

Efecto del *Phlebodium Decumanum* sobre los cambios en niveles plasmáticos de testosterona y cortisol inducidos por el ejercicio en sujetos no entrenados

José A Gonzalezjurado^{1a}, Carlos de Teresa G², Edgardo Molina S^{3b}, Francisco Pradas de la F^{4a}, Rafael Guisado B⁵, José Naranjo O⁶.

Effects of the consumption of Phlebodium Decumanum on plasma cortisol and testosterone levels in subjects participating in an exercise program

Background: *Phlebodium Decumanum* is a type of fern that could have an immune or stress response modulating action. **Aim:** To evaluate if the consumption of a preparation obtained from *Phlebodium Decumanum*, modifies the changes induced by exercise in plasma levels of testosterone and cortisol. **Material and methods:** Fourteen male subjects aged 22 ± 2 years were randomized to consume *Phlebodium Decumanum* and 10 subjects, aged 23 ± 1 years were ascribed to consume a placebo. Both groups performed a standard exercise program, three times a week during one month. Plasma free testosterone and cortisol levels were measured before and 48 hours after the last session of the exercise program. **Results:** Cortisol levels increased significantly from 18.9 ± 6.8 to 26.2 ± 5.9 $\mu\text{g/dl}$, in the control group. In the group consuming the study product, no changes were detected (20.0 ± 4.6 and 20.9 ± 5.9) $\mu\text{g/dl}$ before and after the exercise program, respectively). Plasma free testosterone decreased significantly in both groups from 36.1 ± 11.04 to 20.7 ± 4.3 pg/ml in the control group and from 33.7 ± 10.0 pg/ml to 18.6 ± 4.9 pg/ml in study group. **Conclusions:** The cortisol levels increased significantly in the control group but not in the study group. Therefore we can suggest that consumption of *Phlebodium Decumanum* would be able to modulate the response of this hormone to physical stress (Rev Méd Chile 2009; 137: 497-503). **(Key words:** Exercise tests; Ferns; Hydrocortisone)

Recibido el 24 de abril, 2008. Aceptado el 9 de enero, 2009.

¹Facultad de Ciencias del Deporte, Universidad Pablo de Olavide de Sevilla. España. ²Centro Andaluz de Medicina del Deporte. Granada. España. ³Departamento de Educación Física, Deportes y Recreación, Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación. Santiago, Chile.

⁴Facultad de Ciencias de la Salud y el Deporte. Universidad de Zaragoza. ⁵Escuela Ciencias de la Salud, Universidad de Granada. ⁶Centro Andaluz de Medicina del Deporte. Sevilla, España.

^aDoctor en Actividad Física y Salud por la Universidad de Granada. Licenciado en Ciencias de la Actividad Física y el Deporte. Universidad de Granada.

^bDoctor en Actividad Física y Salud por la Universidad de Granada. Licenciado en Educación Física, Universidad de Chile.

Correspondencia a: José Antonio Gonzalezjurado: C/ Gradeo, 12. Castilleja de la Cuesta, C.P. 41950. Sevilla. España. Fax: 00-34-954348377. E mail: jagonjur@upo.es

Los deportistas siempre han buscado recursos y ayudas que les permitan mejorar y optimizar su rendimiento deportivo. A este tipo de productos se les ha llamado ayudas ergogénicas. Este término actualmente es más amplio, y abarca la utilización de cualquier elemento que tenga como objetivo obtener un mejor rendimiento deportivo o una limitación de las consecuencias negativas del entrenamiento o la competición. Se trata por tanto de agentes farmacológicos, agentes hormonales, agentes fisiológicos, agentes y sustancias nutricionales, fenómenos psicológicos y factores mecánicos¹.

Varias hormonas, neurotransmisores y moléculas metabólicamente activas son modificadas por el ejercicio físico. Entre estas sustancias se encuentran la testosterona y el cortisol, consideradas hormonas de respuesta al estrés. Los cambios en sus niveles circulantes se relacionan con niveles de rendimiento físico y se consideran indicadores de situaciones de sobrecarga física e incluso de sobreentrenamiento²⁻¹¹. El cortisol es una hormona íntimamente relacionada con el estrés y los procesos catabólicos. Podemos afirmar que la respuesta más frecuentemente informada respecto a las concentraciones plasmáticas de cortisol, consiste en que tras la práctica física intensa durante periodos de tiempo de corta o media duración, se suele producir un aumento de los niveles sanguíneos de cortisol, junto con otros glucocorticoides y se puede considerar como un índice de sobresolicitación y *overreaching*^{12,13}.

La testosterona es la principal hormona esteroidea anabolizante y andrógena en el hombre, ejerce numerosos efectos en los procesos metabólicos fisiológicos. Además con su acción contrarresta el efecto provocado por el cortisol durante la práctica de ejercicio físico intenso¹⁴. Muchos estudios, informan de una disminución de la testosterona cuando sometemos al sujeto a un estrés físico al cual su estado de forma física no está capacitado para responder^{15,16}.

Se ha informado que el ejercicio físico intenso provoca un incremento de los procesos catabólicos, con disminución de testosterona libre, índice testosterona libre/cortisol e incremento de cortisol, mientras que en el caso de utilización de cargas ligeras, conlleva un incremento de testosterona libre, índice testosterona/cortisol y disminución del cortisol^{3,4,7,17}.

Situaciones de sobrecarga o fatiga subaguda (*overreaching*) se caracterizan por una disminución significativa y constante de los niveles de testosterona, normalmente asociada a una elevación de los niveles de cortisol plasmático. La relación entre la testosterona libre y el cortisol se ha sugerido como indicador de una aproximación al estado anabólico/catabólico de un individuo. Incrementos del estrés provocado por el ejercicio intenso se han relacionado con disminuciones en el índice testosterona libre/cortisol^{2,8,17}.

El *Phlebodium decumanum* es un helecho de la familia de las polipodiáceas. Estos helechos son cultivados en monocultivo en la plantación del lago Yojoa en Honduras. Se caracteriza por un amplio fronde provisto de varios soros (3 a 7) y por su grueso, carnoso y veloso rizoma.

Los efectos de los derivados de este helecho están relacionados con la modulación de la respuesta inmunológica como consecuencia de situaciones de estrés, tal y como se demuestra en el estudio *in vitro*¹⁸, así como *in vivo* en humanos¹⁹⁻²².

La acción protectora del *Phlebodium decumanum* en modelos experimentales *in vitro*, ha sido estudiada por Punzón et al (2003)¹⁸ en el Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" (Universidad Autónoma de Madrid). El perfil modulador de las respuestas al estrés, lo hace potencialmente atractivo para prevenir los efectos negativos de la sobresolicitación muscular, que puede estar relacionada con el desajuste de la respuesta hormonal y el desequilibrio anabólico/catabólico.

El objetivo de este estudio es comprobar si el aporte nutricional de *Phlebodium decumanum*, tiene efectos sobre los cambios en los niveles plasmáticos inducidos por el ejercicio en hormonas indicadoras de estrés fisiológico como la testosterona y cortisol.

MATERIAL Y MÉTODO

A partir de una muestra de 24 varones (estudiantes universitarios), se conformaron dos grupos distribuidos aleatoriamente según el consumo máximo de oxígeno determinado mediante protocolo en tapiz rodante (modelo Runrace D-140 de Technogym). Se utilizó el analizador de gases Oxicon Delta de Jaeger.

Un grupo de 14 sujetos consumió *Phlebodium decumanum* (G.PD), ($22,14 \pm 1,56$ años, peso $75,05 \pm 8,92$ kg) y un segundo grupo de 10 sujetos se les administró un placebo (G.P.) ($22,8 \pm 1,22$ años; peso $82,78 \pm 9,82.5$ kg).

Se sometieron a un programa de ejercicio de un mes de duración. Todos los sujetos firmaron un documento de consentimiento informado, sobre las características del producto, el placebo y el tipo de entrenamiento a realizar, siguiendo las indicaciones de la Declaración de Helsinki.

Las variables independientes con las que se trabajó fueron: En primer lugar el consumo de producto o de placebo. La formulación utilizada a base de *Phlebodium decumanum* se obtienen a partir de una fracción hidrosoluble de fronda purificada y estandarizada. Esta fracción se obtiene por extracción hidroalcohólica de las frondas maduras, secas y trituradas, seguida de la eliminación del disolvente orgánico, concentración de la fase acuosa y purificación. La mezcla de extracto con rizoma esterilizado y triturado, seguida de secado y homogeneización, da lugar a un polvo, que puede ser administrado en diversas presentaciones farmacéuticas.

Para nuestro estudio elegimos la forma encapsulada por su mayor comodidad de administración. El método de producción del extracto está protegido bajo patente (P-9900133[®]).

El preparado consistió en cápsulas de 400 mg, cuyo contenido es el siguiente: 250 mg de extracto de fracción hidrosoluble del fronde y 150 mg de polvo de rizoma de *Phlebodium decumanum*.

El placebo consistió en las mismas cápsulas pero con 400 mg de levadura de cerveza. Tanto el producto estudiado como el placebo fueron suministrados por la empresa Helsint S.A.L. La dosificación del producto y el placebo fue 2 cápsulas/3 veces al día.

La segunda variable independiente fue el programa de ejercicio de tres sesiones semanales, realizado por toda la muestra, que consistió:

- 1º. Golpeos de tenis en cancha. Trabajando por parejas, cada sujeto ejecutó 500 golpeos; golpe de derecha paralelo: 125, golpe de derecha cruzado: 125; revés paralelo: 125; revés cruzado: 125.
- 2º. Trabajo de fuerza dinámica, por tres grupos musculares: Pectorales: *press* de banca. Dorsales: *Lat* tras nuca (jalones tras nuca). Deltoides:

press sentado con mancuernas (*seated dumbbell press*).

Se trabajó a una intensidad de 55% y 60%, del test máximo, hasta la fatiga en cada serie. La fuerza máxima dinámica se determinó mediante el test propuesto por Brzycki citado por García (1996)²³. Se realizaron tres series de cada ejercicio las dos primeras semanas y cuatro series la tercera y cuarta semana. La recuperación entre series fue de 2 minutos.

- 3º. Entrenamiento de resistencia mediante un *interval-training*. En cada serie se realizó 10 veces un recorrido de ida y vuelta a máxima intensidad sobre una distancia de 8 metros, completándose por tanto 160 metros por serie. La pausa venía determinada por la frecuencia cardiaca (FC), así se inicia la siguiente serie cuando la FC está entre $125-130 \text{ lat}\cdot\text{min}^{-1}$, registrada mediante un pulsómetro de muñeca Polar Vantage NV. Se realiza este trabajo durante 20 min las dos primeras semanas, durante 25 min la tercera y cuarta semana y durante 30 min la primera y la última sesión.

Las variables dependientes analizadas en este estudio fueron: niveles plasmáticos de cortisol y de testosterona libre, medidos en sangre venosa periférica.

Se tomaron muestras antes de iniciar el protocolo y 48 h después de la última sesión de trabajo. Todas las extracciones de sangre venosa fueron realizadas por diplomados en Enfermería con experiencia contrastada.

Las mediciones de cortisol y testosterona total se realizaron a través de técnicas de inmunoquimioluminiscencia. La máquina utilizada fue Nichols Advantage[®].

La testosterona libre se analizó mediante enzimmunoanálisis. El aparato usado fue el modelo Vidas de la casa Byo-Merieux[®].

En cuanto al diseño de esta investigación, se trata en un estudio a doble ciego, multigrupo con dos grupos aleatorios; grupo experimental (consume *Phlebodium decumanum*) y grupo de control (consume placebo). Se han llevado a cabo medidas al comienzo y al final del protocolo.

El tratamiento estadístico de los datos se efectuó con el *software* SPSS14.0, y fue el siguiente: en primer lugar se han realizado pruebas de valoración de la normalidad (test de Shapiro-Wilk)

para cada variable, tanto para contrastes intragrupos como para contrastes entre grupos. Si la variable a analizar cumplía la condición de normalidad, tanto para contrastar los cambios de variables intragrupos (datos apareados) como para intergrupos (muestras independientes), se utilizó la prueba t de Student.

Si la variable estudiada no cumplía la normalidad, se efectuaron pruebas de contraste no paramétricas. Para contrastar los cambios de variables intragrupos se efectuó la prueba de Wilcoxon, para contrastes de hipótesis de dos muestras intergrupos se hizo la prueba U de Mann-Whitney.

Se consideró significativo un valor de p menor de 0,05.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se presenta los valores de los estadísticos descriptivos obtenidos en cada una de las variables dependientes evaluadas en este estudio.

En la Figura 1 se presenta las medias de los niveles de testosterona libre (pg/ml) en los dos grupos, comparándose pre-test y post-test. En ambos grupos se observa una notable disminución de los niveles de esta hormona con diferencias significativas en el grupo placebo p <0,001 y para el grupo PD p <0,0001 (prueba t de Student). En la Figura 2 se muestran las diferencias entre el pre y post-test en los niveles plasmáticos de cortisol (µg/dl), obteniéndose un aumento estadís-

Tabla 1. Estadísticos descriptivos de las variables dependientes

	Grupo PD			Grupo placebo		
	n	Media	D.S.	n	Media	D.S.
Testosterona libre pret.	14	33,66	10,01	10	36,10	11,04
Testosterona libre post	14	18,61	4,93	10	20,72	4,3
% cambio test. libre	14	-39,92	23,38	10	-39,63	15,66
Cortisol pre-test	14	20,04	4,59	10	18,89	6,83
Cortisol post-test	14	20,95	5,92	10	26,19	5,93
% cambio cortisol	14	6,35	28,35	10	54,93	68,41
Índice test./cort. pret.	14	1,71	0,52	10	2,25	1,34
Índice test/cort post	14	0,96	0,4	10	0,82	0,2
% cambio índice t/c	14	-38,41	33,09	10	-53,14	25,28

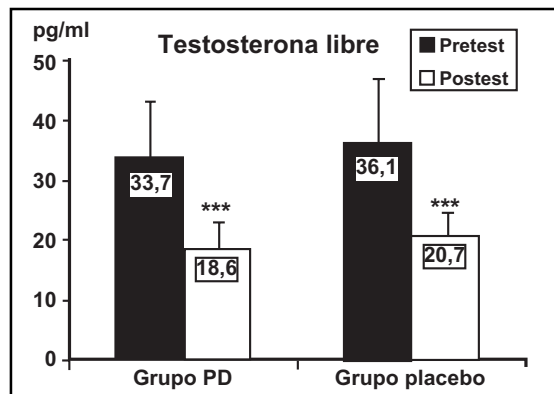


Figura 1. Comparación intragrupo de medias pre y postest de testosterona libre. ***p <0,001. Test t de Student.

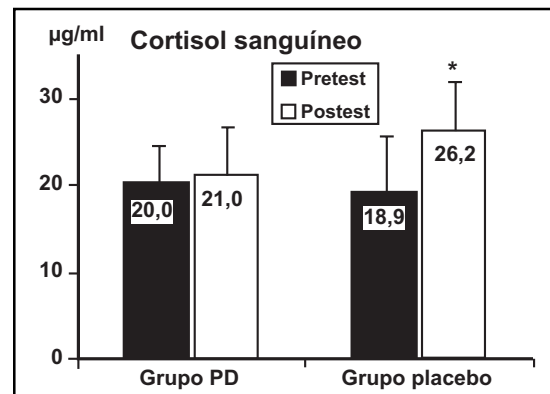


Figura 2. Comparación intragrupo de medias pre y postest de cortisol en sangre. *p <0,05. Test t de Student.

ticamente significativo (t de Student) en el grupo placebo, $p < 0,05$, mientras que en el grupo PD prácticamente no se observan cambios entre pre y post-test. En la Figura 3 se puede ver que el índice testosterona libre/cortisol sufre una disminución claramente significativa en ambos grupos; $p < 0,01$, resultados obtenidos mediante la prueba de Wilcoxon. En la Figura 4 se presenta los resultados obtenidos en el porcentaje de cambio, así podremos analizar la mejora (o disminución) relativa, producida en cada grupo y a partir de ahí comparar la magnitud de dicha variación entre uno y otro grupo. No detectamos diferencias significativas intergrupos en dos de las tres variables evaluadas. El porcentaje de cambio de cortisol en sangre, sí que es significativamente distinto

entre grupos, así en el grupo P los niveles plasmáticos de esta hormona catabólica aumentan significativamente más que el grupo PD ($p < 0,05$; Mann-Whitney).

DISCUSIÓN

De las determinaciones hormonales realizadas en nuestro trabajo, ha sido el cortisol el que ha arrojado resultados más destacados. Así, en el grupo placebo, hemos obtenido resultados acordes con la mayoría de la documentación revisada, es decir, hemos detectado aumentos significativos entre el pre-test y el post-test ($p < 0,01$). Similares resultados se muestran en un estudio realizado por Viru et al (2001)¹¹, donde informan que tras la realización de un trabajo físico a 70% del consumo máximo de oxígeno, obtuvieron un aumento en la concentración de cortisol, manteniéndose estable la testosterona en todos los sujetos ($n = 12$). Otros estudios informan asimismo de un aumento de los niveles plasmáticos de cortisol durante el ejercicio, además, tanto el incremento como el retorno a niveles basales dependen de la intensidad y la duración del ejercicio²⁴⁻²⁶. Tanto en el ejercicio intenso como moderado, el cortisol permanece elevado hasta aproximadamente 90 min después del término del ejercicio²⁷.

Sin embargo, el grupo PD en lugar de aumentar el cortisol plasmático se ha mantenido sin cambios estadísticamente significativos. Podemos inferir, por tanto, que el consumo de *Phlebodium decumanum* protege al sujeto del estrés causado por el ejercicio físico. En este sentido la comparación intergrupos

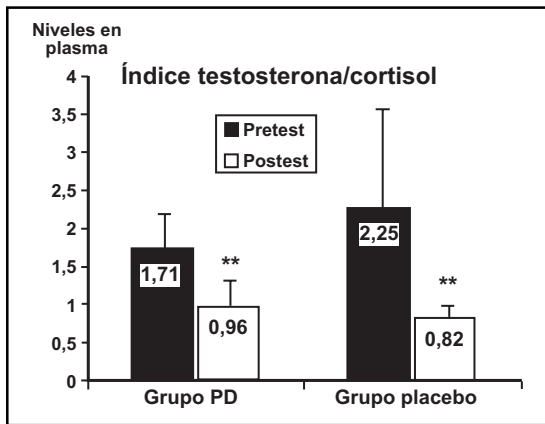


Figura 3. Comparación intragrupo de medias pre y postest de índice testosterona/cortisol en sangre. ** $p < 0,01$.

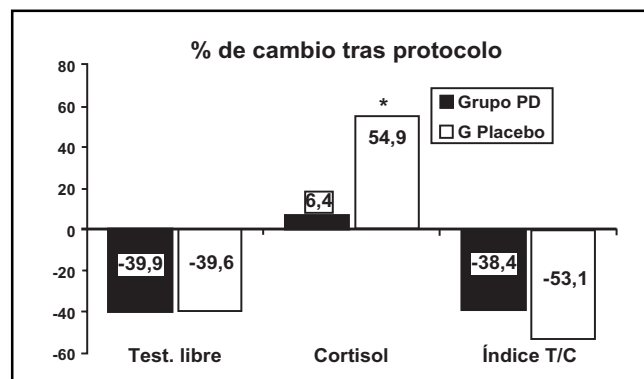


Figura 4. Comparación intragrupo de medias de porcentaje de cambio en hormonas e índice testosterona/cortisol en plasma.

también proporciona diferencias significativas respecto a esta hormona, en el porcentaje de cambio al inicio y al final del entrenamiento ($p < 0,05$).

En algunas publicaciones se ha informado que el cortisol sufre una disminución de los niveles plasmáticos en situaciones de exceso de trabajo físico, pero esta situación sucede en los estados de síndrome de sobreentrenamiento cronificado^{7,10-13,28-30}.

Respecto a la testosterona encontramos algunas publicaciones que informan acerca de un aumento o de la inexistencia de cambios en los niveles plasmáticos de dicha hormona con el ejercicio físico sistematizado de cierta intensidad^{6,31}. Sin embargo, podemos observar que se refiere a situaciones en que a sujetos con un alto nivel de entrenamiento se aplicó un estímulo físico de una sesión única, por lo que se trata de una respuesta aguda al estrés. La mayoría de los estudios informan que cuando el estrés físico es de cierta intensidad y se mantiene por un tiempo relativamente prolongado, los niveles plasmáticos de la testosterona, la testosterona libre y el índice testosterona cortisol disminuyen significativamente^{8,32-34}.

Los resultados que hemos obtenido referentes a estas variables coinciden con lo reportado en la documentación anteriormente citada. Se registró una considerable disminución de los niveles de testosterona libre en ambos grupos (grupo PD: $p > 0,001$ y grupo placebo: $p < 0,001$). Como consecuencia de este importante descenso en los niveles de testosterona libre, la relación testosterona/cortisol también sufrió decrementos que fueron estadísticamente significativos en ambos grupos (grupo PD y grupo placebo: $p < 0,01$). Por consiguiente, si nos atenemos a la interpretación de estos valores podemos afirmar que la muestra se sometió a un trabajo físico que supuso un estrés considerable en función de su condición física previa.

Otro trabajo que aporta conclusiones en esta línea es el de Urhausen et al (1995)¹³, en el que la relación testosterona/cortisol disminuye en relación con la intensidad y la duración del ejercicio, así como durante periodos de entrenamiento intenso o de competiciones frecuentes. Esta disminución puede ser revertida con medidas regeneradoras. La evolución de esta variable y su interpretación en relación a la valoración del entrenamiento aún presenta muchas incógnitas si atendemos a las investigaciones realizadas. En cualquier caso, la mayoría de los estudios no han sido capaces de confirmar cambios en la relación testosterona/cortisol en deportistas de fuerza o de resistencia sobreentrenados^{17,35,36}. Los resultados obtenidos sugieren por tanto que el protocolo de ejercicios ejecutado por nuestra muestra fue lo suficientemente intenso para provocar evidentes signos de estrés físico, reflejados en la disminución de testosterona libre, e índice testosterona cortisol, sin embargo, no fue lo bastante exigente en duración o intensidad como para llevar a los deportistas a un estado de sobreentrenamiento. Aunque tal vez si podríamos hablar de una situación de fatiga subaguda o sobresolicitación (*overreaching*).

Asimismo, estos resultados apuntan a afirmar que los sujetos que suplementaron su alimentación con *Phlebodium decumanum* manifestaron menor grado de estrés físico, tal y como refleja su respuesta referida a las concentraciones de cortisol. Por consiguiente soportaron mejor el trabajo al que fueron sometidos y estarían potencialmente mejor preparados para soportar mayores cargas de entrenamiento.

Agradecimientos

En este estudio ha colaborado la empresa Helsint S.A.L., sin cuya colaboración no se podría haber llevado a cabo el mismo.

REFERENCIAS

1. BANFI G, MARINELLI M, ROI GS, AGAPE V. Usefulness of free testosterone/cortisol ratio during a season of elite speed skating athletes. *Int J Sports Med* 1993; 14: 373-9.
2. HOOGVEEN AR, ZONDERLAND ML. Relationships between testosterone, cortisol and performance in professional cyclists. *Int J Sports Med* 1996; 17: 423-8.
3. HÄKKINEN K, PAKARINEN A. Serum hormones in male strength athletes during intensive short term strength training. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1991; 63: 194-9.
4. JACKS DE, SOWASH J, ANNING J, MCGLOUGHLIN T, ANDRES F. Effect of exercise at three exercise intensities on salivary cortisol. *J Strength Cond Res* 2002; 16: 286-9.
5. JÜRIMÄE J, JÜRIMÄE T, PURGE P. Plasma testosterone and cortisol responses to prolonged sculling in male competitive rowers. *J Sports Sci* 2001; 19: 893-8.
6. KRAEMER WJ, FLECK SJ, CALLISTER R, SHEALY M, DUDLEY GA, MARESH CM ET AL. Training responses of plasma beta-endorphin, adrenocorticotropin, and cortisol. *Med Sci Sports Exerc* 1989; 21: 146-53.

7. MARINELLI M, ROI GS, GIACOMETTI M, BONINI P, BANFI G. Cortisol, testosterone, and free testosterone in athletes performing a marathon at 4,000 m altitude. *Horm Res* 1994; 41: 225-9.
8. RAASTAD T, BJØRO T, HALLÉN J. Hormonal responses to high- and moderate-intensity strength exercise. *Eur J Appl Physiol* 2000; 82: 121-8.
9. URHAUSEN A, KINDERMANN W. Diagnosis of overtraining: what tools do we have? *Sports Med* 2002; 32: 95-102.
10. VIRU AM, HACKNEY AC, VÁLJA E, KARELSON K, JANSON T, VIRU M. Influence of prolonged continuous exercise on hormone responses to subsequent exercise in humans. *Eur J Appl Physiol* 2001; 85: 578-85.
11. PUNZÓN C, ALCAIDE A, FRESNO M. *In vitro* anti-inflammatory activity of *Phlebodium decumanum*. Modulation of tumor necrosis factor and soluble TNF receptors. *Int Immunopharmacol* 2003; 3: 1293-9.
12. TUOMINEN M, BOHLIN L, ROLFSEN W. Effects of Calaguala and an active principle, adenosine, on platelet activating factor. *Planta Med* 1992; 58: 306-10.
13. VASANGE M, LIU B, WELCH CJ, ROLFSEN W, BOHLIN L. The flavonoid constituents of two *Polypodium* species (Calaguala) and their effect on the elastase release in human neutrophils. *Planta Med* 1997; 63: 511-7.
14. VASANGE M, ROLFSEN W, BOHLIN L. A sulphoglycolipid from the fern *Polypodium decumanum* and its effect on the platelet activating-factor receptor in human neutrophils. *J Pharm Pharmacol* 1997; 49: 562-6.
15. VASANGE-TUOMINEN M, PERERA-IVARSSON P, SHEN J, BOHLIN L, ROLFSEN W. The fern *Polypodium decumanum*, used in the treatment of psoriasis, and its fatty acid constituents as inhibitors of leukotriene B4 formation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1994; 50: 279-84.
16. GANONG WF. *Fisiología Médica*. Mexico D.F.: Editorial El Manual Moderno. 1990; 318-82.
17. GLEESON M. Biochemical and immunological markers of overtraining. *Journ Sport Sci Med* 2002; 2: 31-41.
18. URHAUSEN A, GABRIEL H, KINDERMANN W. Blood hormones as markers of training stress and overtraining. *Sports Med* 1995; 20: 251-76.
19. CAMPUSANO C, BRUSCO F, CAMPINO C, RODRÍGUEZ L, ARTEAGA E. Comparación de distintos métodos para evaluar la función androgénica en el adulto mayor. *Rev Méd Chile* 2006; 134: 1123-8.
20. GUEZENNEC CY, LAFARGE JP, BRICOUT VA, MERINO D, SERRURIER B. Effect of competition stress on tests used to assess testosterone administration in athletes. *Int J Sports Med* 1995; 16: 368-72.
21. CONSITT LA, COPELAND JL, TREMBLAY MS. Endogenous anabolic hormone responses to endurance versus resistance exercise and training in women. *Sports Med* 2002; 32: 1-22.
22. SLOWINSKA-LISOWSKA M, MAJDA J. Hormone plasma levels from pituitary-gonadal axis in performance athletes after the 400 m run. *J Sports Med Phys Fitness* 2002; 42: 243-9.
23. GARCÍA JM, NAVARRO M, RUÍZ JA. *Bases teóricas del entrenamiento deportivo*. Madrid: Editorial Gymnos. 1996; 170.
24. VIRU A, VIRU M, KARELSON K, JANSON T, SIM K, FISCHER K, HACKNEY AC. Adrenergic effects on adrenocortical cortisol response to incremental exercise to exhaustion. *Eur J Appl Physiol* 2007; 100: 241-5.
25. BRENNER I, SHEK PN, ZAMECNIK J, SHEPHARD RJ. Stress hormones and the immunological responses to heat and exercise. *Int J Sports Med* 1998; 19: 130-43.
26. BARRON JL, NOAKES TD, LEVY W, SMITH C, MILLAR RP. Hypothalamic dysfunction in overtrained athletes. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 60: 803-6.
27. WOODS JA. Exercise and neuroendocrine modulation of macrophage function. *Int Journ Sport Med* 2000; 21: 24-30.
28. LEHMANN M, GASTMANN U, PETERSEN KG, BACHL N, SEIDEL A, KHALAF AN, FISCHER S, KEUL J. Training-overtraining: performance, and hormone levels, after a defined increase in training volume versus intensity in experienced middle- and long-distance runners. *Br J Sports Med* 1992; 26: 233-42.
29. KIRWAN JP, COSTILL DL, FLYNN MG, MITCHELL JB, FINK WJ, NEUFER PD, HOUMARD JA. Physiological responses to successive days of intense training in competitive swimmers. *Med Sci Sports Exerc* 1988; 20: 255-9.
30. FRY AC, KRAEMER WJ, RAMSEY LT. Pituitary-adrenal-gonadal responses to high-intensity resistance exercise overtraining. *J Appl Physiol* 1998; 85: 2352-9.
31. FAHRNER CL, HACKNEY AC. Effects of endurance exercise on free testosterone concentration and the binding affinity of sex hormone binding globulin (SHBG). *Int J Sports Med* 1998; 19: 12-5.
32. SCHMID P, PUSCH HH, WOLF W, PILGER E, PESSENHOFER H, SCHWABERGER G ET AL. Serum FSH, LH, and testosterone in humans after physical exercise. *Int J Sports Med* 1982; 3: 84-9.
33. BOSCO C, COLLI R, BONOMI R, VON DUVILLARD SP, VIRU A. Monitoring strength training: neuromuscular and hormonal profile. *Med Sci Sports Exerc* 2000; 32: 202-8.
34. WHEELER GD, SINGH M, PIERCE WD, EPLING WF, CUMMING DC. Endurance training decreases serum testosterone levels in men without change in luteinizing hormone pulsatile release. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 72: 422-5.
35. HOUMARD JA, COSTILL DL, MITCHELL JB, PARK SH, FINK WJ, BURNS JM. Testosterone, cortisol, and creatine kinase levels in male distance runners during reduced training. *Int J Sports Med* 1990; 11: 41-5.
36. BANFI G, DOLCI A. Free testosterone/cortisol ratio in soccer: usefulness of a categorization of values. *J Sports Med Phys Fitness* 2006; 46: 611-6.
37. LAC G, BERTHON P. Changes in cortisol and testosterone levels and T/C ratio during an endurance competition and recovery. *J Sports Med Phys Fitness* 2000; 40: 139-44.
38. MACKINNON LT, HOOPER SL, JONES S, GORDON RD, BACHMANN AW. Hormonal, immunological, and hematological responses to intensified training in elite swimmers. *Med Sci Sports Exerc* 1997; 29: 1637-45.