

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
MESTRADO EM NUTRIÇÃO

INALAÇÃO DE SALBUTAMOL NA AMONEMIA E
DESEMPENHO APÓS EXERCÍCIO PROLONGADO SOB
CONDIÇÕES DE ESTRESSE AO CALOR

THÁSSIA CASADO LIMA FRANÇA

MACEIÓ-2017

THÁSSIA CASADO LIMA FRANÇA

**INALAÇÃO DE SALBUTAMOL NA AMONEMIA E
DESEMPENHO APÓS EXERCÍCIO PROLONGADO SOB
CONDIÇÕES DE ESTRESSE AO CALOR**

Dissertação apresentada à
Faculdade de Nutrição da
Universidade Federal de Alagoas
como requisito à obtenção do
título de Mestre em Nutrição.

Orientador: **Prof Dr. Eduardo Seixas Prado**
Faculdade de Nutrição
Universidade Federal de Alagoas

MACEIÓ-2017

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central

Bibliotecária Responsável: Janis Christine Angelina Cavalcante

F814i França, Thássia Casado Lima.
Inalação de salbutamol na amonemia e desempenho após exercício prolongado sob condições de estresse ao calor./ Thássia Casado Lima França. – 2017.
59 f. :il., color.

Orientador: Eduardo Seixas Prado.
Dissertação (Mestrado em Nutrição) – Universidade Federal de Alagoas Faculdade de Nutrição. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. Maceió, 2017.

Bibliografia: f. 31-39.
Apêndices: f. 52-56.
Anexos: f. 57-59.

1. Nutrição esportiva. 2. Desempenho atlético. 3. Sabutamol.
4. Hiperamonemia. 5. Asma. 6. Ambiente quente. I. Título.

CDU: 612.3:796

**MESTRADO EM NUTRIÇÃO
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**



Campus A. C. Simões
BR 104, km 14, Tabuleiro dos Martins
Maceió-AL 57072-970
Fone/fax: 81 3214-1160

**PARECER DA BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE
DISSERTAÇÃO**

**“EFEITOS AGUDOS DA INALAÇÃO DE SALBUTAMOL SOBRE
O METABOLISMO DA AMÔNIA E DESEMPENHO COGNITIVO-
MOTOR DE CORREDORES SUBMETIDOS AO EXERCÍCIO
FÍSICO PROLONGADO NO CALOR”**

por

THÁSSIA CASADO LIMA FRANÇA

A Banca Examinadora, reunida aos 15/12/2017, considera a
candidata **APROVADA**.

Assinatura manuscrita em azul de Eduardo Seixas Prado.

Prof. Dr. Eduardo Seixas Prado
Universidade Federal de Alagoas
(Orientador)

Assinatura manuscrita em azul de Gustavo Gomes de Araújo.

Prof. Dr. Gustavo Gomes de Araújo
Universidade Federal de Alagoas
(Examinador)

Assinatura manuscrita em azul de Silvan Silva de Araújo.

Prof. Dr. Silvan Silva de Araújo
Universidade Federal de Sergipe
(Examinador)

DEDICATÓRIA

Eu dedico esse trabalho a minha família e amigos, em especial a minha amada avó "Mãe Lena".

AGRADECIMENTOS

Grata a Deus por me ajudar a chegar até aqui. Grata ao meu Orientador Professor Eduardo, obrigada por todos os ensinamentos, paciência, compreensão no momento mais difícil da minha vida (momento esse que me impossibilitou de terminar o mestrado no período previsto). Não tenho palavras para agradecer por tudo Professor! Você é inspiração para nós eternos alunos. Grata a minha família por toda força e amor nessa caminhada, em especial a minha mãe Marília e minha irmã Thaise. Grata aos meus amigos por ter participado com tanto empenho e carinho na coleta de dados do meu trabalho. Grata aos corredores, por todo esforço e participação em todo o processo da coleta de dados. Grata a Fabiana Accioly por ter me convidado a participar do grupo de pesquisa LAPEFIM, foi onde tudo começou. Grata aos meus amigos do grupo de pesquisa LAPEFIM por toda ajuda, discussões proveitosas, risadas e profissionalismo. Grata a todos os professores do PPGNUT, grata também aos meus companheiros de mestrado que tornaram essa caminhada mais leve. Quantas histórias! Quanto aprendizado com vocês! Grata também a CAPES. Obrigada a todos! Sem vocês, eu não terá chegado até aqui.

Lista de abreviaturas

- Δ % MC** - Diferença percentual da massa corporal
- AIE** – Asma induzida pelo exercício
- ALT** – Alanina amino transferase
- AMP** – Adenosina monofosfato
- AMP_c** – Adenosina monofosfato cíclico
- AST** – Aspartato amino transferase
- Agonista- β 2** – Agonista dos receptores Beta Tipo 2
- C** – carboxiterminal
- CK** – Creatina quinase
- GE** – Gravidade específica
- G_s** – Prtoteína G estimuladora
- LDH** – Lactato desidrogenase
- MC** – Massa corporal
- IBUTG** – Índice de bulbo úmido temperatura de globo
- SAL** – Salbutamol
- N** – Aminoterminal
- SEX** – Grupo experimental salbutamol
- PEX** – Grupo experimental placebo
- WADA** – World Anti-Doping Agency

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	7
2. COLETÂNEA DE ARTIGOS.....	11
2.1. 1º artigo: artigo de revisão	
Usado do salbutamol e sua relação com o desempenho e a hiperamonemia	12
2.2. 2º artigo: artigo científico principal	
Inhaled salbutamol and its effects on ammonemia and performance after pronloged exercise under heat stress conditions	39
3. APÊNDICES.....	52
4. ANEXOS.....	57

1 INTRODUÇÃO GERAL

O salbutamol (SAL) é um agonista dos receptores beta tipo 2 (agonista- β 2) que é capaz de influenciar importantes funções fisiológicas e metabólicas (GOLDBERG et al., 1975). Entre várias ações sobre os sistemas fisiológicos desta droga, ela é empregada, frequentemente, de forma inalatória nas afecções do trato respiratório, tal como a asma (JARVIE; THOMPSON; DYSON, 1987). Apesar do seu reconhecimento como uso terapêutico, seus efeitos também despertam interesses no âmbito esportivo como um recurso ergogênico (CLARKSON; THOMPSON, 1997; KINDERMANN, 2007).

Por isso, estudos têm investigado a influência do SAL sobre a função cardiorrespiratória e metabólica, com repercussões sobre o desempenho aeróbico e anaeróbico, além da força e desempenho psicomotor de atletas, sob diferentes formas de administração e dosagem (BROBERG; SAHLIN, 1988; CARTER; LYNCH, 1994; COLLOMP et al., 2000a; VAN BAAK et al., 2004). E devido a preocupações com seus efeitos de dopagem, a Agência Mundial Anti-Doping (WADA, 2014) estabeleceu algumas restrições sobre esta droga, a qual proíbe o uso de todos os agonista- β 2, exceto o salmeterol, formoterol e o SAL, este último só pode ser administrado em até 1600 μ g ao longo de 24 h por via inalatória.

Entre os efeitos metabólicos do SAL, estão aqueles que atuam no fígado e músculo esquelético, promovendo aumento da atividade da glicogênio fosforilase, com consequente aumento da glicogenólise e níveis plasmáticos de glicose (KENDALL et al., 1991; PRICE; CLISSOLD, 1989; RIZZA et al., 1980). Esse efeito metabólico pode ser útil em situações onde o exercício submáximo prolongado, pode resultar em aumentos do catabolismo de aminoácidos e

desaminação da adenosina monofosfato (AMP), principais vias para produção de amônia durante vários tipos de exercício (BROBERG; SAHLIN, 1988)

A concentração sanguínea de amônia durante o exercício é dependente da disponibilidade de carboidrato (CZARNOWSKI et al., 1995; LANGFORT et al., 2004; SNOW et al., 2000). Procedimentos que disponibilizem carboidrato durante o exercício pode evitar o catabolismo de aminoácidos e/ou aumento da desaminação de AMP, evitando o acúmulo sanguíneo desse metabólito (BASSINI-CAMERON et al., 2007; CARVALHO-PEIXOTO; ALVES; CAMERON, 2007; FEBBRAIO, 2001; WAGENMARKERS et al., 1991). Tem sido sugerido que uma hiperamonemia é tóxica e promove fadiga periférica e central, com repercussões negativas no desempenho cognitivo-motor, e um melhor controle de seus níveis sanguíneos, favorece um melhor desempenho atlético (BANISTER; CAMERON, 1990; NYBO, 2010; WILKINSON; SMEETON; WATT, 2010).

A literatura relata que o desempenho cognitivo-motor (danos na memória, coordenação motora e tempo de reação) pode ser prejudicado pelas condições ambientais no calor, hipertermia ou desidratação (BINKLEY et al., 2002; BRISSWALTER; CALLARDEAU; RENÉ, 2002; GANIO et al., 2011; SHARMA, 2007). Igualmente, um aumento na temperatura corporal pode promover alterações metabólicas que incluem aumento do metabolismo dos fosfagênios (desaminação da AMP) e catabolismo de aminoácidos que prejudicam o desempenho (FEBBRAIO, 2001). Nessas condições, uma elevação na temperatura corporal de 1°C parece exacerbar a hiperamonemia induzida pelo exercício (LINNANE et al., 2004; WILKINSON; SMEETON; WATT, 2010).

Vale ressaltar que apenas um estudo, realizado em ambiente termoneutro, demonstrou redução da amonemia induzida pelo exercício físico sob uso do salbutamol inalatório (MATTHYS; CALDERS; PANNIER, 1998). E apenas (DICKINSON et al., 2014a), sem análise da amonemia, investigou o efeito do SAL inalatório no desempenho atlético em laboratório com ambiente quente controlado. A investigação realizada em ambientes naturais (campo) fornece um cenário real para estudar os efeitos do exercício no calor (STACHENFELD, 2014). Embora existam pesquisas realizadas com frequência em várias modalidades esportivas em ambientes de laboratório, nenhum trabalho de campo foi desenvolvido para investigar o efeito do SAL inalatório na amonemia e desempenho cognitivo-motor.

Nossa hipótese é de que a administração inalatória do SAL pode reduzir a hiperamonemia e melhorar o desempenho cognitivo-motor em exercício realizado em ambiente quente. Portanto, o presente estudo teve como objetivo investigar o efeito agudo da inalação de salbutamol na amonemia e desempenho após exercício prolongado sob condições de estresse ao calor.

2.1.1º artigo: artigo de revisão

FRANÇA, TCL; PRADO, ES. Uso do salbutamol e sua relação com o desempenho atlético e a hiperamonemia

Artigo de revisão

Uso do salbutamol e sua relação com o desempenho atlético e a hiperamonemia.

Salbutamol administration and its relationship to the athletic performance and hyperammonemia.

Salbutamol e hiperamonemia no exercício.

Salbutamol and hyperamonemia in exercise.

Thássia Casado Lima França^{1,2} - Levantamento bibliográfico, montagem, análise e interpretação e, elaboração do manuscrito.

Eduardo Seixas Prado² - Concepção e desenho do estudo, análise e interpretação, elaboração, revisão e aprovação da versão final do manuscrito.

¹Mestranda em Nutrição - Programa de Mestrado em Nutrição - Universidade Federal de Alagoas. Maceió/AL. Brasil.

²Doutor em Genética e Bioquímica - Laboratório de Bioquímica e Fisiologia do Exercício (LABIOFEX) – Curso de Educação Física Bacharelado - Universidade Federal de Alagoas. Maceió/AL. Brasil.

Universidade Federal de Alagoas. Campus A.C. Simões; Av. Lourival Melo Mota, S/N, Tabuleiro do Martins. CEP: 57.072-970. Maceió/AL. Brasil.
Correspondência para: E. S. Prado - espradoo@ig.com.br

Apoio Financeiro: Fundação de Amparo a Pesquisa de Alagoas - FAPEAL

Edital Nº 001/2013; Processo PEB 20130603-002-0040-0046.

RESUMO

O salbutamol (SAL) é um agonista dos receptores beta tipo 2 (agonista- β 2) com características terapêuticas, especialmente em doenças do trato respiratório. Porém, também pode influenciar outras funções fisiológicas e metabólicas, inclusive promover glicogenólise hepática e muscular. Tem sido demonstrado que a administração do SAL (inalatório e/ou oral), em diferentes doses, promove uma melhora no metabolismo e desempenho de atletas. Sabe-se que alterações metabólicas podem repercutir no desempenho atlético, tal como na hiperamonemia. Uma maior desaminação da AMP e/ou catabolismo de aminoácidos durante o exercício, pode causar uma maior concentração de amônia no sangue, especialmente se a atividade for realizada no calor, levando a prejuízos no desempenho de atletas. O SAL parece reduzir hiperamonemia, e pouco é conhecido sobre seus efeitos no metabolismo da amônia, especialmente durante exercício no calor. Assim, o objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão sobre os aspectos farmacológicos do SAL, além do seu uso e influência na perspectiva do desempenho atlético e na hiperamonemia induzida pelo exercício.

Palavras-chave: salbutamol, exercício, hiperamonemia, desempenho atlético, ambiente quente

ABSTRACT

Salbutamol (SAL) is an agonist of the beta type 2 receptor (β_2 -agonist) with therapeutic characteristics, especially respiratory diseases. However, you can also influence other physiological and metabolic functions, including promoting liver and muscle glycogenolysis. It has been shown that the administration of SALT (inhaled and/or oral), at different doses, it promotes an improvement in metabolism and performance of athletes. It is known that metabolic alterations may reflect in athletic performance, as in hyperammonemia. Greater deamination of AMP and / or catabolism of amino acids during exercise can cause a higher concentration of ammonia in the blood, especially if the activity is carried out in the heat, leading to losses in the performance of athletes. SALT appears to reduce hyperammonemia, and little is known about its effects on the metabolism of ammonia, especially during exercise in the heat. The objective of this study was a review of the pharmacological aspects of the SAL, beyond its use and influence in the perspective of athletic performance and exercise-induced hyperammonemia

Keywords: salbutamol, exercise, hyperammonemia, performance, hot environment.

1. INTRODUÇÃO

Sabe-se que a asma, além de ser uma doença pulmonar obstrutiva e inflamatória, pode ser desencadeada pela prática de exercício físico, especialmente em atletas de elite.

O salbutamol (SAL) é um agonista dos receptores beta tipo 2 (agonista- β_2) que pode influenciar várias funções fisiológicas e metabólicas, e por tais propriedades, é comumente usado em doenças do trato respiratório, como a asma (THOMSON et al., 2014). Neste caso, a condição é conhecida como Asma Induzida pelo Exercício (AIE), e sua terapia e controle podem ser alcançados através da administração de broncodilatadores, como a terbutalina, clenbuterol e o SAL (KINDERMANN, 2007). Neste contexto, este último agonista β_2 , administrado de forma inalatória ou oral, é considerado como tratamento farmacológico primário nestas condições devido a sua eficácia e menor ocorrência de efeitos adversos após a sua administração (ROTTA et al., 2007).

Contudo, apesar da importância do SAL no tratamento da AIE, este fármaco também é alvo de estudos sobre sua influência no desempenho esportivo (COLLOMP et al., 2010). Por isso, a World Anti-Doping Agency (WADA, 2014) limita o uso do SAL por atletas, pelo seu possível efeito ergogênico, limitando sua administração de forma inalatória diária em até 1600 μg (COLLOMP et al., 2010; DECORTE et al., 2013; DICKINSON et al., 2014a; WADA, 2014). Entretanto, vários estudos têm demonstrado que a administração do SAL (inalatório e/ou oral), em doses abaixo das preconizadas pela WADA promove uma melhora no desempenho de atletas por motivos

desconhecidos (GOLDBERG et al., 1975; LE PANSE et al., 2007; RODRIGUEZ; DIMARCO; LANGLEY, 2009).

Por outro lado, acredita-se que um aumento da amonemia durante o exercício pode causar tanto fadiga periférica quanto central por alterar a função cerebral, promovendo ataxia, letargia e estupor (BANISTER; CAMERON, 1990). Esses danos cerebrais podem ter um impacto significativo no desempenho físico e cognitivo (WILKINSON; SMEETON; WATT, 2010). A atenuação da hiperamonemia, tal como na maior disponibilidade de carboidrato, pode promover uma melhora do desempenho durante o exercício e o uso de recursos para essa finalidade têm sido investigados (ALMEIDA et al., 2010; NYBO; SECHER, 2004; NYBO et al., 2005; PRADO et al., 2011).

O SAL, promove glicogenólise e também parece reduzir o efeito da hiperamonemia induzida pelo exercício (MATTHYS; CALDERS; PANNIER, 1998; KENDALL et al., 1991; PRICE; CLISSOLD, 1989; RIZZA et al., 1980).

Deste modo, o objetivo deste trabalho foi revisar na literatura, aspectos farmacológicos do SAL, além do seu uso e influência na perspectiva do desempenho atlético e na hiperamonemia induzida pelo exercício.

2. MÉTODOS

Para esta revisão, foi realizada uma busca às base de dados *PUBMED* e *BIREME* utilizando os descritores: “*salbutamol and exercise*”, “*albuterol and exercise*”, “*exercise-induced asthma*”, “*pharmacokinetics of salbutamol*”, “*agonists β_2* ”, “*salbutamol and hyperammonemia*”, “*exercise-induced hyperammonemia*”, “*ammonia and prolonged exercise*”, “*dehydration and cognitive performance*”, “*exercise in the heat*”, “*exercise in a hot environment*”,

“exercise and heat stress”, “long duration exercise and cognitive function”, “ β_2 adrenergic agonists”, “adrenoreceptor”, “agonists selective β_2 ”, “ β_2 agonist pharmacodynamic”. Foram selecionados os artigos eletrônicos publicados na língua inglesa entre os anos de 1975 e 2015, priorizando os artigos que tratavam sobre o salbutamol e exercício físico. A seleção dos artigos foi realizada a partir da leitura dos títulos e dos resumos encontrados. Foram excluídas as publicações que não atendiam os termos utilizados para a busca.

3. ASPECTOS FARMACOLÓGICOS DO SALBUTAMOL

3.1. Receptores β -adrenérgicos

Os agonistas adrenérgicos consistem em substâncias que exercem ações estimulatórias sobre os receptores adrenérgicos (FURCHGOTT, 1972), estes receptores são do tipo metabotrópicos e encontram-se acoplados de modo eficiente às proteínas G heterotriméricas (HALL; PREMONT; LEFKOWITZ, 1999) e são classificados em dois tipos principais: alfa e beta (α e β , respectivamente) (PHILIPP; HEIN, 2004).

Os receptores β regulam importantes funções fisiológicas, tais como: contratilidade e frequência cardíaca, relaxamento da musculatura lisa, além de diversos eventos metabólicos (PHILIPP; HEIN, 2004). Inicialmente, foram identificados duas subclasses de receptores β -adrenérgicos, denominados de β_1 e β_2 , posteriormente, através da síntese de agonistas seletivos, uma terceira subclasse foi descrita, os β_3 (GIBBS; HUTCHINSON; SUMMERS, 2008). Estudos indicam a existência de uma quarta subclasse, os β_4 (KAUMANN; MOLENAAR, 1997; ROBERTS; MOLENAAR; SUMMERS, 1993;

SARSERO et al., 1999). Contudo, relatos sugerem que os receptores β_1 , mediante alteração de sua conformação, podem tornar-se afins de agonistas seletivos para β_3 e β_4 (BAKER, 2005; JOST et al., 2002; KONKAR; ZHAI; GRANNEMAN, 1999; LEWIS et al., 2004; RAYMOND et al., 1990). Por isso, tal ponto permanece incerto e faz-se necessário mais estudos ao esclarecimento da presença dos adrenocetores β_4 .

Todos os receptores β -adrenérgicos possuem uma estrutura comum de sete alças transmembranares constituída por um domínio extracelular aminoterminal (N) e outro intracelular carboxiterminal (C). Além disso, há uma alça intracelular que acopla o receptor a uma proteína G (RAYMOND et al., 1990). Deste modo, os receptores β promovem ativação da enzima adenililciclase via proteína G estimuladora (Gs), com conseqüente aumento nos níveis intracelulares de 3'-5' monofosfato de adenosina cíclico (AMPc) (DAVIS; LOIACONO; SUMMERS, 2008). Entretanto, estudos indicam que há diferenças no que diz respeito aos sinais e eventos ativados por cada subclasse (BOUVIER, 2006; LEFKOWITZ, 2000; MA; HUANG, 2002). Estas diferenças não são bem esclarecidas e podem ser observadas pela distribuição tecidual de cada subtipo e possivelmente nas vias de sinalização distais específicas de cada tecido (DAVIS; LOIACONO; SUMMERS, 2008; MA; HUANG, 2002).

Os receptores adrenérgicos- β_1 apresentam maior densidade na membrana dos miócitos cardíacos e nas células justaglomerulares renais (PHILIPP; HEIN, 2004). No coração, estes receptores por meio da ativação de uma proteinocinase dependente de AMPc (PKA), são os principais responsáveis pelas respostas simpáticas promovendo efeitos cronotrópicos,

lusotrópicos e ionotrópicos positivos, além de aumentar a taxa de condução do impulso do nó atrioventricular e a atividade marcapasso do nó sinoatrial (CAPOTE; MENDEZ PEREZ; LYMPEROPOULOS, 2015; LYMPEROPOULOS; NEGUSSIE, 2013). Enquanto que nos rins a ativação dos receptores em questão induz a liberação de renina, uma aspartil protease que cliva o angiotensinogênio em angiotensina I, componentes do sistema renina angiotensina aldosterona (DIBONA, 2000).

Por outro lado, os receptores adrenérgicos- β 2 são expressos principalmente nas células da musculatura lisa, esquelética e nos hepatócitos (PHILIPP; HEIN, 2004). De modo semelhante aos β 1, os receptores β 2, no músculo liso, estimulam a ativação de Gs, adenililciclase, AMPc e PKA. Esta última, fosforila além de outras proteínas contráteis, a cinase de cadeia leve de miosina, esta fosforilação reduz a afinidade da mesma pelo complexo cálcio-calmodulina com consequente indução do relaxamento (SILVA; ZANESCO, 2010). Pesquisas indicam que estes receptores podem ainda induzir relaxamento por uma via independente de AMPc. Esta, dar-se através de uma hiperpolarização celular via efluxo de potássio (K^+) pela ativação de canais para K^+ dependentes de cálcio (MaxiK) e, portanto, opondo-se à despolarização necessária para induzir contração (DOVE; FRANKE, 1991; TANAKA et al., 2003). Devido ao eficaz relaxamento da musculatura lisa mediado pelos receptores β -adrenérgicos, os fármacos agonistas β 2 inalatórios, tal como o SAL, são empregados no tratamento da asma e outras afecções do trato respiratório (JARVIE; THOMPSON; DYSON, 1987; MATTHAY et al., 2011; MORGAN, 1990; PRICE; CLISSOLD, 1989; THOMSON et al., 2014).

Nos hepatócitos, a ativação dos receptores β_2 ativa a cascata de sinalização de Gs resultando na ativação da enzima glicogênio-fosforilase e em consequência glicogenólise (BOSCO; BRAZ, 2001; KENDALL et al., 1982; RIZZA et al., 1980), esta ação é indicada por estudos que descrevem um aumento da concentração de glicose por agonistas β_2 nas células hepáticas (GOLDBERG et al., 1975; KENDALL et al., 1982, 1991; LOAKPRADIT; LOCKWOOD, 1977). A glicogênio fosforilase catalisa a reação do fosfato inorgânico sobre a ligação do resíduo glicosil terminal na molécula de glicogênio liberando glicose-1-fosfato (BERTUZZI et al., 2011; LEHNINGER; NELSON; COX, 2000). Deste modo, a ativação destes receptores resulta em um aumento dos níveis plasmáticos de glicose. De modo semelhante, os receptores β_2 encontrados na musculatura esquelética estimulam a via de sinalização citada com indução de glicogenólise através da estimulação da adenililciclase, aumento da atividade da enzima glicogênio fosforilase e captação de K^+ (ARNOLD; SELBERIS, 1968; FEBBRAIO et al., 1998; ROSSETTI; HU, 1993), além de um possível efeito anabólico (CARTER; LYNCH, 1994).

Por fim, os receptores adrenérgicos- β_3 são expressos especialmente em adipócitos, embora se localizem em outros tecidos (BAKER, 2005; GIBBS; HUTCHINSON; SUMMERS, 2008) e sua estimulação resulta em lipólise via estimulação da adenililciclase (JOST et al., 2002; SKEBERDIS, 2004). Este efeito torna estes receptores promissores no tratamento da obesidade (LOWE JR et al., 2001; STROSBURG, 1997).

3.2 Salbutamol

O SAL também chamado de albuterol é uma amina simpatomimética de fórmula molecular $C_{12}H_{21}NO_3$ e apresenta-se quimicamente, como um anel catecol ligado a uma cadeia lateral com o grupo etanolamina (Figura 1) (MORGAN, 1990). Onde o anel confere propriedades ligadas à sua potência enquanto que a cadeia lateral está relacionada à sua seletividade (DOVE; FRANKE, 1991).

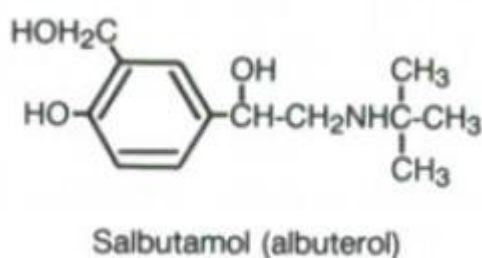


Figura 1: Estrutura química do salbutamol. Fonte: Morgan 1990.

A seletividade de um fármaco consiste na capacidade de produzir apenas um tipo de efeito por atuar em maior parte em um alvo farmacológico (SILVA, 2010). No caso do SAL, sua seletividade encontra-se em receptor adrenérgico- β_2 em torno de 200 a 400 vezes que nos demais receptores adrenérgicos (AHRENS; SMITH, 1984; DOVE; FRANKE, 1991), principalmente quando administrado na forma inalada, o que reduz ainda mais os efeitos sistêmicos do fármaco. Contudo, quando administrado em altas doses, especialmente por via oral, podem levar a efeitos nos demais receptores β -adrenérgicos, como taquicardia e tremor (DAMAN et al., 2014). Deste modo, o SAL consiste no tratamento de escolha para o tratamento e alívio dos sintomas relacionados à broncoespasmos, como a asma (CHU; DRAZEN, 2005).

O SAL encontra-se disponível comercialmente em diversas apresentações: spray (100 µg/jato), spray sem propelente (200 µg/jato), xarope (2 mg/5mL), solução injetável (0,5 mg/mL), solução nebulizadora (5 mg/mL), ampola para nebulização (1 e 2 mg/mL) e comprimido (2 e 4 mg) (OLIVEIRA; PEDROSO, 2014). A administração via oral de SAL é bem absorvida com pico de concentração plasmática após 1 h à 4 h e broncodilatação máxima (Em_{ax}) de 2 h até 8 h. Apresenta baixa biodisponibilidade após metabolismo de primeira passagem (50%) e pode ser excretado em sua forma inalterada ou como o metabólito 4'-o-sulfato éster na urina e fezes. Enquanto que quando administrado por via inalatória, o SAL possui efeito broncodilatador inicial de 3 min a 5 min com Em_{ax} variando de 10 min até 6 h. Além disso, apresenta tempo de meia vida ($t_{1/2}$) semelhante à administração oral 2,7 h a 5,5 h (PRICE; CLISSOLD, 1989).

Existem poucos estudos a respeito da administração endovenosa de SAL, entretanto, independente da via utilizada, este agonista-β₂, apresenta volume de distribuição aparente de 156 L, o que sugere uma grande captação extravascular, além de eficácia e boa tolerância terapêutica (PRICE; CLISSOLD, 1989).

4. SALBUTAMOL E DESEMPENHO ESPORTIVO

No esporte competitivo é frequente o uso de recursos ergogênicos com o objetivo de aprimorar o desempenho atlético (WOLFARTH; WUESTENFELD; KINDERMANN, 2010a). Entre outros, estes recursos podem ser classificados como: nutricional, mecânico e farmacológico (LIDDLE; CONNOR, 2013;

SCHUBERT; ASTORINO, 2012). Dentre os farmacológicos encontram-se os estimulantes, betabloqueadores, anabólicos e os agonistas- β 2 (CLARKSON; THOMPSON, 1997).

Estudos indicam que agonistas- β , como o SAL, pode promover efeito ergogênico, contudo, este efeito parece controverso (COLLOMP et al., 2010; WOLFARTH; WUESTENFELD; KINDERMANN, 2010b). Meeuwisse et al. (1992) avaliaram o efeito da inalação de 200 μ g de SAL sobre o desempenho de atletas de elite submetidos a testes aeróbico e anaeróbico, e não observaram qualquer ação ergogênica. De modo semelhante, não foram observadas diferenças significativas na potência anaeróbia e no desempenho da força desenvolvidas por atletas (MORTON; PAPALIA; FITCH, 1993). Estes resultados, corroboram ainda, com os achados de Goubault et al. (2001) que investigaram o efeito de SAL na dose de 200 μ g, bem como da inalação de 400 μ g sobre a resistência de triatletas. Nesse estudo, embora tenha sido observado melhora quanto à adaptação respiratória no início do exercício físico, devido ao efeito broncodilatador de SAL, não foram encontradas diferenças significativas sobre o tempo de resistência, desempenho psicomotor e dos parâmetros metabólicos avaliados (glicose, potássio, lactato, ácidos graxos livres e glicerol). Sporer, Sheel e Mckenzie (2008) utilizando doses de 200 μ g, 400 μ g e 800 μ g, para avaliar os efeitos sobre o desempenho de atletas em um teste contra relógio, também não observaram efeitos ergogênicos do SAL em qualquer das doses utilizadas. Deste modo, o estudo conclui que a ausência do efeito ergogênico, proveniente da inalação de SAL, ocorre independente da dose administrada.

Por outro lado, um estudo recente realizado por Decorte et al. (2013), demonstrou melhora na resistência do quadríceps de atletas de alta capacidade aeróbia tratados com SAL nas doses de 200 µg e 800 µg. Esta conclusão foi obtida após a investigação do efeito da inalação de SAL sobre a contratilidade muscular periférica, fadiga e recuperação dos atletas submetidos ao teste. Vale ressaltar que, especialmente neste estudo, houve o controle da ingestão dietética dos atletas, com a oferta de uma refeição de 800 Kcal, contendo 60 % de carboidrato 2 h precedentes aos experimentos. Além disso, os autores aguardaram 40 min após a inalação de SAL para realização dos testes, com objetivo de assegurar sua máxima concentração plasmática. De maneira semelhante, outros estudos que empregaram 720 µg e 800 µg de SAL com tempo de espera de 10 min e 30 min, respectivamente entre o término da administração de SAL e o início do exercício, também observaram uma melhora no desempenho de atletas (SIGNORILE et al., 1992; VAN BAAK et al., 2004).

Porém, uma vez que doses diárias de 1200 µg não influenciou o desempenho físico de esquiadores (temperatura entre - 15 ° C e 23 ° C), mesmo após tempo de espera de 10 min (SANDSUND et al., 1998), mais estudos são necessários para o esclarecimento da relação do efeito ergogênico com as concentrações plasmáticas de SAL.

Em ambiente quente e termoneutro, 30 ° C e 18 ° C respectivamente, Dickinson et al. (2014) utilizaram SAL (800 µg e 1600 µg, via inalatória) em corredores submetidos a corrida de 5 km. Além disso, os mesmos autores avaliaram o seu efeito a longo prazo (6 semanas) sobre a força, resistência e potência em atletas submetidos a testes aeróbios e anaeróbios, em ambiente

controlado sob uma temperatura de 20°C (DICKINSON et al., 2014b). Em nenhuma das condições foi observado efeito ergogênico do SAL.

Em relação às doses de 350 µg ou 400 µg de SAL, Fleck et al. (1993), Norris, Petersen e Jones (1996) e Kock et al. (2013) não observaram benefícios sobre as medidas de desempenho anaeróbio de ciclistas. Contudo, efeito ergogênico positivo, quanto ao desempenho anaeróbio, foi observado após o tratamento com SAL de ciclistas submetidos ao teste de Wingate, onde as variáveis de potência pico, trabalho total, tempo de potência pico e índice de fadiga apresentaram-se melhor em relação ao grupo controle (LEMMER et al., 1995).

No estudo realizado por Heir e Stemshaug (1995) foi avaliado o efeito da administração de SAL com dose ajustada a massa corporal (nebulização de 0,05 mg/kg) antes de um exercício de alta intensidade. Os autores concluíram que uma dose terapêutica de SAL, via nebulização, não melhora o desempenho em atletas altamente treinados durante uma corrida de alta intensidade até a exaustão.

Postula-se que, a administração oral de SAL promove efeitos ergogênicos ao atleta, de modo que a administração por essa via é proibida pela WADA devido ao seu possível efeito ergogênico (WADA, 2014). Caruso et al. (1995), avaliaram os efeitos de 800 µg e 1.600 µg de SAL, via oral, durante 3 semanas em indivíduos submetidos a exercício de extensões isocinéticas de joelho. Os resultados indicaram que a ingestão de doses terapêuticas de SAL sobre exercícios de resistência podem aumentar o ganho de força. Entretanto, o mesmo não foi observado por Hostrup et al. (2014) que encontraram um

aumento na potência pico apenas durante os primeiros tiros no teste de Wingate, em atletas pré-tratados com 8.000 µg de SAL durante 2 semanas.

Alguns estudos, avaliaram a ingestão de SAL, 12.000 µg/dia durante 3 semanas e seu efeito agudo de 6.000 µg sobre o desempenho, variáveis hormonais e metabólicas de atletas com controle dietético pré-teste (COLLOMP et al., 2000a, 2000b; SANCHEZ et al., 2012). Quanto à modulação hormonal, não observaram efeito anabólico ou catabólico do SAL. No entanto, o SAL melhorou o desempenho do ciclismo durante o exercício submáximo, além de reduzir os níveis sanguíneos de ureia em três momentos (repouso, durante o exercício e exaustão), o que sugere uma redução da degradação da proteína muscular. Contudo, não foi observada melhora no desempenho de indivíduos saudáveis submetidos a exercício de resistência de curta duração tratados com 6.000 µg de SAL, via oral, apesar do tratamento ter induzido alterações nos parâmetros metabólicos e hormonais (COLLOMP et al., 2002).

Por fim, a administração via oral, de uma dose menor de SAL (4.000 µg) em atletas submetidos a 1 h de exercício a 60% do VO_2 máx, demonstrou diferenças significativa na oxidação de substratos após 40 min de exercício, sem alterar o desempenho. Com isso, os autores sugeriram que os efeitos da ingestão de SAL tem pouco poder no que se refere a exercícios relativamente curtos, mas pode ter efeitos positivos em exercícios de longa duração (ARLETTAZ et al., 2009).

5 RELAÇÃO DO SALBUTAMOL COM O METABOLISMO DA AMÔNIA

5.1 Amônia e exercício

A amônia (NH_3^+ NH_4^+) é um produto da degradação protéica e de aminoácidos considerada um indicador de estresse muscular em exercício prolongado (BANISTER; CAMERON, 1990; ERIKSSON et al., 1985; NYBO; NIELSEN, 2001). Sua produção é proveniente do fígado, sistema nervoso central, eritrócito, intestino, músculo e da digestão de proteínas (BANISTER; CAMERON, 1990; BROBERG; SAHLIN, 1988; CLEMMESSEN; KONDRUP; OTT, 2000; ERIKSSON et al., 1985). Em condições de repouso, as concentrações sanguíneas deste metabólito é relativamente baixa (BANISTER; CAMERON, 1990). Porém, o exercício pode elevar suas concentrações sanguíneas e um acúmulo excessivo desse metabólito tem efeitos prejudiciais devido a distúrbios na homeostase neurotransmissora (BUTTERWORTH, 2001; MONFORT et al., 2002).

Durante o exercício, o músculo esquelético é a principal fonte geradora de amônia, através do ciclo das purinas nucleotídeos (desaminação de AMP) e pelo catabolismo de aminoácidos (BROBERG; SAHLIN, 1989; WAGENMARKERS et al., 1991). Essa hiperamonemia induzida pelo exercício pode ser exacerbada em ambiente quente, hipertermia ou desidratação (FEBBRAIO, 2001; GANIO et al., 2011; SHARMA, 2007). Estudos relatam que o calor pode acelerar a depleção de glicogênio, e em tais condições, podem comprometer a fosforilação oxidativa, aumentando a circulação de purinas nucleotídeas, com conseqüente aumento da produção de amônia (SCHULZ; HECK, 2003; WAGENMARKERS et al., 1991).

Ambas as condições de calor excessivo e hipoglicemia estão associadas à fadiga central e periférica, perturbações metabólicas e circulatórias as quais podem elevar os prejuízos ao desempenho físico e cognitivo-motor

(BANISTER; CAMERON, 1990; ERIKSSON et al., 1985; GANIO et al., 2011; WILKINSON; SMEETON; WATT, 2010).

4.2 Salbutamol e a hiperamonemia induzida pelo exercício

Têm sido relatado na literatura, o uso de diversas substâncias com o intuito de reduzir a hiperamonemia induzida pelo exercício, seja em ratos ou seres humanos (ALMEIDA et al., 2010; PRADO et al., 2011). Além de outras que investigam o efeito do calor na hiperamonemia (FEBBRAIO, 2001; LINNANE et al., 2004).

No entanto, só existe um estudo que investigou o efeito do salbutamol sobre as concentrações plasmáticas da amônia durante o exercício (MATTHYS; CALDERS; PANNIER, 1998). Tal estudo relatou que a inalação de 400 μ de SAL, em sujeitos não asmáticos, foi capaz de reduzir a hiperamonemia induzida pelo exercício. Além disso, a suplementação foi capaz de aumentar os níveis plasmáticos de lactato e glicerol. Provavelmente por induzir maior glicogenólise hepática, muscular e gliconeogênese. Sabe-se que um aumento da disponibilidade de carboidrato durante o exercício pode minimizar a hiperamonemia induzida pelo exercício (WAGENMARKERS et al., 1991). Além disso, apenas um estudo investigou o efeito do SAL inalatório no desempenho atlético em laboratório com ambiente quente controlado, mas sem dosagem da amonemia (DICKINSON et al., 2014a).

Nesse contexto, a administração inalatória de SAL pode reduzir a hiperamonemia induzida pelo exercício e, provavelmente, diminuir os prejuízos no desempenho atlético. Porém, ainda são desconhecidos os efeitos do SAL na hiperamonemia durante o exercício no calor. Dessa forma, a administração do SAL, como recurso de proteção para atletas submetidos ao exercício

prolongado no calor, deve ser considerada. No entanto, devem ser realizados estudos associando diretamente a administração de SAL por via inalatória, para verificar se o seu uso é capaz de proteger contra a hiperamonemia e/ou o desempenho de atletas.

6 CONCLUSÃO

O SAL é um agonista- β 2 de uso terapêutico que promove alterações metabólicas. Apesar de ainda controversos, a administração oral do SAL parece promover um melhor desempenho atlético do que seu uso inalatório. Estes dados são consistentes com as recomendações de proibição da sua administração via oral visando melhora do desempenho. Porém, são quase inexistentes os estudos do SAL em relação ao metabolismo da amônia durante exercício, especialmente em ambiente quente. Portanto, são necessários mais estudos que avaliem seus efeitos no metabolismo de amônia e desempenho em atletas submetidos a exercício físico no calor.

REFERÊNCIAS

- Ahrens, R. C., & Smith, G. D. (1984). Albuterol: an adrenergic agent for use in the treatment of asthma pharmacology, pharmacokinetics and clinical use. *Pharmacotherapy*, 4(3), 105–121. doi:10.1002/j.1875-9114.1984.tb03330.x
- Almeida, R. D., Prado, E. S., Llosa, C. D., Magalhães-Neto, A., & Cameron, L.-C. (2010). Acute supplementation with keto analogues and amino acids in rats during resistance exercise. *The British Journal of Nutrition*, 104(10), 1–5. doi:10.1017/S0007114510002321
- Arlettaz, A., Le Panse, B., Portier, H., Lecoq, a. M., Thomasson, R., De Ceaurriz, J., & Collomp, K. (2009). Salbutamol intake and substrate oxidation during submaximal exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 105, 207–213. doi:10.1007/s00421-008-0891-7
- Arnold, A., & Selberis, W. H. (1968). Activities of catecholamines on the rat muscle glycogenolytic (beta-2) receptor. *Experientia*, 24(10), 1010–1011. doi:10.1007/BF02138713

Baker, J. G. (2005). Evidence for a Secondary State of the Human β 3- Adrenoceptor. *Molecular Pharmacology*, 68(6), 1645–1655. doi:10.1124/mol.105.015461.described

Banister, E. W., & Cameron, B. J. C. (1990). Exercise-Induced Hyperammonemia: Peripheral and Central Effects. *International Journal Sports Medicine*, 5(6), S129–S142.

Bassini-Cameron, A., Monteiro, A., Gomes, A., Werneck-de-Castro, J. P. S., & Cameron, L. (2007). Glutamine protects against increases in blood ammonia in football players in an exercise intensity-dependent way. *British Journal of Sports Medicine*, 42, 260–266. doi:10.1136/bjism.2007.040378

Bertuzzi, R. C. D. M., Lima-Silva, A., Abad, C. C. C., & Pires, F. D. O. (2011). Metabolismo do lactato: uma revisão sobre a bioenergética e a fadiga muscular. *Revista Brasileira de Cineantropometria E Desempenho Humano*, 11(2), 226–234. doi:10.5007/1980-0037.2009v11n2p226

Binkley, H. M., Beckett, J., Casa, D. J., Kleiner, D. M., & Plummer, P. E. (2002). National Athletic Trainers' Association position statement: Exertional heat illnesses. *Journal of Athletic Training*, 37(3), 329–343.

Bosco, F. A. P., & Braz, J. R. C. (2001). Beta-Bloqueadores em Anestesiologia: Aspectos Farmacológicos e Clínicos. *Revista Brasileira Anestesiologia*, 51(5), 431–447.

Bouvier, M. (2006). Distinct Signaling Profiles of β 1 and β 2 Adrenergic Receptor Ligands toward Adenylyl Cyclase and Mitogen-Activated Protein Kinase Reveals the Pluridimensionality of Efficacy. *Journal Molecular Pharmacology*, 70(5), 1575–1584. doi:10.1124/mol.106.026716.an

Briswalter, J., Callardeau, M., & René, A. (2002). Effects of acute physical exercise on cognitive performance. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 32(9), 555–566. doi:10.1097/00005768-199701000-00009

Broberg, S., & Sahlin, K. (1988). Hyperammonemia during prolonged exercise: an effect of glycogen depletion? *Journal of Applied Physiology*, 65(6), 2475–2477.

Broberg, S., & Sahlin, K. (1989). Adenine nucleotide degradation in human skeletal muscle during prolonged exercise. *Journal of Applied Physiology*, 67(1), 116–122.

Butterworth, R. F. (2001). Glutamate transporter and receptor function in disorders of ammonia metabolism. *Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews*, 7(4), 276–279. doi:10.1002/mrdd.1038

Capote, L. a., Mendez Perez, R., & Lymperopoulos, A. (2015). GPCR signaling and cardiac function. *European Journal of Pharmacology*, 1–6. doi:10.1016/j.ejphar.2015.05.019

Carter, W. J., & Lynch, M. E. (1994). Comparison of the effects of salbutamol and clenbuterol on skeletal muscle mass and carcass composition in senescent rats. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 43(9), 1119–1125.

Caruso, J. F., Signorile, J. F., Perry, a C., Leblanc, B., Williams, R., Clark, M., & Bamman, M. M. (1995). The effects of albuterol and isokinetic exercise on the quadriceps muscle group. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 27(11), 1471–1476.

Carvalho-peixoto, J., Alves, R. C., & Cameron, L. (2007). Glutamine and carbohydrate supplements reduce ammonemia increase during endurance field exercise. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism = Physiologie Appliquée, Nutrition et Métabolisme.*, 32, 1186–1190. doi:10.1139/H07-091

Chu, E. K., & Drazen, J. M. (2005). Asthma one hundred years of treatment and onward. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 171, 1202–1208. doi:10.1164/rccm.200502-257OE

Clarkson, P. M., & Thompson, H. S. (1997). Drugs and sport Research findings and limitations. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 24(6), 366–384. doi:10.2165/00007256-199724060-00003

Clemmesen, J. O., Kondrup, J., & Ott, P. (2000). Splanchnic and leg exchange of amino acids and ammonia in acute liver failure. *Gastroenterology*, 118(6), 1131–1139. doi:doi: 10.1016/s0016-5085(00)70366-0

Collomp, K., Candau, R., Collomp, R., Carra, J., Lasne, F., Prefaut, C., & De Ceuriz, J. (2000). Effects of acute ingestion of salbutamol during submaximal exercise. *International Journal of Sports Medicine*, 21(7), 480–484. doi:10.1055/s-2000-7422

Collomp, K., Candau, R., Lasne, F., Labsy, Z., Préfaut, C., & De Ceuriz, J. (2000). Effects of short-term oral salbutamol administration on exercise endurance and metabolism. *Journal of Applied Physiology*, 89, 430–436.

Collomp, K., Candau, R., Millet, G., Mucci, P., Borrani, F., Préfaut, C., & De Ceuriz, J. (2002). Effects of caffeine ingestion on metabolism and exercise performance. *International Journal of Sports Medicine*, 23, 549–554.

Collomp, K., Le Panse, B., Candau, R., Lecoq, a.-M., & De Ceuriz, J. (2010). Beta-2 agonists and exercise performance in humans. *Science & Sports*, 25(6), 281–290. doi:10.1016/j.scispo.2010.08.002

Czarnowski, D., Langfort, J., Pilis, W., & Górski, J. (1995). Effect of low-carbohydrate diet on plasma and sweat ammonia concentrations during prolonged nonexhausting exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 70, 70–74.

Daman, Z., Gilani, K., Rouholamini Najafabadi, A., Eftekhari, H., & Barghi, M. (2014). Formulation of inhalable lipid-based salbutamol sulfate microparticles by spray drying technique. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22. doi:10.1186/2008-2231-22-50

Davis, E., Loiacono, R., & Summers, R. J. (2008). The rush to adrenaline: drugs in sport acting on the β -adrenergic system. *British Journal of Pharmacology*, 154(3), 584–597. doi:10.1038/bjp.2008.164

Decorte, N., Bachasson, D., Guinot, M., Flore, P., Levy, P., Verges, S., & Wuyam, B. (2013). Effect of salbutamol on neuromuscular function in endurance athletes.

Medicine and Science in Sports and Exercise, 45(10), 1925–1932.
doi:10.1249/MSS.0b013e3182951d2d

Dibona, G. F. (2000). Interaction Between Renal Sympathetic Nerves and the Renin-Angiotensin System in the Control of Renal Function. *Hypertensio*, 36, 1083–1088.

Dickinson, J., Hu, J., Chester, N., Loosemore, M., & Whyte, G. (2014). Acute impact of inhaled short acting B₂-agonists on 5 km running performance. *Journal of Sports Science and Medicine*, 13(2), 271–279.

Dickinson, J., Molphy, J., Chester, N., Loosemore, M., & Whyte, G. (2014). The Ergogenic Effect of Long-term Use of High Dose Salbutamol. *Clinical Journal of Sport Medicine*, 24, 474–481.

Dove, S., & Franke, R. (1991). Model-based LFER parameters and QSAR of Ligand β -Adrenoceptor Interactions II. Estimation and QSAR of Agonistic Potency and Receptor Affinity in a Series of β -Adrenergic phenethanolamines. In *Quantitative Structure-Activity Relationships* (Vol. 10, pp. 23–30).

Eriksson, L. S., Broberg, S., Björkman, O., & Wahren, J. (1985). Ammonia metabolism during exercise in man. *Clinical Physiology (Oxford, England)*, 5(4), 325–336.

Febbraio, M. A. (2001). Alterations in energy metabolism during exercise and heat stress. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 31(1), 47–59.

Febbraio, M. A., Lambert, D. L., Starkie, R. L., Proietto, J., & Hargreaves, M. (1998). Effect of epinephrine on muscle glycogenolysis during exercise in trained men. *Journal of Applied Physiology*, 84, 465–470.

Fleck, S. J., Lucia, a, Storms, W. W., Wallach, J. M., Vint, P. F., & Zimmerman, S. D. (1993). Effects of acute inhalation of albuterol on submaximal and maximal VO₂ and blood lactate. *International Journal of Sports Medicine*, 14(5), 239–243. doi:DOI 10.1055/s-2007-1021170

Furchgott, R. F. (1972). The classification of adrenoreceptors (adrenergic receptors). An evaluation from the standpoint of receptor theory. *Handbook of Experimental Pharmacology; Catecholamines*, Vol. 33, 283–335.

Ganio, M. S., Armstrong, L. E., Casa, D. J., McDermott, B. P., Lee, E. C., Yamamoto, L. M., ... Lieberman, H. R. (2011). Mild dehydration impairs cognitive performance and mood of men. *British Journal of Nutrition*, 106(10), 1535–1543. doi:10.1017/S0007114511002005

Gibbs, M. E., Hutchinson, D. S., & Summers, R. J. (2008). Role of β -adrenoceptors in memory consolidation: β ₃-adrenoceptors act on glucose uptake and β ₂-adrenoceptors on glycogenolysis. *Neuropsychopharmacology*, 33(10), 2384–2397. doi:10.1038/sj.npp.1301629

Goldberg, R., Joffe, B. I., Bersohn, I., Van As, M., Krut, L., & Seftel, H. C. (1975). Metabolic responses to selective β -adrenergic stimulation in man. *Postgraduate Medical Journal*, 51, 53–58.

Goubault, C., Perault, M. C., Leleu, E., Bouquet, S., Legros, P., Vandell, B., & Denjean, a. (2001). Effects of inhaled salbutamol in exercising non-asthmatic athletes. *Thorax*, 56(9), 675–679. doi:10.1136/thorax.56.9.675

Hall, R. A., Premont, R. T., & Lefkowitz, R. J. (1999). Heptahelical receptor signaling: beyond the G protein paradigm. *The Journal of Cell Biology*, 145(5), 927–932. doi:10.1083/jcb.145.5.927

Heir, T., & Stemshaug, H. (1995). Salbutamol and high-intensity treadmill running in nonasthmatic highly conditioned athletes. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 5(4), 231–236.

Hostrup, M., Kalsen, a., Auchenberg, M., Bangsbo, J., & Backer, V. (2014). Effects of acute and 2-week administration of oral salbutamol on exercise performance and muscle strength in athletes. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, 1–9. doi:10.1111/sms.12298

Jarvie, D. R., Thompson, a M., & Dyson, E. H. (1987). Laboratory and clinical features of self-poisoning with salbutamol and terbutaline. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, 168(3), 313–322. doi:10.1016/0009-8981(87)90007-6

Jost, P., Fasshauer, M., Kahn, C. R., Benito, M., Meyer, M., Ott, V., ... Klein, J. (2002). Atypical β -adrenergic effects on insulin signaling and action in β 3-adrenoceptor-deficient brown adipocytes. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 283, E146–E153. doi:10.1152/ajpendo.00531.2001

Kaumann, a J., & Molenaar, P. (1997). Modulation of human cardiac function through 4 beta-adrenoceptor populations. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 355(6), 667–681.

Kendall, M. J., Clark, N. W., Haffner, C. A., Kong, J., & Hughes, B. A. (1991). Investigation Of The Effects Of B-2 Stimulation on Free Fatty Acids In Man. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 16, 31–40. doi:10.1136/bmj.283.6299.1126-e

Kendall, M. J., Dean, S., Bradley, D., Gibson, R., & Worthington, D. J. (1982). Cardiovascular and metabolic effects of terbutaline. *Journal of Clinical and Hospital Pharmacy*, 7(1), 31–36. doi:http://dx.doi.org/10.2174/157339910791658871

Kindermann, W. (2007). Do inhaled B2-agonists have an ergogenic potential in non-asthmatic competitive athletes? *Sports Medicine*, 37(2), 95–102. doi:10.2165/00007256-200737020-00001

Koch, S., Macinnis, M. J., Sporer, B. C., Rupert, J. L., & Koehle, M. S. (2013). Inhaled salbutamol does not affect athletic performance in asthmatic and non-asthmatic cyclists. *British Journal of Sports Medicine*, 0, 1–5. doi:10.1136/bjsports-2013-092706

Konkar, a a, Zhai, Y., & Granneman, J. G. (1999). β 1-adrenergic receptors mediate β 3-adrenergic-independent effects of CGP 12177 in brown adipose tissue. *Molecular Pharmacology*, 57, 252–258.

Langfort, J., Czarnowski, D., Zendian-Piotrwska, M., Zarzeczny, R., & Górski, J. (2004). Short-term low-carbohydrate diet dissociates lactate and ammonia thresholds in men. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 18(2), 260–265.

- Le Panse, B., Arlettaz, A., Portier, H., Lecoq, A.-M., De Ceaurriz, J., & Collomp, K. (2007). Effects of acute salbutamol intake during supramaximal exercise in women. *British Journal of Sports Medicine*, 41(7), 430–434. doi:10.1136/bjism.2006.033845
- Lefkowitz, R. J. (2000). The superfamily of heptahelical receptors. *Nature Cell Biology*, 2(7), E133–E136. doi:10.1038/35017152
- LEHNINGER, A. L., NELSON, D. L., & COX, M. M. (2000). *Princípios de Bioquímica* (6th ed., p. 560). São Paulo.
- Lemmer, J., Fleck, S., Wallach, J., Fox, S., Burke, E., Kearney, J., & Storms, W. (1995). The effects of albuterol on power output in non-asthmatic athletes. *International Journal of Sports Medicine*, 16(4), 243–249. doi:10.1016/S0091-6749(97)70068-X
- Lewis, C. J., Gong, H., Brown, M. J., & Harding, S. E. (2004). Overexpression of β 1-adrenoceptors in adult rat ventricular myocytes enhances CGP 12177A cardiostimulation: implications for “putative” β 4-adrenoceptor pharmacology. *British Journal of Pharmacology*, 141(5), 813–824. doi:10.1038/sj.bjp.0705668
- Liddle, D. G., & Connor, D. J. (2013). Nutritional supplements and ergogenic aids. *Primary Care - Clinics in Office Practice*, 40(2), 487–505. doi:10.1016/j.pop.2013.02.009
- Linnane, D. M., Bracken, R. M., Brooks, S., Cox, V. M., & Ball, D. (2004). Effects of hyperthermia on the metabolic responses to repeated high-intensity exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 93, 159–166. doi:10.1007/s00421-004-1191-5
- Loakpradit, T., & Lockwood, R. (1977). Differentiation of metabolic adrenoceptors. *British Journal of Pharmacology*, 59(1), 135–140.
- Lowe Jr, W. L., Rotimi, C. N., Luke, A., Guo, X., Zhu, X., Comuzzie, A. G., ... Cooper, R. S. (2001). The β 3-adrenergic receptor gene and obesity in a population sample of African Americans. *International Journal of Obesity*, 25(1), 54–60. doi:10.1038/sj.ijo.0801487
- Lymperopoulos, A., & Negussie, S. (2013). β arrestins in cardiac G protein-coupled receptor signaling and function: Partners in crime or “good cop, bad cop”? *International Journal of Molecular Sciences*, 14. doi:10.3390/ijms141224726
- Ma, Y. C., & Huang, X. Y. (2002). Novel signaling pathway through the β -adrenergic receptor. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 12, 46–49. doi:10.1016/S1050-1738(01)00138-4
- Matthay, M. A., Brower, R. G., Shannon, C., Ivor S., D., Mark, E., Duncan, H., ... B., T. T. (2011). Randomized, Placebo-controlled Clinical Trial of an Aerosolized β 2-Agonist for Treatment of Acute Lung Injury. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 184(5), 561–568. doi:10.1164/rccm.201012-2090OC
- Matthys, D., Calders, P., & Pannier, J. L. (1998). Inhaled salbutamol decreases blood ammonia levels during exercise in normal subjects. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 79(1), 110–113. doi:10.1007/s004210050482

Meeuwisse, W. H., McKenzie, D. C., Hopkins, S. R., & Road, J. D. (1992). The effect of salbutamol on performance in elite nonasthmatic athletes. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 24(10), 1161–1166.

Monfort, P., Kosenko, E., Erceg, S., Canales, J. J., & Felipo, V. (2002). Molecular mechanism of acute ammonia toxicity: Role of NMDA receptors. *Neurochemistry International*, 41(2-3), 95–102. doi:10.1016/S0197-0186(02)00029-3

Morgan, D. J. (1990). Clinical Pharmacokinetics of β -Agonists. *Clinical Pharmacokinetics*, 18(4), 270–294. doi:10.2165/00003088-197904020-00001

Morton, A. R., Papalia, S. M., & Fitch, K. D. (1993). Changes in Anaerobic Power and Strength Performance After Inhalation of Salbutamol in Nonasthmatic Athletes.

Norris, S. R., Petersen, S. R., & Jones, R. L. (1996). The effect of salbutamol on performance in endurance cyclists. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 73, 364–368. doi:10.1007/BF02425500

Nybo, L. (2010). CNS fatigue provoked by prolonged exercise in the heat Lars Nybo, 779–792.

Nybo, L., Dalsgaard, M. K., Steensberg, A., Møller, K., & Secher, N. H. (2005). Cerebral ammonia uptake and accumulation during prolonged exercise in humans. *The Journal of Physiology*, 563, 285–290. doi:10.1113/jphysiol.2004.075838

Nybo, L., & Nielsen, B. (2001). Hyperthermia and central fatigue during prolonged exercise in humans. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 91(3), 1055–1060.

Nybo, L., & Secher, N. H. (2004). Cerebral perturbations provoked by prolonged exercise. *Progress in Neurobiology*, 72, 223–261. doi:10.1016/j.pneurobio.2004.03.005

Oliveira, R. G., & Pedroso, Ê. P. (2014). *BlackBook Clínica Médica (2a ed.)*. Belo Horizonte: BlackBook Editora Ltda.

Philipp, M., & Hein, L. (2004). Adrenergic receptor knockout mice: distinct functions of 9 receptor subtypes. *Pharmacology & Therapeutics*, 101(1), 65–74. doi:10.1016/j.pharmthera.2003.10.004

Prado, E. S., de Rezende Neto, J. M., de Almeida, R. D., Dória de Melo, M. G., & Cameron, L.-C. (2011). Keto analogue and amino acid supplementation affects the ammoniaemia response during exercise under ketogenic conditions. *British Journal of Nutrition*, 105(12), 1729–1733. doi:10.1017/S000711451000557X

Price, H. A., & Clissold, P. S. (1989). Salbutamol in the 1980s. A Reappraisal of its Clinical Efficacy. *Drugs*, 38(1), 77–122.

Raymond, R. J., Hnatowich, M., Lefkowitz, J. R., & Caron, G. M. (1990). Adrenergic Receptors. *Hypertension*, 15(2), 119–131.

Rizza, R. A., Cryer, P. E., Haymond, M. W., & Gerich, J. E. (1980). Adrenergic Mechanisms of Catecholamine Action on Glucose Homeostasis in Man. *Metabolism*, 29(11), 1155–1163.

Roberts, S. J., Molenaar, P., & Summers, R. J. (1993). Characterization of propranolol-resistant (-)-[125I]-cyanopindolol binding sites in rat soleus muscle. *British Journal of Pharmacology*, 109, 344–352.

Rodriguez, N., DiMarco, N., & Langley, S. (2009). Nutrition and athletic performance. *Medicine and Science in ...*, 709–731. doi:10.1249/MSS.0b013e318190eb86

Rossetti, L., & Hu, M. (1993). Skeletal muscle glycogenolysis is more sensitive to insulin than is glucose transport/phosphorylation. *Journal of Clinical Investigation*, 92, 2963–2974.

Rotta, E. T., Amantéa, S. L., Froehlich, P. E., & Becker, A. (2007). Determination of plasma salbutamol concentrations after nebulization in a pediatric emergency department. *Jornal de Pediatria*, 83(5), 481–484. doi:10.2223/JPED.1689

Sanchez, A. M. J., Collomp, K., Carra, J., Borrani, F., Coste, O., Préfaut, C., & Candau, R. (2012). Effect of acute and short-term oral salbutamol treatments on maximal power output in non-asthmatic athletes. *European Journal of Applied Physiology*, 112(9), 3251–3258. doi:10.1007/s00421-011-2307-3

Sandsund, M., Sue-Chu, M., Helgerud, J., Reinertsen, R. E., & Bjerner, L. (1998). Effect of cold exposure (-15 degrees C) and salbutamol treatment on physical performance in elite nonasthmatic cross-country skiers. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 77(4), 297–304.

Sarsero, D., Molenaar, P., Kaumann, a J., & Freestone, N. S. (1999). Putative beta 4-adrenoceptors in rat ventricle mediate increases in contractile force and cell Ca²⁺: comparison with atrial receptors and relationship to (-)-[3H]-CGP 12177 binding. *British Journal of Pharmacology*, 128(7), 1445–1460. doi:10.1038/sj.bjp.0702936

Schubert, M. M., & Astorino, A. T. (2012). A Systematic Review Of The Efficacy Of Ergogenic ids For Improving Running Performance. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 0(1), 0–7. doi:10.1098/rstb.2010.0082

Schulz, H., & Heck, H. (2003). Glycogen Depletion As Indication for Ammonia Determination in Exercise Testing. *European Journal Of Sport Science*, 3(3), 1–9.

Sharma, H. S. (2007). Interaction between amino acid neurotransmitters and opioid receptors in hyperthermia-induced brain pathology. *Progress in Brain Research*, 162, 295–317. doi:10.1016/S0079-6123(06)62015-3

Signorile, J. F., Kaplan, T. A., Applegate, B., & Perry, A. C. (1992). Effects of acute inhalation of the bronchodilator, albuterol, on power output. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 24(6), 638–642.

Silva, A. S., & Zanesco, A. (2010). Exercício físico, receptores β-adrenérgicos e resposta vascular. *Jornal Vascular Brasileiro*, 9(2), 47–56. doi:10.1590/S1677-54492010000200007

Silva, P. (2010). *Farmacologia* (8a ed.). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Skeberdis, V. A. (2004). Structure and function of β₃-adrenergic receptors. *Medicina (Kaunas)*, 40(5), 407–413.

- Snow, R. J., Carey, M. F., Stathis, C. G., Febbraio, M. A., & Hargreaves, M. (2000). Effect of carbohydrate ingestion on ammonia metabolism during exercise in humans. *Journal of Applied Physiology*, 88, 1576–1580.
- Sporer, B., Sheel, A., & McKenzie, D. (2008). Dose response of inhaled salbutamol on exercise performance and urine concentrations. *Med Sci Sports Exerc.*, 40(1), 149–57.
- Stachenfeld, N. S. (2014). The interrelationship of research in the laboratory and the field to assess hydration status and determine mechanisms involved in water regulation during physical activity. *Sports Medicine*, 44(1), S97–S104. doi:10.1007/s40279-014-0155-0
- Strosberg, A. D. (1997). Towards the development and use of human-selective agonists for the pharmacologic treatment of obesity and diabetes. *The Journal of Endocrinology*, 155(2), 221–222.
- Tanaka, Y., Yamashita, Y., Yamaki, F., Horinouchi, T., Shigenobu, K., & Koike, K. (2003). MaxiK channel mediates β 2-adrenoceptor-activated relaxation to isoprenaline through cAMP-dependent and -independent mechanisms in guinea-pig tracheal smooth muscle. *Journal of Smooth Muscle Research*, 39(6), 205–219. doi:10.1540/jsmr.39.205
- Thomson, C. C., Welsh, C. H., Carno, M. a., Wenzel, S. E., Chung, F., Brozek, J. L., & Wilson, K. C. (2014). Severe Asthma. *Annals of the American Thoracic Society*, 11(6), 996–997. doi:10.1513/AnnalsATS.201405-199CME
- Van Baak, M. a., De Hon, O. M., Hartgens, F., & Kuipers, H. (2004). Inhaled salbutamol and endurance cycling performance in non-asthmatic athletes. *International Journal of Sports Medicine*, 25(7), 533–538. doi:10.1055/s-2004-815716
- Wada. (2014). The World Anti-Doping Code THE 2015 PROHIBITED LIST INTERNATIONAL. Wada, 0(May), 1–10.
- Wagenmakers, A. J. M., Beckers, E. J., Brouns, F., Kuipers, H., Soeters, P. B., Vusse, V. D. G. J., & Saris, W. H. M. (1991). Carbohydrate supplementation, glycogen depletion, and amino acid metabolism during exercise. *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism*, 23.
- Wilkinson, D. J., Smeeton, N. J., & Watt, P. W. (2010). Ammonia metabolism, the brain and fatigue; Revisiting the link. *Progress in Neurobiology*, 91(3), 200–219. doi:10.1016/j.pneurobio.2010.01.012
- Wolfarth, B., Wuestenfeld, J. C., & Kindermann, W. (2010a). Ergogenic Effects of Inhaled β 2-Agonists in Non-Asthmatic Athletes. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 39(1), 75–87. doi:10.1016/j.ecl.2009.10.005
- Wolfarth, B., Wuestenfeld, J. C., & Kindermann, W. (2010b). Ergogenic Effects of Inhaled β 2-Agonists in Non-Asthmatic Athletes. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 39(1), 75–87. doi:10.1016/j.ecl.2009.10.005

2º.1 2º artigo: artigo científico principal

**FRANÇA, TCL; PRADO, ES. INHALED SALBUTAMOL AND ITS EFFECTS
ON AMMONEMIA AND PERFORMANCE AFTER PROLONGED EXERCISE
UNDER HEAT STRESS CONDITIONS**

European Journal of Applied Phisiology

Thássia Casado Lima França^a

Eduardo Seixas Prado^b

INHALED SALBUTAMOL AND ITS EFFECTS ON AMMONEMIA AND PERFORMANCE AFTER PROLONGED EXERCISE UNDER HEAT STRESS CONDITIONS

^aLaboratory for Research in Physical Exercise and Metabolism: Federal University of Alagoas. Campus

A.C. Simões; Av. Lourival Melo Mota, S/N, Tabuleiro do Martins. CEP: 57.072-970. Maceió/AL, Brasil.

E-mail adress: casadolimanutri@gmail.com, Number: +55 (82) 99632 1393, ORCID: 0000-0003-1118-2009.

^bLaboratory for Research in Physical Exercise and Metabolism: Federal University of Alagoas. Campus

A.C. Simões; Av. Lourival Melo Mota, S/N, Tabuleiro do Martins. CEP: 57.072-970. Maceió/AL, Brasil.

Abstract

Purpose: Inhaled salbutamol is permissible by WADA to treat the symptoms of exercise-induced bronchospasm among athletes and it is postulated that affects ammonemia. Disturbance in cognitive-motor performance can be caused by hyperammonemia and/or hot environmental conditions during exercise. This study evaluated the effect of inhaled salbutamol on ammonia metabolism and cognitive-motor performance after prolonged exercise in the heat. **Methods:** Eighteen male endurance runners were divided into two groups: inhaled salbutamol (SEX) and placebo (PEX). The runners performed a half marathon race and blood samples, cognitive-motor tasks and body temperature were obtained before (pre) and after (post) race. Environmental conditions and hydration status was also obtained. **Results:** During race, environmental conditions reached a high WBGT (~ 31 °C). Both of the groups had a significant increase in blood ammonia (SEX pre: $35.60 \pm 6.41 \mu\text{mol/L}$ vs SEX post: $114.49 \pm 6.42 \mu\text{mol/L}$; PEX pre: $54.21 \pm 8.24 \mu\text{mol/L}$ vs PEX post: $111.92 \pm 6.45 \mu\text{mol/L}$), urea, urate and lactate concentrations after race, but there was not a significant difference between the groups. There was no change in the glycemia in both groups. There was an early significant increase in blood CK (SEX pre: $35.60 \pm 6.41 \mu\text{kat/L}$ vs SEX post: $114.49 \pm 6.42 \mu\text{kat/L}$; PEX pre: $54.21 \pm 8.24 \mu\text{kat/L}$ vs PEX post: $111.92 \pm 6.45 \mu\text{kat/L}$) in both groups. No changes were observed on cognitive-motor performance after race. **Conclusions:** We suggest that inhaled salbutamol does not affect blood ammonia concentration and cognitive-motor performance during prolonged exercise in the heat.

Keywords: Metabolism; Exercise; Dehydration; Hyperthermia; Asthma; Ergogenic effect.

Abbreviations:

WADA World Anti-doping agency

AMP Adenosine monophosphate

SEX Salbutamol experimental group

PEX Control group

$\Delta\%$ BM Percentage change in body mass

USG Urine specific gravity

$\Delta\%$ PV	Plasma volume loss estimate
HB	Hemoglobin
HCT	Hematocrit
CK	Creatine kinase
LDH	Lactate dehydrogenase
AST	Aspartate aminotransferase
ALT	Alanine aminotransferase
HR	Heart rate
Pre	Before race
Post	After race
WBGT	Wet bulb globe temperature
ERT	Equivalent rectal temperature

Introduction

Salbutamol is an agonist of the beta type 2 receptor (β_2 -agonist) with therapeutic characteristics, especially respiratory diseases (Jarvie et al. 1987; Davis et al. 2008), that also influence other physiological and metabolic functions (Collomp et al. 2010). It has been shown that the administration of salbutamol promotes an improvement in metabolism and performance of athletes ergogenic benefits (Clarkson and Thompson 1997; Kindermann 2007).

Several studies have examined the use of salbutamol, at different doses and administration (inhaled and/or oral), in the athletic performance, strength, psychomotor performance and physiologic and metabolic changes, including athletes (Meeuwisse et al. 1992; Carter and Lynch 1994; Collomp et al. 2000b; Goubault et al. 2001; Decorte et al. 2013; Koch et al. 2013). Currently, all β -agonist are prohibited by the World Anti-Doping Agency (WADA) (WADA 2017), except some such as inhaled salbutamol, which can be administered at a maximum of 1600 μg over 24 h and not to exceed 800 μg every 12 hours (Collomp et al. 2010; Wolfarth et al. 2010). Inhaled salbutamol has been a contentious topic in sport for 45 years and that trend continues (Fitch 2017).

It is postulated that a therapeutic inhalation of salbutamol produces a rise in plasma glucose (Neville et al. 1977; Rizza et al. 1980; Haffner and Kendall 1992; Taylor et al. 1992). The effect of inhaled salbutamol on blood glucose concentrations can be important, especially when prolonged exercise increases both amino acid catabolism and AMP deamination, leading to the release of more ammonia into the bloodstream (Broberg et al. 1988). Ammonemia during exercise depends on carbohydrate availability (Czarnowski et al. 1995; Snow et al. 2000; Langfort et al. 2004). It has been suggested that increased ammonemia (hyperammonemia) during exercise may cause central fatigue by altering cerebral function and can disturb cognitive performance (termed cognitive-motor performance) (Banister and Cameron 1990; Felipo 2013). In addition, during exercise in the heat, an increase in body temperature and/or dehydration can promote metabolic alterations, impair exercise performance and appear to exacerbate exercise-induced hyperammonemia (Febbraio 2001; Binkley et al. 2002; Brisswalter et al. 2002; Linnane et al. 2004; Sharma 2007; Ganio et al. 2011). It is believed that controlling the increase of ammonemia will improve exercise performance (Nybo et al. 2005).

To the best of our knowledge, there is only one study that explored the acute effect of inhaled salbutamol (400 µg) on ammonia during exercise, but under thermoneutral conditions (Matthys et al. 1998). Therefore, there is few information available concerning the influence of the effect of inhaled salbutamol on ammonia metabolism and cognitive-motor performance response to exercise.

Moreover, studies observing athletes during exercise in the field in order to mimic both the real challenges and conditions that are faced during sports situations (such as hot environmental conditions), can better reflects the real metabolic changes during exercise, such as Sportomics approach (Bassini and Cameron 2014). These informations may be helpful in understanding better the effect of inhaled salbutamol on metabolism and performance following prolonged exercise under high heat stress conditions.

We hypothesized that when exercising in high heat stress conditions, inhalation salbutamol reduces ammonia and improves cognitive-motor performance. Therefore, we evaluated the acute effect of inhaled salbutamol on ammonia metabolism and cognitive-motor performance after a half marathon race under heat stress conditions.

Methods

Subjects

Eighteen male amateur endurance runners, volunteers and nonasthmatic, enrolled during a half marathon race (21,1 km), were divided into two groups as follows: salbutamol experimental group – SEX, n = 9 (39.8 ± 3.1 years; 74.88 ± 2.55 kg; 1.75 ± 0.01 m) and control group – PEX, n = 9 (41.4 ± 3.2 years; 75.78 ± 3.08 kg; 1.71 ± 0.02 m). The groups showed similar levels of maximal oxygen consumption (VO₂max) (45.28 ± 1.92 mL.kg⁻¹.min⁻¹ and 44.33 ± 1.99 mL.kg⁻¹.min⁻¹, SEX and PEX, respectively) and were acclimatized to training in hot environment. All subjects had a mean of at least three years of training and often participated in training and competitions under heat stress. Diseases (respiratory tract, recognised asthma or allergy), regular use of tobacco or the use of ergogenic aids were exclusion criteria. The subjects were informed previously about the study, and written informed consent was obtained. All the procedures were performed in accordance with the guidelines dictated by the Declaration of Helsinki and with the ethical standards of the Ethics Committee for Human Research at the Federal University of Alagoas, Brazil (017640/2011-61)

Study design and protocols

One week before half marathon race, the runners were submitted to an anthropometric assessment and dietary intake was determined. All participants received individualized diet plan as follows: 15% of the recommended energy intake was from protein, 25% of the recommended energy intake was from lipids and 65% of the recommended energy intake was from carbohydrates. The subjects were asked to start the plan diet at least two days before the race. Diet adherence was verified with ketonuria analysis by qualitative reagent strips for urinalysis (Biocolor/Bioeasy®, Minas Gerais, Brazil). We considered the absence of ketonuria to be a positive test for adequate carbohydrate ingestion before race.

After assessment of dietary intake, all runners were screened with a medical history (such as pulmonary function) and familiarised and trained to use inhalers appropriately to ensure an effective delivery of inhaled salbutamol. The runners were also asked to avoid their normal training schedule until 24 h before race day and to maintain a fluid intake of $\sim 3 \text{ L}\cdot\text{d}^{-1}$, avoiding the use of caffeinated beverages. VO_2max was obtained as estimated by distance of running before the half marathon race (Cooper 1968).

One week later, the subjects performed a half marathon race. One hour before race, the SEX group received four puffs (400 μg) of inhaled salbutamol (Aerolin[®] 100 μg ; GlaxoSmithKline, Rio de Janeiro, Brazil) using a spacer device, and the PEX group (placebo) received the same numbers of puffs, containing propellant only. Both administrations were provided as indistinguishable inhalers in a randomized double-blind manner.

The runners were tested to evaluate their cognitive-motor performances using measures of immediate memory, motor coordination (by finger-to-nose test) and simple reaction time as described previously (Camerino et al. 2016), 20 min after administrations of inhaled salbutamol and placebo. Immediately after the cognitive-motor performances tests, hydration status was assessed by evaluating a percentage change in body mass ($\Delta\% \text{ BM}$), urine color and specific gravity (USG). Urine color was evaluated according to (Armstrong et al. 1994), and USG was measured using a manual refractometer (Biobrix[®], São Paulo, Brazil). Hydration status was classified according with (Casa et al. 2000). In addition, other hydration marker such as plasma volume loss estimate ($\Delta\% \text{ PV}$), was obtained using blood parameters with hemoglobin (Hb) and hematocrit (Hct) count according to (Dill, DB; Costill 1974).

Before the race, blood samples were obtained from the median antecubital vein. The blood samples were immediately centrifuged ($3000 \times g$, $4 \text{ }^\circ\text{C}$) to avoid the loss of volatile compounds and used for biochemical analyses. Serum or plasma were divided into aliquot parts and stored at $4 \text{ }^\circ\text{C}$. To prevent loss, plasma ammonia was measured immediately, and the other biochemical analyses (serum) were performed within a 24 h period. Glucose, lactate, urate, urea, creatinine, creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT), were measured using commercial spectrophotometric assays (Labtest[®], Minas Gerais, Brazil). Ammonia was measured using an enzymatic UV method (Randox, Crumlin, UK). All biochemical analyses were measured using a Dade Model Dimension RXL Automated Chemistry Analyzer (Dade Behring[®], Eschborn, Germany). The samples were measured in duplicate and the coefficient of variation for analysis was $< 5\%$. In addition, blood samples were also collected in a vacuum tube with the anticoagulant EDTA for hematological analysis and was performed by a hematology analyzer (Human[®], Hessen, Germany) to obtain Hb and Hct.

One hour after administrations of inhaled salbutamol and placebo, runners started the half marathon race. The subjects were instructed to maintain their typical exercise intensity and was allowed to drink *ad libitum* during race. Heart rate (HR) was recorded at the end of the race using a heart rate monitor (Polar[®] FT1, Kempele, Finland). Before (pre) and after (post) race, we measured the ambient temperature, the relative humidity, the air movement and the solar radiation to calculate the WBGT Index (Instrutemp[®], São Paulo, Brazil). We considered a WBGT $25.7 \text{ }^\circ\text{C}$ to be a high heat stress environment (Armstrong et al. 2007). Likewise, body temperature was measured using a tympanic thermometer (GeniusTM 2[®], Minnesota, USA). The tympanic temperature values were used to calculate an equivalent

rectal temperature (ERT) (Cathcart et al. 2011). In addition, in the same moments of HR measured, were recorded the subjective perception of effort (SPE) (Borg 1982). The amount of fluid replacement during race was given by runners at the end of the race. Finally, immediately after race, new blood evaluations, cognitive-motor performance and hydration status tests were performed.

Statistical Analysis

All values are expressed as mean \pm SEM. After testing for normality (Shapiro-Wilk), the changes in the variables (pre and post race) were analyzed using a paired and unpaired Student's *t*-test. When the sample showed a non-normal distribution, nonparametric test correspondents were used. For all of the measurement differences, $P < 0.05$ was considered to be statistically significant.

Results

We used a half marathon race conducted in the heat to evaluate the acute effects of inhaled salbutamol on ammonemia and cognitive-motor performance. Environmental conditions were under high thermal stress in the pre (WBGT, 27.5 °C) and post (WBGT, 30.9 °C) race. There were no adverse events reported. The runners finished the race in ~ 2 h and reached similar intensity (SEX, HR: 147.0 ± 2.8 beats/min and PEX, HR: 141.6 ± 5.0 beats/min; SEX, SPE: 14.8 ± 0.9 and PEX, SPE: 14.9 ± 1.4) and fluid replacement (~ 450 mL) at the end of the race. Furthermore, the ketonuria analysis revealed that runners were not in ketosis before the race.

The ERT values increased above baseline levels in response to the similar high heat stress exercise conditions in both groups, but there was no difference between the groups. There were no differences in the $\Delta\%$ PV and $\Delta\%$ BM between the groups, but runners were dehydrated at the end of the race. In addition, urine color and USG values were elevated prior to the start of the race and also showed that the runners were dehydrated to a degree that was classified between minimal and significant (Table 1).

To investigate the effect of inhaled salbutamol on metabolism, we measured the concentration of urea, urate (serum) and ammonia (plasma). Ammonia in the blood increased after race in response to the similar high heat stress exercise conditions in both groups, but there were not significantly different between the groups. Furthermore, to discriminate the ammonia produced by amino acid deamination from that produced by AMP deamination, we measured blood urea and urate concentrations. Blood urea and urate concentrations increased above baseline levels after race in both groups, but there were no differences between the groups (Table 2).

To understand the role of inhaled salbutamol in gluconeogenesis, we measured blood glucose concentrations during half marathon race. No significant difference in blood glucose concentrations was found after race and/or between the groups. In addition, we evaluated the blood lactate concentrations, an indicator of consistent glucose metabolism during exercise. No difference in blood lactate concentrations was observed between the groups. However, there was a significant increase after race in both groups. Here, our assumption that the race generated a similar intensity in the two studied groups was confirmed by measuring the blood lactate concentration after race. We also measured blood creatinine to evaluate

renal function in response to race in the heat. There were no differences between the groups, but blood creatinine increased above baseline levels after race in both groups (Table 2).

We also evaluated enzyme biomarkers of muscle damage response to inhaled salbutamol after prolonged exercise in the heat. Both groups showed an early significant increase in blood CK and AST after race compared with the baseline values, but no significant difference was found between groups. On the other hand, blood LDH showed an early significant increase after race in the SEX group, but not in the PEX group. However, when measured by the percentage change, we observed similar increase between groups (SEX, ~ 30 % and PEX, ~ 20 %). No significant difference in blood ALT was found after race and/or between the groups (Table 3).

The half marathon race in the heat was employed to induce hyperammonemia in both groups and to evaluate the cognitive-motor performance. We were not able to measure any significant difference in the groups' cognitive-motor performance. No significant differences in the finger-to-nose test, simple reaction time or immediate memory were found before and/or after the half marathon race (data not shown).

Table 1. Body temperature and hydration markers in the SEX and PEX groups before (pre) and after (post) race.

	Pre		post	
	SEX	PEX	SEX	PEX
ERT (°C)	37.0 ± 0.2	37.2 ± 0.2	37.6 ± 0.1*	37.8 ± 0.1*
Δ% PV	-	-	-9.2 ± 2.5	-10.8 ± 1.4
Δ% BM	-	-	-1.84 ± 0.77	-2.48 ± 0.65
Urine color	4.7 ± 0.4	4.8 ± 0.6	6.2 ± 0.4	5.4 ± 0.9
USG	1020.7 ± 2.5	1019.2 ± 1.7	1022.1 ± 2.1	1019.5 ± 2.6

Values are expressed as mean ± SEM. ERT: equivalent rectal temperature. Δ% BM: body mass change percentual. Δ% PV: plasma volume loss estimate. USG: urine specific gravity. * Significant changes between pre and post race, within the groups (P < 0.05).

Table 2. Biochemical parameters in the SEX and PEX groups before (pre) and after (post) race.

	Pre		post	
	SEX	PEX	SEX	PEX
Ammonia (μmol/L)	35.60 ± 6.41	54.21 ± 8.24	114.49 ± 6.42*	111.92 ± 6.45*
Urea (mmol/L)	4.05 ± 0.38	3.89 ± 0.34	4.97 ± 0.41*	5.42 ± 0.37*
Urato (μmol/L)	288.90 ± 27.31	275.83 ± 34.55	354.33 ± 30.26*	344.98 ± 25.43*
Creatinine (mmol/L)	80.54 ± 5.19	78.58 ± 6.32	118.85 ± 8.85*	118.86 ± 11.79*
Glucose (mmol/L)	4.53 ± 0.25	4.80 ± 0.26	4.82 ± 0.37	5.61 ± 0.74
Lactate (mmol/L)	2.33 ± 0.32	2.53 ± 0.26	4.74 ± 0.48*	5.20 ± 0.73*

Values are expressed as mean ± SEM. * Significant changes between pre and post race, within the groups (P < 0.05).

Table 3. Enzyme biomarkers of muscle damage in the SEX and PEX groups before (pre) and after (post) race.

	Pre		post	
	SEX	PEX	SEX	PEX
CK μ kat/L	2.59 \pm 0.32	3.13 \pm 0.46	3.88 \pm 0.26*	4.52 \pm 0.69*
LDH μ kat/L	5.09 \pm 1.24	5.94 \pm 1.32	6.69 \pm 1.65*	7.12 \pm 1.56
AST μ kat/L	0.42 \pm 0.07	0.42 \pm 0.05	0.55 \pm 0.06*	0.57 \pm 0.03*
ALT μ kat/L	0.30 \pm 0.07	0.27 \pm 0.05	0.34 \pm 0.07	0.32 \pm 0.03

Values are expressed as mean \pm SEM. * Significant changes between pre and post race, within the groups ($P < 0.05$).

Discussion

The aim of this study was to evaluate the acute effects of inhaled salbutamol on ammonia metabolism and cognitive-motor performance after prolonged exercise under high heat stress conditions. Here we showed that inhalation salbutamol does not affect the increase in ammonemia caused by prolonged exercise in the heat. Furthermore, we were not able to measure any significant inhaled salbutamol-induced difference in the runners' cognitive-motor performance under these conditions.

It has been suggested that hyperammonemia promotes neurological alterations, including impairment in cognitive-motor functions, such as in patients with clinical hepatic encephalopathy (Felipo 2013). Ammonemia accumulation during exercise leads to impairment activities of neurotransmitters, that are involved in cognitive-motor disturbances (Monfort et al. 2009; Bassini and Cameron 2014). Therefore, it is also possible that exercise-induced hyperammonemia can also affect cognitive-motor performance (Nybo 2010; Banister and Cameron, 1990).

It is known that environmental heat stress causes severe metabolic disorders during exercise, including hyperammonemia (Nybo 2010). In the present study, we used a prolonged exercise in the heat to decrease the availability of glycogen and to increase both amino acid catabolism and AMP deamination, leading to the release of more ammonia into the bloodstream (Czarnowski et al. 1995; Linnane et al. 2004; Wilkinson et al. 2010).

Previous studies have shown that elevated blood ammonia, urea and urate concentrations can be reduced through the use of amino acids or carbohydrate supplementation during exercise under thermoneutral conditions (Carvalho-peixoto et al. 2007; Prado et al. 2011). However, only one study has explored the acute effect of inhalation salbutamol on ammonemia during exercise, under same environmental conditions (Matthys et al. 1998). The authors demonstrated that blood glucose concentration was maintained and blood lactate concentration was slightly but significantly higher after inhaled salbutamol during exercise, suggesting higher carbohydrate availability. Therefore, (Matthys et al. 1998) demonstrated that inhaled salbutamol (400 μ g) decreased blood ammonia concentrations during submaximal exercise and conclude that exercise-induced ammonemia is regulated by beta type 2 receptor. In the present study (similar inhaled salbutamol, 400 μ g), we were not able to measure any significant inhaled salbutamol-induced difference in the groups' metabolic changes. Although blood ammonia, urea, urate and lactate concentrations, but not in glycemia, increased in response to prolonged exercise in the heat in both groups, no significant differences were found between the groups.

Our results are in agreement with (Goubault et al. 2001) that demonstrated no significant enhancement of metabolism (glucose and lactate) in highly trained nonasthmatic cyclists, with different doses of inhaled salbutamol (200 µg or 800 µg). (Dickinson et al. 2014a) demonstrated that there was no significant difference in blood lactate concentrations following the inhalation of up to 1600 µg of salbutamol in nonasthmatic athletes in temperate (18°C) and hot (30°C) environments, both with 40% relative humidity. On the other hand, after oral salbutamol (12 mg/day for 3 wk) treatment, blood urea concentrations were significantly decreased during resting and exercise (Collomp et al. 2000a). It could be suggested that the lower blood urea concentrations, after oral salbutamol, might reflect an eventual reduction in ammonemia. It is necessary to verify in further studies with oral salbutamol treatment.

It is difficult to explain the contradictory result obtained, but it appears that the most probable explanation is the lack of significant systemic bioavailability (such as increases glucose availability via muscle and liver gluconeogenesis) and therapeutic inhalation of β₂-agonist (such as 400 µg) has only a local respiratory effect (Collomp et al. 2010). It appears that inhalation salbutamol is associated with a more marked local effect on pulmonary β₂-adrenoceptors than on peripheral skeletal muscle adrenoceptors (Clarkson and Thompson 1997; Sanchez et al. 2012).

It is also known that strenuous exercise can result in increases in oxidative stress, which leads to muscle damage as evidenced by the release of biomarkers (such as CK, LDH, AST and ALT) (Chevion et al. 2003; Brancaccio et al. 2008; Davuluri et al. 2016). The elevation of these enzyme biomarkers of muscle damage is generally observed when measured hours or days after exercise (Pettersson et al. 2008). However, the results of the present study showed that CK and AST were higher in both groups immediately following race. (Bessa et al. 2008), also demonstrated changes in injury biomarkers immediately after a high-intensity ultraendurance cycling. Although the most probable explanation could be due to the prolonged exercise in the heat, (Nybo et al. 2013) demonstrated that markers of muscle damage were elevated immediately after a soccer match under high heat stress as well as under thermoneutral conditions. In addition, there is few information available, or it appears to be a rare phenomenon, concerning the influence of inhaled salbutamol on CK (Craig et al. 1996).

In our study, we did not identify changes in the tested cognitive-motor performance. (Goubault et al. 2001) also demonstrated no significant enhancement of psychomotor performance (such as simple reaction test). In this way, the results of the present experiment are consistent with a physical performance perspective. It was suggested that an acute dose of up to 4000 µg of inhaled salbutamol does not improve cycling time to exhaustion or oxygen kinetics (Elers et al. 2012). In addition, (Dickinson et al. 2014b) demonstrated that chronic daily accumulated doses of 1600 µg does not improve endurance, or strength and power performances. In contrast to inhaled β₂-agonists, oral administration of salbutamol seems to be able to improve the muscle strength and the endurance performance. There appears to be no justification to prohibit inhaled β₂-agonists from the point of view of the ergogenic effects (Kindermann 2007).

Conclusions

To our knowledge, this study is the first investigation to evaluate the acute effect of inhalation salbutamol on ammonia metabolism and cognitive-motor performance after prolonged exercise under high heat stress conditions. Our data suggest that inhaled salbutamol does not result in decreased

ammonemia after prolonged exercise. Furthermore, no effects were observed in cognitive-motor performance because of inhalation salbutamol under high heat stress conditions.

Acknowledgements

We would like to thank the participants for their commitment and effort.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Armstrong LE, Casa DJ, Millard-Stafford M, et al (2007) Exertional heat illness during training and competition. *Am Coll Sport Med* 39:556–572 . doi: 10.1249/MSS.0b013e31802fa199
- Armstrong LE, Maresh CM, Castellani JW, et al (1994) Urinary indices of hydration status. *Int J Sport Nutr* 4:265–279
- Banister EW, Cameron BJC (1990) Exercise-Induced Hyperammonemia: Peripheral and Central Effects. *Int J Sport Med* 5:S129–S142
- Bassini A, Cameron LC (2014) Sportomics: Building a new concept in metabolic studies and exercise science. *Biochem Biophys Res Commun* 445:708–716 . doi: 10.1016/j.bbrc.2013.12.137
- Bessa A, Nissenbaum M, Monteiro A, et al (2008) High-intensity ultraendurance promotes early release of muscle injury markers. *Br J Sports Med* 42:589–593 . doi: 10.1136/bjsm.2007.043786
- Binkley HM, Beckett J, Casa DJ, et al (2002) National Athletic Trainers' Association position statement: Exertional heat illnesses. *J Athl Train* 37:329–343
- Borg G a (1982) Psychophysical bases of perceived exertion. *Med. Sci. Sports Exerc.* 14:377–381
- Brancaccio P, Maffulli N, Buonauro R, Limongelli FM (2008) Serum Enzyme Monitoring in Sports Medicine. *Clin Sports Med* 27:1–18 . doi: 10.1016/j.csm.2007.09.005
- Brisswalter J, Callardeau M, René A (2002) Effects of acute physical exercise on cognitive performance. *Sports Med* 32:555–566 . doi: 10.1097/00005768-199701000-00009
- Broberg S, Katz A, Sahlin K (1988) Propranolol enhances adenine nucleotide degradation in human muscle during exercise. *J Appl Physiol* 65:2478–83
- Camerino SRA e S, Lima RCP, França TCL, et al (2016) Keto analogue and amino acid supplementation and its effects on ammonemia and performance under thermoneutral conditions. *Food Funct* 7:872–880 . doi: 10.1039/C5FO01054C
- Carter WJ, Lynch ME (1994) Comparison of the effects of salbutamol and clenbuterol on skeletal muscle mass and carcass composition in senescent rats. *Metabolism* 43:1119–1125
- Carvalho-peixoto J, Alves RC, Cameron L (2007) Glutamine and carbohydrate supplements reduce ammonemia increase during endurance field exercise. *Appl Physiol Nutr Metab = Physiol appliquée, Nutr métabolisme* 32:1186–1190 . doi: 10.1139/H07-091
- Casa DJ, Armstrong LE, Hillman SK, et al (2000) National Athletic Trainers' Association Position Statement: Fluid Replacement for Athletes. *J Athl Train* 35:212–224 . doi: 10.4085/1062-6050-

48.2.25

- Cathcart AJ, Murgatroyd SR, McNab A, et al (2011) Combined carbohydrate-protein supplementation improves competitive endurance exercise performance in the heat. *Eur J Appl Physiol* 111:2051–2061 . doi: 10.1007/s00421-011-1831-5
- Chevion S, Moran DS, Heled Y, et al (2003) Plasma antioxidant status and cell injury after severe physical exercise. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:5119–23 . doi: 10.1073/pnas.0831097100
- Clarkson PM, Thompson HS (1997) Drugs and sport Research findings and limitations. *Sports Med* 24:366–384 . doi: 10.2165/00007256-199724060-00003
- Collomp K, Candau R, Lasne F, et al (2000a) Effects of short-term oral salbutamol administration on exercise endurance and metabolism. *J Applied Physiol* 89:430–436
- Collomp K, Candau R, Lasne F, et al (2000b) Effects of short-term oral salbutamol administration on exercise endurance and metabolism. *J Appl Physiol* 89:430–6 . doi: 10.1136/bjism.2007.039040
- Collomp K, Le Panse B, Candau R, et al (2010) Beta-2 agonists and exercise performance in humans. *Sci Sports* 25:281–290 . doi: 10.1016/j.scispo.2010.08.002
- Cooper KH (1968) A Means of Assessing Maximal Oxygen Intake. *Jama* 203:201 . doi: 10.1001/jama.1968.03140030033008
- Craig TJ, Smits W, Soontornniyomkui V (1996) Elevation of creatine kinase from skeletal muscle associated with inhaled albuterol. *Ann Allergy, Asthma Immunol* 77:488–490 . doi: 10.1016/S1081-1206(10)63356-X
- Czarnowski D, Langfort J, Pilis W, Górski J (1995) Effect of low-carbohydrate diet on plasma and sweat ammonia concentrations during prolonged nonexhausting exercise. *Eur J Appl Physiol* 70:70–74
- Davis E, Loiacono R, Summers RJ (2008) The rush to adrenaline: drugs in sport acting on the β -adrenergic system. *Br J Pharmacol* 154:584–97 . doi: 10.1038/bjp.2008.164
- Davuluri G, Allaway A, Thapaliya S, et al (2016) Hyperammonemia induced skeletal muscle mitochondrial dysfunction results in cataplerosis and oxidative stress. *J Physiol* 594:7341–7360 . doi: 10.1111/j.1365-2958.2011.07903.x
- Decorte N, Bachasson D, Guinot M, et al (2013) Effect of salbutamol on neuromuscular function in endurance athletes. *Med Sci Sports Exerc* 45:1925–1932 . doi: 10.1249/MSS.0b013e3182951d2d
- Dickinson J, Hu J, Chester N, et al (2014a) Acute impact of inhaled short acting B2-agonists on 5 km running performance. *J Sport Sci Med* 13:271–279
- Dickinson J, Molphy J, Chester N, et al (2014b) The Ergogenic Effect of Long-term Use of High Dose Salbutamol. *Clin J Sport Med* 24:474–481
- Dill, DB; Costill D (1974) Calculation of percentage changes in volumes of blood, plasma, and red cells in dehydration. *J Appl Physiol* 37:247–248 . doi: ET0013
- Elers J, Mørkeberg J, Jansen T, et al (2012) High-dose inhaled salbutamol has no acute effects on aerobic capacity or oxygen uptake kinetics in healthy trained men. *Scand J Med Sci Sport* 22:232–239 . doi: 10.1111/j.1600-0838.2010.01251.x
- Febbraio MA (2001) Alterations in energy metabolism during exercise and heat stress. *Sports Med* 31:47–59
- Felipo V (2013) Hepatic encephalopathy: effects of liver failure on brain function. *Nat Rev Neurosci*

- 14:851–858 . doi: 10.1038/nrn3587
- Fitch KD (2017) The enigma of inhaled salbutamol and sport: unresolved after 45 years. *Drug Test Anal* 9:977–982 . doi: 10.1002/dta.2184
- Ganio MS, Armstrong LE, Casa DJ, et al (2011) Mild dehydration impairs cognitive performance and mood of men. *Br J Nutr* 106:1535–1543 . doi: 10.1017/S0007114511002005
- Goubault C, Perault MC, Leleu E, et al (2001) Effects of inhaled salbutamol in exercising non-asthmatic athletes. *Thorax* 56:675–679 . doi: 10.1136/thorax.56.9.675
- Haffner CA, Kendall MJ (1992) Metabolic Effects of β 2-agonists. *J Clin Pharm Ther* 17:155–164
- Jarvie DR, Thompson a M, Dyson EH (1987) Laboratory and clinical features of self-poisoning with salbutamol and terbutaline. *Clin Chim Acta* 168:313–322 . doi: 10.1016/0009-8981(87)90007-6
- Kindermann W (2007) Do inhaled B2-agonists have an ergogenic potential in non-asthmatic competitive athletes? *Sport Med* 37:95–102 . doi: 10.2165/00007256-200737020-00001
- Koch S, Macinnis MJ, Sporer BC, et al (2013) Inhaled salbutamol does not affect athletic performance in asthmatic and non-asthmatic cyclists. *Br J Sports Med* 0:1–5 . doi: 10.1136/bjsports-2013-092706
- Langfort J, Czarnowski D, Zendian-Piotrwska M, et al (2004) Short-term low-carbohydrate diet dissociates lactate and ammonia thresholds in men. *J Strength Cond Res* 18:260–265
- Linnane DM, Bracken RM, Brooks S, et al (2004) Effects of hyperthermia on the metabolic responses to repeated high-intensity exercise. *Eur J Appl Physiol* 93:159–166 . doi: 10.1007/s00421-004-1191-5
- Matthys D, Calders P, Pannier JL (1998) Inhaled salbutamol decreases blood ammonia levels during exercise in normal subjects. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 79:110–113 . doi: 10.1007/s004210050482
- Meeuwisse WH, McKenzie DC, Hopkins SR, Road JD (1992) The effect of salbutamol on performance in elite nonasthmatic athletes. *Med Sci Sports Exerc* 24:1161–1166
- Monfort P, Cauli O, Montoliu C, et al (2009) Mechanisms of cognitive alterations in hyperammonemia and hepatic encephalopathy: Therapeutical implications. *Neurochem Int* 55:106–112 . doi: 10.1016/j.neuint.2009.01.021
- Neville a, Palmer JB, Gaddie J, et al (1977) Metabolic effects of salbutamol: comparison of aerosol and intravenous administration. *Br Med J* 1:413–4 . doi: 10.1136/bmj.1.6058.413
- Nybo L (2010) CNS fatigue provoked by prolonged exercise in the heat. *Front Biosci (Elite Ed)* 2:779–792 . doi: 138 [pii]
- Nybo L, Dalsgaard MK, Steensberg A, et al (2005) Cerebral ammonia uptake and accumulation during prolonged exercise in humans. *J Physiol* 563:285–290 . doi: 10.1113/jphysiol.2004.075838
- Nybo L, Girard O, Mohr M, et al (2013) Markers of muscle damage and performance recovery after exercise in the heat. *Med Sci Sports Exerc* 45:860–868 . doi: 10.1249/MSS.0b013e31827ded04
- Pettersson J, Hindorf U, Persson P, et al (2008) Muscular exercise can cause highly pathological liver function tests in healthy men. *Br J Clin Pharmacol* 65:253–259 . doi: 10.1111/j.1365-2125.2007.03001.x
- Prado ES, de Rezende Neto JM, de Almeida RD, et al (2011) Keto analogue and amino acid supplementation affects the ammoniaemia response during exercise under ketogenic conditions. *Br J Nutr* 105:1729–1733 . doi: 10.1017/S000711451000557X

- Rizza RA, Cryer PE, Haymond MW, Gerich JE (1980) Adrenergic Mechanisms of Catecholamine Action on Glucose Homeostasis in Man. *Metabolism* 29:1155–1163
- Sanchez AMJ, Collomp K, Carra J, et al (2012) Effect of acute and short-term oral salbutamol treatments on maximal power output in non-asthmatic athletes. *Eur J Appl Physiol* 112:3251–3258 . doi: 10.1007/s00421-011-2307-3
- Sharma HS (2007) Interaction between amino acid neurotransmitters and opioid receptors in hyperthermia-induced brain pathology. *Prog Brain Res* 162:295–317 . doi: 10.1016/S0079-6123(06)62015-3
- Snow RJ, Carey MF, Stathis CG, et al (2000) Effect of carbohydrate ingestion on ammonia metabolism during exercise in humans. *J Appl Physiol* 88:1576–1580
- Sociedade Brasileira de Medicina do Esporte (2009) Modificações dietéticas, reposição hídrica, suplementos alimentares e drogas: Comprovação de ação ergogênica potenciais riscos para a saúde. *Rev Bras Med do Esporte* 15:3–12 . doi: 10.1590/S1517-86922009000400001
- Taylor DR, Wilkins GT, Herbison GP, Flannery EM (1992) Interaction between corticosteroid and β -agonist drugs; Biochemical and cardiovascular effects in normal subjects. *Chest* 102:519–524 . doi: 10.1378/chest.102.2.519
- WADA (2017) The World Anti-Doping Code THE 2017 PROHIBITED LIST INTERNATIONAL. WADA 1–9
- Wilkinson DJ, Smeeton NJ, Watt PW (2010) Ammonia metabolism, the brain and fatigue; Revisiting the link. *Prog Neurobiol* 91:200–219 . doi: 10.1016/j.pneurobio.2010.01.012
- Wolfarth B, Wuestenfeld JC, Kindermann W (2010) Ergogenic Effects of Inhaled β_2 -Agonists in Non-Asthmatic Athletes. *Endocrinol Metab Clin North Am* 39:75–87 . doi: 10.1016/j.ecl.2009.10.005

3. APÊNDICES

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (T.C.L.E.)

(Em duas vias, firmado por cada participante-voluntário(a) da pesquisa e pelo responsável)

“O respeito devido à dignidade humana exige que toda pesquisa se processe após consentimento livre e esclarecido dos sujeitos, indivíduos ou grupos que por si e/ou por seus representantes legais manifestem a sua anuência à participação na pesquisa.” (Resolução. nº 196/96-IV, do Conselho Nacional de Saúde)

Eu, _____
_____ tendo sido convidado(a) a participar como voluntário(a) do estudo
AVALIAÇÃO E INTERVENÇÃO NUTRICIONAL-METABÓLICA EM
ATLETAS ALAGOANOS DE DIFERENTES MODALIDADES ESPORTIVAS,
recebi do(a) Sr.(a) PROFESSOR DOUTOR EDUARDO SEIXAS PRADO, do
DEPARTAMENTO DE EDUCAÇÃO FÍSICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL
DE ALAGOAS, responsável por sua execução, as seguintes informações que me
fizeram entender sem dificuldades e sem dúvidas os seguintes aspectos:

- * Que o estudo se destina a obter dados experimentais para avaliação do desempenho, da cognição, do metabolismo e da atividade cardíaca de atletas alagoanos de diferentes modalidades esportivas, através de procedimentos nutricionais e metabólicos, supervisionada por profissionais capacitados.
- * Que a importância deste estudo é demonstrar sua contribuição social, no sentido de melhorar o desempenho na prática esportiva de atletas locais, esclarecendo seu estado nutricional e metabólico e ao mesmo tempo, oferecendo oportunidade para uma melhor orientação em como se alimentar e hidratar, no sentido dos atletas se cuidarem mais eficientemente, beneficiando seu desempenho.
- * Que os resultados que se desejam alcançar são os seguintes: espera-se que haja uma melhora do desempenho físico, do metabolismo (devido a redução da amonemia), do estado cognitivo e da resposta cardíaca, tanto em temperatura ambiente quanto no calor, com o uso de algumas substâncias e/ou procedimentos.
- * Que esse estudo seja realizado em uma prova de meia maratona (aproximadamente 21 km)
- * Que o estudo será feito da seguinte maneira: vinte e oito corredores realizarão um experimento durante a meia maratona para verificar seu efeito agudo no desempenho físico, no estado cognitivo, nas alterações cardíacas e no metabolismo. Para tal, alguns atletas serão divididos e três grupos: dois experimentais (atletas que receberão uma substância ou sofrerá ação de um procedimento fisiológico) e controle (atletas que não vão ingerir substâncias ou sofrer ação de um procedimentos fisiológicos). Os grupos serão constituídos a partir de aspectos do modelo experimental adotado, como: simulação de exercício físico específico da modalidade esportiva; esquemas alimentares; uso de substâncias; e condições de temperatura diferenciadas. Sangue será obtido no experimento. Frequência Cardíaca (FC), Percepção Subjetiva de Esforço (PSE), testes cognitivos (coordenação motora e tempo de reação) e tempo de exaustão, também serão obtidos.
- * Que eu participarei de todas as etapas da meia maratona.

* Que os incômodos que poderei sentir com a minha participação são os seguintes: talvez, algum desconforto possa ocorrer nos atletas na execução da coleta sanguínea (que será feita na veia, com material esterilizado e descartável) e na realização de exercícios físicos no calor. Caso isto ocorra, o voluntário será assistido por profissional competente e os pesquisadores no mesmo local, podendo desistir do estudo. A coleta de sangue poderá resultar em um pequeno hematoma no local (mancha roxa e dolorosa), contudo todos os cuidados serão tomados para que isto não ocorra.

* Que os possíveis riscos à minha saúde física e mental são: este estudo não apresenta riscos, de nenhuma natureza, para os envolvidos (voluntários e pesquisadores), seja como consequência imediata ou tardia da participação na pesquisa.

* Que deverei contar com a seguinte assistência: de todos os pesquisadores, sendo responsável(is) por ela: Professor Eduardo Seixas Prado, residente na Rua José Soares Sobrinho, 136, Jatiúca, Maceió, AL, tel: 9105-5301.

* Que os benefícios que deverei esperar com a minha participação, mesmo que não diretamente são: receber melhor orientação nutricional para melhor desempenho físico.

* Que a minha participação será acompanhada do seguinte modo: haverá acompanhamento integral de alunos, pesquisadores e colaboradores capacitados no momento do experimento.

* Que, sempre que desejar serão fornecidos esclarecimentos sobre cada uma das etapas do estudo.

* Que, a qualquer momento, eu poderei recusar a continuar participando do estudo e, também, que eu poderei retirar este meu consentimento, sem que isso me traga qualquer penalidade ou prejuízo.

* Que as informações conseguidas através da minha participação não permitirão a identificação da minha pessoa, exceto aos responsáveis pelo estudo, e que a divulgação das mencionadas informações só será feita entre os profissionais estudiosos do assunto.

* Que eu não terei despesas com a minha participação nesse estudo.

Finalmente, tendo eu compreendido perfeitamente tudo o que me foi informado sobre a minha participação no mencionado estudo e estando consciente dos meus direitos, das minhas responsabilidades, dos riscos e dos benefícios que a minha participação implicam, concordo em dele participar e para isso eu DOU O MEU CONSENTIMENTO SEM QUE PARA ISSO EU TENHA SIDO FORÇADO OU OBRIGADO.

Endereço do(a) participante-voluntário(a)

Domicílio: (rua, praça, conjunto):

Bloco: /Nº: /Complemento:

Bairro: /CEP/Cidade: /Telefone:

Ponto de referência:

Contato de urgência: Sr(a).

Domicílio: (rua, praça, conjunto)

Bloco: /Nº: /Complemento:

Bairro: /CEP/Cidade: /Telefone:

Ponto de referência:

Endereço dos(as) responsável(is) pela pesquisa (OBRIGATÓRIO):

Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS

Endereço: CAMPUS A.C. SIMÕES; AV. LOURIVAL MELO MOTA, S/N

Bloco: /Nº: /Complemento: DEPARTAMENTO DE EDUCAÇÃO FÍSICA

Bairro: /CEP/Cidade: TABULEIRO DO MARTINS; 57.072-970; MACEIÓ.

Telefones p/contato: 9105-5301

ATENÇÃO: Para informar ocorrências irregulares ou danosas durante a sua participação no estudo, dirija-se ao:**Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alagoas:****Prédio da Reitoria, sala do C.O.C. , Campus A. C. Simões, Cidade Universitária****Telefone: 3214-1041**

Maceió,

(Assinatura ou impressão datiloscópica d(o,a) voluntári(o,a) ou responsável legal - Rubricar as demais folhas)	Nome e Assinatura do(s) responsável(eis) pelo estudo (Rubricar as demais páginas)



PEQUISA 2012: AVALIAÇÃO E INTERVENÇÃO NUTRICIONAL EM ATLETAS ALAGOANOS DE DIFERENTES MODALIDADES ESPORTIVAS

INQUERITO ALIMENTAR - RECORDATORIO 24 HORAS

Nome: _____ Avaliadora(Graduada em nutrição): _____

1º Dia Data ___/___/___ Dia da semana: _____

REFEIÇÃO e HORÁRIO	ALIMENTO E QUANTIDADE Quantidade de alimento em medidas caseiras

ANEXO A –COMITÊ DE ÉTICA DE PESQUISA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Maceió – AL, 15/08/2012

Senhor(a) Pesquisador(a), Eduardo Seixas Prado, Emiliano de Oliveira Barreto, Divanise Suruagy Correia, Sandra Mary Lima Vasconcelos, Bruna Merten Padilha, Catherine Cavalcanti Padilha, Jamille Nunes de Souza Ferro, Rafael Vital dos Santos, Cibelle Rodrigues Calheiros, Rafaela Carvalho Pereira Lima, Saulo Rodrigues Alves e Silva Camerino.

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), em 14/08/2012 e com base no parecer emitido pelo (a) relator (a) do processo nº 017640/2011-61 sob o título, **AVALIAÇÃO E INTERVENÇÃO NUTRICIONAL-METABÓLICA EM ATLETAS ALAGOANOS DE DIFERENTES MODALIDADES ESPORTIVAS**, vem por meio deste instrumento comunicar a renovação do processo supra citado, com base no item VIII.13, b, da Resolução nº 196/96.

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS 196/96, item V.4).

É papel do(a) pesquisador(a) assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e sua justificativa. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o (a) pesquisador (a) ou patrocinador(a) deve enviá-los à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem incluídas ao protocolo inicial (Res. 251/97, item IV. 2.e).

Relatórios parciais e finais devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos no Cronograma do Protocolo e na Resolução CNS 196/96.

Na eventualidade de esclarecimentos adicionais, este Comitê coloca-se a disposição dos interessados para o acompanhamento da pesquisa em seus dilemas éticos e exigências contidas nas Resoluções supra-referidas.

Esta aprovação não é válida para subprojetos oriundos do protocolo de pesquisa acima referido.

(*) Áreas temáticas especiais

Válido até: Agosto de 2016

Prof. Dr. Denise Juliana Francisco
Coordenadora do Comitê de
Ética em Pesquisa -UFAL

ANEXO B – REGISTRO FOTOGRÁFICO DE UTENSÍLIOS