minutos. As absorbâncias do controle, do teste e do padrão foram determinadas em 500 nm. Para o cálculo utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\text{Atividade LDH (U/l)} = \frac{\text{Absorbância do Teste} - \text{Absorbância do controle} \times 150}{\text{Absorbância padrão}}$$

#### 4.5.2 CREATINA QUINASE TOTAL (CK)

Foram utilizados Kits Labtest Diagnóstica para a determinação da CK, através de método cinético de tempo fixo e medição de ponto final, contendo:

Reagente 1: Tampão imidazol (125 mmol/L), glicose (25 mmol/L), acetato de magnésio (15 mmol/L), N-acetil cisteína (25 mmol/L), NAD 2,5 mmol/L, hexoquinase  $\geq$  3500 U/L e azida sódica 15 mol/L.

Reagente 2: ADP 13 mmol/L, AMP 25 mmol/L, diadenosina pentafofato  $\geq$  60  $\mu$ mol/L, G-6 PDH  $\geq$  10000 U/L, creatina fosfato 150 mmol/L e azida sódica 15 mmol/L.

A junção com conseqüente homogeneização dos reagentes 1 e 2 formaram o reagente de trabalho. O reagente de trabalho continha tampão 100 mmol/L; acetato de magnésio 10 mmol/L; ADP 2 mmol/L; AMP 5 mmol/L; NAD 2 mmol/L; diadenosina pentafofato 10  $\mu$ mol/L; HK  $\geq$  2800U/L; G-6 PDH  $\geq$  2000 U/L; creatina fosfato 30 mmol/L e azida sódica 15 mmol/L.

No tubo rotulado "Teste" foi pipetado 1,0 mL do Reagente de trabalho. Em seguida, adicionou-se 0,02 mL da amostra para ser homogeneizada e transferida para a cubeta termostaticada a 37° C, esperou-se 2 minutos. Fizemos a leitura da absorbância inicial, e após 2 minutos a segunda leitura.

Para o cálculo utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\text{Absorbância do teste} = \frac{\text{Absorbância 1} - \text{Absorbância 2}}{2}$$

$$\text{Atividade CK (U/l)} = \text{Absorbância do Teste} \times 8095.$$

#### 4.5.3 GLUTAMINA

A concentração plasmática de glutamina foi determinada enzimaticamente segundo o método descrito por Windmueller e Spaeth (1974). O método consistiu na preparação inicial de um tampão de ensaio contendo 1,032 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e

13,0 ml de glicerol a 50%, para 100 ml de tampão de pH 8,0. Na seqüência foram preparados 200 ml de uma mistura de ensaio contendo 18 ml do tampão preparado anteriormente, 200 µl de BSA 10%, 1 mg de NADH, 100 µl de GDH, 200 µl de alfa-cetoglutarato (90,45 mg/ml).. A mistura de ensaio foi então pipetada nos tubos para completar 1 ml. Após a pipetagem das amostras (50 µl) e do branco (50 µl de água), foram adicionados 40 µl de asparaginase. Realizou-se uma incubação de 1 hora a temperatura ambiente, e logo após a leitura foi realizada a 340 nm em espectrofotômetro. Os valores foram expressos em µmol.L<sup>-1</sup>.

#### 4.5.4 GLUTAMATO

O método para a determinação da concentração plasmática do glutamato (Bernt e Bergmeyer, 1974) foi muito semelhante ao da glutamina e consistiu na preparação inicial de um tampão de ensaio de pH 9,0 contendo 3,75 g de glicina e 1 ml de hidrato de hidrazina (para cada 100 ml de tampão). A seguir foram feitos 20 ml de uma mistura de ensaio contendo 12 ml do tampão supra citado, 1 ml de NAD (10 mg/2ml), 1 ml de ADP (10 mg/2ml), 3,8 ml de água e 33,2 µl de Glutamato desidrogenase, que foi adicionado após a pipetagem de 100 µl das amostras e 100 µl de água para o branco. Após a incubação de 1 hora a temperatura ambiente a leitura foi feita a 340 nm em espectrofotômetro. Os valores foram expressos em µmol.L<sup>-1</sup>.

#### 4.5.5 MEDIADORES INFLAMATÓRIOS

Para esta análise utilizou-se do centrifugado do plasma do sangue dos atletas. Foram utilizados kits comerciais de alta sensibilidade BIOTRATM da Amersham Pharmacia Biotech (Elisa). Os resultados da concentração das citocinas presentes nas amostras foram expressos em picogramas por mL.

As citocinas foram mensuradas pelo teste de Elisa (enzyme-linked immunosorbent assay), utilizando placas sensibilizadas com microtítulos e tampão contendo anticorpo monoclonal para cada citocina.

As placas de 96 poços foram revestidas com anticorpos de captura (anticorpos monoclonais purificados), cobertos e incubados em torno de 16 horas em geladeira. No dia seguinte, após 3 lavagens com PBS/Tween, as placas foram bloqueadas com PBS/BSA 1% para evitar ligações inespecíficas. Após uma hora foram submetidas a quatro lavagens com PBS/Tween sendo adicionados a citocina padrão e as amostras (plasma). Novamente foram incubadas em 16 horas em geladeira. Foram então adicionados os anticorpos de detecção conjugados com biotina (anticorpos monoclonais biotinados), deixando a reação por mais uma hora. Foram feitas novas lavagens e o substrato (avidina-peroxidase) foi colocado para incubação por cerca de 30 minutos. Em seguida o revelador foi adicionado. As leituras foram realizadas por um leitor de microplacas ajustado para 490 nm e correção de comprimento de onda a 650nm.

#### 4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados através de ANOVA de medidas repetidas. O teste *post-hoc* de Scheffé foi utilizado para identificar as diferenças significativas, considerando como significância estatística  $p < 0,05$ . Utilizou-se o programa SPSS 13 for Windows nos tratamentos dos dados (descritivo e inferencial).



## 5 RESULTADOS

### 5.1 INDICADORES DE LESÃO MUSCULAR

Os resultados de atividade da CK apresentaram mudanças significativas ( $p < 0,05$ ) quando comparados os períodos de 24 horas antes do início com 24 horas após o término da C2 ( $161,0 \pm 35$  U/l x  $257,2 \pm 29^*$  U/l) e da C3 ( $149,7 \pm 35$  U/l x  $291,3 \pm 16^*$  U/l). A tabela 3 mostra que não houve diferença significativa quando a mesma comparação foi realizada com a C1 ( $185,9 \pm 40$  U/l x  $159,7 \pm 24$  U/l). Os aumentos da CK foram de aproximadamente 60% na C2 e de 95% na C3. Todos os valores médios obtidos nas 3 competições ficaram muito próximos.

Já a LDH apresentou aumentos significativos ( $p < 0,05$ ) de 36% e 43%, respectivamente para a C2 ( $168,5 \pm 31$  x  $229,8 \pm 40^*$  U/l) e para a C3 ( $186,4 \pm 18$  x  $267,3 \pm 32^*$ ). Na C1 ( $201,3 \pm 36$  x  $205,3 \pm 34$ ) não houve diferença significativa quando comparados os valores 24 horas pré-competição, de acordo com a Tabela 3. Semelhante a CK, os valores da LDH foram bem próximos entre as 3 competições.

**Tabela 3** – Efeito das diferentes competições de ciclismo de estrada sobre a atividade das enzimas CK e LDH.

	COMPETIÇÃO 1		COMPETIÇÃO 2		COMPETIÇÃO 3	
	24 hs pré	24 hs pós	24 hs pré	24 hs pós	24 hs pré	24 hs pós
CK (U/l)	$185,9 \pm 40$	$159,7 \pm 24$	$161,0 \pm 35$	$257,2 \pm 29^*$	$149,7 \pm 35$	$291,3 \pm 16^*$
LDH (U/l)	$201,3 \pm 36$	$205,3 \pm 34$	$168,5 \pm 31$	$229,8 \pm 40^*$	$186,4 \pm 18$	$267,3 \pm 32^*$

Os resultados são das coletas realizadas 24 horas antes do início e 24 horas após o término das competições 1, 2 e 3. A significância foi determinada pelo teste ANOVA. Os resultados da CK e da LDH estão expressos em U/l e representam a média  $\pm$  EP dos 12 ciclistas. \* diferença significativa em relação ao período 24 horas antes da competição ( $p < 0,05$ ). CK = Creatina Quinase, LDH = Lactato Desidrogenase.

## 5.2 MEDIADORES INFLAMATÓRIOS

Na C1, C2 e na C3, os resultados da IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  e da PGE<sub>2</sub> não apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) quando comparados com os resultados das coletas realizadas 24 horas antes de cada (Tabela 4). Em nenhum dos resultados observou-se o efeito do tipo de competição ou do período de descanso. A maior parte dos valores obtidos ficou abaixo de 1 pg.ml<sup>-1</sup>, porém todos estavam dentro da sensibilidade permitida pelo método utilizado na dosagem.

**Tabela 4** – Efeito das diferentes competições de ciclismo de estrada sobre os mediadores inflamatórios: IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  e PGE<sub>2</sub>.

	COMPETIÇÃO 1		COMPETIÇÃO 2		COMPETIÇÃO 3	
	24 hs pré	24 hs pós	24 hs pré	24 hs pós	24 hs pré	24 hs pós
IL-1 (pg.ml <sup>-1</sup> )	0,7 $\pm$ 0,1	0,9 $\pm$ 0,1	0,91 $\pm$ 0,1	0,99 $\pm$ 0,1	0,95 $\pm$ 0,2	0,91 $\pm$ 0,1
IL-6 (pg.ml <sup>-1</sup> )	0,9 $\pm$ 0,1	1,03 $\pm$ 0,1	0,77 $\pm$ 0,1	0,69 $\pm$ 0,1	0,67 $\pm$ 0,4	0,96 $\pm$ 0,2
TNF- $\alpha$ (pg.ml <sup>-1</sup> )	0,8 $\pm$ 0,1	0,74 $\pm$ 0,1	0,79 $\pm$ 0,2	0,89 $\pm$ 0,2	0,86 $\pm$ 0,2	0,80 $\pm$ 0,1
PGE <sub>2</sub> (pg.ml <sup>-1</sup> )	1,1 $\pm$ 0,1	0,87 $\pm$ 0,2	1,6 $\pm$ 0,6	1,7 $\pm$ 0,5	1,07 $\pm$ 0,2	0,9 $\pm$ 0,39

Os resultados são das coletas realizadas 24 horas antes do início e 24 horas após o término das competições 1, 2 e 3. A significância foi determinada pelo teste ANOVA. Os resultados estão expressos em (pg.ml<sup>-1</sup>) e representam a média  $\pm$  EP dos 12 ciclistas. \* diferença significativa em relação ao período 24 horas antes da competição ( $p < 0,05$ ). IL-1 = Interleucina-1 $\beta$ , IL-6 = Interleucina-6, TNF- $\alpha$  = Fator de Necrose Tumoral e PGE<sub>2</sub> = Prostaglandina E<sub>2</sub>.

## 5.3 GLUTAMINA, GLUTAMATO E RAZÃO GLN/GLU

A concentração plasmática de glutamina sofreu redução significativa após a C2 (727,3  $\pm$  85  $\mu$ mol.L<sup>-1</sup> x 601,9  $\pm$  29\*  $\mu$ mol.L<sup>-1</sup>,  $p < 0,05$ ). Essa redução não foi observada na C1 (694,8  $\pm$  105  $\mu$ mol.L<sup>-1</sup> x 612,7  $\pm$  64  $\mu$ mol.L<sup>-1</sup>) e na C3 (754,7  $\pm$  77 x 707,3  $\pm$  110  $\mu$ mol.L<sup>-1</sup>). Essa diferença evidenciou o efeito do maior volume de competição observado na C2. A magnitude da diminuição da glutamina plasmática foi aproximadamente de 17% (tabela 5).

O glutamato teve um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) na sua concentração plasmática, 24 horas após o término da C1 de aproximadamente de 50,9% ( $178,4 \pm 41 \mu\text{mol.L}^{-1} \times 269,3 \pm 57^* \mu\text{mol.L}^{-1}$ ) e de 44,1% após o término da C3 ( $181,0 \pm 27 \mu\text{mol.L}^{-1} \times 261,1 \pm 35^* \mu\text{mol.L}^{-1}$ ) (Tabela 5). Já na C2 não houve diferença significativa no pós-competição ( $213,7 \pm 73 \mu\text{mol.L}^{-1} \times 225,2 \pm 80 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ).

A razão Gln/Glu, utilizada com indicadora de tolerância ao esforço, teve uma redução significativa ( $4,2 \pm 0,7 \times 2,7 \pm 0,4^*$ ,  $p < 0,05$ ) somente após a C3 (tabela 5), essa redução foi de aproximadamente 64%.

**Tabela 5** - Efeito das diferentes competições de ciclismo de estrada sobre a concentração plasmática de glutamina, glutamato e a razão Gln/Glu.

	COMPETIÇÃO 1		COMPETIÇÃO 2		COMPETIÇÃO 3	
	24 hs pré	24 hs pós	24 hs pré	24 hs pós	24 hs pré	24 hs pós
Gln ( $\mu\text{mol.L}^{-1}$ )	$694,8 \pm 105$	$612,7 \pm 64$	$727,3 \pm 85$	$601,9 \pm 29^*$	$754,7 \pm 77$	$707,3 \pm 110$
Glu ( $\mu\text{mol.L}^{-1}$ )	$178,4 \pm 41$	$269,3 \pm 57^*$	$213,7 \pm 73$	$225,2 \pm 80$	$181,0 \pm 27$	$261,1 \pm 35^*$
Gln/Glu	$4,1 \pm 1,2$	$2,3 \pm 0,5$	$3,8 \pm 1,3$	$3,0 \pm 1,1$	$4,2 \pm 0,7$	$2,7 \pm 0,4^*$

Os resultados são das coletas realizadas 24 horas antes do início e 24 horas após o término das competições 1, 2 e 3. A significância foi determinada pelo teste ANOVA. Os resultados estão expressos em ( $\mu\text{mol.L}^{-1}$ ) e representam a média  $\pm$  EP dos 12 ciclistas. \* diferença significativa em relação ao período 24 horas antes da competição ( $p < 0,05$ ). Gln = Glutamina plasmática, Glu = Glutamato plasmático, Gln/Glu = Razão Glutamina/Glutamato.

## 5.4 DISCUSSÃO

O desempenho esportivo no ciclismo de estrada é limitado a uma série de fatores como os aspectos fisiológicos, biomecânicos, ambientais, mecânicos e psicológicos. Diversas hipóteses foram criadas para tentar explicar as possíveis influências desses fatores no rendimento esportivo e, com isso, aplicar esses conhecimentos à realidade das competições (Abbiss e Laursen, 2005). No entanto, Faria et al. (2005) apontaram que há uma carência de informações que caracterizem esta modalidade esportiva.

Lucia et al. (2003), em um estudo de caso de um ciclista profissional de estrada, obtiveram resultados semelhantes em relação à intensidade que foi

necessária para completar as 3 principais grandes voltas ciclísticas existentes no mundo (Tour de France, Giro d'Italia e Vuelta a Espana). Cada competição teve a duração de 3 semanas e variou entre 72 e 90 horas para que fossem percorridas cada uma delas. Apesar de essas competições possuírem trajetos diferentes, os pesquisadores afirmaram que há similaridade na sobrecarga entre elas mesmo que elas sejam percorridas em locais diferentes. A este fato foram atribuídos o formato das competições ser semelhante e a semelhança física e técnica dos seus participantes.

A partir dos resultados de Lucia et al. (2003) é plausível pensar nesta mesma situação em outros tipos de competições de ciclismo de estrada. Apesar disso, antes de se generalizar, é necessário conhecer as características de cada tipo de competição, assim como a população estudada para que os resultados possam ser extrapolados para situações competitivas semelhantes.

O presente estudo analisou 3 competições de ciclismo de estrada, duas competições de uma etapa e uma volta ciclística. O nosso principal objetivo foi o de verificar se a sobrecarga imposta pelas diferentes competições seria capaz de provocar diferenças no surgimento de lesões musculares, processos inflamatórios e na razão Gln/Glu 24 horas após o término de cada uma delas.

Os principais achados deste estudo foram os aumentos significativos na atividade das enzimas CK e da LDH 24 horas após o término após da C2 e da C3. A diminuição da Gln 24 horas após o término da C2, enquanto que o Glu aumentou 24 horas após a C1 e a C3. A diminuição da razão Gln/Glu após a C3 e nenhuma alteração na IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  e PGE<sub>2</sub> 24 horas após o término da C1, C2 e C3. Todos esses resultados foram obtidos sem qualquer intervenção na rotina de treinos e competições dos ciclistas, fato que contribuiu para que fosse possível avaliar o comportamento dessas variáveis em situações reais de competição.

O primeiro passo para o entendimento desses resultados é o conhecimento das regras e particularidades destes tipos de competições. Hawley e Stepto (2001) afirmaram que voltas ciclísticas, com características semelhantes as da C2 são considerados eventos percorridos na sua grande parte em intensidade moderada,

mas apresentando períodos de grande intensidade. Já os eventos semelhantes a C1 e C3 são caracterizados por grandes variações de velocidade, alta intensidade e de média duração. Se estas afirmações são verdadeiras a sobrecarga na musculatura esquelética nesses eventos também é diferente.

Os nossos resultados também mostraram, através da CK e da LDH, que a C2 foi diferente da C1 quanto ao surgimento de lesões musculares quando ambas foram realizadas durante o período competitivo, porém quando um período de 20 dias de descanso foi acrescentado e a C3 foi incluída as duas foram capazes de proporcionar lesões musculares.

Em outras publicações científicas como as de Pizza et al. (1996) e Pizza et al. (1995), os aumentos das enzimas CK e LDH foram maiores do que os relatados em nosso estudo. Nossos valores mais altos de CK e LDH foram respectivamente 292 U/l 24 e 267,3 U/l, após o término da C3. Vale ressaltar que o “*time course*” das mudanças para esses marcadores de lesão muscular pode variar e que, portanto, a realização de outras coletas nos períodos de 48 horas ou até 72 após as competições poderiam apresentar maiores aumentos.

Estudos como o de Santos (2004), realizado com corredores, apresentaram valores da CK mais altos que os valores do presente estudo, 24 após o término de uma corrida de 30 km. Neste caso, o exercício de corrida contribuiu em grande parte por esta diferença, pois neste tipo de atividade a atividade excêntrica e o maior impacto contribuíram para o maior aumento da CK em comparação ao nosso estudo com ciclistas profissionais, além disso, Santos et al. (2004) realizaram seu trabalho com atletas amadores e não com atletas profissionais.

Também é importante ressaltar que o ciclismo é um exercício físico de baixo impacto, com ação predominante concêntrica e que em atletas altamente treinados, como os avaliados em nosso estudo, adaptados à execução da tarefa a concentração de CK tende a ser menor (Prasartwuth, 2006; Brown, 1997).

Os resultados apresentados na C2 estão de acordo com os descritos por Noakes (1987), que descreveu aumento na CK após uma competição de 11 dias de duração. De acordo com este autor, este aumento é atribuído ao grande volume da competição. Desta forma, podemos afirmar que este fenômeno

aconteceu de maneira semelhante após o término da C2. Contudo, não podemos deixar de afirmar que Noakes (1987) se refere a um exercício de corrida e que a novidade do nosso trabalho é o diagnóstico deste mesmo fenômeno no ciclismo de estrada, porém de uma forma mais amena.

Se a C1 e a C3 tiveram perfis semelhantes, a principal diferença na análise dessas duas competições foi o período de descanso que antecedeu a C3. Um período de descanso com retorno abrupto às competições é uma prática comum entre os ciclistas de estrada e, portanto, entender quais as conseqüências desse período é de extrema importância.

As perdas dos níveis de adaptação estão intimamente relacionados a quantidade de tempo que foi necessária para adquiri-los. Como regra, quanto mais longo o período de treinamento mais longo será o período necessário para as perdas acontecerem (Zatsiorsky, 1999). Todos os benefícios adquiridos lentamente e em longo prazo mantêm-se com mais facilidade e perdem-se com mais lentidão do que as aquisições conseguidas rapidamente e em um tempo curto (Barbanti, 1994).

Coyle (1984) encontrou aumento na LDH de 20% no repouso após o término do exercício físico de longa duração realizado após um período de descanso de longa duração (acima de 30 dias). Em situação semelhante Chi (1983) relatou aumentos na LDH, respectivamente de 3,6 e 21,1 % após um período de descanso que variou de 42 a 84 dias.

Se fizermos um comparativo com os resultados obtidos por Coyle et al. (1984), que relacionou o aumento da LDH no pós exercício físico com um período de descanso de curta duração, podemos afirmar que os nossos resultados estão de acordo com os resultados descritos por outros autores, porém o estudo de Coyle et al. não foi com ciclistas e os aumentos relatados por esses autores foram maiores que os resultados apresentados no presente estudo.

Vale ressaltar que não avaliamos outras variáveis associadas ao período de descanso, tais como as adaptações morfológicas e funcionais na musculatura esquelética e o rendimento físico e que, por isso, não devemos atribuir a mudança no aumento da CK e da LDH somente ao período de descanso.

Uma das atribuições ao surgimento do processo inflamatório são as lesões decorrentes do exercício físico. A hipótese de que 24 horas após o término de diferentes competições de ciclismo de estrada há o surgimento lesões musculares e conseqüentemente uma resposta inflamatória sistêmica não foi comprovada.

Os nossos resultados parecem estar de acordo com a hipótese de Venkatraman et al. (2001) que afirmaram que após o exercício físico aeróbio de longa duração o processo inflamatório instala-se de forma diferente do trauma ou de exercícios com ação predominante excêntrica. Nestas situações o processo inflamatório apresenta resposta prolongada, diferente do que aconteceu após a C1, C2 e a C3.

Em nosso trabalho, o período de 24 horas após o término das 3 competições foi suficiente para restabelecer os valores pré-competição, ou ainda, as competições avaliadas não foram capazes de induzir uma resposta inflamatória de grande magnitude. Além disso, Moldoveanu et al. (2001) destacaram o fato de que atletas altamente treinados, como os avaliados em nosso estudo, apresentaram menores respostas aos mediadores inflamatórios no exercício físico.

O aumento da concentração plasmática de mediadores inflamatórios após exercícios de média e longa duração foi demonstrado por Moldoveanu et al. (2001) e Gannon et al. (1997). Esses pesquisadores relataram que a concentração plasmática dessas substâncias foi restaurada 6 horas após o término do exercício físico de baixa intensidade, porém quando a intensidade e o volume do exercício foram aumentados, essa resposta foi prolongada.

De acordo com Peake (2005) a produção de algumas citocinas, por exemplo, a IL-6, é diminuída em resposta aos anos de treinamento no exercício agudo. Portanto, os resultados desta dissertação não devem ser aplicados a indivíduos sedentários.

A  $PGE_2$  também não apresentou mudanças significativas em sua concentração plasmática. Sobre a  $PGE_2$ , Peake (2005) afirmou que seu comportamento está mais relacionado à prática ou não da atividade física do que a intensidade do exercício ou grau de lesão.

Em outras modalidades esportivas, como a corrida, a resposta parece acontecer de forma diferente. Santos et al. (2004) encontraram aumentos da PGE<sub>2</sub> após uma corrida de 30 km. Esse aumento foi observado 24 horas após o término do exercício físico.

Além do surgimento de lesões e processos inflamatórios, este trabalho preocupou-se em verificar a razão Gln/Glu. Smith e Norris (2000) e Halson et. al. (2003) afirmaram que a razão Gln/Glu é um importante indicador da sobrecarga total imposta pelo exercício físico e sugerida como marcadora da relação entre treinamento e a recuperação. Segundo esses autores a diminuição da glutamina estaria associada ao aumento do volume de treinamento e o aumento do glutamato relacionado com a intensidade do exercício físico e que, portanto, a razão entre a glutamina e o glutamato representaria a sobrecarga total sofrida pelo atleta e que sua diminuição desta razão resultaria na menor tolerância ao esforço.

No presente estudo, encontramos uma redução significativa na razão Gln/Glu somente após a C3. Nossos resultados mostraram que o período de descanso contribuiu para a diminuição da razão Gln/Glu e conseqüentemente com a diminuição na tolerância ao esforço. Na C1 e na C2 não houve alterações na razão Gln/Glu. Os mecanismos envolvidos na diminuição da relação Gln/Glu durante períodos de treinamento extenuantes não são totalmente conhecidos até o momento.

Somente após o término da C2 a glutamina plasmática teve redução significativa. Esta diminuição deve estar relacionada ao tipo de esforço necessário para realizar esta competição, Smith e Norris (2000) afirmaram que a diminuição da concentração plasmática da glutamina esta relacionada ao maior volume de exercício, fato ocorrido na competição 2.

De fato, a resposta de alguns indicadores plasmáticos apresenta-se descrita como lenta, atuando mesmo depois do término da atividade. O tempo durante o qual essas alterações permanecem elevadas após o término do exercício varia em função da intensidade e da duração do estímulo, assim como da forma como o organismo responde ao mesmo e o tipo de população avaliada (Pedersen et al., 1997; Nieman e Pedersen, 1999).



Ao considerarmos as propostas de Eriksen (1999), de que a resposta fisiológica adequada ao estímulo deve durar horas, e que a manutenção prolongada dessas alterações, seriam indicativas de baixa tolerância (*coping*), podemos propor que para ciclistas altamente treinados esses fatores estariam relacionados a tolerância ao esforço.

Assim como a resposta da glutamina, o glutamato parece responder de acordo com o tipo de stress ao qual o atleta é submetido. O aumento significativo na concentração plasmática do glutamato após o término da C1 e da C3 sugere que, de acordo com Smith e Norris (2000), a intensidade da competição também teve papel importante, pois quando comparadas com a C2 esses eventos são considerados de maior intensidade.

Rowbottom et al. (1996) sugerem que as lesões celulares provocadas pelo exercício poderiam comprometer a síntese de glutamina no músculo esquelético. Santos (2004) em um estudo realizado 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 esse período é acompanhado pela diminuição na atividade da enzima glutamina sintetase, enzima que tem papel chave na síntese de glutamina no tecido muscular.

Dessa forma, acreditamos que a diminuição na razão Gln/Glu poderia ser em parte em função do impedimento parcial na síntese de glutamina e acúmulo do glutamato, pelo acúmulo do glutamato ou diminuição da glutamina.

## **6 CONCLUSÕES**

Com esses resultados concluímos que as competições C2 e C3 são capazes de provocar lesões musculares, sem exibirem uma resposta inflamatória sistêmica 24 horas após o término desses eventos. Além disso, concluímos que ciclistas profissionais de estrada apresentam redução na razão Gln/Glu 24 horas após o término de uma competição de 1 etapa precedida por um período de descanso de 20 dias.

## REFERÊNCIAS

Abbiss CR, Laursen PB. Models to explain fatigue during prolonged endurance cycling. *Sports Med.* 2005;35(10):865-98.

Apple FSE, Rhodes M. Enzymatic estimation of Skeletal Muscle damage by analysis of changes in serum creatine kinase. *J Appl Physiol.* 1988;65:2598.

Arend WP. The balance between IL-1 and IL-1Ra in disease. *Cytokine Growth Factor Rev.*2002;(13):323-40

Astrand PO, JB. Wolffe Memorial Lecture. "Why exercise?". *Med Sci Sports Exerc.* 1992 Feb;24(2):153-62.

Atkinson G, Davison R, Jeukendrup A, Passfield L. Science and cycling: current knowledge and future directions for research. *J Sports Sci.* 2003;21(9):767-87.

Babij P, Matthews SM, Rennie MJ. Changes in blood ammonia, lactate and amino acids in relation to workload during bicycle ergometer exercise in man. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1983;50(3):405-11.

Barbanti VJ. *Dicionário de educação física e do esporte.* São Paulo: Manole, 1994.

Barbosa TM, Magalhães PM, Lopes VP, Neuparth M, Duarte JA. Comparação da variação de actividade neuromuscular, da creatina quinase e da força isométrica máxima voluntária entre dois protocolos exaustivos e inabituais. *Rev Port Ciênc Desp.* 2003; 3(1): 7-15.

Bernt E, Bergmeyer HU. L-Glutamate UV-assay glutamate dehydrogenase and NAD. In: Bergmeyer HU. *Methods of enzymatic analysis.* London: Academic Press; 1974. p.1704-08.

Brenner IKM, Natale VM, Vasiliou P, Moldoveanu AI, Shek PN, Shephard RJ. Impact of three different types of exercise on components of the inflammatory response. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1999 Oct;80(5):452-60.

Brown SJ, Child RB, Day SH, Donnelly AE. Indices of Skeletal Muscle damage and connective tissue breakdown following eccentric muscle contractions. *European J Appl Physiol Occup Physiol.* 1997; 75: 369-374.

Brown SJ, Child SH, Donnelly AE. Exercise-induced skeletal muscle damage and adaptations following repeated bouts of eccentric muscle contractions. *J Sports Sci.* 1997; 15:215-222.

Bruunsgaard H. Physical activity and modulation of systemic low-level inflammation. *J Leukoc Biology*. 2005 Oct;78(4):819-35.

Cannon JG, Meydani SN, Fielding RA, Fiatarone MA, Meydani M, Farhangmehr M, Orencole SF, Blumberg JB, Evans WJ. Acute phase response in exercise. II. Associations between vitamin E, cytokines, and muscle proteolysis. *Am J Physiol*. 1991; 260(6:2):1235-40.

Cannon JG. Inflammatory Cytokines in Nonpathological States. *News Physiol Sci*. 2000;15:298-303.

Cannon JG, Angel JB, Ball RW, Abad LW, Fagioli L, Komaroff AL. Acute phase responses and cytokine secretion in chronic fatigue syndrome. *J Clin Immunol*. 1999 Nov; 19(6):414-21.

Castell LM, Newsholme, EA. The effects of oral glutamine supplementation on athletes after prolonged, exhaustive exercise. *Nutrition*. 1997 Jul-Aug;13(7-8):738-42.

Clarkson PM, Tremblay I. Exercise-induced muscle damage, repair, and adaptation in humans Rapid adaptation to exercise induced muscle damage. *J Appl Physiol*.1988;65(1)1-6.

Confederação Brasileira de Ciclismo. Disponível em: <<http://www.cbc.esp.br.html>>. Acesso em: 17 maio 2007

Coyle EF, Martin WH, Sinacore DR, Joyner MJ, Hagberg JM, Holloszy JO. Time course of loss of adaptations after stopping prolonged intense endurance training. *J Appl Physiol*.1984; 57: 1857-64.

Dinarello CA. Biologic basis for Interleukin-1 in disease. *Blood*. 1996;87:2095-147.

Dinarello CA. Interleukin-1. *Cytok Growth Factor Rev*. 1997;8:253-65.

Eriksen HR, Olf, M, Murison, R, Ursin H. The time dimension in stress responses: relevance for survival and health *Rev. Psychiatry Res*. 1999;18;85(1):39-50.

Fallon KE, Sivyer G, Sivyer K. The biochemistry of runners in a 1600 km ultramarathon. *Br J Sports Med*. 1999; 33:264-69.

Faria EW, Parker DL, Faria IE. The Science of cycling: Physiology and training - part 1. : *Sports Med*. 2005;35(4):285-312.

Faria EW, Parker DL, Faria IE. The Science of cycling: factors affecting performance - part 2. *Sports Med*. 2005;35(4):313-37.

Febbraio NA, Pedersen BK. Muscle-derived interleukin-6: mechanisms for activation and possible biological roles. *Faseb J*. 2002; (16)1335-1347.

Fell J, Haseler L, Gaffney P, Reaburn P, Harrison G. Performance during consecutive days of laboratory time-trials in young and veteran cyclists. *J Sports Med Phys Fitness*. 2006 Sep;46(3):395-402.

Fehrenbach E, Schneider ME. Trauma-induced systemic inflammatory response versus exercise-induced immunomodulatory effects *Rev. Sports Med*. 2006; 36(5): 373-84.

Fielding R, Manfredi T, Asp S. et al. The sequential release of cytokines in strenuous exercise. *International J Sports Med*. 1998; 19. Suppl. 3: S216-7.

Fruscella P, Sottocorno M, Di Braccio M, Diomede L, Piccardi N, Cagnotto A, Grossi G, Romano M, Mennini T, Roma G. 1,5-Benzodiazepine tricyclic derivatives exerting anti-inflammatory effects in mice by inhibiting interleukin-6 and prostaglandinE(2)production. *Pharmacol Res*. 2001 May;43(5):445-52.

Gannon GA, Rhind SG, Suzui M, Shek PN, Shephard RJ. Circulating levels of peripheral blood leucocytes and cytokines following competitive cycling. *Can J Appl Physiol*. 1997 Apr;22(2):133-47.

Gleeson M, Walsh NP, Blannin AK, Robson PJ, Cook L, Donnelly, AE, Day, SH. The effect of severe eccentric exercise-induced muscle damage on plasma elastase, glutamine and zinc concentrations. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1998 May;77(6):543-6.

Goldstein DS, Kopin IJ. Evolution of concepts of stress. *Stress*. 2007;10(2):109-20.

Hawley JÁ, Burke, LM. Peak performance: training and nutritional strategies for sport. Sydney: Allen and Unwin; 1998.

Hawley JÁ, Stepto NK. Adaptations to training in endurance cyclists: implications for performance *Rev. Sports Med*. 2001; 31(7): 511-20.

Halson SL, Lancaster GI, Jeukendrup AE, Gleeson M. Immunological responses to overreaching in cyclists. *Med Sci Sports Exerc*. 2003 May; 35(5):854-61.

Hartmann U, Mester J. Training and overtraining markers in selected sport events. *Med Sci Sports Exerc*. 2000;32(1):209-15.

Hiscock N, Pedersen, BK. Exercise-induced immunodepression-plasma glutamine is not the link *Rev. J Appl Physiol*. 2002; 93(3): 813-22.

Hug F, Grélot L, Le Fur Y, Cozzone PJ, Bendahan D. Recovery kinetics throughout successive bouts of various exercises in elite cyclists. *Med Sci Sports Exerc.* 2006 Dec; 38 (12):2151-8.

Janeway CA, Travers P. *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*. 2.ed. London: Current Biology; 1996.

Jeukendrup AE, Craig NP, Hawley JA. The bioenergetics of World Class Cycling. *J Sci Med Sport.* 2000 Dec;3(4):414-33.

King DE, Carek AG, Mainous II, Pedersen WS. Inflammatory markers and exercise: differences related to exercise type. *Med Sci Sports Exerc.* 2003; (35)4, 575-81.

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. *J Mol Med.* 1996 Jul;74(7):393-400.

Lieber RL, Bodine-Fowler SC. Skeletal muscle mechanics: implications for rehabilitation *Rev. Phys Ther.* 1993 Dec;73(12):844-56.

Lopes AS, Kattan R, Costa S, Moura, CE. *Rev Bras Ortop.* 1993;(28)10:707-17.

Lowry SF. Cytokine mediators of immunity and inflammation. *Arch Surg.* 1993; 128: 1235-41.

Lucia A, Hoyos J, Perez M, Chicharro JL. Heart rate and performance parameters in elite cyclists: a longitudinal study. *Med Sci Sports Exerc.* 2000 Oct;32(10):1777-82.

Lucia A, Hoyos J, Chicharro JL. *Physiol of professional road cycling Rev. Sports Med.* 2001;31(5):325-37.

Lucia A, Earnest C, Arribas C. The Tour de France: a physiological *Rev. Scand J Med Sci Sports.* 2003 Oct;13(5):275-83.

Lucia A, Hoyos J, Santalla A, Earnest CP, Chicharro JL. Giro, Tour, and Vuelta in the same season Lucia. *Br J Sports Med.* 2003;37:457-459

Malm C. Exercise-induced muscle damage and inflammation: fact or fiction? *Acta Physiol Scand.* 2001 Mar;171(3):233-9.

Makhatadze NJ. Tumour necrosis factor locus: genetic organization and biological implications. *Hum Immunol.* 1998;59:571-9.

Maughan RJ, Gleeson M. Influence of a 36 h fast followed by refeeding with glucose, glycerol or placebo on metabolism and performance during prolonged exercise in man. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1988;57(5):570-6.

Mena P, Maynar M, Campillo JE. Changes in plasma enzyme activities in professional racing cyclists. *Br J Sports Med*. 1996 Jun;30(2):122-4.

Miles MP, Naukam RJ; Hackney AC; Clarkson PM. Blood Leukoc and glutamine fluctuations after eccentric exercise. *Int J Sports Med*. 1999 Jul;20(5):322-7.

Moldoveanu AI, Shephard RJ, Shek PN. Exercise elevates plasma levels but not gene expression of IL-1beta, IL-6, and TNF-alpha in blood mononuclear cells. *J Appl Physiol*. 2000 Oct;89(4):1499-504.

Moldoveanu AI, Shephard RJ, Shek PN. The cytokine response to physical activity and training. *Sports Med*. 2001 Feb;31(2):115-44.

Mujika I, Padilla S. Physiological and performance characteristics of male professional road cyclists. *Sports Med*. 2001; 31(7): 479-87.

Mujika I, Padilla S. Detraining: loss of training-induced physiological and performance adaptations. Part II: Long term insufficient training stimulus Review. *Sports Med*. 2000; 30 (3):145-54.

Mujika I, Padilla S. Detraining: loss of training-induced physiological and performance adaptations. Part I: Short term insufficient training stimulus Review. *Sports Med*. 2000; 30 (2): 79-87.

Nieman DC, Pedersen BK. Exercise and immune function. Recent developments. *Sports Med*. 1999; 27(2): 73-80.

Noakes TD. The limits of endurance exercise. *Basic Res Cardiol*. 2006 Sep;101(5):408-17. Epub 2006 Aug 18.

Noakes TD, Kotzenberg G, McArthur PS et al. Elevated serum creatine kinase MB and creatine Kinase BB isoenzyme fractions after ultramarathon running. *Eur J Appl Physiol*. 1983; 52:75-9.

Nosaka K, Clarkson PM. Muscle damage following repeated bouts of high force eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 1995; 27:1263-1269.

Padilla S, Mujika I, Orbañanos J, Angulo F. Exercise intensity during competition time trials in professional road cycling. *Med Sci Sports Exerc*. 2000 Apr;32(4):850-6.

Peake JM, Suzuki K, Hordern M, Wilson G, Nosaka K, Coombes JS. Plasma cytokine changes in relation to exercise intensity and muscle damage. *Eur J Appl Physiol*. 2005 Dec;95(5-6):514-21. Epub 2005; (6).

Pedersen BK. et al. Searching for exercise factor: is IL<sub>6</sub> a candidate? *J Muscle Res Cell Motility*. 2003; 24:119-133.

Pedersen BK, Sttensberg A, Schjerling P. Muscle derived interleukin-6: possible biological effects. *J Physiol*. 2001;536-2, p. 329-337.

Pedersen BK. *Exercise Immunology*. New York: Chapman & Hall; 1997.

Pedersen BK, Fischer CP. Physiological roles of muscle-derived interleukin-6 in response to exercise. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2007 May;10(3):265-71

Pizza FX, Mitchell JB, Davis BH, Starling RD, Holtz RW, Bigelow N. Exercise-induced muscle damage: effect on circulating Leukoc and lymphocyte subsets. *Med Sci Sports Exerc*. 1995 Mar;27(3):363-70.

Pizza FX, Davis BH, Henrickson SD, Mitchell JB, Pace JF, Bigelow N, DiLauro P, Naglieri T. Adaptation to eccentric exercise: effect on CD64 and CD11b/CD18 expression. *J Appl Physiol*. 1996 Jan;80(1):47-55

Prasartwuth O, Allen TJ, Butler JE, Gandevia SC, Taylor JL. Length-dependent changes in voluntary activation, maximum voluntary torque and twitch responses after eccentric damage in humans. *J Physiol*. 2006;571:243– 52.

Renström P, Johnson RJ. Overuse injuries in sports Review. *Rev Sports Med*. 1985 Sep-Oct;2(5):316-33.

Rokitzki L, Logemann E, Keul J. Interleulin-6, tumor necrosis factor-alpha and malon-dialdehyde serum concentration during a marathon-run. *Int J Sports Med*. 1994; 15: 360.

Rowbotton DG, Keast D, Morton, AR. The emerging role of glutamine as an indicator of exercise stress and overtraining *Rev. Sports Med*. 1996 Feb;21(2):80-97.

Santos RV, Bassit RA, Caperuto EC, Costa Rosa LF. The effect of creatine supplementation upon inflammatory and muscle soreness markers after a 30km race. *Life Sci*. 2004 Sep 3;75(16):1917-24.

Scharhag J, Meyer T, Gabriel HH, Schlick B, Faude O, Kindermann W. Does prolonged cycling of moderate intensity affect immune cell function? *Br J Sports Med*. 2005 Mar;39(3):171-7.



Smith LL, Miles MP. Exercise-Induce muscle injury and inflammation. Chapter 27. In: Exercise and Sports Science. Garrett WE, Kirkendall DT. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1999:401-12.

Smith L.L Cytokines hypothesis of overtraining: a physiological adaptation to excessive stress? *Med Sci Sports Exerc.* 2000;32(2):317-31.

Smith LL. Tissue trauma: the underlying cause of overtraining syndrome? *J Strength Cond Res.* 2004 Feb;18(1):185-93.

Smith DJ, Norris SR. Changes in glutamine and glutamate concentrations for tracking training tolerance. *Med Sci Sports Exerc.* 2000 Mar;32(3):684-9.

Smith LL, McKune AJ, Semple SJ, Sibanda E, Steel H, Anderson R. Changes in serum cytokines after repeated bouts of downhill running. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2007 Apr;32(2):233-40.

Sprenger H, Jacobs C, Nain M, Gressner AM, Prinz H, Wesemann W, Gemsa D. Enhanced release of cytokines, interleukin-2 receptors, and neopterin after long-distance running. *Clin Immunol Immunopathol.* 1992 May;63(2):188-95.

Steinacker JM, Lormes W, Reissnecker S, Liu Y. New aspects of the hormone and cytokine response to training *Rev. Eur J Appl Physiol.* 2004 Apr;91(4):382-91. Epub 2003 Nov 8.

Suzuki K, Totsuka M, Nakaji S, Yamada M, Kudoh S, Liu Q, Sugawara K, Yamaya K, Sato K. Endurance exercise causes interaction among stress hormones, cytokines, neutrophil dynamics, and muscle damage. *J Appl Physiol.* 1999 Oct;87(4):1360-7

Suzuki K, Nakaji S, Yamada M, Totsuka M, Sato K, Sugawara K. Systemic inflammatory response to exhaustive exercise. Cytokine kinetics. *Exerc Immunol Rev.* 2002;8:6-48.

Tricoli V. Mecanismos envolvidos na etiologia da dor muscular tardia. *Rev Bras Ciên Mov.* 2001;9(2):39-43.

Todo-Bom A, Pinto AM. Exercício físico – resposta imunoinflamatória. *Rev Port imunoalergol.* 2007;15 (2):123-33.

Turnbull AV, River C. Regulation of HPA axis by Cytokines. *Brain Behav Immun.* 1995;9: 253-75.

Venkatraman JT, Feng X, Pendergast D. Effects of Dietary Fat and Endurance Exercise on Plasma Cortisol, Prostaglandin E2, Interferon- $\gamma$  and Lipid Peroxides in Runners. *J Am College Nutr.* 2001; 20(5):529-36.

Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins e Cotran: Patologia: Bases Patológicas das Doenças, 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005.

Welch WJ. Mammalian stress response: cell Physiology, structure/function of stress proteins, and implications for Med and disease. *Physiol Rev.* 1992; 72(4):1063-81.

Windmueller HG, Spaeth AE. Uptake and metabolism of plasma glutamine by the small intestine. *J Biol Chem.* 1974 Aug 25;249(16):5070-9.

Zatsiorsky VM. Ciência e pratica do treinamento de força. São Paulo: Phorte;1999.