

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
MESTRADO EM NUTRIÇÃO

Natally Monteiro de Oliveira

**Diferentes Níveis de Desidratação e Seu Impacto na Amonemia e Desempenho
Cognitivo-Motor no Calor**

Maceió

2017

NATALLY MONTEIRO DE OLIVEIRA

**Diferentes Níveis de Desidratação e Seu Impacto na Amonemia e Desempenho
Cognitivo-Motor no 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

Maceió

2017

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central

Bibliotecária: Helena Cristina Pimentel do Vale

- O48d Oliveira, Natally Monteiro de.
Diferentes níveis de desidratação e seu impacto na amonemia e desempenho cognitivo-motor no calor / Natally Monteiro de Oliveira. – 2017.
71 f. : il.
- Orientador: Eduardo Seixas Prado.
Dissertação (Mestrado em Nutrição) – Universidade Federal de Alagoas. Faculdade de Nutrição, Maceió, 2017.
- Inclui bibliografia apêndices e anexos.
1. Exercício físico – Estresse. 2. Calor. 3. Desempenho psicomotor. 4. Metabolismo. 5. Desidratação. 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**

**“DIFERENTES NÍVEIS DE DESIDRATAÇÃO E SEU IMPACTO NA
AMONEMIA E DESEMPENHO COGNITIVO-MOTOR NO CALOR”**

por

NATALLY MONTEIRO DE OLIVEIRA

A Banca Examinadora, reunida aos 3/3/2017, considera a candidata
APROVADA.

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

Prof. Dr. Gustavo Gomes de Araujo
Faculdade de Nutrição
Universidade Federal de Alagoas
(Examinador)

Prof. Dr. Pedro Balikian Junior
Centro de Educação
Universidade Federal de Alagoas
(Examinador)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e aos anjos que Ele enviou para me ajudar.

Aos meus pais e familiares.

Ao meu filho.

Aos meus amigos.

Ao meu orientador.

Aos integrantes do Laboratório de pesquisas em exercício físico e metabolismo.

Aos maratonistas.

Aos integrantes do Programa de Pós Graduação em Nutrição.

A minha turma querida.

A Ufal, Fapeal e Capes.

Sem o apoio de todos seria impossível concluir esse trabalho.

Gratidão!

RESUMO

Objetivo: Influências da desidratação sobre a amonemia e distúrbios cerebrais durante o exercício no calor não são claras. Portanto, o objetivo deste estudo é investigar diferentes níveis de desidratação e seu impacto sobre a amônia sanguínea e o desempenho cognitivo-motor no calor.

Métodos: dezesseis corredores realizaram uma meia maratona (21 km) e, ao final, foram divididos em dois grupos: diferença percentual da massa corporal ($\Delta\%$ MC) menor que 1% (G1%) e $\Delta\%$ MC maior que 3% (G3%). Antes e após a corrida foram realizadas coletas e análises de sangue, avaliação do desempenho cognitivo-motor e do estado de hidratação, do estresse térmico ambiental e das mudanças na temperatura corporal.

Resultados: A $\Delta\%$ MC foi maior em G3% ($-3,85 \pm 0,28$) do que G1% ($-0,40 \pm 0,53$) ($P < 0,001$). O equivalente da temperatura retal aumentou apenas em G3% ($P = 0,037$). Aumentaram em G1% e G3% amônia ($P < 0,001$; $P = 0,002$), ureia ($P = 0,046$; $P = 0,011$) e lactato ($P = 0,007$; $P = 0,004$). Também aumentaram significativamente em G1% e G3% as enzimas aspartato aminotransferase (AST) ($P = 0,002$; $P = 0,027$), alanina aminotransferase (ALT) ($P = 0,040$; $P = 0,006$), creatina quinase (CK) ($P = 0,039$; $P = 0,010$) e lactato desidrogenase (LDH) ($P = 0,002$; $P = 0,038$). Exceto LDH foi maior em G3% do que G1% ($P = 0,010$). O desempenho cognitivo-motor não apresentou diferença entre os grupos.

Conclusão: O exercício no calor, com desidratação de até $\sim 4\%$ da $\Delta\%$ MC, exacerba a amonemia de forma similar aos níveis mais baixos de desidratação, sem prejuízo no desempenho cognitivo-motor.

Palavras-chave: metabolismo, desempenho psicomotor, quente, exercício, cérebro.

ABSTRACT

Purpose: Influences of dehydration on ammonemia and cerebral disorders during exercise in the heat are unclear. Therefore the aim of this study is investigate different dehydration levels and its impact on blood ammonia and cognitive-motor performance in the heat.

Methods: sixteen runners performed an half marathon race (21 km) and in the end they were divided in two groups: body mass change percentual ($\Delta\%$ BM) less than 1% (G1%) and $\Delta\%$ BM greater than 3% (G3%). Before and after the race participants underwent blood collections and analyses, assessments of cognitive-motor and hydration status, the environmental thermal stress and changes in body temperature were also evaluated.

Results: The $\Delta\%$ BM was greater in G3% ($-3,85 \pm 0,28$) than G1% ($-0,40 \pm 0,53$) ($P < 0,001$). The equivalent of rectal temperature increased only in G3% ($P = 0,037$). Increased in G1% and G3% ammonia ($P < 0,001$; $P = 0,002$), urea ($P = 0,046$; $P = 0,011$) and lactate ($P = 0,007$; $P = 0,004$). Also increased in G1% and G3% the enzymes aspartate aminotransferase (AST) ($P = 0,002$; $P = 0,027$), alanine aminotransferase (ALT) ($P = 0,040$; $P = 0,006$), creatine kinase (CK) ($P = 0,039$; $P = 0,010$) and lactate dehydrogenase (LDH) ($P = 0,002$; $P = 0,038$). Only LDH was greater in G3% than G1% ($P = 0,010$). The cognitive-motor performance did not present difference between the groups.

Conclusion: The exercise in the heat, with dehydration up to $\sim 4\%$ of $\Delta\%$ BM, exacerbates the ammonemia similarly to lower levels of dehydration, without impairment in cognitive-motor performance.

Keywords: metabolism, psychomotor performance, hot, exercise, brain.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Capítulo de revisão

Figura 1- Fontes geradoras de amônia.....	17
Figura 2- Ciclo das purinas nucleotídeos.....	18
Figura 3- Glutamato como precursor de GABA e ativador do receptor NMDA.....	20
Figura 4- Via glutamato-óxido nítrico-guanosina monofosfato cíclico.....	21

1º artigo: artigo de resultados

Figura 1- Desenho experimental.....	26
-------------------------------------	----

LISTA DE TABELAS

1º artigo: artigo de resultados

Tabela 1- Temperatura corporal, sensações térmica e de conforto nos momentos pré e pós-corrida entre os grupos G1% e G3%.....	32
Tabela 2- Marcadores de hidratação nos momentos pré e pós-corrida entre os grupos G1% e G3%.....	33
Tabela 3- Marcadores bioquímicos nos momentos pré e pós-corrida entre os grupos G1% e G3%.....	34
Tabela 4- Desempenho cognitivo-motor nos momentos pré e pós-corrida entre os grupos G1% e G3%.....	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\Delta\%$ MC	Diferença percentual da massa corporal
$\Delta\%$ PV	Perda do volume plasmático
ALT	Alanina amino transferase
AMP	Adenosina monofosfato
AST	Aspartato amino transferase
ATC	Ciclo do ácido cítrico
ATP	Adenosina trifosfato
cGMP	Guanosina monofosfato cíclico
CK	Creatina quinase
CM	Calmodulina
BUN	Nitrogênio da ureia sanguínea
EROs	Espécies reativas de oxigênio
G1%	$\Delta\%$ MC < 1%
G3%	$\Delta\%$ MC > 3%
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GE	Gravidade específica
HB	Hemoglobina
HCT	Hematócrito
IBUTG	Índice de bulbo úmido temperatura de globo
LDH	Lactato desidrogenase
MC	Massa corporal
NMDA	N-metil D-aspartato
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
Serotonina	5-Hidroxitriptamina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO DA LITERATURA	12
2.1	Exercício no calor e desempenho cognitivo-motor.....	12
2.2	Desidratação induzida pelo exercício no calor e desempenho cognitivo-motor.....	12
2.3	Hipertermia induzida pelo exercício no calor e desempenho cognitivo-motor.....	15
2.4	Hiperamonemia induzida pelo exercício no calor e desempenho cognitivo-motor.....	17
3	ARTIGO CIENTÍFICO PRINCIPAL	24
3.1	Introdução.....	24
3.2	Métodos.....	25
3.2.1	Amostra.....	25
3.2.2	Procedimentos experimentais.....	25
3.2.3	Coleta e análise sanguínea: bioquímica e hematológica.....	27
3.2.4	Avaliação do desempenho cognitivo-motor.....	27
3.2.5	Avaliação do estado de hidratação.....	28
3.2.6	Condições climáticas e avaliação do esforço físico e sensações no calor.....	29
3.2.7	Análise dos dados.....	29
3.3	Resultados.....	30
3.4	Discussão.....	36
4	CONCLUSÃO	40
	REFERÊNCIAS	41
	APÊNDICES	52
	ANEXOS	56

1 INTRODUÇÃO

O estresse causado pelo exercício é acompanhado de alterações termorregulatórias que podem prejudicar o desempenho no exercício (NYBO; SECHER, 2004; SCHNEIDERS et al., 2008). Esse estresse pode ser aumentado em condições de exercício no calor, especialmente na condição de desidratação e/ou hipertermia, com consequentes prejuízos, mais evidenciados no desempenho cognitivo-motor (BROTHERHOOD, 2007; GANIO et al., 2011; SERWAH; MARINO, 2006).

Paralelamente, o exercício em ambiente termoneutro também provoca alterações metabólicas importantes, tal como o aumento da amonemia (WILKINSON; SMEETON; WATT, 2010) (WILKINSON et al., 2010). Contudo, a produção de amônia sanguínea durante o exercício no calor também parece ser exacerbada (FEBBRAIO, 2001). Este metabólito é tóxico para o organismo e o seu acúmulo traz alterações neurológicas que prejudicam funções cognitivo-motoras (LLANSOLA; MONTOLIU; CAULI, 2013).

A função cognitivo-motora é caracterizada pelo desempenho de tarefas que necessitam de um esforço mental consciente (LAMPART et al., 2014). Essas tarefas proporcionam habilidades motoras perceptuais, tais como: tempo de reação, memória de curto prazo e coordenação motora (TAYLOR et al., 2016). Essa função é importante no âmbito do esporte, pois irá determinar a conclusão de habilidades que irão definir o sucesso do desempenho atlético (SUNDERLAND; NEVILL, 2005). Porém, o exercício intenso é associado com alterações metabólicas cerebrais que podem estar relacionadas com a fadiga central, como a diminuição das reservas de glicogênio cerebral e da captação de glicose, diminuição da perfusão cerebral, alterações na atividade serotoninérgica, níveis elevados de amônia e alterações na atividade dopaminérgica. Nesse contexto, pouco se sabe sobre os aspectos da hiperamonemia causada pelo exercício na diminuição da ativação motora e os prejuízos no desempenho cognitivo-motor (NYBO, 2010; NYBO et al., 2005; NYBO; SECHER, 2004).

Tendo em vista as inter-relações entre o estresse metabólico causado pelo exercício associado à hipertermia e desidratação, essa revisão se propõe a fazer um levantamento na literatura, sobre os aspectos relacionados à hiperamonemia, desidratação, hipertermia e desempenho cognitivo-motor induzidos pelo exercício no calor.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Exercício no calor e desempenho cognitivo-motor

O exercício físico aumenta a demanda metabólica e a contração muscular, sendo por si só um potencial produtor de calor (ZUO et al., 2000). Porém, quando este é realizado em ambiente quente, ocorrem mudanças não apenas no sistema cardiorrespiratório e locomotor, mas também no cérebro (NYBO; SECHER, 2004). No exercício de alta intensidade e longa duração no calor, a temperatura corporal pode ser exacerbada pelo estresse térmico (BROTHERHOOD, 2007; RING et al., 2015). Nessas condições, as trocas de calor por convecção e radiação podem não ser suficientes para alcançar o equilíbrio térmico, então, o resfriamento pela evaporação do suor é imprescindível para regular a temperatura corporal (BROTHERHOOD, 2007).

A fim de resfriar o corpo, o fluxo sanguíneo desloca o calor dos músculos para o centro do corpo e em seguida para a pele (SAWKA et al., 2007). No processo de transpiração as glândulas sudoríparas écrinas secretam o suor, o qual possui papel fundamental na regulação térmica. Essas glândulas são controladas pelo SNC, sendo o hipotálamo o principal centro termorregulador (WILKE et al., 2007). Porém, no clima quente e úmido a pressão de vapor do ambiente é alta e a capacidade de evaporação do suor da pele para o ambiente é baixa. Em oposição, no clima quente e seco a pressão de vapor do ambiente é baixa e a pressão de vapor saturado da pele é alta, portanto, a capacidade de evaporação é alta (BROTHERHOOD, 2007).

Durante o exercício com hipertermia há acumulação excessiva de calor no cérebro, devido a prejuízos na remoção de calor pela circulação cerebral. Dessa forma, a temperatura do cérebro pode se elevar além de 40 °C e prejudicar a capacidade de sustentar a ativação motora máxima (NYBO; SECHER, 2004). Dessa forma, o estresse físico e térmico podem prejudicar o desempenho cognitivo-motor e tais danos podem ser potencializados em condições de desidratação e hipertermia (GANIO et al., 2011; NYBO; SECHER, 2004; SECHER; RITZ, 2012; SERWAH; MARINO, 2006; TAYLOR et al., 2016).

2.2 Desidratação induzida pelo exercício no calor e desempenho cognitivo-motor

O suor possui natureza hipotônica sendo composto por água e eletrólitos, como o sódio, o cloreto e, em menor quantidade o potássio, cálcio e magnésio (RING et al., 2015; SAWKA; MONTAIN; LATZKA, 2001). Então, durante o exercício intenso no calor, os altos índices de transpiração podem levar a perdas excessivas de água e eletrólitos, causando

desidratação e hiponatremia, com consequentes prejuízos no desempenho desportivo e cognitivo-motor de atletas (CHEUVRONT; MONTAIN; SAWKA, 2007; GANIO et al., 2011). O desequilíbrio hídrico corporal também promove prejuízos na homeostase celular e diminui o volume sanguíneo, com consequentes alterações negativas para o sistema cardiovascular (SAWKA; MONTAIN, 2000; TRANGMAR et al., 2015). A hipovolemia e a hiperosmolaridade induzida pela sudorese prolongada durante o exercício no calor podem inibir respostas termorregulatórias, como a transpiração e a vasodilatação cutânea (GONZÁLEZ-ALONSO; CALBET; NIELSEN, 1998; GONZÁLEZ-ALONSO; MORA-RODRÍGUEZ; COYLE, 2000; SAWKA; MONTAIN; LATZKA, 2001).

A desidratação e o exercício de longa duração influenciam a magnitude do desvio cardiovascular, visto que ele é caracterizado pelo aumento da frequência cardíaca e diminuição do volume sistólico (WINGO; GANIO; CURETON, 2012). O desvio cardiovascular também tem sido relacionado com a diminuição do consumo máximo de oxigênio ($VO_{2máx}$), o qual apresenta maior atenuação no ambiente quente (GANIO et al., 2006; LAFRENTZ et al., 2008).

Hoffman e Stuempfle (2016) demonstraram que em um exercício contínuo no calor, com duração entre 15 e 30 horas, não se faz necessária a suplementação de sódio para a manutenção do estado de hidratação e que a sensação de sede não deve ser o único estímulo para a ingestão de líquidos. Em outro estudo, os mesmos autores observaram que a suplementação de sódio também não influenciou os percentuais de mudança de massa corporal em uma ultramaratona, e perdas maiores que 2% não foram correlacionadas significativamente com o tempo final da prova; portanto, a amplitude dessa mudança não foi um fator que distinguiu os atletas que concluíram daqueles que não concluíram a prova (HOFFMAN; STUEMPFLE, 2014). A suplementação de sódio também não preveniu câibras musculares, desidratação, hiponatremia ou náuseas (HOFFMAN; STUEMPFLE; VALENTINO, 2015).

Em contrapartida, Hamouti et al. (2014) observaram que a ingestão de sódio e água por ciclistas que se exercitaram em um ambiente quente e seco, quando comparados com o grupo controle, ocasionou uma menor redução no volume plasmático e uma manutenção do débito cardíaco e do volume sistólico, no entanto, a acumulação e a dissipação de calor (taxa de sudorese) não foram alteradas. Porém, de acordo com Armstrong et al. (1997), uma hidratação que possibilite uma perda da massa corporal menor do que 2% ajuda a dissipar o calor preservando a temperatura corporal, o metabolismo de lactato, a frequência cardíaca, o volume de ejeção, o débito cardíaco e o fluxo sanguíneo da pele.

O exercício e o estresse ao calor também prejudicam a perfusão cerebral; no entanto, mesmo na exaustão, o cérebro humano contém uma reserva de oxigênio bem maior do que a reserva dos músculos. Ainda assim, essa redução na perfusão cerebral pode refletir em áreas do cérebro relacionadas com a locomoção, a manutenção do equilíbrio, a visão e o controle cardiovascular (RANDALL; GONZÁLEZ-ALONSO, 2012). Em adição, Trangmar et al. (2015) observaram que durante o exercício prolongado no calor, a desidratação acelerou a diminuição no fluxo sanguíneo cerebral e restringiu a perfusão extracranianas, porém sem prejudicar a taxa metabólica cerebral de oxigênio. Dessa forma, a fadiga foi relacionada aos declínios no fluxo sanguíneo e na perfusão extracranianas e não à taxa metabólica cerebral de oxigênio.

Atletas submetidos a esforço intenso e prolongado no calor costumam apresentar taxas de sudorese entre 1,0 L/h a 2,5 L/h. Estes podem iniciar o exercício hidratados e ao longo da competição desidratar, porém, também é comum que eles já comecem a atividade desidratados, o que reflete uma inadequada reidratação nos intervalos de uma sessão para a outra do treinamento em ambiente quente (MAUGHAN; WATSON; SHIRREFFS, 2015; SAWKA et al., 2007). Segundo Casa, Clarkson e Roberts (2005) a desidratação maior que 2% da massa corporal prejudica o desempenho cognitivo-motor no exercício de longa duração e alta intensidade em temperaturas elevadas. Porém, Ely et al. (2013) observaram que a desidratação induzida pelo exercício no calor, com perda de aproximadamente 4% da massa corporal, não prejudicou o desempenho cognitivo-motor, acessado por meio dos testes de vigilância psicomotora, tempo de reação de escolha, modelo correspondente e raciocínio gramatical.

Estudos apontam que a desidratação pode prejudicar as capacidades cognitivo-motoras, porém há controvérsias de que ela, por si só, promova esses danos (ALVES E SILVA CAMERINO et al., 2016; BENTON, 2011; GANIO et al., 2011; SHARMA, 2007). Suporta-se que a desidratação e os prejuízos na função cognitiva podem ser decorrentes apenas da mudança de humor, desconforto e distração, ou pelos efeitos diretos da desidratação no SNC, mudanças na permeabilidade da barreira hematoencefálica, no volume de fluido cerebrospinal e uma redução na perfusão e oxigenação cerebral (MAUGHAN; WATSON; SHIRREFFS, 2015). Outros fatores como o exercício, as condições climáticas, hiperamonemia e produção de 5-hidroxitriptamina (serotonina), podem influenciar os prejuízos no desempenho cognitivo-motor (LINNANE et al., 2004; NYBO; NIELSEN, 2001; SNOW et al., 1993; TAYLOR et al., 2016).

Kempton et al. (2011) observaram que a desidratação pode afetar negativamente as funções executivas como planejamento e processamento visual-espacial. O estado de alerta, concentração e desempenho de tarefas cognitivas complexas também podem ser prejudicados em níveis relativamente moderados de desidrataação (MAUGHAN; WATSON; SHIRREFFS, 2015). Também tem sido demonstrado que a baixa ingestão de fluidos prejudica a cognição e que ingerir líquidos melhora a memória e a atenção (BENTON, 2011; KEMPTON et al., 2011).

Marino, Kay e Serwach (2004) investigaram o efeito de diferentes estratégias de ingestão de líquidos no desempenho e na temperatura corporal. A reposição de líquidos igual à taxa de sudorese não apresentou vantagens quando comparada com a reposição de líquidos igual à metade da taxa de sudorese. Porém, a restrição de líquidos aumentou a temperatura retal e diminuiu o tempo de realização do exercício acelerando a fadiga. Em outro estudo similar, os mesmos autores observaram que em até 90 min de ciclismo a 70% da potência de pico, no calor (31°C) e em condições úmidas (63% umidade relativa), o tempo de reação de escolha não foi comprometido por diferentes níveis de hidratação (SERWAH; MARINO, 2006). Em contrapartida, num estudo em que os participantes perderam em média 4,1 kg da massa corporal, quando submetidos a condições prolongadas de estresse físico e térmico, funções cognitivas como a vigilância, tempos de reação, atenção, memória e raciocínio foram prejudicadas (LIEBERMAN et al., 2005).

Em suma, levado também em consideração a cor e a gravidade específica da urina, um estado de desidrataação leve equivale a perdas da massa corporal entre 1 e 3%, a desidrataação significativa corresponde a perdas entre 3 e 5% e a desidrataação severa a perdas maiores que 5% (CASA et al., 2000). A desidrataação leve e aguda por si só, prejudica o desempenho cognitivo-motor e essas mudanças não são prevenidas pela reidratação (SECHER; RITZ, 2012). Porém, estudos recentes apontam que a desidrataação por si só, não prejudica o desempenho cognitivo-motor, mas que talvez esta associada à hipertermia, prejudique (ARMSTRONG et al., 2014; BERKULO et al., 2016; CHEUNG et al., 2015; NOLTE; NOAKES; NOLTE, 2013; TAYLOR et al., 2016; WITTBRODT et al., 2015).

2.3 Hipertermia induzida pelo exercício no calor e desempenho cognitivo-motor

A desidrataação pode levar a um estado de hipertermia induzida pelo exercício no calor, que também está associada a danos cognitivo-motores (ELY et al., 2013; GANIO et al., 2011; TAYLOR et al., 2016). Liu et al. (2013) investigaram o efeito da hipertermia passiva de 50°C e 40° de umidade relativa, sobre a função cognitiva entre grupos hipertérmicos e

normotérmicos. O calor prejudicou a função executiva (tempo de reação ~ 22 ms), mas não exerceu nenhum prejuízo nas tarefas de orientação e alerta, pois para estas houve ativação em regiões alternativas do cérebro, como um efeito compensatório. Os resultados de ressonância magnética funcional mostraram que em relação às tarefas de alerta, a hipertermia aumentou a atividade no giro frontal superior direito e diminuiu a atividade no giro occipital médio direito, no lobo parietal inferior esquerdo e no culmén esquerdo. Nas tarefas de orientação, a hipertermia passiva aumentou a atividade no lobo temporal e diminuiu a atividade no lobo parietal frontal e no lobo occipital. Nas tarefas de execução, a hipertermia passiva aumentou a atividade no córtex pré-frontal dorsolateral, mas não influenciou a atividade no cíngulo anterior.

Além disso, McMorris et al. (2006) observaram que o estresse ao calor prejudicou a realização de movimentos aleatórios, mas não o tempo de reação de escolha, a lembrança verbal e espacial. As concentrações plasmáticas de serotonina foram significativamente aumentadas após a exposição ao calor e a percepção de vigor foi diminuída e a de fadiga aumentada. O total de perda de massa corporal após o experimento foi significativamente maior no calor (2,29 kg) do que na condição temperada (0,33 kg). Porém, Coull et al. (2015) observaram que a suplementação de tirosina melhorou a vigilância e o esforço mental em jogadores submetidos a exercício individualizado específico do futebol em um ambiente quente.

Taylor et al. (2016), em uma revisão da literatura sobre hipertermia passiva e função cognitivo-motora, mostraram que a exposição mínima de 15 min. a uma temperatura de 50 °C foi suficiente para prejudicar o desempenho cognitivo; a exposição a 45 °C melhorou o tempo de reação, mas diminuiu a acurácia e a exposição a temperaturas iguais ou menores a 42°C não prejudicou o desempenho cognitivo. A fim de diminuir a hipertermia e melhorar o desempenho cognitivo-motor, Ando et al. (2015) observaram que a prática de resfriar o pescoço com uma toalha molhada e um ventilador pequeno não foi eficaz para beneficiar a memória de trabalho e a função executiva durante o exercício extenuante de curto prazo, em um ambiente quente e úmido.

Taylor et al. (2014) investigaram a influência do estresse ambiental no desempenho cognitivo-motor de jogadores de futebol, em um protocolo de exercício intermitente que simulava uma partida. Porém, o frio (-5°C), o calor (30 °C) e ambiente temperado (18°C) não influenciaram significativamente a tomada de decisão e a vigilância dos participantes. A temperatura retal no calor não diferiu da temperatura retal no ambiente temperado e no frio. Já

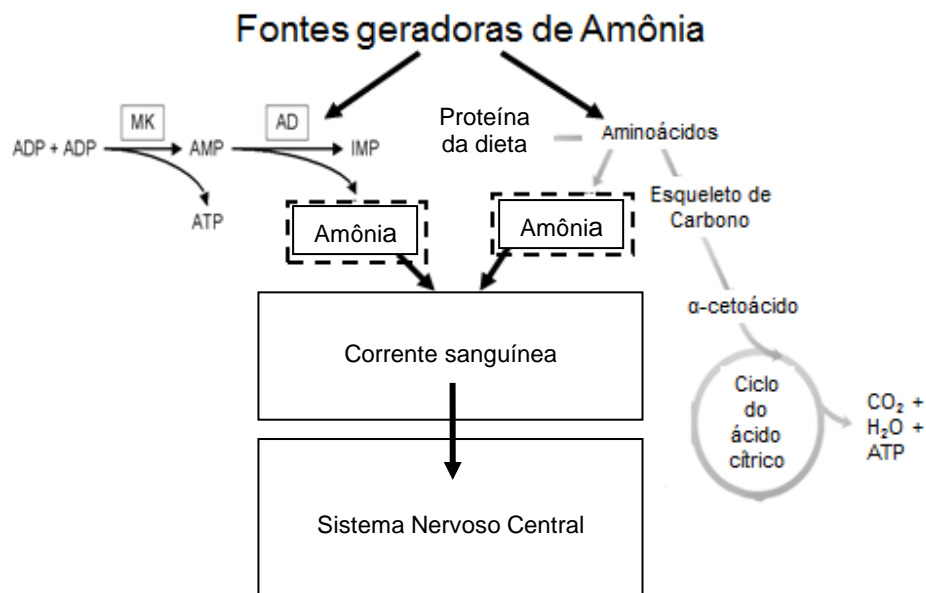
a temperatura da pele no calor foi 3,3 °C maior do que no ambiente temperado e 7,8 °C maior do que no frio.

Tendo em vista o exposto, é evidente que avaliar a relação entre o estresse ao calor e a função cognitiva é um desafio, pois a grande quantidade de fatores presentes nas diferentes metodologias torna os estudos inconclusivos. Dentre eles estão a duração e a temperatura de exposição ao calor; vestimentas utilizadas; o nível de dificuldade das tarefas cognitivas concluídas; efeito da aprendizagem; estado de hidratação; estresse ao calor determinado pela temperatura ambiental ou central; o aumento da temperatura central alcançado por meio da hipertermia passiva ou induzida pelo exercício e a aclimação (BROTHERHOOD, 2007; RACINAIS et al., 2015; TAYLOR et al., 2016).

2.4 Hiperamonemia induzida pelo exercício no calor e desempenho cognitivo-motor.

A amônia sanguínea pode ser considerada um produto residual do metabolismo de aminoácidos e outros compostos nitrogenados (WILKINSON; SMEETON; WATT, 2010). Durante o exercício em condições termoneutras, a amônia é produzida pelo catabolismo dos aminoácidos e/ou pela desaminação da adenosina monofosfato (AMP) (CAMERINO et al., 2016; PRADO et al., 2011) (FIGURA1). Porém, a prática de exercícios físicos de alta intensidade ou exaustivos, associada à desidratação e hipertermia, promove um maior estímulo da produção de amônia e seus metabólitos ureia e urato (CAMERINO et al., 2016; LINNANE et al., 2004; NYBO, 2010; SNOW et al., 1993).

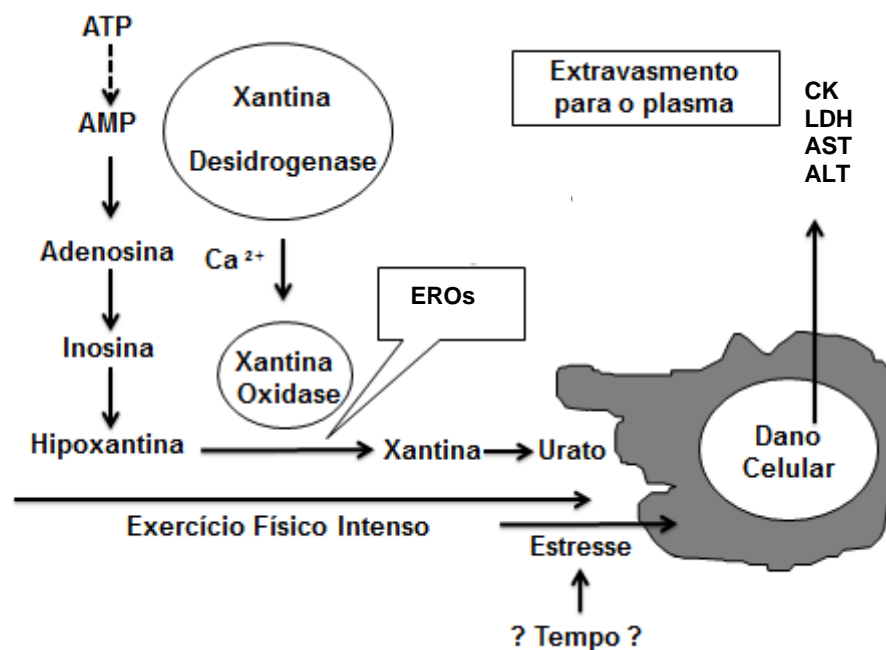
Figura 1 - Fontes geradoras de amônia.



Produção de amônia durante o exercício por meio da desaminação da AMP e catabolismo dos aminoácidos. Logo, o excesso de amônia da corrente sanguínea atravessa a barreira hematoencefálica. AD: Adenosina desaminase. ADP: Adenosina monofosfato. AMP: Adenosina monofosfato. IMP: Inosina. MK: Mioquinase. SNC: Sistema nervoso central. Fonte: Adaptado de WILKINSON; SMEETON; WATT (2010).

A elevação da amônia e do calor também está associada a um aumento do estresse oxidativo e de moléculas biomarcadoras de lesão muscular (PLACE et al., 2009; ZHANG; MENG, 2011; ZUO et al., 2000). O exercício de alta intensidade aumenta o ciclo das purinas nucleotídeos, da adenosina trifosfato (ATP), para o AMP, hipoxantina, xantina, e finalmente, para o urato (CHEVION et al., 2003; WILKINSON; SMEETON; WATT, 2010). Esse processo aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (peróxido de oxigênio, superóxido e radicais hidroxilas), as quais agredem a integridade da membrana plasmática celular com conseqüente extravasamento de enzimas, como a creatina quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH), aspartato amino transferase (AST), alanina amino transferase (ALT), para a corrente sanguínea (CHEVION et al., 2003; CLARKSON; HUBAL, 2002) (FIGURA 2). O ciclo das purinas nucleotídeos também é ativo no cérebro e tem sido relatado como a maior fonte de amônia no órgão; porém, alterações nessa via advindas do exercício ainda não foram investigadas (BANISTER; CAMERON, 1990; COOPER; JEITNER, 2016).

Figura 2 - Ciclo das purinas nucleotídeos.



O exercício físico de alta intensidade aumenta o ciclo das purinas nucleotídeos. Nesse processo EROs são liberadas, as quais agredem a célula, causando extravasamento de enzimas biomarcadoras de lesão muscular para o plasma. ALT: Alanina Aminotransferase. AMP: Adenosina Monofosfato. AST: Aspartato Aminotransferase. ATP: Adenosina Trifosfato. Ca²⁺: Cálcio. CK: Creatina Quinase. EROs: Espécies Reativas de Oxigênio. LDH: Lactato Desidrogenase. Extraído e adaptado de CHEVION et al. (2003).

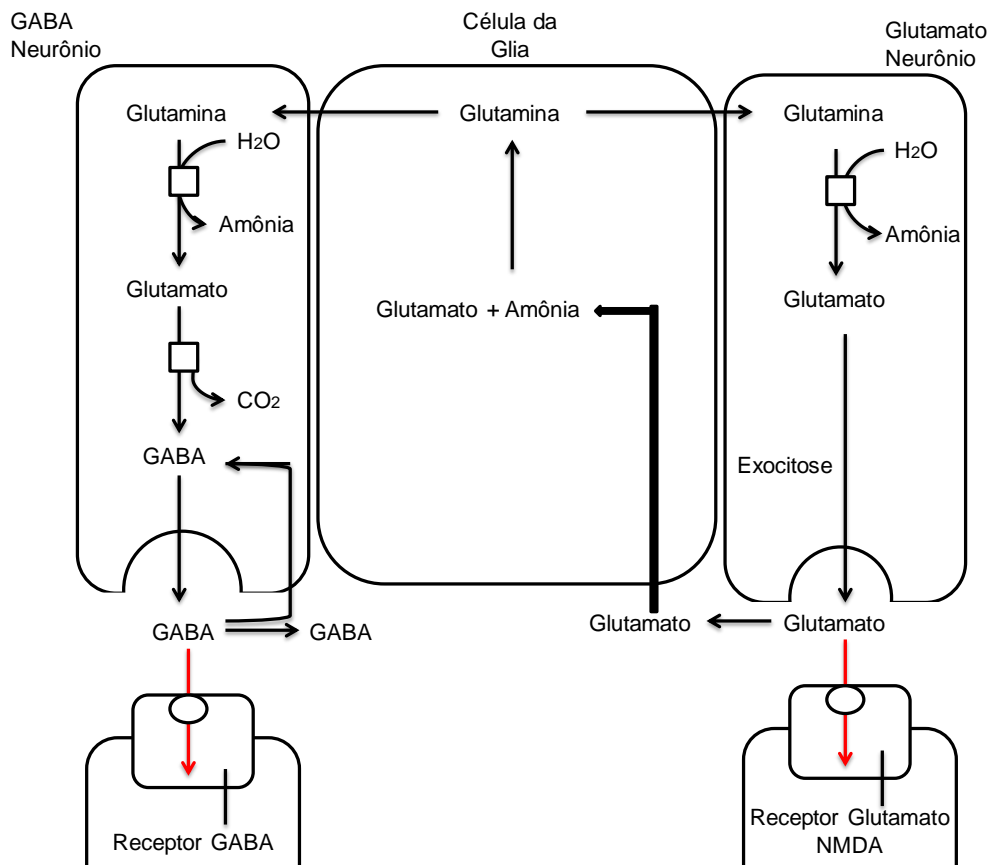
Em situações patogênicas, como a encefalopatia hepática, o acúmulo da amônia é acompanhado de disfunções neurológicas (ALFADHEL et al., 2016; LLANSOLA; MONTOLIU; CAULI, 2013; MONFORT et al., 2009; WILKINSON; SMEETON; WATT, 2010). A hiperamonemia é resultante de deficiências em enzimas do ciclo da ureia e insuficiência hepática, então, a amônia da corrente sanguínea atravessa a barreira hematoencefálica e, no astrócito, é convertida em glutamina, via glutamina sintetase (ALFADHEL et al., 2016; FELIPO et al., 2002; WILKINSON; SMEETON; WATT, 2010). Parte dessa glutamina pode ser liberada para a corrente sanguínea, a fim de manter a homeostasia de nitrogênio e carbono, outra parte retorna para os neurônios e é convertida novamente a glutamato via glutaminases (COOPER; JEITNER, 2016).

A hiperamonemia excede a capacidade do cérebro em sintetizar a glutamina e a amônia é aumentada drasticamente. Por meio da formação de glutamina a partir do glutamato ocorre o processo de remoção da amônia (NYBO et al., 2005; SUÁREZ; BODEGA; FERNÁNDEZ, 2002). A glutamina é a única precursora para biossíntese do glutamato e do ácido gama-aminobutírico (GABA), dessa forma exerce um papel importante no sistema de neurotransmissão glutamatérgica (FELIPO et al., 2002; SCHOUSBOE; BAK; WAAGEPETERSEN, 2013). O glutamato é um neurotransmissor excitatório e atua como um precursor da produção do neurotransmissor inibitório GABA, por meio da ação da glutamato descarboxilase (COOPER; JEITNER, 2016; SUÁREZ; BODEGA; FERNÁNDEZ, 2002). Uma vez que GABA é liberado dos neurônios GABAérgicos, esse segue para os astrócitos (célula da glia), onde é convertido em glutamina. A glutamina é depois devolvida aos neurônios, onde é convertida em GABA. GABA retorna ao astrócito e seu esqueleto de carbono é incorporado no ciclo do ácido cítrico (ATC) na forma de succinato, via semialdeído succínico desidrogenase (SSA). O esqueleto de carbono do glutamato, também é incorporado no ciclo do ácido cítrico na forma de α -cetoglutarato e incorporado em glutamina (COOPER; JEITNER, 2016) (FIGURA 3).

A hiperamonemia aguda induz a ativação excessiva do receptor de glutamato N-metil D-aspartato (NMDA) (FIGURA 3), prejudicando a função do cerebelo, por meio da redução

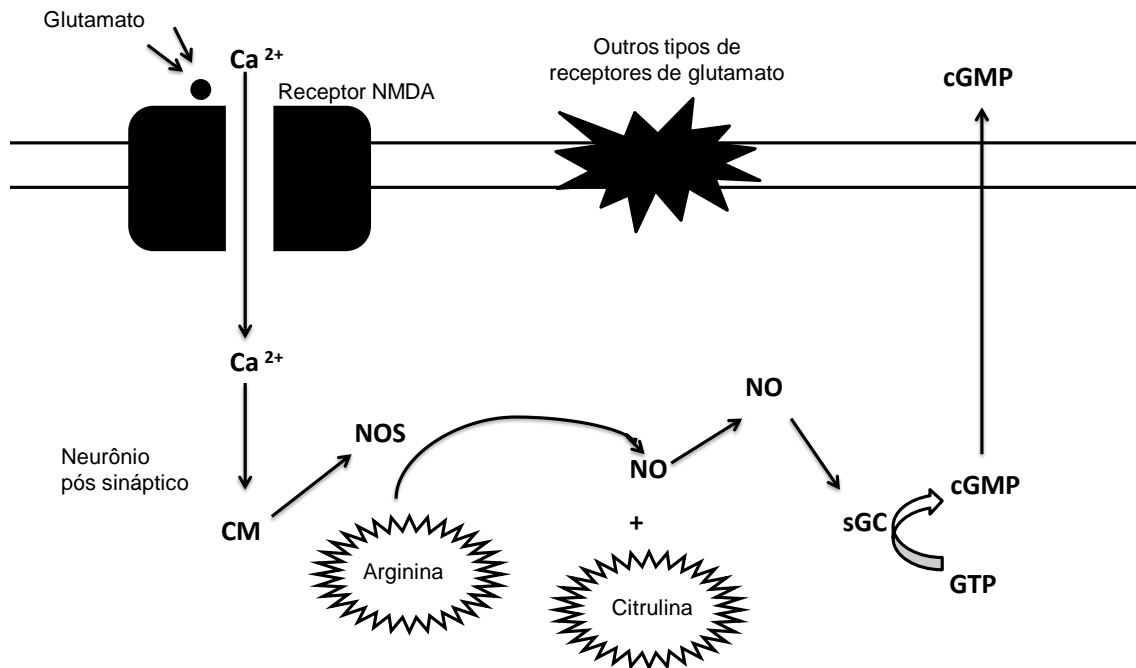
da função da via glutamato-óxido nítrico-guanosina monofosfato cíclico (NO-cGMP). A ativação dos receptores NMDA aumenta a liberação de cálcio no neurônio pós sináptico. O cálcio bloqueia a calmodulina (CM) e ativa óxido nítrico sintase (NOS) neuronal, aumentando o NO, que ativa a guanilato ciclase (sGC) e aumenta a cGMP (FIGURA 4). Alterações nessa via contribuem para distúrbios cognitivos, principalmente na aprendizagem e memória (LLANSOLA; MONTOLIU; CAULI, 2013; MONFORT et al., 2002; NATESAN; MANI; ARUMUGAM, 2016; RAMAKRISHNAN; VIJAYAKUMAR; RENUKA, 2016).

Figura 3 - Glutamato como precursor de GABA e ativador do receptor NMDA.



A glutamina formada na glia segue para os neurônios GABA e glutamato. O glutamato atua como precursor do neurotransmissor GABA como também ativa o receptor NMDA. GABA: Ácido gama-aminobutírico. NMDA: N-metil D-aspartato. Fonte: Adaptado de COOPER; JEITNER (2016).

Figura 4 - Via do glutamato-NO-cGMP.



O receptor NMDA é ativado pelo glutamato, causando aumento do cálcio intracelular que se liga à calmodulina e ativa NOS neuronal, levando ao aumento da produção de NO, que por sua vez ativa sGC, resultando em um aumento da formação de cGMP. Uma certa quantidade de cGMP é extravasada para o fluido extracelular. cGMP: Guanosina monofosfato cíclico. CM: Calmodulina. NO: Óxido nítrico. NOS: Óxido nítrico sintase. sGC: Guanilato ciclase. Extraído e adaptado de NATESAN; MANI; ARUGUMAN (2016).

Nitrogênios adicionais também entram no cérebro por meio do transporte de aminoácidos, especialmente os aminoácidos de cadeia ramificada (COOPER; JEITNER, 2016). No cérebro, a amônia também parece estar envolvida na regulação do metabolismo energético neuronal por meio do ciclo alanina/amônia (COLES; MARTIEL; LASKOWSKA, 2008).

Assim, acredita-se que o acúmulo da amonemia durante o exercício, pode contribuir para induzir a fadiga periférica e central (NYBO et al., 2005; YANG et al., 2015), causando prejuízo na capacidade de sustentar a ativação motora máxima, fraqueza muscular, descoordenação motora, estupor e ataxia (BANISTER; CAMERON, 1990; NYBO, 2010; NYBO; SECHER, 2004). Além disso, essa hiperamonemia induzida pelo exercício pode ser exacerbada pelo estresse ao calor e/ou desidratação (CAMERINO et al., 2016; FEBBRAIO, 2001; MARINO et al., 2001; MOHR; RASMUSSEN; DRUST, 2006; SHARMA, 2007; SNOW et al., 1993). No exercício em ambiente quente, a depleção do glicogênio é

aumentada, a fosforilação oxidativa também pode ser comprometida e conseqüentemente um maior catabolismo de aminoácidos e circulação de purinas nucleotídeos aumentará a produção de amônia (FEBBRAIO, 2001; MÜNDEL, 2008; NYBO; NIELSEN, 2001; NYBO; SECHER, 2004; SCHULZ; HECK, 2003; WAGENMARKERS, A. J. M. BECKERS et al., 1991).

A dieta cetogênica, juntamente com o exercício, também tem sido utilizados para induzir a hiperamonemia, por meio da baixa disponibilidade de carboidrato, da redução dos estoques de glicogênio e do aumento da intensidade e duração do exercício. Nestas condições, o catabolismo de aminoácidos e desaminação da AMP são aumentados (BARROSO et al., 2014; BASSINI; CAMERON, 2014; CAMERINO et al., 2016; GONÇALVES et al., 2012; PRADO et al., 2011).

Sunderland e Nevill (2005) encontraram que o exercício intenso intermitente no calor, com controle da hidratação, não elevou o nível de amônia quando comparado com a condição do exercício em temperatura moderada. A habilidade diminuiu significativamente em ambas as temperaturas, porém foi 6% menor no calor. E nos dois grupos, não foi encontrada diferença significativa na capacidade de tomada de decisão. No calor, os *sprints* foram mais lentos e a temperatura retal, a percepção de esforço, a percepção de sede, a concentração de glicose sanguínea e a concentração de aldosterona sérica foram maiores. Portanto, os declínios no desempenho não foram atribuídos à baixa concentração de glicogênio ou desidratação.

Em contrapartida, Linnane et al.(2004) ao investigar os efeitos da hipertermia no exercício de alta intensidade, observaram que a elevação de 1°C na temperatura corporal, aumentou significativamente a amônia nas condições de calor quando comparado com o grupo controle. A hiperamonemia induzida pelo exercício no calor está associada à fadiga e a desordens metabólicas, principalmente a nível central, as quais podem prejudicar o desempenho cognitivo-motor de atletas (BANISTER; CAMERON, 1990; FEBBRAIO, 2001; LINNANE et al., 2004; NYBO et al., 2005; NYBO; SECHER, 2004; SNOW et al., 1993).

Em conclusão, parece evidente que a hiperamonemia pode ser exacerbada pela desidratação e/ou hipertermia, quando induzida pelo exercício no calor. Tal condição parece prejudicar a neurotransmissão glutamatérgica, com conseqüências adversas na função cognitiva-motora. Porém, os mecanismos fisiológicos que envolvem a hiperamonemia induzida pelo exercício em ambiente quente e as implicações no desempenho cognitivo-motor ainda são inconclusivos, sendo necessárias mais investigações que avaliem a influência da

hiperamonemia causada pelo exercício, associada à desidratação e hipertermia, no desempenho cognitivo-motor.

3 ARTIGO CIENTÍFICO PRINCIPAL

3.1 Introdução

Elevações de temperatura no ambiente afetam a homeostase do organismo durante o exercício (BROTHERHOOD, 2007; ZUO et al., 2000). Nessas condições, a sudorese aumenta e pode desencadear um estado de desidratação (CASA et al., 2000). Nesta situação, há uma diminuição do volume sanguíneo, com uma hiperosmolalidade e a temperatura central elevada associada, levando a uma redução da tolerância ao calor e exaustão pelo exercício (BROTHERHOOD, 2007; CASA et al., 2000; GONZÁLEZ-ALONSO; MORARODRÍGUEZ; COYLE, 2000; SAWKA; MONTAIN, 2000).

Postula-se que uma desidratação induzida pelo exercício no calor e determinada pela perda percentual da massa corporal (MC) entre 1% a 2% ou superior compromete a função fisiológica, com conseqüente prejuízo no desempenho atlético por danos na função cognitivomotora (CASA et al., 2000, 2010; GANIO et al., 2011; SHARMA, 2007; TAYLOR et al., 2016).

Por outro lado, durante o exercício em ambiente termoneutro é possível que ocorra o aumento exacerbado da amonemia, que pode ser gerado pela desaminação da adenosina monofosfato (AMP) e/ou catabolismo de aminoácidos (BANISTER; CAMERON, 1990; CAMERINO et al., 2016; PRADO et al., 2011; WILKINSON; SMEETON; WATT, 2010). A primeira via ocorre predominantemente em condições de diminuição de glicogênio e exercício de longa duração, a segunda, no exercício de alta intensidade (SCHULZ; HECK, 2003). O acúmulo da amônia é tóxico para o organismo e no exercício pode induzir à fadiga central, também causando dano cognitivo-motor (BANISTER; CAMERON, 1990; WILKINSON; SMEETON; WATT, 2010). A hiperamonemia parece alterar a neurotransmissão glutamatérgica causando alterações neurológicas e prejuízo cognitivo-motor (LLANSOLA; MONTOLIU; CAULI, 2013).

Apesar de poucos estudos, também tem sido sugerido que a desidratação e/ou o aumento da temperatura corporal (aqui denominado de hipertermia) podem acentuar a amonemia induzida pelo exercício físico de alta intensidade e/ou de longa duração no calor (CAMERINO et al., 2016; FEBBRAIO, 2001; NYBO, 2010; NYBO; SECHER, 2004; SNOW et al., 1993). A realização de exercício em ambientes com altas temperaturas intensifica a glicogenólise e o ciclo das purinas nucleotídeos, o que acredita-se aumentar o acúmulo de amônia sanguínea no organismo (FEBBRAIO, 2001; SCHULZ; HECK, 2003).

Além disso, é possível que neste processo, espécies reativas de oxigênio produzidas comprometam a integridade da célula muscular causando o extravasamento de enzimas biomarcadoras de lesão para o sangue (BRANCACCIO; LIPPI; MAFFULLI, 2010; CHEVION et al., 2003; ZHANG; MENG, 2011). Porém, poucas são as investigações que avaliam a magnitude da desidratação e do estresse causado pelo exercício em ambiente quente na produção de amônia e no desempenho cognitivo-motor (LINNANE et al., 2004; SNOW et al., 1993; SUNDERLAND; NEVILL, 2005).

A hipótese desse estudo é de que um maior nível de desidratação induzida pelo exercício no calor aumentará a amonemia com consequentes prejuízos no desempenho cognitivo-motor. Dessa forma, o objetivo desse estudo é investigar diferentes níveis de desidratação e seu impacto na amonemia e desempenho cognitivo-motor de corredores submetidos a exercício físico prolongado no calor.

3.2 Métodos

3.2.1 Amostra

Após uma corrida de meia maratona (21 km), dezesseis corredores amadores de meia maratona, voluntários, com níveis semelhantes de consumo máximo de oxigênio ($VO_{2máx}$) determinado previamente, foram divididos em dois grupos: perda da MC inferior a 1% (G1%) (n=8; $38,2 \pm 3,7$ anos; $75,0 \pm 3,7$ kg; $176,2 \pm 2,1$ cm; 46.28 ± 2.30 mL.kg⁻¹.min⁻¹) e perda da MC superior a 3% (G3%) (n=8; $43,1 \pm 2,8$ anos; $75,1 \pm 2,7$ kg; $169,6 \pm 2,2$ cm; 43.30 ± 1.74 mL.kg⁻¹.min⁻¹). Os participantes tinham em média três anos de treinamento, participando frequentemente de competições. Os sujeitos eram voluntários, foram informados antecipadamente dos procedimentos do estudo e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (APÊNDICE A). Foram considerados critérios de exclusão fazer uso de drogas farmacêuticas, de recursos nutricionais ergogênicos, ou apresentar doenças que pudessem interferir nos resultados da pesquisa. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética para Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de Alagoas (protocolo: 017640/2011-61) (ANEXO A) e conduzido de acordo com a declaração de Helsinki.

3.2.2 Procedimentos experimentais

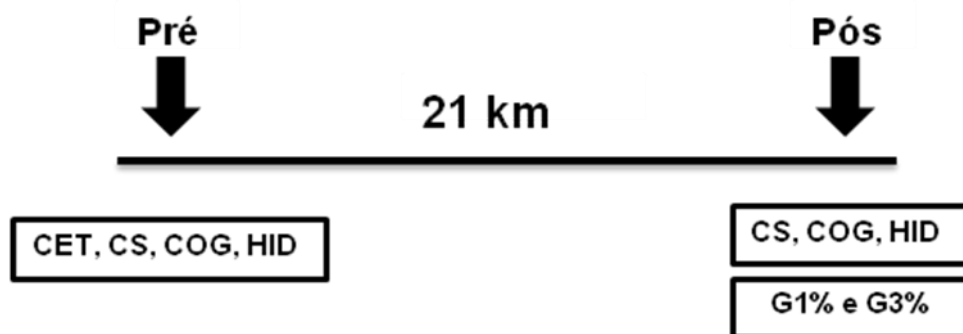
Uma semana antes da realização da corrida de meia maratona, os participantes foram submetidos à avaliação dietética por meio de inquérito dietético do tipo recordatório de 24 h que ocorreu durante um período de 1 dia (FISBERG; SLATER; ARAÚJO, 2005) (APÊNDICE B). O recordatório foi aplicado nos participantes com o auxílio de registros fotográficos (ANEXO B) de porções de alimentos e de utensílios de cozinha, como xícaras e colheres, objetivando uma melhor precisão de quantidades na análise do perfil dietético. De

posse dos resultados dessa avaliação, os corredores receberam orientações individualizadas para ajustes de suas dietas, assim distribuídas: 10% do consumo energético na forma de proteína; 25 % de gordura; e 65 % de carboidrato (SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA DO ESPORTE, 2009).

Todos os participantes receberam orientações para: seguir a dieta, por pelo menos, dois dias antes da corrida; ingerir líquidos ($\sim 3 \text{ L}\cdot\text{d}^{-1}$), evitando bebidas e/ou alimentos que contivessem cafeína ou álcool; não praticar exercícios físicos pelo mesmo período; além de serem informados e esclarecidos sobre os procedimentos de coleta de dados no dia da meia maratona. Para comprovar que todos os participantes estavam nas mesmas condições dietéticas no dia da corrida, amostras de urina também foram coletadas para análise da cetonúria, por meio de fitas reagentes para uroanálises (Biocolor/Bioeasy®, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil). Foi considerada a ausência de cetonúria um teste negativo para a cetose, e positivo para a ingestão adequada de carboidratos. No mesmo dia, os valores de $\text{VO}_{2\text{máx}}$ foram obtidos a partir dos registros individuais do treinamento dos participantes previamente determinados (COOPER, 1968).

Uma semana depois, os participantes realizaram a corrida em um dia de competição. Durante a corrida, eles foram solicitados a manter sua velocidade de corrida habitual. Imediatamente após a corrida, a frequência cardíaca foi registrada em todos os indivíduos utilizando um monitor de frequência cardíaca (Polar® FT1, Kempele, Finlândia). Os sujeitos também foram solicitados a manter a ingestão de líquidos *ad libitum* e realizaram coletas e análises de sangue, avaliações do desempenho cognitivo-motor e do estado de hidratação antes (pré) e depois (pós) da corrida (FIGURA 1).

Figura 1 – Desenho experimental



CET: Avaliação da cetose. CS: Coleta e análise sanguínea. COG: Avaliação do desempenho cognitivo-motor. HID: Avaliação do estado de hidratação. G1%: Perda da MC inferior a 1%. G3%: Perda da MC superior a 3%.

3.2.3 Coleta e análise sanguínea: bioquímica e hematológica

Para a análise bioquímica, 5 mL de amostra sanguínea foi coletada de cada corredor, por meio da veia cubital mediana direita. Desse total, 3 mL de sangue foram imediatamente centrifugados (3000g), e o soro obtido foi armazenado em tubos *para* refrigeração a 4° C. Para evitar perdas, a amônia sérica foi mensurada imediatamente, e as outras análises bioquímicas foram realizadas dentro de um período de 24 h. As seguintes variáveis bioquímicas foram determinadas: amônia (Enzimático UV); ureia (Enzimático UV); urato (Enzimático Uricase); glicose (Enzimático - glicose oxidase); lactato (Enzimático - lactato oxidase); creatinina (Colorimétrico, Jaffé modificado); creatina quinase (CK) (Cinético - ultravioleta); lactato desidrogenase (LDH) (Cinético UV); aspartato aminotransferase (AST) (Cinético UV) e alanina aminotransferase (ALT) (Cinético UV). As dosagens foram realizadas com reagentes da Doles® (Goiânia, Goiás, Brasil), Katal® (Santo Amaro, São Paulo, Brasil) e Randox® (Crumlin, Condado de Antrim, Reino Unido), utilizando um espectrofotômetro digital SP-22 da Biospectro (Curitiba, Paraná, Brasil).

Os outros 2 mL de sangue foram colocados em tubos a vácuo com anticoagulante EDTA e armazenados para subsequente análise hematológica, também dentro de um período de 24 h. A análise hematológica foi determinada pelas seguintes variáveis: hemoglobina (HB) e hematócrito (HCT) em valores absolutos, por meio de um analisador hematológico (Human®, Wiesbaden, Hessen, Alemanha). Todas as análises foram realizadas em duplicatas. Após a corrida, outra amostra de sangue foi obtida por meio da veia cubital mediana esquerda.

3.2.4 Avaliação do desempenho cognitivo-motor

Os participantes foram submetidos a testes que avaliaram o desempenho cognitivo-motor, por meio das seguintes medidas: memória imediata, coordenação motora e tempo de reação simples, pré e pós corrida.

A memória imediata foi avaliada como descrita por McCrory et al. (2013) e SCAT3 (2013). Uma lista de cinco palavras (uma palavra por segundo) foi lida, e os participantes foram instruídos a repetir as palavras lembradas em uma ordem qualquer. A mesma lista foi repetida três vezes em um intervalo de dez segundos. A pontuação "1" foi estabelecida para cada resposta correta e uma pontuação "0" para cada resposta incorreta. A pontuação total foi igual à soma das pontuações das três repetições.

A coordenação motora foi avaliada por meio do teste dedo-nariz, adaptado por McCrory et al. (2013). Enquanto sentado e de frente para o avaliador (com o braço dominante estendido lateralmente, formando um ângulo de 90° com o corpo e com os olhos abertos), ao comando "já" os participantes foram instruídos a tocarem a ponta do nariz com a ponta do

dedo indicador estendido e retornarem a posição inicial. Os participantes também receberam instrução para repetir esse procedimento o mais rápido e acurado possível, por cinco vezes. Foi considerada uma pontuação "1" para cada cinco repetições realizadas corretamente em um tempo = ou < 4 s. Se o examinado não conseguiu tocar o nariz, não estendeu totalmente o cotovelo ou não realizou as cinco repetições, foi considerada uma pontuação "0". Todas as medidas foram cronometradas por meio de um cronômetro digital com precisão de 0,001 s (Insight, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil).

O tempo de reação simples foi obtido como descrito por Eckner, Kutcher e Richardson (2011). Os participantes estavam sentados com o antebraço dominante repousado em uma superfície plana, flexionado a 90° em relação ao braço, e com a mão em posição neutra, formando o mesmo ângulo perpendicular ao polegar. De pé, o examinador suspendeu verticalmente o aparelho específico para avaliar o tempo de reação (ANEXO C), posicionando a marca zero entre o polegar e o indicador dos participantes. O examinador deixou cair o aparelho e o avaliado foi instruído a pegá-lo o mais rápido possível. Todos os participantes foram testados por oito tentativas, mas apenas a média aritmética das três últimas tentativas foi registrada para descartar um possível efeito da aprendizagem. A distância da queda foi medida da borda superior do disco até a superfície superior do dedo indicador do participante e foi convertida em tempo de reação (em milissegundos), usando uma fórmula para um corpo em queda livre sobre influência da gravidade ($d = \frac{1}{2}gt^2$) onde d é a distância, g é aceleração devido a gravidade e t é o tempo.

3.2.5 Avaliação do estado de hidratação

O estado de hidratação foi determinado por meio de marcadores simples usando as diferenças percentuais ($\Delta \%$) da MC ($\Delta \%$ MC), cor e gravidade específica (GE) urinárias, pré e pós corrida. A MC foi mensurada utilizando uma balança/estadiômetro (Welmy®, Santa Bárbara d'Oeste, São Paulo, Brasil) com precisão de 100 g e 0,5 cm, respectivamente, para determinar o $\Delta \%$ MC e definir os grupos do estudo. As amostras urinárias foram coletadas pelos próprios participantes, em recipientes transparentes e apropriados para determinação do índice de coloração e GE urinárias. O índice de coloração da urina foi determinado pela escala de Armstrong et al. (1994). Essa escala adota oito cores diferentes de urina, variando entre amarelo claro (cor nível 1) e verde acastanhado (cor nível 8), para definição do índice de coloração urinária (ANEXO D). A GE foi mensurada por meio de fitas reagentes para uroanálises (Biocolor/Bioeasy®, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil) e um refratômetro manual (Biobrix®, São Paulo, São Paulo, Brasil), obtendo-se uma média geral a partir dessas duas formas de mensurações.

Os resultados obtidos dos marcadores supracitados também foram utilizados para classificar o estado de hidratação (eu-hidratado, desidratação mínima, significativa ou severa), perante a tabela proposta por Casa et al. (2000) (ANEXO E). Tal classificação foi definida quando pelo menos dois dos três marcadores acusassem o mesmo *status*, assim usado como critério de desempate.

Alguns parâmetros sanguíneos possibilitaram a determinação de outros marcadores de hidratação, tais como: a razão nitrogênio da ureia sanguínea (BUN) e creatinina (ROBINSON; WEBER, 2004); além da estimativa da perda de volume plasmático (Δ % PV) com o conteúdo de HB e HCT (DILL; COSTILL, 1974) e calculado como:

$$\Delta \% PV = \{ (HB_{\text{pré}}/HB_{\text{pós}}) \times [(1 - HCT_{\text{pós}})/(1 - HCT_{\text{pré}})] - 1 \} \times 100.$$

Onde Δ % PV é a estimativa da perda de volume plasmático, HB_{pré} é a hemoglobina pré corrida, HB_{pós} é a hemoglobina pós corrida, HCT_{pós} é o hematócrito pós corrida e HCT_{pré} é o hematócrito pré corrida.

3.2.6 Condições climáticas e avaliação do esforço físico e sensações no calor.

No início e ao final da corrida, foram registrados dados referentes às condições climáticas, por meio de um monitor de estresse ao calor da Instrutemp® (São Paulo, São Paulo, Brasil), para cálculo do índice de bulbo úmido temperatura de globo (IBUTG), por meio da temperatura do ar, temperatura global e a umidade relativa. Além disso, nos momentos pré e pós corrida a temperatura corporal foi registrada por meio de um termômetro timpânico (Incoterm®, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil). Os valores da temperatura timpânica foram usados em um algoritmo para determinar a temperatura retal equivalente (CATHCART et al., 2011). Ainda nos mesmos momentos foram registradas por meio de escalas, as sensações térmicas, de conforto (GAGGE; STOLWIJK; HARDY, 1967) e a percepção subjetiva de esforço (PSE) (BORG, 1982) (ANEXO F).

3.2.7 Análise dos dados

Os dados referentes a bioquímica, hematologia, estado de hidratação e desempenho cognitivo-motor foram expressos como média e erro padrão (EP). Para estes dados, foi aplicado o teste Shapiro-Wilk, objetivando determinar a normalidade da distribuição dos dados. Quando esta apresentou normalidade, foi utilizado um teste *t de Student* pareado para verificação das diferenças entre médias pré e pós corrida dentro de cada grupo, e um teste *t de Student* não pareado para verificação das diferenças entre as médias pré e pós corrida entre os grupos. Nos casos de distribuição anormal, foi utilizado o teste não paramétrico de Wilcoxon

e/ou Mann-Whitney correspondente. Todas as análises foram realizadas utilizando o SigmaStat versão 12.0 para Windows (Systat Software Inc., São José, CA, USA). Em qualquer condição, o nível de significância adotado foi de $P < 0,05$.

3.3 Resultados

Ambos os grupos apresentaram intensidades semelhantes ao final da prova (~ 140 batimentos / min). Além disso, a análise de cetonúria revelou que ambos os grupos não estavam em cetose, sugerindo uma ingestão adequada de carboidratos para todos os participantes antes da corrida. O IBUTG indicou um alto estresse térmico no dia da corrida, nos momentos pré e pós atingiram o valor de ~ 27,5 °C e 30,9 °C, respectivamente. Após o exercício, o equivalente da temperatura retal aumentou significativamente dentro do grupo G3% ($P = 0,037$), mas não no grupo G1%. As sensações térmica e de conforto não apresentaram diferenças significativas entre os grupos, porém, a sensação térmica aumentou significativamente dentro dos grupos G1% ($P = 0,008$) e G3% ($P = 0,006$) (Tabela 1). Não houve diferença entre os grupos G1% ($450,0 \pm 157,3$ mL) e G3% ($450,0 \pm 106,0$) quanto ao consumo de líquidos durante a corrida.

Para avaliar o estado de hidratação, marcadores simples foram analisados. Foi encontrada diferença significativa para a $\Delta\%$ MC ($P < 0,001$) entre os grupos G1% e G3% após a corrida. A coloração e GE urinárias não apresentaram diferenças significativas em relação aos momentos pré e pós-corrida, porém seus valores iniciais demonstraram que os grupos já iniciaram o exercício desidratados. O volume urinário final foi significativamente maior no grupo G1% do que no G3% ($P = 0,030$) (Tabela 2).

Ainda para avaliar o estado de hidratação, marcadores sanguíneos também foram analisados. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos para estes marcadores. Porém, em relação aos momentos pré e pós-corrida foi observado um aumento significativo da HB dentro do grupo G3% ($P = 0,015$). O HCT apresentou um aumento significativo dentro dos grupos G1% e G3% ($P = 0,039$ e $P = 0,005$). A creatinina aumentou significativamente dentro dos grupos G1% ($P < 0,001$) e G3% ($P = 0,027$). Da mesma forma, um aumento significativo ocorreu para o BUN dentro dos grupos G1% ($P = 0,046$) e G3% ($P = 0,011$). A razão BUN/creatinina apresentou uma diminuição significativa dentro do grupo G1% ($P = 0,022$) (Tabela 2).

A glicose sanguínea não apresentou diferença significativa entre os grupos. Em relação aos momentos pré e pós-corrida o lactato aumentou significativamente em ambos os grupos G1% ($P = 0,007$) e G3% ($P = 0,004$), mas não apresentou diferença entre eles. Aqui também, nossa suposição de que a corrida gerou uma intensidade semelhante nos dois grupos

estudados, a qual foi confirmada pela medição da concentração de lactato no sangue. As concentrações de ureia e urato foram mensuradas para distinguir a produção de amônia do catabolismo de aminoácidos e da desaminação da AMP. Não foram encontradas diferenças significativas para estas variáveis entre os grupos, porém apenas a ureia aumentou significativamente dentro dos grupos G1% ($P = 0,046$) e G3% ($P = 0,011$). Da mesma forma, a amônia não apresentou diferença significativa entre os grupos, mas aumentou significativamente dentro dos grupos G1% ($P < 0,001$) e G3% ($P = 0,002$) (Tabela 3).

Para avaliar o dano muscular no exercício no calor, enzimas marcadoras de lesão muscular foram analisadas. Em relação aos momentos pré e pós, aumentaram significativamente dentro de G1% e G3% as enzimas AST ($P = 0,002$ e $P = 0,027$), ALT ($P = 0,040$ e $P = 0,006$), CK ($P = 0,039$ e $P = 0,010$), LDH ($P = 0,002$ e $P = 0,038$). E quando comparado os grupos, houve um aumento significativo de LDH no grupo G3% em relação ao grupo G1% após a corrida ($P = 0,010$). (Tabela 3).

Na avaliação do desempenho cognitivo-motor a memória imediata, o tempo de reação simples e a coordenação motora não apresentaram diferenças significativas entre os grupos. A percepção subjetiva de esforço aumentou significativamente dentro dos grupos G1% ($P < 0,001$) e G3% ($P = 0,001$) (Tabela 4).

Tabela 1. Temperatura corporal, sensações térmica e de conforto nos momentos pré e pós corrida entre os grupos G1% e G3%.

	Pré		Pós	
	G1%	G3%	G1%	G3%
Equivalente de temperatura retal (°C)	37,4 ± 0,08	36,8 ± 0,2	37,6 ± 0,1	37,7 ± 0,1*
Sensação de conforto	1 ± 0	1 ± 0	1,3 ± 0,1	1,8 ± 0,4
Sensação Térmica	1,1 ± 0,1	2,2 ± 0,4	5,8 ± 0,2†	5 ± 0,7*

*Diferença significativa G3% pré vs pós. †Diferença significativa G1% pré vs pós.

Tabela 2. Marcadores de hidratação nos momentos pré e pós corrida entre os grupos G1% e G3%.

	Pré		Pós	
	G1%	G3%	G1%	G3%
$\Delta\%$ MC	-	-	$-0,40 \pm 0,53$	$-3,85 \pm 0,28\ddagger$
GE	$1019,3 \pm 2,7$	$1016,8 \pm 2,4$	$1019,3 \pm 2,3$	$1020,7 \pm 4,4$
Cor da urina	$4,2 \pm 0,6$	$5 \pm 0,7$	$5,1 \pm 0,8$	$6,1 \pm 0,7$
Volume urinário final (ml)	-	-	$121 \pm 41,57$	$30,71 \pm 7,10\ddagger$
HB (g/dl)	$9,59 \pm 0,30$	$8,91 \pm 0,14$	$9,79 \pm 0,34$	$9,37 \pm 0,13^*$
HCT (%)	$0,45 \pm 0,01$	$0,42 \pm 4,37$	$0,57 \pm 0,07\ddagger$	$0,45 \pm 6,03^*$
Volume plasmático	-	-	$-6,66 \pm 2,77$	$-9,90 \pm 2,68$
BUN	$4,22 \pm 0,29$	$3,35 \pm 0,23$	$5,22 \pm 0,48\ddagger$	$5 \pm 0,55^*$
Creatinina (mmol/L)	$85,45 \pm 7,45$	$74,25 \pm 5,99$	$132,60 \pm 11,41\ddagger$	$113,15 \pm 14,08^*$
BUN/creatinina	$12,58 \pm 1,20$	$11,60 \pm 1,50$	$10,01 \pm 1,10\ddagger$	$12,19 \pm 2,77$

$\Delta\%$ MC: Diferença percentual da massa corporal. BUN: Razão nitrogênio da ureia sanguínea. GE: Gravidade específica da urina. HB: Hemoglobina. HCT: Hematócrito. \ddagger Diferença significativa entre G1% pós vs G3% pós. *Diferença significativa G3% pré vs pós. \ddagger Diferença significativa G1% pré vs pós.

Tabela 3. Marcadores bioquímicos nos momentos pré e pós corrida entre os grupos G1% e G3%.

	Pré		Pós	
	G1%	G3%	G1%	G3%
Glicose (mmol/L)	4,12 ± 0,20	4,62 ± 0,24	5,43 ± 0,59	5,05 ± 0,36
Lactato (mmol/L)	1,72 ± 0,33	2,49 ± 0,23	5,30 ± 0,78†	4,39 ± 0,53*
Ureia (mmol/L)	4,17 ± 0,28	3,32 ± 0,22	5,17 ± 0,48†	4,94 ± 0,54*
Urato (µmol/L)	289,96 ± 28,52	286,25 ± 30,67	339,78 ± 25,42	307,80 ± 31,90
Amônia (µmol/L)	46,59 ± 9,94	41,38 ± 6,37	117,92 ± 8,26†	107,66 ± 5,30*
AST (U/L)	21,87 ± 3,87	28 ± 4,15	34,25 ± 4,13†	35 ± 2,85*
ALT (U/L)	10,33 ± 0,61	14,83 ± 2,86	19,28 ± 4,69†	21,25 ± 2,71*
CK (U/L)	177,75 ± 22,31	175,28 ± 30,39	251,62 ± 42,86†	242,12 ± 20,88*
LDH (U/L)	212 ± 60,73	386,28 ± 85,19	271,86 ± 56,82†	619,28 ± 98,87*‡

CK: Creatina quinase. ALT: Alanina aminotransferase. AST: Aspartato aminotransferase. LDH: Lactato desidrogenase. † Diferença significativa G1% pré vs pós. *Diferença significativa G3% pré vs pós. ‡Diferença significativa entre G1% pós vs G3% pós.

Tabela 4. Desempenho cognitivo-motor nos momentos pré e pós corrida entre os grupos G1% e G3.

	Pré		Pós	
	G1%	G3%	G1%	G3%
Memória Imediata (escores)	14 ± 0,6	13,3 ± 0,5	14,5 ± 0,3	13,7 ± 0,5
Teste dedo no nariz (escores)	0,5 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,8 ± 0,1
Tempo de reação simples (m/s)	209,7 ± 8,6	195,7 ± 12,2	188,1 ± 6,3	200,9 ± 6,4
Percepção subjetiva de esforço	6,1 ± 0,1	7,7 ± 0,6	16,3 ± 1,0†	14,4 ± 1,2*

*Diferença significativa G3% pré vs pós. †Diferença significativa G1% pré vs pós.

3.4 Discussão

Este estudo investigou o impacto de diferentes níveis de desidratação na amonemia e desempenho cognitivo-motor de corredores submetidos a exercício físico prolongado no calor. Observou-se que a desidratação com menos de 1% da perda de MC e a desidratação maior que 3% de perda de MC influenciou de maneira similar a amônia, sem prejuízo no desempenho cognitivo-motor.

No presente estudo os corredores realizaram o exercício sob alto estresse térmico, embora a sensação térmica tenha aumentado em ambos os grupos, o equivalente de temperatura retal aumentou apenas dentro do grupo mais desidratado. Apesar de G3% ter apresentado maior desidratação do que G1%, conforme determinado pela maior perda de MC, maior diminuição do volume urinário final e maior aumento da HB, o aumento da temperatura pode não ter sido suficiente para prejudicar o desempenho cognitivo-motor. Neste contexto, postula-se que a duração do exercício no calor é limitada por um aumento da temperatura central de aproximadamente 40 °C (SCHLADER; STANNARD; MÜNDEL, 2011). Cheung et al. (2015) avaliaram os efeitos do exercício em ambiente quente e observaram um aumento significativo da temperatura retal em ciclistas desidratados (-3,2% MC) quando comparados aos hidratados (-0,4% MC). Semelhante aos nossos achados, Berkulo et al. (2016) não encontraram aumentos nas temperaturas gastrointestinal e cutânea de ciclistas que se exercitaram no calor e obtiveram uma perda da MC entre 1 e 2,7%, como também não observaram efeito de desidratação sobre a sensação térmica e sobre o desempenho.

Os marcadores de hidratação BUN e a creatinina aumentaram dentro dos dois grupos, porém a razão BUN/creatinina diminuiu apenas dentro do grupo G1%. Robinson e Weber (2004), relatam que em condições de desidratação a reabsorção da ureia no sistema tubular aumenta e conseqüentemente a razão BUN/creatinina sérica é elevada, ao passo que, o uso de soluções salinas isotônicas diminuiria essa razão.

Ainda durante o exercício no calor a desidratação pode afetar a termorregulação e alterar funções metabólicas no organismo (STACHENFELD, 2014). A desidratação também parece influenciar o aumento da amônia (WILKINSON; SMEETON; WATT, 2010). O estresse causado pelo exercício prolongado no calor aumenta a glicogenólise com conseqüente aumento do catabolismo de aminoácidos e hiperamonemia (FEBBRAIO, 2001; NYBO, 2010). O lactato aumentou em ambos os grupos, Parkin et al. (1999) avaliaram o efeito de diferentes temperaturas ambientais sobre o metabolismo de ciclistas que pedalarão até a exaustão a 70% do pico de captação pulmonar de oxigênio e observaram que na fadiga o

aumento do lactato e do conteúdo de glicogênio muscular foi maior no calor (40 °C) do que no frio (3 °C) e no ambiente termoneutro (20 °C).

Amônia também aumentou em ambos os grupos, demonstrando um estresse metabólico causado pelo exercício no calor (MÜNDEL, 2008). Linnane et al. (2004), avaliaram os efeitos da combinação do exercício de alta intensidade com a hipertermia e observaram que a elevação de 1°C na temperatura corporal aumentou significativamente a amônia sanguínea quando comparados com a condição termoneutra. Talvez, maiores aumentos de amônia não ocorreram porque os corredores deste estudo não atingiram temperaturas retais próximas a 38,1 °C. Marino et al. (2001), avaliaram os efeitos do estresse ao calor sob a produção de amônia, e urato em corredores de longa duração. A amônia foi significativamente aumentada no ambiente quente em comparação com o frio, o urato foi similar em ambas às condições, sugerindo que a acumulação da amônia não se deu pelo ciclo das purinas nucleotídeos. No presente estudo, a predominância da produção de amônia ocorreu a partir da via de catabolismo dos aminoácidos, uma vez que foi observado aumento significativo da ureia dentro dos grupos. Bessa et al. (2008) também observaram um aumento na ureia durante uma prova de ciclismo (800 km). Apesar desses marcadores de estresse ao exercício aumentarem nos grupos não houve interferência significativa dos diferentes níveis de desidratação e / ou hipertermia para estas variáveis.

Embora não tenha sido observado um aumento do urato, o produto final do ciclo das purinas nucleotídeos, os biomarcadores da lesão muscular, AST, ALT, CK e LDH, aumentaram significativamente nos dois grupos. Após a corrida LDH foi maior no grupo G3% do que no grupo G1%. Bessa et al. (2008) observaram um aumento em CK, LDH, AST e ALT durante o exercício de alta intensidade e longa duração. Sureda et al. (2015) encontraram um maior aumento de CK em atletas que se exercitaram na esteira (45 min, 75-80% VO_{2máx}) em um ambiente quente (30-32 °C) do que na condição temperada (10-12 °C). Outros estudos demonstraram que altas temperaturas também são atribuídas a um maior dano muscular (DIMAURO; MERCATELLI; CAPOROSSI, 2016; EDWARDS et al., 2007; ZUO et al., 2015). Zhang e Meng (2011) em um estudo com modelo animal encontraram que altas concentrações de amônia aumentam o dano muscular. Postula-se também, que no processo de catabolismo das purinas nucleotídeos em urato, espécies reativas de oxigênio são produzidas, as quais comprometem a integridade da célula muscular (CHEVION et al., 2003; CLARKSON; HUBAL, 2002; WILKINSON; SMEETON; WATT, 2010).

Tem sido postulado que a desidratação induzida pelo exercício prejudica o desempenho cognitivo-motor (CASA et al., 2000; SECHER; RITZ, 2012). No entanto,

Cheung et al. (2015) corroborando com os nossos achados não observou diferença no desempenho entre os grupos eu-hidratado (-0,4% MC) e desidratado (-3,2% MC). Wittbrodt et al. (2015) também observaram que a desidratação leve (-1,5% MC) quando comparada com a eu-hidratação não influenciou o desempenho cognitivo-motor durante o exercício no calor, no entanto, a média de acurácia no teste de ligar os pontos diminuiu em ambos os grupos. Talvez, os prejuízos no desempenho cognitivo-motor estejam associados à hipertermia causada pelo exercício no calor e não pela desidratação sozinha.

Também é sabido que a hipertemia pode causar fadiga central e prejudicar o desempenho cognitivo-motor, mas esses prejuízos só foram observados com a exposição passiva ao estresse ao calor em ambientes com temperaturas a partir dos 45°C (TAYLOR et al., 2016). É provável que somente com temperatura ambiente a partir de 45 °C e temperatura neural a partir de 40 °C seja possível observar prejuízos no desempenho cognitivo-motor (SCHLADER; STANNARD; MÜNDEL, 2011; TAYLOR et al., 2016). Além disso, durante o exercício prolongado no calor, perturbações cerebrais como a acumulação da amônia também estão envolvidas no processo de fadiga e prejuízo cognitivo-motor (NYBO, 2010; TAYLOR et al., 2016). A nível central, a hiperamonemia causa desequilíbrios na produção do glutamato e do ácido γ -aminobutirato (GABA) (COOPER; JEITNER, 2016), no exercício, a alteração desses neurotransmissores pode influenciar a fadiga (NYBO, 2010; NYBO et al., 2005). Em condições de homeostase cerebral os sistemas glutamatérgicos e gabaérgicos mantêm um processamento neuronal adequado (COOPER; JEITNER, 2016; WILKINSON; SMEETON; WATT, 2010). No presente estudo, os corredores encontravam-se desidratados antes mesmo de iniciar a corrida, em condições de estresse ao calor e hiperamonemia, porém esses fatores não foram suficientes para influenciar o desempenho cognitivo-motor. Talvez a aclimação ao calor dos participantes, pode ter sido um fator determinante para uma maior tolerância neural ao estresse térmico e físico (CHALMERS et al., 2014; COSTA et al., 2012; GUY et al., 2016; NYBO, 2010; SCHLADER et al., 2015).

Wilkinson et al. (2011) avaliaram o efeito da infusão intravenosa de uma solução com 2% de cloreto de amônio em homens saudáveis e observaram que a hiperamonemia aguda aumentou significativamente a sensação de fadiga, porém não prejudicou o desempenho do controle motor, da aprendizagem e memória, tempo de reação e inibição motora. Sunderland e Nevill (2005) encontraram que o exercício intenso intermitente no calor, com controle da hidratação, não elevou o nível de amônia quando comparado com a condição do exercício em temperatura moderada. Entretanto, a habilidade de jogadoras de hockey foi 6% menor no

calor e os sprints foram mais lentos. E nos dois grupos, não houve diferença significativa na capacidade de tomada de decisão.

Ely et al. (2013) avaliaram o efeito do estresse térmico e da desidratação no desempenho cognitivo-motor, porém o tempo de reação não foi prejudicado em indivíduos com ~4% de perda da MC. Taylor et al. (2014), investigaram a influência do estresse ambiental no desempenho cognitivo-motor de jogadores de futebol e o calor não influenciou a tomada de decisão e a vigilância dos participantes. Wall et al. (2015) observaram que a desidratação a cima de 3% de perda da MC não prejudicou o desempenho em 25 km de ciclismo contra-relógio no calor. Bandelow et al. (2010) encontraram que a desidratação leve a moderada durante o exercício em ambiente quente não prejudicou o desempenho cognitivo-motor de jogadores de futebol. Em conclusão, nossos resultados sugerem que o exercício no calor, com desidratação até ~ 4% da $\Delta\%$ MC, exacerba a amonemia de forma similar a níveis menores de desidratação, sem prejuízos no desempenho cognitivo-motor.

4 CONCLUSÃO

. A partir desse trabalho foi possível observar que o grupo mais desidratado apresentou um aumento da temperatura corporal, maiores níveis de LDH e uma maior diminuição do volume urinário final. Em condições de exercício de longa duração e alto estresse térmico, a desidratação menor que 1% da massa corporal e a desidratação maior que 3% da massa corporal influenciaram de maneira semelhante os aumentos nas variáveis HB, HCT, BUN, creatinina, lactato, ureia, amônia e enzimas biomarcadoras de lesão muscular, sem prejudicar o desempenho cognitivo-motor.

REFERÊNCIAS

- ALFADHEL, M. et al. Guidelines for acute management of hyperammonemia in the Middle East region. **Therapeutics and Clinical Risk Management**, v. 12, p. 479–487, 2016.
- ALVES E SILVA CAMERINO, S. R. et al. Efeito de diferentes estados de hidratação sobre o desempenho físico e cognitivo-motor de atletas submetidos a exercício em ambiente de baixo estresse ao calor. **Revista Andaluza de Medicina del Deporte**, 2016.
- ANDO, S. et al. The effects of temporal neck cooling on cognitive function during strenuous exercise in a hot environment : a pilot study. **BMC Research Notes**, p. 1–8, 2015.
- ARMSTRONG, L. et al. Urinary Indices of Hydration Status. **International Journal of Sport Nutrition**, v. 4, p. 265–279, 1994.
- ARMSTRONG, L. E. et al. Thermal and circulatory responses during exercise : effects of hypohydration , dehydration , and water intake. p. 2028–2035, 1997.
- ARMSTRONG, L. E. et al. Drinking to thirst versus drinking ad libitum during road cycling. **Journal of Athletic Training**, v. 49, n. 5, p. 624–631, 2014.
- BANDELOW, S. et al. The effects of exercise, heat, cooling and rehydration strategies on cognitive function in football players. **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**, v. 20, n. Suppl. 3, p. 148–160, 2010.
- BANISTER, E. W.; CAMERON, B. J. C. Exercise-Induced Hyperammonemia: Peripheral and Central Effects. **International Journal of Sports Medicine**, v. 11, p. 129–142, 1990.
- BARROSO, S. S. et al. Estado de hidratação e desempenho cognitivo-motor durante uma prova de fast triathlon no calor. **Revista da Educação Física/UEM**, v. 25, n. 4, p. 639–650, 2014.
- BASSINI, A.; CAMERON, L. C. Sportomics : Building a new concept in metabolic studies and exercise science. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 445, n. 4, p. 708–16, 2014.
- BENTON, D. Dehydration influences mood and Cognition: A Plausible Hypothesis? **Nutrients**, v. 3, n. 5, p. 555–573, 2011.

- BERKULO, M. A. R. et al. Ad-libitum drinking and performance during a 40- km cycling time trial in the heat. **European journal of sport science**, v. 16, n. 2, p. 213–220, 2016.
- BESSA, A et al. High-intensity ultraendurance promotes early release of muscle injury markers. **British journal of sports medicine**, v. 42, n. 11, p. 889–93, nov. 2008.
- BORG, G. A. V. Psychophysical bases of perceived exertion. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 14, n. 5, p. 377–381, 1982.
- BRANCACCIO, P.; LIPPI, G.; MAFFULLI, N. Biochemical markers of muscular damage. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 48, n. 6, p. 757–67, jun. 2010.
- BROTHERHOOD, J. R. Heat stress and strain in exercise and sport. **Journal of Science and Medicine in Sport**, v. 11, n. 1, p. 6–19, 2007.
- CAMERINO, S. et al. Keto analogues and amino acid supplementation and its effects on ammonemia and performance under thermoneutral conditions. **Food and Function**, v. 7, n. 2, p. 872–80, 2016.
- CASA, D. J. et al. National athletic trainers' association position statement: Fluid replacement for athletes. **Journal of Athletic Training**, v. 35, n. 2, p. 212–224, 2000.
- CASA, D. J. et al. Influence of Hydration on Physiological Function and Performance During Trail Running in the Heat. **Journal of Athletic Training**, v. 45, n. 2, p. 147–156, 2010.
- CASA, D. J.; CLARKSON, P. M.; ROBERTS, W. O. American College of Sports Medicine Roundtable on Hydration and Physical Activity : Consensus Statements. **Current Sports Medicine Reports**, v. 5, p. 115–127, 2005.
- CATHCART, A. J. et al. Combined carbohydrate-protein supplementation improves competitive endurance exercise performance in the heat. **European Journal of Applied Physiology**, v. 111, n. 9, p. 2051–2061, 2011.
- CHALMERS, S. et al. Short-term heat acclimation training improves physical performance: A systematic review, and exploration of physiological adaptations and application for team sports. **Sports Medicine**, v. 44, n. 7, p. 971–988, 2014.
- CHEUNG, S. S. et al. Separate and combined effects of dehydration and thirst sensation on

exercise performance in the heat. **Scandinavian journal of medicine & science in sports**, v. 25, n. Suppl.1, p. 104–111, 2015.

CHEUVRONT, S. N.; MONTAIN, S. J.; SAWKA, M. N. Fluid replacement and performance during the marathon. **Sports medicine (Auckland, N.Z.)**, v. 37, n. 4–5, p. 353–357, 2007.

CHEVION, S. et al. Plasma antioxidant status and cell injury after severe physical exercise. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, n. 9, p. 5119–23, 29 abr. 2003.

CLARKSON, P. M.; HUBAL, M. J. Exercise-induced muscle damage in humans. **American journal of physical medicine & rehabilitation / Association of Academic Physiatrists**, v. 81, n. 11 Suppl, p. S52-69, nov. 2002.

COLES, J. A.; MARTIEL, J.; LASKOWSKA, K. A glia – neuron alanine / ammonium shuttle is central to energy metabolism in bee retina. **Journal of Physiology**, v. 8, p. 2077–2091, 2008.

COOPER, A. J. L.; JEITNER, T. M. Central role of glutamate metabolism in the maintenance of nitrogen homeostasis in normal and hyperammonemic brain. **Biomolecules**, v. 6, n. 16, p. 1–33, 2016.

COOPER, K. . A means of assessing maximal oxygen uptake. **Journal of the American Medical Association**, v. 203, n. 3, p. 201–204, 1968.

COSTA, R. J. S. et al. Heat acclimation responses of an ultra-endurance running group preparing for hot desert-based competition. **European Journal of Sport Science**, v. 14, n. S1, p. 1–11, 2012.

COULL, N. A. et al. Effect of tyrosine ingestion on cognitive and physical performance utilising an intermittent soccer performance test (iSPT) in a warm environment. **European Journal of Applied Physiology**, v. 115, p. 373–386, 2015.

DILL, D.; COSTILL, D. Calculation of percentage changes in volumes of blood, plasma, and red cells in dehydration. **Journal of Applied Physiology**, v. 37, n. 2, p. 247–248, 1974.

DIMAURO, I.; MERCATELLI, N.; CAPOROSSO, D. Exercise-induced ROS in heat shock proteins response. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 98, p. 46–55, 2016.

ECKNER, J. T.; KUTCHER, J. S.; RICHARDSON, J. K. Between-seasons test-retest reliability of clinically measured reaction time in national collegiate athletic association division I athletes. **Journal of Athletic Training**, v. 46, n. 4, p. 409–414, 2011.

EDWARDS, J. N. et al. O₂*- production at 37 degrees C plays a critical role in depressing tetanic force of isolated rat and mouse skeletal muscle. **American journal of physiology. Cell physiology**, v. 293, n. 2, p. C650-60, 2007.

ELY, B. R. et al. Hypohydration and acute thermal stress affect mood state but not cognition or dynamic postural balance. **European Journal of Applied Physiology**, v. 113, p. 1027–1034, 2013.

FEBBRAIO, M. A. Alterations in Energy Metabolism During Exercise and Heat Stress. **Sports Medicine**, v. 31, n. 1, p. 47–59, 2001.

FELIPO, V. et al. Neurobiology of ammonia. **Progress in Neurobiology**, v. 67, n. 4, p. 259–279, jul. 2002.

FISBERG, R. M.; SLATER, B.; ARAÚJO, M. L. Métodos de inquéritos alimentares. In: FISBERG, R. M. et al. (Eds.). . **Inquéritos alimentares: métodos e bases científicos**. São Paulo: Manole, 2005. p. 1–31.

GAGGE, A. P.; STOLWIJK, J. A.; HARDY, J. D. Comfort and thermal sensations and associated physiological responses during exercise at various ambient temperatures. **Environmental Research**, v. 2, n. 3, p. 209–229, 1967.

GANIO, M. S. et al. Fluid ingestion attenuates the decline VO₂peak driftk associated with cardiovascular drift. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 38, n. 5, p. 901–909, 2006.

GANIO, M. S. et al. Mild dehydration impairs cognitive performance and mood of men. **British Journal of Nutrition**, v. 106, n. 10, p. 1535–1543, 2011.

GONÇALVES, L. C. et al. A sportomics strategy to analyze the ability of arginine to modulate both ammonia and lymphocyte levels in blood after high-intensity exercise. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 9, n. 30, p. 1–9, 2012.

GONZÁLEZ-ALONSO, J.; CALBET, J. A. L.; NIELSEN, B. Muscle blood flow is reduced

with dehydration during prolonged exercise in humans. **Journal of Physiology**, v. 513, n. 3, p. 895–905, 1998.

GONZÁLEZ-ALONSO, J.; MORA-RODRÍGUEZ, R.; COYLE, E. F. Stroke volume during exercise : interaction of environment and hydration. **America Journal of Physiology Heart and Circulatory Phisiology**, v. 278, n. 7, p. 321–330, 2000.

GUY, J. et al. Acclimation training improves endurance cycling performance in the heat without inducing endotoxemia. **Frontiers in Physiology**, v. 7, n. July, p. 318, 2016.

HAMOUTI, N. et al. Ingestion of sodium plus water improves cardiovascular function and performance during dehydrating cycling in the heat. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 24, p. 507–518, 2014.

HOFFMAN, M. D.; STUEMPFLE, K. J. Hydration Strategies , Weight Change and Performance in a 161 km Ultramarathon. **Research in Sports Medicine: An International Journal**, v. 22, p. 213–225, 2014.

HOFFMAN, M. D.; STUEMPFLE, K. J. Is sodium supplementation necessary to avoid dehydration during prolonged exercise in the heat? **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 30, n. 3, p. 615–620, 2016.

HOFFMAN, M. D.; STUEMPFLE, K. J.; VALENTINO, T. Sodium Intake During an Ultramarathon Does Not Prevent Muscle Cramping , Dehydration , Hyponatremia , or Nausea. **Sports Medicine - Open**, v. 1, n. 39, p. 1–6, 2015.

KEMPTON, M. J. et al. Dehydration affects brain structure and function in healthy adolescents. **Human Brain Mapping**, v. 32, p. 71–79, 2011.

LAFRENZ, A. J. et al. Effect of Ambient Temperature on Cardiovascular Drift and Maximal Oxygen Uptake. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 40, n. 6, p. 1065–1071, 2008.

LAMPORT, D. J. et al. Fruits , vegetables , 100 % juices , and cognitive function. **Nutrition Reviews**, v. 72, n. 12, p. 774–789, 2014.

LIEBERMAN, H. R. et al. Severe Decrements in Cognition Function and Mood Induced by Sleep Loss , Heat , Dehydration , and Undernutrition During Simulated Combat. **Biological**

Psychiatry, v. 57, p. 422–429, 2005.

LINNANE, D. M. et al. Effects of hyperthermia on the metabolic responses to repeated high-intensity exercise. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**, v. 93, p. 159–166, 2004.

LIU, K. et al. The impact of passive hyperthermia on human attention networks : An fMRI study. **Behavioural Brain Research**, v. 243, p. 220–230, 2013.

LLANSOLA, M.; MONTOLIU, C.; CAULI, O. Chronic hyperammonemia , glutamatergic neurotransmission and neurological alterations. **Chronic hyperammonemia, glutamatergic neurotransmission and neurological alterations**, v. 28, p. 151–154, 2013.

MARINO, F. E. et al. Influence of ambient temperature on plasma ammonia and lactate accumulation during prolonged submaximal and self-paced running. **European Journal of Applied Physiology**, v. 86, p. 71–78, 2001.

MARINO, F. E.; KAY, D.; SERWACH, N. Exercise time to fatigue and the critical limiting temperature : effect of hydration. **Journal of Thermal Biology**, v. 29, p. 21–29, 2004.

MAUGHAN, R. J.; WATSON, P.; SHIRREFFS, S. M. Implications of active lifestyles and environmental factors for water needs and consequences of failure to meet those needs. **Nutrition Reviews**, v. 73, n. S2, p. 130–140, 2015.

MCCRORY, P. et al. Consensus Statement on Concussion in Sport-The 4th International Conference on Concussion in Sport Held in Zurich, November 2012. **British journal of sports medicine**, v. 5, n. 4, p. 255–279, 2013.

MCMORRIS, T. et al. Heat stress , plasma concentrations of adrenaline , noradrenaline , 5-hydroxytryptamine and cortisol , mood state and cognitive performance. **International Journal of Psychophysiology**, v. 61, p. 204–215, 2006.

MOHR, M.; RASMUSSEN, Æ. P.; DRUST, Æ. B. Environmental heat stress , hyperammonemia and nucleotide metabolism during intermittent exercise. **European Journal of Applied Physiology**, v. 97, p. 89–95, 2006.

MONFORT, P. et al. Molecular mechanism of acute ammonia toxicity : role of NMDA receptors. **Neurochemistry International**, v. 41, p. 95–102, 2002.

MONFORT, P. et al. Neurochemistry international mechanisms of cognitive alterations in hyperammonemia and hepatic encephalopathy : Therapeutical implications. **Neurochemistry International**, v. 55, p. 106–112, 2009.

MÜNDEL, T. Exercise heat stress and metabolism. **Thermoregulation and Human Performance. Physiological and Biological Aspects. Medicine and Sport Science.**, v. 53, p. 121–129, 2008.

NATESAN, V.; MANI, R.; ARUMUGAM, R. Clinical aspects of urea cycle dysfunction and altered brain energy metabolism on modulation of glutamate receptors and transporters in acute and chronic hyperammonemia. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 81, p. 192–202, 2016.

NOLTE, H. W.; NOAKES, T. D.; NOLTE, K. Ad Libitum vs. restricted fluid replacement on hydration and performance of military tasks. **Aviation Space and Environmental Medicine**, v. 84, n. 2, p. 97–103, 2013.

NYBO, L. et al. Cerebral ammonia uptake and accumulation during prolonged exercise in humans. **The Journal of Physiology**, v. 563, n. 1, p. 285–90, 2005.

NYBO, L. CNS fatigue by prolonged exercise in the heat. **Frontiers in Bioscience**, v. E2, p. 779–792, 2010.

NYBO, L.; NIELSEN, B. Hyperthermia and central fatigue during prolonged exercise in humans. **Journal of Applied Physiology**, v. 91, p. 1055–60, 2001.

NYBO, L.; SECHER, N. H. Cerebral perturbations provoked by prolonged exercise. **Progress in Neurobiology**, v. 72, p. 223–261, 2004.

PARKIN, J. M. et al. Effect of ambient temperature on human skeletal muscle metabolism during fatiguing submaximal exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 86, n. 3, p. 902–8, 1999.

PLACE, N. et al. High temperature does not alter fatigability in intact mouse skeletal muscle fibres. **The Journal of physiology**, v. 587, n. Pt 19, p. 4717–24, 1 out. 2009.

PRADO, E. S. et al. Keto analogue and amino acid supplementation affects the ammoniaemia response during exercise under ketogenic conditions. **British Journal of Nutrition**, v. 105, p.

1729–1733, 2011.

RACINAIS, S. et al. Consensus Recommendations on Training and Competing in the Heat. **Sports Medicine**, v. 45, p. 925–938, 2015.

RAMAKRISHNAN, A.; VIJAYAKUMAR, N.; RENUKA, M. ScienceDirect Naringin regulates glutamate-nitric oxide cGMP pathway in ammonium chloride induced neurotoxicity. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 84, p. 1717–1726, 2016.

RANDALL, C. .; GONZÁLEZ-ALONSO, J. Cardiovascular function in the heat-stressed human. **Acta Physiology**, v. 199, n. 4, p. 407–423, 2012.

RING, M. et al. On Sweat Analysis for Quantitative Estimation of Dehydration during Physical Exercise. **Conference Proceedings: IEEE Engineering in Medicine and Biology Society**, p. 7011–7014, 2015.

ROBINSON, B. E.; WEBER, H. Dehydration despite drinking: Beyond the BUN/Creatinine ratio. **Journal of the American Medical Directors Association**, v. 3, n. 6, p. 68–71, 2004.

SAWKA, M. N. et al. “Exercise and fluid replacement”. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 39, n. 2, p. 1–26, 2007.

SAWKA, M. N.; MONTAIN, S. J. Fluid and electrolyte supplementation for exercise heat stress. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 72, p. 564–572, 2000.

SAWKA, M. N.; MONTAIN, S. J.; LATZKA, W. A. Hydration effects on thermoregulation and performance in the heat. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 128, p. 679–690, 2001.

SCAT3. SCAT3 Sport Concussion Assessment Tool-3rd Edition. **British journal of sports medicine**, p. 259–263, 2013.

SCHLADER, Z. J. et al. Heat acclimation improves heat exercise tolerance and heat dissipation in individuals with extensive skin grafts. **Journal of applied physiology**, v. 119, n. 1, p. 69–76, 2015.

SCHLADER, Z. J.; STANNARD, S. R.; MÜNDEL, T. Exercise and heat stress: performance, fatigue and exhaustion--a hot topic. **British journal of sports medicine**, v. 45, n. 1, p. 3–5,

2011.

SCHNEIDERS, A G. et al. The effect of exercise on motor performance tasks used in the neurological assessment of sports-related concussion. **British Journal of Sports Medicine**, v. 42, n. 12, p. 1011–3, 2008.

SCHOUSBOE, A.; BAK, L. K.; WAAGEPETERSEN, H. S. Astrocytic control of biosynthesis and turnover of the neurotransmitters glutamate and GABA. **Frontier in endocrinology**, v. 4, n. August, p. 1–11, 2013.

SCHULZ, H.; HECK, H. Glycogen depletion as indication for ammonia determination in exercise testing. **European Journal of Sport Science**, v. 3, n. 3, p. 1–9, 2003.

SECHER, M.; RITZ, P. Hydration and cognitive performance. **The Journal of Nutrition Health & Aging**, v. 16, n. 4, p. 3–7, 2012.

SERWAH, N.; MARINO, F. E. The combined effects of hydration and exercise heat stress on choice reaction time. **Journal of Science and Medicine in Sport**, v. 9, p. 157–164, 2006.

SHARMA, H. S. Interaction between amino acid neurotransmitters and opioid receptors in hyperthermia-induced brain pathology. **Progress in Brain Research**, v. 162, p. 295–317, 2007.

SNOW, R. J. et al. Heat stress increases ammonia accumulation during exercise in humans. **Experimental Physiology**, v. 78, p. 847–850, 1993.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA DO ESPORTE. **Modificações dietéticas, reposição hídrica, suplementos alimentares e drogas: suplementos alimentares e drogas : comprovação de ação ergogênica e potenciais riscos para a saúde** *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, 2009.

STACHENFELD, N. S. 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**, v. 44, n. 1, p. 97–104, 2014.

SUÁREZ, I.; BODEGA, G.; FERNÁNDEZ, B. Glutamine synthetase in brain: Effect of ammonia. **Neurochemistry International**, v. 41, n. 2–3, p. 123–142, 2002.

SUNDERLAND, C.; NEVILL, M. E. High-intensity intermittent running and field hockey skill performance in the heat. **Journal of Sports Sciences**, v. 23, n. 5, p. 531–540, 2005.

SUREDA, A. et al. Exercise in a hot environment influences plasma anti-inflammatory and antioxidant status in well-trained athletes. **Journal of Thermal Biology**, v. 47, p. 91–98, 2015.

TAYLOR, L. et al. Exposure to hot and cold environmental conditions does not affect the decision making ability of soccer referees following an intermittent sprint protocol. **Frontiers**, v. 5, p. 1–9, 2014.

TAYLOR, L. et al. The Impact of Different Environmental Conditions on Cognitive Function : A Focused Review. **Frontiers in Physiology**, v. 6, p. 1–12, 2016.

TRANGMAR, S. J. et al. Dehydration accelerates reductions in cerebral blood flow during prolonged exercise in the heat without compromising brain metabolism American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 309, n. 9, p. 1598–1607, 2015.

WAGENMARKERS, A. J. M. BECKERS, E. J. et al. Carbohydrate supplementation glycogen depletion, and amino acid metabolism during exercise. **American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism**, v. 23, 1991.

WALL, B. A et al. Current hydration guidelines are erroneous: dehydration does not impair exercise performance in the heat. **British journal of sports medicine**, v. 49, p. 1077–1083, 2015.

WILKE, K. et al. A short history of sweat gland biology. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 29, n. 3, p. 169–179, 2007.

WILKINSON, D. J. et al. Absence of neuropsychological impairment in hyperammonaemia in healthy young adults; Possible synergism in development of hepatic encephalopathy (HE) symptoms? **Metabolic Brain Disease**, v. 26, n. 3, p. 203–212, 2011.

WILKINSON, D. J.; SMEETON, N. J.; WATT, P. W. Ammonia metabolism, the brain and fatigue; revisiting the link. **Progress in neurobiology**, v. 91, n. 3, p. 1–20, 2010.

WINGO, J. E.; GANIO, M. S.; CURETON, K. J. Cardiovascular Drift During Heat Stress :

Implications for Exercise Prescription. **Exercise and Sports Sciences Reviews**, v. 40, n. 2, p. 88–94, 2012.

WITTBRODT, M. T. et al. Fluid Replacement Attenuates Physiological Strain Resulting From Mild Hypohydration Without Impacting Cognitive Performance. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 25, n. 5, p. 439–447, 2015.

YANG, Q. et al. Effects of macamides on endurance capacity and anti-fatigue property in prolonged swimming mice. **Pharmaceutical Biology**, p. 1–8, 2015.

ZHANG, Q.; MENG, Z. The inotropic effects of ammonia on isolated perfused rat hearts and the mechanisms involved. **The Journal of Experimental Biology**, v. 214, p. 4048–54, 2011.

ZUO, L. et al. Intra- and extracellular measurement of reactive oxygen species produced during heat stress in diaphragm muscle. **American Journal of Physiology. Cell Physiology**, v. 279, n. 4, p. 1058–66, 2000.

ZUO, L. et al. Characterization of reactive oxygen species in diaphragm. **Acta Physiologica**, v. 213, n. 3, p. 700–710, 2015.

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. n° 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 PARTICIPANTES 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 participantes alagoanos de diferentes modalidades esportivas, por meio 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 participantes 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 participantes 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 participantes serão divididos e três grupos: dois experimentais (participantes que receberão uma substância ou sofrerá ação de um procedimento fisiológico) e controle (participantes 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 participantes 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 por meio 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)

APÊNDICE B – INQUÉRITO DIETÉTICO RECORDATÓRIO DE 24 HORAS



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

INQUÉRITO ALIMENTAR - RECORDATÓRIO 24 HORAS

Nome: _____ Avaliadora (Graduada em nutrição): _____

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

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

ANEXOS

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).

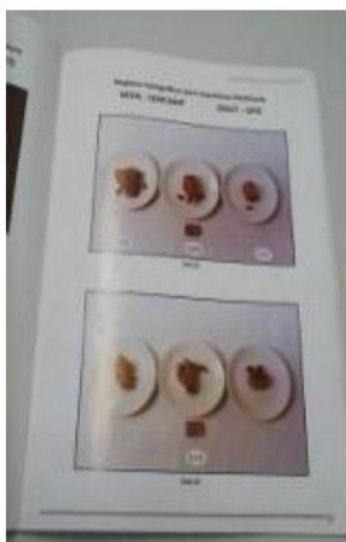
Relatórios parciais e finais devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos no Cronograma do Protocolo e na Resolução CNS 196/96.

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.

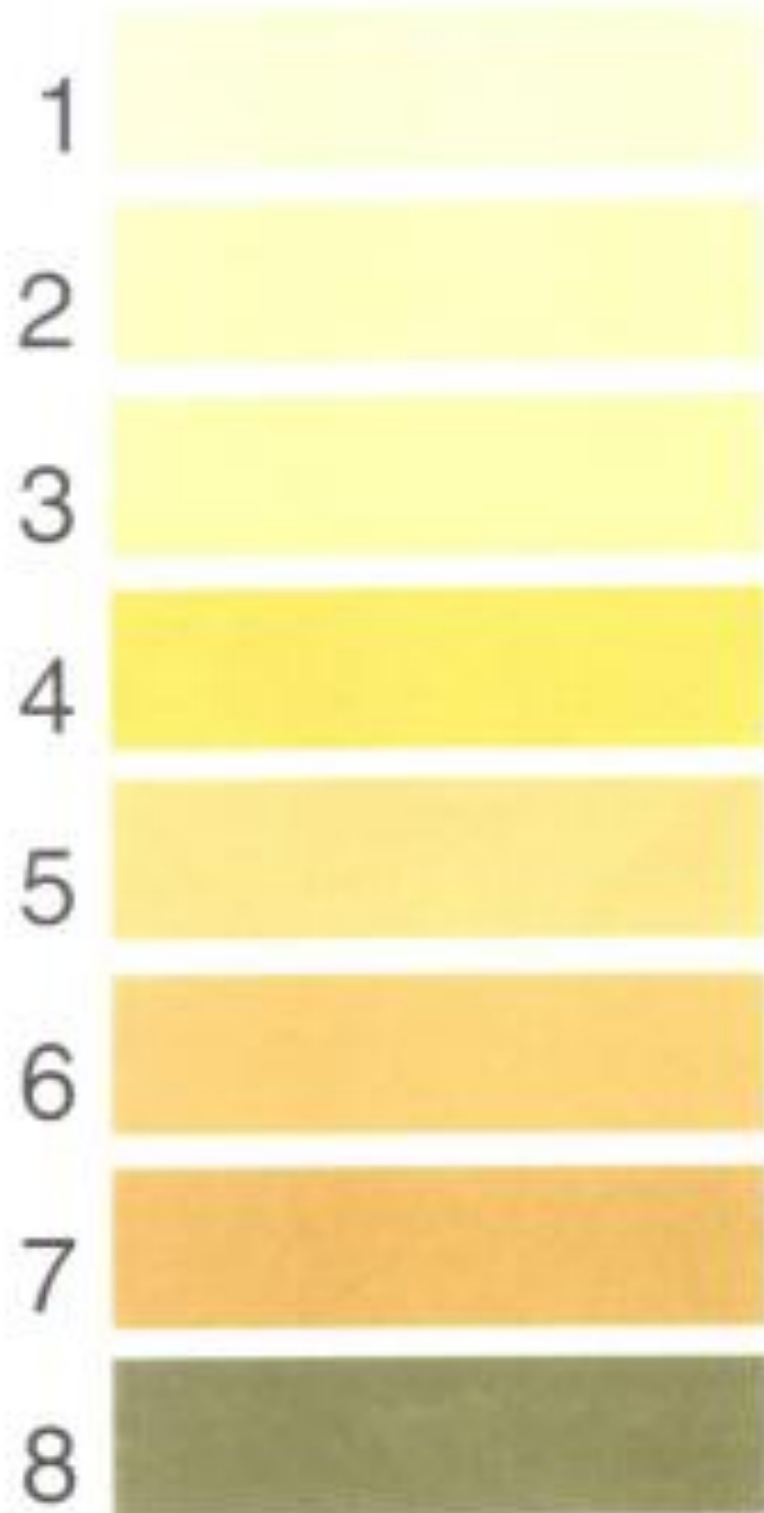
(*) Áreas temáticas especiais

Válido até: Agosto de 2016

ANEXO B – REGISTRO FOTOGRÁFICO DE UTENSÍLIOS

ANEXO C – APARELHO ESPECÍFICO PARA AVALIAR O TEMPO DE REAÇÃO

Fonte: Extraído de Eckner, Kutcher e Richardson (2011).

ANEXO D – ESCALA DE COLORAÇÃO URINÁRIA

Fonte: Extraído de Armstrong et al. (1994).

ANEXO E – TABELA DE CLASSIFICAÇÃO DO ESTADO DE HIDRATAÇÃO

Condição	$\Delta\%$ MC	Cor da urina	GE
Euhidratado	+ 1 a -1	1 ou 2	<1.010
Desidratação mínima	- 1 a -3	3 ou 4	1.010-1.020
Desidratação Significante	- 3 a -5	5 ou 6	1.021-1.030
Desidratação severa	>5	>6	>1.030

$\Delta\%$ MC: Diferença percentual da massa corporal. GE: Gravidade específica.

Fonte: Extraído de Casa et al. (2000).

ANEXO F - ORIGINAL ARTICLE

Different dehydration levels and its impact on blood ammonia and cognitive-motor performance in the heat

Dehydration in blood ammonia and cognitive-motor performance

Natally Monteiro de Oliveira¹

Eduardo Seixas Prado²

¹ Master in nutrition – Federal University of Alagoas. Maceió/AL. Brasil.

² Doctor genetic and biochemistry– Laboratory of reserch in physical exercise and metabolism (LAPEFIM) – Physical Education – Federal University of Alagoas. Maceió/AL. Brasil.

Federal University of Alagoas. Campus A.C. Simões; Av. Lourival Melo Mota, S/N, Tabuleiro do Martins. Post Code: 57.072-970. Maceió/AL. Brasil. Correspondence for natallymonteirodeoliveira@hotmail.com. Financial Support: Alagoas Research Support Foundation – FAPEAL

Edital N° 001/2013; Process PEB 20130603-002-0040-0046.

ABSTRACT

Purpose: Influences of dehydration on ammonemia and cerebral disorders during exercise in the heat are unclear. Therefore the aim of this study is investigate different dehydration levels and its impact on blood ammonia and cognitive-motor performance in the heat.

Methods: sixteen runners performed an half marathon race (21 km) and in the end they were divided in two groups: body mass change percentual ($\Delta\%$ BM) less than 1% (G1%) and $\Delta\%$ BM greater than 3% (G3%). Before and after the race participants underwent blood collections and analyses, assessments of cognitive-motor and hydration status, the environmental thermal stress and changes in body temperature were also evaluated.

Results: The $\Delta\%$ BM was greater in G3% (-3.85 ± 0.28) than G1% (-0.40 ± 0.53) ($P < 0.001$). The equivalent of rectal temperature increased only in G3% ($P = 0.037$). Increased in G1% and G3% ammonia ($P < 0.001$, $P = 0.002$), urea ($P = 0.046$, $P = 0.011$) and lactate ($P = 0.007$, $P = 0.004$). Also increased in G1% and G3% the enzymes aspartate aminotransferase (AST) ($P = 0.002$, $P = 0.027$), alanine aminotransferase (ALT) ($P = 0.040$, $P = 0.006$), creatine kinase (CK) ($P = 0.039$, $P = 0.010$) and lactate dehydrogenase (LDH) ($P = 0.002$, $P = 0.038$). Only LDH was greater in G3% than G1% ($P = 0.010$). The cognitive-motor performance did not present difference between the groups.

Conclusion: The exercise in the heat, with dehydration up to $\sim 4\%$ of $\Delta\%$ BM, exacerbates the ammonemia similarly to lower levels of dehydration, without impairment in cognitive-motor performance.

Keywords: metabolism, psychomotor performance, hot, exercise, brain.

Introduction

During the exercise the high environment temperature affect the homeostasis of the organism (Zuo et al. 2000; Brotherhood 2007). Under these conditions sweat rate rises can lead to dehydration (Casa et al. 2000). In this case there is a decrease in blood volume, a hiperosmolality and associated high core temperature (Casa et al. 2000; González-Alonso et al. 2000). This can lead to a reduction in heat tolerance and exercise exhaustion (Sawka and Montain 2000).

It has been postulated that a dehydration induced by the heat exercise and determined by the body mass (BM) loss between 1% to 2% or greater impairs the physiologic function and exercise performance by the cognitive-motor damage (Casa et al. 2000; Sharma 2007; Casa et al. 2010; Ganio et al. 2011; Taylor et al. 2016).

In contrast, during the thermoneutral environment exercise is possible ammonemia exacerbated increased (Prado et al. 2011; Camerino et al. 2016). In the exercise the ammonia production occurs both amino acids catabolism, and adenosine monophosphate (AMP) deamination (Banister and Cameron 1990; Wilkinson et al. 2010). The first via predominantly occurs in decrease glycogen conditions and long duration exercise, the second, in high intensity exercise (Schulz and Heck 2003). The ammonia accumulation is toxic to the organism and induces central fatigue, thus impairing cognitive-motor performance (Banister and Cameron 1990; Wilkinson et al. 2010). The hyperammonemia appears to alter glutamatergic neurotransmission causing neurological changes and cognitive-motor impairment (Llansola et al. 2013).

Although few studies, it has been suggested that dehydration and / or increase in body temperature (termed hyperthermia) may accentuates ammonemia induced by high-intensity and / or prolonged exercise in the heat (Snow et al. 1993; Febbraio 2001; Nybo and Secher 2004; Nybo 2010; Camerino et al. 2016). To take exercise in high temperatures environmental intensifies glycogenolysis and the nucleotide purine cycle (Febbraio 2001). Thereby increasing the accumulation of blood ammonia in the body (Schulz and Heck 2003).

Furthermore, it is possible that in this process the reactive oxygen species production compromises cell membrane integrity and consequent leakage biomarker damage enzymes in to the blood (Chevion et al. 2003; Brancaccio et al. 2010; Zhang and Meng 2011). However, few investigations assess the magnitude of dehydration and heat stress exercise in warm environments under ammonia production and cognitive-motor performance (Snow et al. 1993; Linnane et al. 2004; Sunderland and Nevill 2005).

The hypothesis of this study is that a higher dehydration level heat exercise-induced will increase ammonemia with consequent impairment in cognitive-motor performance. Thus, the objective of this study is to investigate different dehydration levels on ammonemia and cognitive-motor performance in runners submitted to prolonged exercise in the heat.

Methods

Subjects

After half marathon race (21 km), sixteen male amateur half-marathon runners volunteers, with similar levels of maximal oxygen consumption ($\text{VO}_{2\text{max}}$) previously determined, were divided into two groups: BM loss less than 1% (G1%) (n=8; 38.2 ± 3.7 years; $75.0, \pm 3.7$ kg; 1.76 ± 2.1 m; 46.28 ± 2.30 mL.kg⁻¹.min⁻¹) and BM loss greater than 3% (G3%) (n=8; 43.1 ± 2.8 years; 75.1 ± 2.7 kg; 1.70 ± 2.2 m; 43.30 ± 1.74 mL.kg⁻¹.min⁻¹). They had a mean of at least three years of training and often participated in training and competitions under heat stress. Users of pharmaceutical drugs, nutritional ergogenic aids or with diseases were excluded from the study. The participants were informed previously about the study, and written informed consent was obtained. This study was approved by the Ethics Committee for Human Research at the Federal University of Alagoas and it was conducted in accordance with the declaration of Helsinki.

Experimental procedures

One week before race, participants were submitted to dietary assessment from the 24-hour dietary recall interview and results of this evaluation, the runners received individualized guidelines for adjusting their diets, distributed as follows: 10% of energy consumption in the protein form; 25% fat; and 65% carbohydrate (Sociedade Brasileira de Medicina do Esporte 2009).

All participants were advised to follow the diet for at least two days before the race; maintain a fluid intake of ~ 3 L.d⁻¹, avoiding beverages and / or foods containing caffeine or alcohol; not to practice physical exercises for the same period; as well as informed about the data collection procedures on the half marathon day. To verify if all participants were in the same dietary conditions on the day of the race, urine samples were used for the ketonuria analysis by qualitative reagent strips for urinalysis (Biocolor/Bioeasy®, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil). The absence of ketonuria was considered a negative test for ketosis,

and positive for adequate carbohydrate intake. On the same day, the VO_{2max} values were obtained from the individual records of the participants' training previously determined.

One week later the participants performed the race on a day of competition. During the run, they were asked to maintain their habitual running velocity. Immediately after race, heart rate was recorded in the runners using heart rate monitor (Polar® FT1, Kempele, Finland). The subjects were also asked to maintain their fluid intake *ad libitum* and performed blood collection and analysis, cognitive-motor performance and hydration status assessments before (pre) and post (post) at the race.

Blood collection and analysis: biochemical and hematological

For the biochemical analysis, 5 mL of blood sample was obtained from the right median cubital vein. Of this total, 3 mL of blood were immediately centrifuged (3000g). The serum obtained was stored in eppendorf tubes in refrigeration at 4 °C. To prevent loss, seric ammonia was measured immediately, and the other biochemical analyses were performed within a 24 h period. The biochemical determination of ammonia, urea, urate, glucose, lactate, creatinine, creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) were measured with reagents from Doles® (Goiânia, Goiás, Brazil), Katal® (Santo Amaro, São Paulo, Brazil) and Randox® (Crumlin, County Antrim, UK), using commercial spectrophotometric assays (Biospectro®, Curitiba, Paraná, Brazil).

The other 2 ml of blood were placed in vacuum tubes with anticoagulant EDTA and stored for subsequent hematological analysis, also within a 24 h period. The hematological analysis was determined by the following variables: hemoglobin (HB) and hematocrit (HCT) in absolute values, using a hematological analyzer (Human®, Wiesbaden, Hessen, Germany). All analyzes were performed in duplicates. After the race, another blood sample was obtained through the left median cubital vein.

Cognitive-motor performance

The participants were submitted to tests that evaluated the cognitive-motor performance, through the following measures: immediate memory, motor coordination and simple reaction time, pre and post race.

A five-word list was used to measure immediate memory. The participants were asked to repeat as many words as possible in any order. The list was read (one word per second) to the subject for immediate recall and repeated for three trials in ten second intervals. Was established 1 point for each correct answer and 0 point for each incorrect answer. The total

score was equal to the sum of the points of the three trials (McCrory et al. 2013; SCAT3 2013)

Motor coordination was assessed using the finger-nose test (McCrory et al., 2013). The participants were seated and facing the examiner with their dominant arm laterally extended, forming a 90° angle with the body and with the eyes open. At the command "already" they were asked to touch the tip of their nose with their extended index finger and return to the initial position. Participants were asked to repeat this procedure as quickly and accurately as possible five times. For every five replicates performed correctly at a time = or <4 s was considered 1 point. If the examined failed to touch the nose, did not fully extend the elbow or did not perform the five repetitions, it was considered a 0 point. All measures were timed using a digital timer with an accuracy of 0.001 s.

The simple reaction time was obtained using a simple, manual visuomotor task by the time needed to catch a suspended vertical shaft by hand closure. The participants were seated with their dominant forearm resting on a flat surface, flexed 90° to the arm, and with the hand in a neutral position also forming the same angle perpendicular to the thumb. Standing, the examiner suspended vertically the specific apparatus to evaluate the reaction time, placing the zero mark between the thumb and the participants' gauge. The examiner dropped the apparatus and the examined was asked to pick it up as quickly as possible. All participants were tested for eight trials but only arithmetic mean of last three trials was recorded to exclude a possible learning effect. The fall distance was measured from the superior surface of the weighted disk to the most superior aspect of the athlete's hand and was converted into a reaction time using the formula for a body falling under the influence of gravity ($d = \frac{1}{2}gt^2$), where d (cm) is distance, g is acceleration due to gravity and t is time (in milliseconds – ms) (Eckner et al. 2011).

Hydration status evaluation

The hydration status was determined by simple markers from percentage changes in body mass (Δ % BM), color and specific gravity (USG), pre and post race. The BM was measured using a balance / stadiometer (Welmy®, Santa Bárbara d'Oeste, São Paulo, Brazil) with a precision of 100 g and 0.5 cm, respectively, to determine the Δ % BM and define the study groups. The urine samples were collected by the participants in transparent containers and appropriate for determination of the urinary color and USG index. The urine color was determined from a scale which uses eight different urine colors, ranging from light yellow (color 1) and brownish green (color 8) to the definition of urine color index (Armstrong et al.

1994). The USG was measured by means qualitative reagent strips for urinalysis (Biocolor/Bioeasy®, Belo Horizonte, Minas Gerais) and a manual refractometer (Biobrix®, São Paulo, Brazil). It was obtained a general mean from of these two forms of measurement.

The results obtained from simple markers were also used to classify the state of hydration (euhydrate, minimum, significant or severe dehydration). Such classification was defined when at least two of the three markers accused the same status, thus used as a tiebreaker criterion (Casa et al. 2000).

Some blood parameters allowed the determination of other hydration markers, such as: the ratio of blood urea nitrogen (BUN) and creatinine (Robinson and Weber 2004), plasma volume loss estimate ($\Delta\%$ PV) with the HB and HCT contents (Dill e Costill 1974) and calculated as:

$$\Delta \% PV = \{(HB_{pre}/HB_{post}) \times [(1 - HCT_{post})/(1 - HCT_{pre})] - 1\} \times 100.$$

Where $\Delta\%$ PV plasma volume loss estimate, HB_{pre} is the hemoglobin pre race, HB_{post} is the hemoglobin post race, HCT_{post} is the hematocrit post race and HCT_{pre} is the hematocrit pre race.

Climatic conditions and evaluation of physical effort and sensations in heat

In the pre and post-race moments were recorded data on the climatic conditions. Using a heat stress monitor (Instrutemp®, São Paulo, São Paulo, Brazil), to calculate the wet bulb globe temperature (WBGT) index from the air temperature, global temperature and relative humidity. In addition, in the pre and post-race moments body temperature was recorded using a tympanic thermometer (Incoterm®, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil). The tympanic temperature values were used in an algorithm to determine the equivalent rectal (Cathcart et al. 2011). In the same moments, the thermal and comfort sensations (Gagge et al. 1967) and the subjective perception of effort (SPE) (Borg 1982) were recorded.

Statistical analyses

Data on biochemistry, hematology, hydration status and cognitive-motor performance were expressed as mean and standard error (SE). For these data, the Shapiro-Wilk test was applied aiming to determine the normality of data distribution. When it was normal, a paired and unpaired Student's *t*-test was used to verify the differences between pre and post-race. In the cases of abnormal distribution, the corresponding non-parametric Wilcoxon and / or

Mann-Whitney test was used. Statistical analyses were performed using SigmaStat version 12.0 for Windows (Systat Software Inc., San Jose, CA, USA). In any condition the level of significance was $P < 0.05$.

Results

Both groups showed similar intensity at the end of the race (~ 140 beats/min). Also, ketonuria analysis revealed that both groups were not under ketosis, suggesting adequate carbohydrate intake for all participants before the race. The WBGT indicated a high thermal stress on the race day, in the pre and post moments reached the value of ~ 27.5 °C and 30.9 °C, respectively. After exercise, the equivalent of rectal temperature increased significantly within the G3% group ($P = 0.037$), but not in G1% group. The thermal and comfort sensations were not significantly different between the groups, however, the thermal sensation increased significantly within the G1% ($P = 0.008$) and G3% ($P = 0.006$) groups (Table 1). Regarding fluid intake during the race there was no difference between the G1% (450.0 ± 157.3 mL) and G3% (450.0 ± 106.0) groups.

To assess the hydration status, simple markers were analyzed. A significant difference was found for $\Delta\%$ BW ($P < 0.001$) between G1% and G3% groups after the run. The urine color and USG were not significantly different in relation pre and post-race moments, but their initial values showed that the groups started the exercise dehydrated. The final urinary volume was significantly greater in G1% group than G3% group ($P = 0.030$) (Table 2).

Still to assess the hydration status, blood markers were also analyzed. There was no significant difference between groups for these markers. However, was observed in relation the pre and post-race moments a significant increase in HB within the G3% group ($P = 0.015$). HCT presented a significant increase within the G1% and G3% groups ($P = 0.039$ and $P = 0.005$). Creatinine increased significantly within the G1% ($P < 0.001$) and G3% ($P = 0.027$) groups. Likewise, a significant increase occurred for the BUN within the G1% ($P = 0.046$) and G3% ($P = 0.011$) groups. The BUN / creatinine ratio presented a significant decrease within the G1% group ($P = 0.022$) (Table 2).

Blood glucose was not significantly different between the groups. In relation pre and post-race moments, lactate increased significantly in both groups G1% ($P = 0.007$) and G3% ($P = 0.004$), but there was not any difference between them. Here also, our assumption that this race generated a similar intensity in the two studied groups and was confirmed by measuring the blood lactate concentration. The concentrations of urea and urate were measured to differentiate ammonia production from amino acid catabolism and AMP

deamination. There were not significant differences for these variables between groups. But only urea increased significantly within the G1% ($P = 0.046$) and G3% ($P = 0.011$) groups. Similarly, ammonia presented no significant difference between groups, but increased significantly within the G1% ($P < 0.001$) and G3% ($P = 0.002$) groups (Table 3).

To assess muscle damage in exercise in the heat muscle injury marker enzymes were analyzed. In relation pre and post moments significantly increased in G1% and G3% the enzymes AST ($P = 0.002$ and $P = 0.027$), ALT ($P = 0.040$ and $P = 0.006$), CK ($P = 0.039$ and $P = 0.010$) and LDH ($P = 0.002$ and $P = 0.038$). When comparing the groups after the run, LDH in G3% group was significantly greater than G1% group ($P = 0.010$) (Table 3).

In the cognitive-motor performance evaluation, immediate memory, simple reaction time and motor coordination did not present significant differences between the groups. The subjective perception of effort increased significantly within G1% ($P < 0.001$) and G3% ($P = 0.001$) groups (Table 4).

Table 1. Body temperature, comfort and thermal sensations in the pre and post moments in a race in heat between G1% and G3% groups.

	Pre		Post	
	G1%	G3%	G1%	G3%
Equivalent rectal temperature (°C)	37.4 ± 0.08	36.8 ± 0.2	37.6 ± 0.1	37.7 ± 0.1*
Comfort sensation	1 ± 0	1 ± 0	1.3 ± 0.1	1.8 ± 0.4
Thermal sensation	1.1 ± 0.1	2.2 ± 0.4	5.8 ± 0.2†	5 ± 0.7*

*Significant difference pre vs post G3%. † Significant difference pre vs post G1%.

Table 2. Hydration markers in the pre and post moments in a race in heat between G1% and G3% groups.

	Pre		Post	
	G1%	G3%	G1%	G3%
$\Delta\%$ BM	-	-	-0.40 ± 0.53	$-3.85 \pm 0.28\ddagger$
USG	1019.3 ± 2.7	1016.8 ± 2.4	1019.3 ± 2.3	1020.7 ± 4.4
Urine color	4.2 ± 0.6	5 ± 0.7	5.1 ± 0.8	6.1 ± 0.7
Final urine volume (ml)	-	-	121 ± 41.57	$30.71 \pm 7.10\ddagger$
HB (g/dl)	9.59 ± 0.30	8.91 ± 0.14	9.79 ± 0.34	$9.37 \pm 0.13^*$
HCT (%)	0.45 ± 0.01	0.42 ± 4.37	$0.57 \pm 0.07\ddagger$	$0.45 \pm 6.03^*$
Plasma volume	-	-	-6.66 ± 2.77	-9.90 ± 2.68
BUN	4.22 ± 0.29	3.35 ± 0.23	$5.22 \pm 0.48\ddagger$	$5 \pm 0.55^*$
Creatinine (mmol/L)	85.45 ± 7.45	74.25 ± 5.99	$132.60 \pm 11.41\ddagger$	$113.15 \pm 14.08^*$
BUN/creatinine	12.58 ± 1.20	11.60 ± 1.50	$10.01 \pm 1.10\ddagger$	12.19 ± 2.77

$\Delta\%$ BM: Body Mass Change Percentual. BUN: Ratio of blood urea nitrogen. HB: Hemoglobin. . HCT: Hematocrit. USG: Urine Specific Gravity \ddagger Significant difference between post G1% vs post G3%. *Significant difference pre vs post G3%. \ddagger Significant difference pre vs post G1%.

Table 3. Biochemical markers in the pre and post moments in a race in heat between G1% and G3% groups.

	Pre		Post	
	G1%	G3%	G1%	G3%
Glucose (mmol/L)	4.12 ± 0.20	4.62 ± 0.24	5.43 ± 0.59	5.05 ± 0.36
Lactate (mmol/L)	1.72 ± 0.33	2.49 ± 0.23	5.30 ± 0.78†	4.39 ± 0.53*
Urea (mmol/L)	4.17 ± 0.28	3.32 ± 0.22	5.17 ± 0.48†	4.94 ± 0.54*
Urato (µmol/L)	289.96 ± 28.52	286.25 ± 30.67	339.78 ± 25.42	307.80 ± 31.90
Ammonia (µmol/L)	46.59 ± 9.94	41.38 ± 6.37	117.92 ± 8.26†	107.66 ± 5.30*
AST (U/L)	21.87 ± 3.87	28 ± 4.15	34.25 ± 4.13†	35 ± 2.85*
ALT (U/L)	10.33 ± 0.61	14.83 ± 2.86	19.28 ± 4.69†	21.25 ± 2.71*
CK (U/L)	177.75 ± 22.31	175.28 ± 30.39	251.62 ± 42.86†	242.12 ± 20.88*
LDH (U/L)	212 ± 60.73	386.28 ± 85.19	271.86 ± 56.82†	619.28 ± 98.87*‡

ALT: Alanine Aminotransferase. AST: Aspartate Aminotransferase. CK: Creatine Kinase. LDH: Lactate Dehydrogenase. † Significant difference pre vs post G1%. *Significant difference pre vs post G3%. ‡ Significant difference between post G1% vs post G3%.

Table 4. Cognitive-motor performance in the pre and post moments in a race in heat between G1% and G3% groups.

	Pre		Post	
	G1%	G3%	G1%	G3%
Immediate memory (scores)	14 ± 0.6	13.3 ± 0.5	14.5 ± 0.3	13.7 ± 0.5
Test finger-nose (scores)	0.5 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.6 ± 0.1	0.8 ± 0.1
Simple reaction time (m/s)	209.7 ± 8.6	195.7 ± 12.2	188.1 ± 6.3	200.9 ± 6.4
Subjective perceived exertion	6.1 ± 0.1	7.7 ± 0.6	16.3 ± 1.0†	14.4 ± 1.2*

*Significant difference pre vs post G3%. † Significant difference pre vs post G1%.

Discussion

This study investigated the impact of different dehydration levels on ammonemia and cognitive-motor performance of runners submitted to prolonged physical exercise in the heat. It was observed that dehydration less than 1% loss of BM and dehydration greater than 3% loss of BM similarly influenced ammonia without impairment in cognitive-motor performance.

In the present study the runners performed the exercise under high thermal stress, although thermal sensation increased in both groups, the equivalent of rectal temperature increased only within the most dehydrated group. The G3% presented greater dehydration than G1%, as determined by greater loss of BM, greater decrease in final urinary volume and higher increase in HB, but the increase in temperature may not have been sufficient to impair cognitive-motor performance. In this context, it is postulated that the duration of the exercise in the heat is limited to an increase in the central temperature of approximately 40 °C (Schlader et al. 2011). Cheung et al. (2015) evaluated the effects of exercise in hot environment. They observed a significant increase in rectal temperature in dehydrated cyclists (-3.2% BM) when compared to hydrated (-0.4% BM). Similar to our findings, Berkulo et al. (2016) did not find increases in the gastrointestinal and skin temperatures of cyclists who exercised in the heat and obtained a BM loss between 1 and 2.7% as also observed no effect of dehydration on the thermal sensation and performance.

The hydration markers BUN and creatinine increased within both groups, but the BUN/creatinine ratio decreased only within the G1% group. Robinson and Weber (2004), report that under dehydration conditions urea reabsorption in the tubular system increases and therefore the BUN/creatinine ratio in the blood is enhanced, whereas the use of isotonic saline solutions would decrease this ratio.

Still during exercise in the heat dehydration can affect thermoregulation and alter metabolic functions in the body (Stachenfeld 2014). Dehydration also appears to influence the increase in ammonemia (Wilkinson et al. 2010). Stress caused by prolonged heat exercise enhances glycogenolysis with consequent increase in amino acid catabolism and hiperammonemia (Febbraio 2001; Nybo 2010). The lactate increased in both groups, Parkin et al. (1999) evaluated the effect of different environmental temperatures on metabolism of cyclists who pedaled to exhaustion at

70% of peak pulmonary oxygen uptake and observed that in fatigue the increased lactate and muscle glycogen content was higher in the heat (40 °C) than in the cold (3 °C) and thermoneutral environment (20 °C).

Ammonia also increased within both groups, demonstrating a metabolic stress caused by exercise in the heat (Mündel 2008). Linnane et al. (2004) evaluated the effects of the combination of high-intensity exercise and hyperthermia and observed that the elevation of 1°C in rectal temperature significantly increased blood ammonia in the heat (38.1 °C) when compared to the thermoneutral condition (37.1 °C). Perhaps larger ammonia increases did not occur because the runners of this study did not reach rectal temperatures near 38.1 °C. Marino et al. (2001) assessed the effects of heat stress on ammonia, and urate production in long duration runners. Ammonia was significantly increased in the hot environment compared to cold but urate was similar in both conditions. Suggesting that the accumulation of ammonia did not occur through the nucleotide purine cycle. In the present study, the predominance of ammonia production occurred from the pathway of amino acid catabolism, since significant increase of urea within the groups was observed. Bessa et al. (2008) also observed an increase in urea during a cycling race (800 km). Despite these exercise stress markers increased in the groups there was no significant interference of the different dehydration levels and/or hyperthermia for these variables.

Although an increase in urate has not been observed, the end product of the nucleotide purine cycle, the biomarkers of muscle injury, AST, ALT, CK and LDH, increased significantly within the two groups. After the race LDH it was greater in G3% than G1%. Bessa et al. (2008) observed an increase in CK, LDH, AST and ALT during high intensity and long duration exercise. Sureda et al. (2015) found a greater increase of CK in athletes who exercised on the treadmill (45 min, 75-80% VO_{2max}) in a warm environment (30-32 °C) than in the temperate condition (10-12 °C). Other studies have shown that high temperatures are also attributed to increased muscle damage (Edwards et al. 2007; Zuo et al. 2015; Dimauro et al. 2016). Zhang e Meng (2011) in an animal model study found that high concentrations of ammonia increase muscle damage. It is also postulated, that in the process of catabolism of nucleotide purines in urate, reactive oxygen species are produced, which compromise the integrity of the muscle cell (Clarkson and Hubal 2002; Chevion et al. 2003; Wilkinson et al. 2010).

It has been postulated that exercise-induced dehydration impairs cognitive-motor performance (Casa et al. 2000; Secher and Ritz 2012). However, Cheung et al. (2015) corroborating with our findings did not observe a difference in the performance between euhydrated (-0.4% BM) and dehydrated (-3.2% BM) groups. Wittbrodt et al. (2015) also observed that mild dehydration (-1.5% BM) compared to euhydration groups (-0.3% BM and -0.1% BM) had no influence on cognitive motor performance during exercise in the heat, however the mean accuracy decreased in trail making in both groups. Perhaps impairments in cognitive-motor performance are associated with hyperthermia caused by exercise in the heat rather than by dehydration alone.

It is also known that hyperthermia can cause central fatigue and impair cognitive-motor performance but these impairments were only observed with passive heat stress in environments with temperatures from 45 °C (Taylor et al. 2016). Moreover, during prolonged exercise in the heat, brain disorders such as ammonia accumulation are also involved in fatigue and cognitive-motor impairment process (Nybo 2010). At the central level, hyperammonemia causes imbalances in the production of glutamate and γ -aminobutyrate (GABA) (Cooper and Jeitner 2016), during exercise, alteration of these neurotransmitters may influence fatigue (Nybo et al. 2005; Nybo 2010). In conditions of cerebral homeostasis, the glutamatergic and gabaergic systems maintain adequate neural processing (Wilkinson et al. 2010; Cooper and Jeitner 2016). In the present study, the runners were dehydrated before starting the race, under conditions of heat stress and hyperammonemia, but these factors were not enough to influence cognitive-motor performance. Maybe the participants heat acclimatization may have been a determining factor for greater neural tolerance to thermal and physical stress (Nybo 2010; Costa et al. 2012; Chalmers et al. 2014; Schlader et al. 2015; Guy et al. 2016). It is probable that only with ambient temperature from 45 °C and neural temperature from 40 °C it is possible to observe impairments in the cognitive-motor performance (Schlader et al. 2011; Taylor et al. 2016).

Wilkinson et al. (2011), evaluated the effect of intravenous infusion of a 2% solution of ammonium chloride in healthy men and found that acute hyperammonemia significantly increased fatigue, but did not impair the performance of motor control, learning and memory, reaction time and motor inhibition. Sunderland and Nevill (2005) found that intense intermittent heat exercise, with hydration control, did not raise the ammonia level when compared to the exercise condition at moderate temperature.

However, the skill of hockey players was 6% lower in heat and sprints were slower. And in both groups there was no significant difference in decision-making capacity.

Ely et al. (2013) evaluated the effect of thermal stress and dehydration on cognitive-motor performance, but the reaction time was not impaired in subjects with ~ 4% BM loss. Taylor et al. (2014) investigated the influence of environmental stress on the cognitive-motor performance of soccer players and the heat did not influence the decision-making and the vigilance of the participants. Wall et al. (2015) found that dehydration higher than 3% of BM loss did not impair the performance in 25 km of cycling time-trial in the heat. Bandelow et al. (2010) found that mild to moderate dehydration during exercise in hot environments did not impair the cognitive-motor performance of soccer players. In conclusion, our results suggest that heat exercise, with dehydration until ~ 4% of BM loss, exacerbates ammonia similarly to lower dehydration levels, without impairment in cognitive-motor performance.

References

- Armstrong L, Maresh CM, Castellani JW, et al (1994) Urinary Indices of Hydration Status. *Int J Sport Nutr* 4:265–279.
- Bandelow S, Maughan R, Shirreffs S, et al (2010) The effects of exercise, heat, cooling and rehydration strategies on cognitive function in football players. *Scand J Med Sci Sport* 20:148–160. doi: 10.1111/j.1600-0838.2010.01220.x
- Banister EW, Cameron B j. C (1990) Exercise-Induced Hyperammonemia: Peripheral and Central Effects. *Int J Sports Med* 11:129–142.
- Berkulo MAR, Bol S, Levels K, et al (2016) Ad-libitum drinking and performance during a 40- km cycling time trial in the heat. *Eur J Sport Sci* 16:213–220. doi: 10.1080/17461391.2015.1009495
- Bessa a, Nissenbaum M, Monteiro a, et al (2008) High-intensity ultraendurance promotes early release of muscle injury markers. *Br J Sports Med* 42:889–93. doi: 10.1136/bjism.2007.043786
- Borg GAV (1982) Psychophysical bases of perceived exertion. *Med Sci Sports Exerc* 14:377–381.
- Brancaccio P, Lippi G, Maffulli N (2010) Biochemical markers of muscular damage. *Clin Chem Lab Med* 48:757–67. doi: 10.1515/CCLM.2010.179
- Brotherhood JR (2007) Heat stress and strain in exercise and sport. *J Sci Med Sport*

11:6–19. doi: 10.1016/j.jsams.2007.08.017

- Camerino S, Lima R, França T, et al (2016) Keto analogues and amino acid supplementation and its effects on ammonemia and performance under thermoneutral conditions. *Food Funct* 7:872–80.
- 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
- Casa DJ, Stearns RL, Lopez RM, et al (2010) Influence of Hydration on Physiological Function and Performance During Trail Running in the Heat. *J Athletic Train* 45:147–156.
- 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
- Chalmers S, Esterman A, Eston R, et al (2014) Short-term heat acclimation training improves physical performance: A systematic review, and exploration of physiological adaptations and application for team sports. *Sport Med* 44:971–988. doi: 10.1007/s40279-014-0178-6
- Cheung SS, MCGarr GW, Mallette MM, et al (2015) Separate and combined effects of dehydration and thirst sensation on exercise performance in the heat. *Scand J Med Sci Sports* 25:104–111. doi: 10.1111/sms.12343
- 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, Hubal MJ (2002) Exercise-induced muscle damage in humans. *Am J Phys Med Rehabil* 81:S52–69. doi: 10.1097/01.PHM.0000029772.45258.43
- Cooper AJL, Jeitner TM (2016) Central role of glutamate metabolism in the maintenance of nitrogen homeostasis in normal and hyperammonemic brain. *Biomolecules* 6:1–33. doi: 10.3390/biom6020016
- Costa RJS, Crockford MJ, Moore JP, Walsh NP (2012) Heat acclimation responses of an ultra-endurance running group preparing for hot desert-based competition. *Eur J Sport Sci* 14:1–11. doi: 10.1080/17461391.2012.660506
- Dill D, 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
- Dimauro I, Mercatelli N, Caporossi D (2016) Exercise-induced ROS in heat shock proteins response. *Free Radic Biol Med* 98:46–55. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.03.028
- Eckner JT, Kutcher JS, Richardson JK (2011) Between-seasons test-retest reliability of clinically measured reaction time in national collegiate athletic association division I athletes. *J Athletic Train* 46:409–414.

- Edwards JN, Macdonald WA, van der Poel C, Stephenson DG (2007) O₂*- production at 37 degrees C plays a critical role in depressing tetanic force of isolated rat and mouse skeletal muscle. *Am J Physiol Cell Physiol* 293:C650-60. doi: 10.1152/ajpcell.00037.2007
- Ely BR, Sollanek KJ, Chevront SN, et al (2013) Hypohydration and acute thermal stress affect mood state but not cognition or dynamic postural balance. *Eur J Appl Physiol* 113:1027–1034. doi: 10.1007/s00421-012-2506-6
- Febbraio MA (2001) Alterations in Energy Metabolism During Exercise and Heat Stress. *Sport Med* 31:47–59.
- Gagge AP, Stolwijk JA, Hardy JD (1967) Comfort and thermal sensations and associated physiological responses during exercise at various ambient temperatures. *Environ Res* 2:209–229. doi: 10.1016/0013-9351(69)90037-1
- 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
- González-Alonso J, Mora-Rodríguez R, Coyle EF (2000) Stroke volume during exercise : interaction of environment and hydration. *Am J Physiol Hear Circ Physiology* 278:321–330.
- Guy J, Pyne DB, Deakin G, et al (2016) Acclimation training improves endurance cycling performance in the heat without inducing endotoxemia. *Front Physiol* 7:318. doi: 10.3389/FPHYS.2016.00318
- 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 Occup Physiol* 93:159–166. doi: 10.1007/s00421-004-1191-5
- Llansola M, Montoliu C, Cauli O (2013) Chronic hyperammonemia , glutamatergic neurotransmission and neurological alterations. *Chronic hyperammonemia, glutamatergic neurotransmission Neurol alterations* 28:151–154. doi: 10.1007/s11011-012-9337-3
- Marino FE, Mbambo Z, Kortekaas E, et al (2001) Influence of ambient temperature on plasma ammonia and lactate accumulation during prolonged submaximal and self-paced running. *Eur J Appl Physiol* 86:71–78. doi: 10.1007/s00421-006-0152-6
- McCrorry P, Meeuwisse WH, Aubry M, et al (2013) Consensus Statement on Concussion in Sport-The 4th International Conference on Concussion in Sport Held in Zurich, November 2012. *Br J Sports Med* 5:255–279. doi: 10.1016/j.pmrj.2013.02.012
- Mündel T (2008) Exercise heat stress and metabolism. *Thermoregul Hum Performance Physiol Biol Asp Sport Sci* 53:121–129.
- Nybo L (2010) CNS fatigue by prolonged exercise in the heat. *Front Biosci* E2:779–792.

- Nybo L, Dalsgaard MK, Steensberg A, et al (2005) Cerebral ammonia uptake and accumulation during prolonged exercise in humans. *J Physiol* 563:285–90. doi: 10.1113/jphysiol.2004.075838
- Nybo L, Secher NH (2004) Cerebral perturbations provoked by prolonged exercise. *Prog Neurobiol* 72:223–261. doi: 10.1016/j.pneurobio.2004.03.005
- Parkin JM, Carey MF, Zhao S, Febbraio M a (1999) Effect of ambient temperature on human skeletal muscle metabolism during fatiguing submaximal exercise. *J Appl Physiol* 86:902–8.
- Prado ES, Neto Rezende JM, 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
- Robinson BE, Weber H (2004) Dehydration despite drinking: Beyond the BUN/Creatinine ratio. *J Am Med Dir Assoc* 3:68–71. doi: 10.1016/S1525-8610(04)70532-0
- Sawka MN, Montain SJ (2000) Fluid and electrolyte supplementation for exercise heat stress. *Am J Clin Nutr* 72:564–572.
- SCAT3 (2013) SCAT3 Sport Concussion Assessment Tool-3rd Edition. *Br J Sports Med* 259–263.
- Schlader ZJ, Ganio MS, Pearson J, et al (2015) Heat acclimation improves heat exercise tolerance and heat dissipation in individuals with extensive skin grafts. *J Appl Physiol* 119:69–76. doi: 10.1152/jappphysiol.00176.2015
- Schlader ZJ, Stannard SR, Mündel T (2011) Exercise and heat stress: performance, fatigue and exhaustion--a hot topic. *Br J Sports Med* 45:3–5. doi: 10.1136/bjism.2009.063024
- Schulz H, Heck H (2003) Glycogen depletion as indication for ammonia determination in exercise testing. *Eur J Sport Sci* 3:1–9.
- Secher M, Ritz P (2012) Hydration and cognitive performance. *J Nutr Heal Aging* 16:3–7.
- 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, Febbraio MA, Carey MF, et al (1993) Heat stress increases ammonia accumulation during exercise in humans. *Exp Physiol* 78:847–850.
- Sociedade Brasileira de Medicina do Esporte (2009) Modificações dietéticas, reposição hídrica, suplementos alimentares e drogas: suplementos alimentares e drogas : comprovação de ação ergogênica e potenciais riscos para a saúde.
- Stachenfeld NS (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. *Sport Med* 44:97–104. doi: 10.1007/s40279-014-0155-0
- Sunderland C, Nevill ME (2005) High-intensity intermittent running and field hockey skill performance in the heat. *J Sports Sci* 23:531–540. doi: 10.1080/02640410410001730197
- Sureda A, Mestre-Alfaro A, Banquells M, et al (2015) Exercise in a hot environment influences plasma anti-inflammatory and antioxidant status in well-trained athletes. *J Therm Biol* 47:91–98. doi: 10.1016/j.jtherbio.2014.11.011
- Taylor L, Fitch N, Castle P, et al (2014) Exposure to hot and cold environmental conditions does not affect the decision making ability of soccer referees following an intermittent sprint protocol. *Frontiers (Boulder)* 5:1–9. doi: 10.3389/fphys.2014.00185
- Taylor L, Watkins SL, Marshall H, et al (2016) The Impact of Different Environmental Conditions on Cognitive Function : A Focused Review. *Front Physiol* 6:1–12. doi: 10.3389/fphys.2015.00372
- Wall B a, Watson G, Peiffer JJ, et al (2015) Current hydration guidelines are erroneous: dehydration does not impair exercise performance in the heat. *Br J Sports Med* 49:1077–1083. doi: 10.1136/bjsports-2013-092417
- Wilkinson DJ, Smeeton NJ, Castle PC, Watt PW (2011) Absence of neuropsychological impairment in hyperammonaemia in healthy young adults; Possible synergism in development of hepatic encephalopathy (HE) symptoms? *Metab Brain Dis* 26:203–212. doi: 10.1007/s11011-011-9251-0
- Wilkinson DJ, Smeeton NJ, Watt PW (2010) Ammonia metabolism, the brain and fatigue; revisiting the link. *Prog Neurobiol* 91:1–20. doi: 10.1016/j.pneurobio.2010.01.012
- Wittbrodt MT, Millard-Stafford M, Sherman RA, Cheatham CC (2015) Fluid Replacement Attenuates Physiological Strain Resulting From Mild Hypohydration Without Impacting Cognitive Performance. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 25:439–447. doi: 10.1123/ijsnem.2014-0173
- Zhang Q, Meng Z (2011) The inotropic effects of ammonia on isolated perfused rat hearts and the mechanisms involved. *J Exp Biol* 214:4048–54. doi: 10.1242/jeb.055947
- Zuo L, Best TM, Roberts WJ, et al (2015) Characterization of reactive oxygen species in diaphragm. *Acta Physiol* 213:700–710. doi: 10.1111/apha.12410
- Zuo L, Christofi FL, Wright VP, et al (2000) Intra- and extracellular measurement of reactive oxygen species produced during heat stress in diaphragm muscle. *Am J Physiol Cell Physiol* 279:1058–66.