INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

Autarquia Associada à Universidade de São Paulo

**CONCENTRAÇÕES DE ÍONS E METAIS EM SANGUE DE ATLETAS
AMADORES E DE ELITE USANDO ANÁLISE POR ATIVAÇÃO NEUTRÔNICA**

LUCIANA KOVACS DOS SANTOS

Tese apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau
de Doutor em Ciências na Área de
Tecnologia Nuclear – Aplicações.

Orientadora:
Profa. Dra. Cibeles Bugno Zamboni

São Paulo
2012

Dedico este trabalho a minha família
Jolemar, Teresa, Douglas, Alessandra e Priscila.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo olhar atento e cuidadoso em todos os momentos.

À minha orientadora Dra. Cibele Bugno Zamboni pela oportunidade, apoio, incentivo e pelas suas orientações tão valiosas sem as quais seria difícil a realização deste trabalho.

À equipe do LABEX (UNICAMP), em especial a Dra. Denise Vaz de Macedo, coordenadora do LABEX, ao Dr. Lázaro Alessandro Soares Nunes e ao Msc. Thiago Fernando Lourenço pela participação em todas as etapas do trabalho, que tornaram possível uma interação bastante produtiva e inovadora entre áreas distintas de atuação.

À Dra. Maria Regina Andrade de Azevedo (UNIFIEO e UNISA) e ao estafe do Banco de Sangue Paulista pelo auxílio na coleta de amostras.

Ao Dr. Tufic Madi Filho que disponibilizou o Laboratório de Experimentação Nuclear do Centro de Engenharia Nuclear do IPEN/CNEN-SP, no início deste trabalho.

Ao corpo técnico do reator IEA-R1 e a Proteção Radiológica pelo auxílio e atendimento as irradiações realizadas.

Às instituições envolvidas, IPEN/CNEN-SP, UNICAMP e USP/SP pela possibilidade de realizar este trabalho.

Aos amigos Sabrina, Laura, Ilca e Agostinho pela amizade, incentivo e auxílio no desenvolvimento deste trabalho.

Aos colegas Cláudio, Fábio, Frederico e Guilherme pelo apoio e amizade.

Aos meus pais e irmãos pelo carinho, compreensão e apoio em todos os momentos.

E a todos que a minha memória não conseguiu incluir nesta lista, mas que merecem um agradecimento especial.

Obrigada a todos vocês.

“Se não existe esforço, não existe progresso.”

Frederick Douglass

CONCENTRAÇÕES DE ÍONS E METAIS EM SANGUE DE ATLETAS AMADORES E DE ELITE USANDO ANÁLISE POR ATIVAÇÃO NEUTRÔNICA

Luciana Kovacs dos Santos

RESUMO

Neste estudo a concentração de Br, Ca, Cl, Fe, I, K, Mg, Na, S e Zn foi investigada em sangue de atletas brasileiros (corredores de longa distância), utilizando a técnica de Análise por Ativação Neutrônica (AAN). As amostras de sangue foram coletadas de atletas amadores (AA) do gênero masculino e de atletas de elite (AE) de ambos os gêneros, na faixa etária de 18 a 36 anos. As amostras de sangue foram coletadas no LABEX/UNICAMP e irradiadas no reator nuclear IEA-R1 do IPEN (São Paulo, Brasil). Os intervalos estabelecidos na condição de repouso para os grupos de atletas investigados (AA e AE) foram comparados com o grupo controle (GC), indivíduos do mesmo gênero e idade mas não envolvidos com atividades físicas, e mostram diferenças significativas para Ca ($51 - 439 \text{ mgL}^{-1}$ para GC, $162 - 410 \text{ mgL}^{-1}$ para AA e $64 - 152 \text{ mgL}^{-1}$ para AE) e Br ($7,4 - 30,6 \text{ mgL}^{-1}$ para GC, $4,0 - 9,6 \text{ mgL}^{-1}$ para AA e $1,9 - 3,5 \text{ mgL}^{-1}$ para AE) sugerindo que existe uma forte dependência desses limites em função do treino físico adotado.

Neste estudo foi realizada também uma investigação sistemática para AA antes, durante e após o programa de exercício. Esses dados podem ser utilizados para a elaboração de uma dieta balanceada, para avaliar o desempenho dos atletas durante o período de treino, bem como contribuir para a proposição de novos protocolos de avaliação clínica ainda não descritos na literatura.

BLOOD CONCENTRATIONS OF IONS AND METALS IN AMATEUR AND ELITE RUNNERS USING NEUTRON ACTIVATION ANALYSES

Luciana Kovacs dos Santos

ABSTRACT

In this study Br, Ca, Cl, Fe, I, K, Mg, Na, S and Zn concentration were investigated in blood of Brazilian athletes (endurance) using Neutron Activation Analyses technique (NAA). The blood samples were collected from male amateur athletes (AR) and male and female elite athletes (ER), ranging from 18 to 36 year old. The blood samples were collected at the LABEX/UNICAMP and they were irradiated in the nuclear reactor IEA-R1 at IPEN (São Paulo, Brazil). The range (at rest) established for AR and ER were compared with the control group (CG), subjects of same gender and age but not involved with physical activities, and showed significant differences for Ca ($51 - 439 \text{ mgL}^{-1}$ for CG, $162 - 410 \text{ mgL}^{-1}$ for AR and $64 - 152 \text{ mgL}^{-1}$ for ER) and Br ($7.4 - 30.6 \text{ mgL}^{-1}$ for CG, $4.0 - 9.6 \text{ mgL}^{-1}$ for AR and $1.9 - 3.5 \text{ mgL}^{-1}$ for ER), suggesting that a strong dependency of these limits in function of adopted physical training exists.

We also performed a systematic investigation for the AR before, during and after the exercise program. These data can be considered for the preparation of a balanced diet, for evaluating the performance of the athletes during the period of competition preparation as well as contributing for proposing new protocols of clinical evaluation not reported in the literature yet.

SUMÁRIO

	Página
INTRODUÇÃO	01
MOTIVAÇÕES	02
OBJETIVOS	04
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	04
CAPÍTULO 1 – ATLETISMO	05
CAPÍTULO 2 - ATIVIDADE FÍSICA E FATORES DE AVALIAÇÃO DE DESEMPENHO	08
CAPÍTULO 3 – ELEMENTOS INORGÂNICOS E ATIVIDADE FÍSICA	12
3.1 Sódio	12
3.1.1 Sódio e atividade física	13
3.2 Potássio	14
3.2.1 Potássio e atividade física	15
3.3 Cloro	16
3.3.1 Cloro e atividade física	17
3.4 Cálcio	17
3.4.1 Cálcio e atividade física	18
3.5 Magnésio	19
3.5.1 Magnésio e atividade física	20
3.6 Enxofre	21
3.6.1 Enxofre e atividade física	22
3.7 Iodo	22
3.7.1 Iodo e atividade física	23
3.8 Zinco	24
3.8.1 Zinco e atividade física	24
3.9 Ferro	25
3.9.1 Ferro e atividade física	27

3.10 Bromo.....	29
3.10.1 Bromo e atividade física.....	29
CAPÍTULO 4 – MATERIAIS E MÉTODOS	30
4.1 Metodologia de ativação com nêutrons.....	30
4.2 Fonte de nêutrons: reator IEA-R1.....	32
4.3 Instrumentação Nuclear.....	33
4.4 Casuística.....	35
4.5 Coleta e preparo das amostras.....	36
4.6 Irradiações das amostras.....	39
4.7 Qualidade das medidas.....	48
4.8 Controle do “branco” (invólucros das amostras).....	49
CAPÍTULO 5 – RESULTADOS E DISCUSSÕES	50
5.1 Apresentação dos resultados e tratamento estatístico.....	50
5.2 Concentrações dos elementos em sangue de AA e AE.....	51
5.3 Concentrações dos elementos investigados em sangue dos AE em função do gênero.....	56
5.4 Avaliação das similaridades entre GC e AA, GC e AE e AA e AE.....	59
5.5 Correlação de Pearson.....	63
5.5.1 Análises das correlações.....	66
5.6 Concentrações dos elementos em sangue de AA antes, durante e após o treino.....	67
5.6.1 Concentrações dos elementos em sangue de AA durante o treino.....	73
5.7 Concentrações dos elementos em sangue de AA para diferentes intensidades de VO ₂ máx.....	78
5.8 Considerações Finais.....	84
5.8.1 Perspectivas.....	84
5.8.2 Uso de AAN em outras categorias esportivas.....	84
5.8.3 Uso da técnica de AAN em experimentação animal.....	84
5.8.4 Procedimentos alternativos.....	85
CAPÍTULO 6 – CONCLUSÕES	86
ANEXO 1	88
ANEXO 2	89
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	90

LISTA DE TABELAS

Página

TABELA 1: Informações sobre gênero, peso, altura, índice de massa corpórea, faixa etária, tempo de treinamento e desempenho do treino dos AA e AE	36
TABELA 2: Condições experimentais para a realização das medidas utilizando a técnica de análise por ativação com nêutrons em sangue: volume, elemento ativado, T_i e T_c	40
TABELA 3: Propriedades nucleares relacionadas aos elementos ativados em sangue: composição isotópica (%), isótopo a ser ativado, reação induzida por nêutrons (n, γ), energia dos raios γ emitidos (E_γ) e o tempo de meia-vida ($T_{1/2}$) associada ao isótopo ativado	41
TABELA 4: Concentrações (Média $\pm$ 1DP) dos elementos medidos nos materiais de referência de sangue (AIEA A-13) e músculo (NIST 8414).....	48
TABELA 5: Concentrações dos elementos medidos em sangue total para o GC, AA e AE no repouso. Os valores de referência para os grupos foram incluídos para comparação	52
TABELA 5: (continuação) Concentrações dos elementos medidos em sangue total para o GC, AA e AE no repouso. Os valores de referência para os grupos foram incluídos para comparação.....	53
TABELA 6: Razão entre a média da concentração em sangue de AA e GC. As estimativas percentuais (da variação entre as médias) entre grupos investigados (AA e GC) foram incluídas para comparação.....	59
TABELA 7: Razão entre a média da concentração em sangue de AE e GC. As estimativas percentuais (da variação entre as médias) entre grupos investigados (AE e GC) foram incluídas para comparação.....	60
TABELA 8: Coeficientes de Pearson para o grupo de AA.....	64
TABELA 9: Coeficientes de Pearson para o grupo de AE.....	64
TABELA 10: Coeficientes de Pearson para o grupo de AE do gênero masculino.....	65

TABELA 11: Coeficientes de Pearson para o grupo de AE do gênero feminino.....	65
TABELA 12: Resultados das concentrações dos elementos medidos no sangue, dos AA (AA_n , $n = 1$ a 6), antes e depois do treino, expressos por: valor médio (VM) e desvio padrão ($\pm 1DP$).....	68

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1: Metabolismo do cálcio no corpo humano	18
FIGURA 2: Comportamento do fluxo de magnésio durante a atividade física.....	20
FIGURA 3: Comportamento do fluxo de magnésio após a atividade física.....	21
FIGURA 4: Metabolismo do iodo no corpo humano.....	23
FIGURA 5: Metabolismo do ferro no corpo humano.....	27
FIGURA 6: Reator de pesquisa IEA - R1 (IPEN/CNEN-SP).....	33
FIGURA 7: Arranjo experimental com detector HPGe do espectrômetro gama no LEER.....	34
FIGURA 8: Sistema de aquisição de dados do LEER.....	34
FIGURA 9: Coleta de sangue por punção digital (esquerda); amostras de sangue total em papel de filtro (direita).....	37
FIGURA 10: Coleta de sangue por punção venosa.....	38
FIGURA 11: Armazenamento das amostras.....	38
FIGURA 12: Sistema de Irradiação (esquerda); detalhe do sistema (direita).....	39
FIGURA 13: Espectros de raios γ de 100 μ L de sangue irradiado por 240 s e submetido a 1800 s de contagem com o detector de HPGe; os raios γ não identificados compõem a radiação de fundo (Bg) do laboratório (LEER).....	42
FIGURA 13: (continuação) Espectros de raios γ de 100 μ L de sangue irradiado por 240 s e submetido a 1800 s de contagem com o detector de HPGe; os raios γ não identificados compõem a radiação de fundo (Bg) do laboratório (LEER).....	43
FIGURA 13: (continuação) Espectros de raios γ de 100 μ L de sangue irradiado por 240 s e submetido a 1800 s de contagem com o detector de HPGe; os raios γ não identificados compõem a radiação de fundo (Bg) do laboratório (LEER).....	44
FIGURA 13: (continuação) Espectros de raios γ de 100 μ L de sangue irradiado por 240s e submetido a 1800s de contagem com o detector de HPGe; os raios γ não identificados compõem a radiação de fundo (Bg) do laboratório (LEER).....	45

FIGURA 14: Espectros de raios γ de 500 μ L de sangue irradiado por 4 h e submetido a 1 h de contagem com o detector de HPGe; os raios γ não identificados compõem a radiação de fundo (Bg) do laboratório (LEER).....	46
FIGURA 14: (continuação) Espectros de raios γ de 500 μ L de sangue irradiado por 4 h e submetido a 1 h de contagem com o detector de HPGe; os raios γ não identificados compõem a radiação de fundo (Bg) do laboratório (LEER).....	47
FIGURA 15: Comparativo entre as concentrações dos elementos Br, Ca, Cl, I, K, Mg, Na e S em sangue para o GC, AA e AE (repouso).....	54
FIGURA 16: Comparativo entre as concentrações dos elementos Fe e Zn em sangue para GC e AE (repouso) em função do gênero.....	54
FIGURA 17A: Avaliação da distribuição <i>t-student</i> ($p<0,05$) entre o GC e AA para Br, Mg e S.....	55
FIGURA 17B: Avaliação da distribuição <i>t-student</i> ($p<0,05$) entre o GC e AE para Br, Ca, Cl, Fe, K, Na, S e Zn.....	55
FIGURA 17C: Avaliação da distribuição <i>t-student</i> ($p<0,05$) entre os AA e AE para Br, Ca, K e Mg.....	56
FIGURA 18: Comparativo entre as concentrações dos elementos Br, Ca, Cl, Fe, I, K, Mg, Na, S e Zn em sangue para os AE (repouso) em função do gênero.....	57
FIGURA 19: Comparativo entre as concentrações individuais de Fe no sangue para os AE em função do gênero.....	57
FIGURA 20: Comparativo entre as concentrações individuais de Zn no sangue para os AE em função do gênero.....	58
FIGURA 21: Razão entre as médias das concentrações em sangue, nos grupos de atletas amadores (C_{AA}) e de elite (C_{AE}), em função das médias das concentrações no sangue do grupo controle (C_{GC}).....	61
FIGURA 22: Concentração de Br pré e pós treino em sangue de atletas AA; a concentração determinada para o GC foi incluída ($VM \pm 1DP$) para comparação.....	69
FIGURA 23: Concentração de Ca pré e pós treino em sangue de atletas AA; a concentração determinada para o GC foi incluída ($VM \pm 1DP$) para comparação.....	69

FIGURA 24: Concentração de Cl pré e pós treino em sangue de AA; a concentração determinada para o GC foi incluída (VM $\pm$ 1DP) para comparação.....	70
FIGURA 25: Concentração de I pré e pós treino em sangue de AA; a concentração determinada para o GC foi incluída (VM $\pm$ 1DP) para comparação.....	70
FIGURA 26: Concentração de K pré e pós treino em sangue de AA; a concentração determinada para o GC foi incluída (VM $\pm$ 1DP) para comparação.....	71
FIGURA 27: Concentração de Mg pré e pós treino em sangue de AA; a concentração determinada para o GC foi incluída (VM $\pm$ 1DP) para comparação.....	71
FIGURA 28: Concentração de Na pré e pós treino em sangue de AA; a concentração determinada para o GC foi incluída (VM $\pm$ 1DP) para comparação.....	72
FIGURA 29: Concentração de S pré e pós treino em sangue de AA; a concentração determinada para o GC foi incluída (VM $\pm$ 1DP) para comparação.....	72
FIGURA 30: Concentração de Br em sangue total de AA antes, durante e após o treino.....	74
FIGURA 31: Concentração de Ca em sangue total de AA antes, durante e após o treino.....	74
FIGURA 32: Concentração de Cl em sangue total de AA antes, durante e após o treino.....	75
FIGURA 33: Concentração de I em sangue total de AA antes, durante e após o treino.....	75
FIGURA 34: Concentração de K em sangue total de AA antes, durante e após o treino.....	76
FIGURA 35: Concentração de Mg em sangue total de AA antes, durante e após o treino.....	76
FIGURA 36: Concentração de Na em sangue total de AA antes, durante e após o treino.....	77
FIGURA 37: Concentração de S em sangue total de AA antes, durante e após o treino.....	77

FIGURA 38: Concentração de Na em sangue total de AA em função de 25% do VO_2 máx.	79
FIGURA 39: Concentração de Na em sangue total de AA em função de 50% do VO_2 máx.	79
FIGURA 40: Concentração de K em sangue total de AA em função de 25% do VO_2 máx.	80
FIGURA 41: Concentração de K em sangue total de AA em função de 50% do VO_2 máx.	80
FIGURA 42: Concentração de Cl em sangue total de AA em função de 25% do VO_2 máx.	81
FIGURA 43: Concentração de Cl em sangue total de AA em função de 50% do VO_2 máx.	81
FIGURA 44: Concentração de Ca em sangue total de AA em função de 25% do VO_2 máx.	82
FIGURA 45: Concentração de Ca em sangue total de AA em função de 50% do VO_2 máx.	82
FIGURA 46: Concentração de Br em sangue total de AA em função de 25% do VO_2 máx.	83
FIGURA 47: Concentração de Br em sangue total de AA em função de 50% do VO_2 máx.	83

LISTA DE ABREVIATURAS

AA – atletas amadores

AAN – análise por ativação neutrônica

AE – atletas de elite

AINES – anti-inflamatórios não esteróides

ATP - trifosfato de adenosina

Bg – radiação de fundo

CNEN - Comissão Nacional de Energia Nuclear

DE – duplo escape

DNA – ácido desoxirribonucleico

IPEN – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

LABEX – Laboratório de Bioquímica do Exercício

LEER – Laboratório de Espectroscopia e Espectrometria das Radiações

RNA – ácido ribonucleico

SE – simples escape

TMA – tríade da mulher atleta

UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas

VO₂ máx. – consumo máximo de oxigênio

INTRODUÇÃO

O bom desempenho do atleta caracteriza-se pela combinação de fatores entre os quais se destacam a genética, o treinamento adequado e o correto aporte nutricional. Ainda que as atividades esportivas proporcionem benefícios à saúde e à qualidade de vida, o treinamento físico pode adaptar ou lesionar os músculos, dependendo da intensidade e duração empregada no esforço, provocando alterações fisiológicas e nutricionais detectáveis em sangue. Da mesma forma, a nutrição balanceada também traz benefícios ao atleta pois reduz a fadiga, aumenta a disposição e previne a ocorrência de lesões e infecções melhorando o seu desempenho. Entretanto, condutas nutricionais inadequadas podem ser responsáveis por fracassos em treinamentos e competições e podem levar ao aparecimento de enfermidades, independentemente do grau de esforço e dedicação do atleta [1, 2].

Do ponto de vista da medicina esportiva, a viabilidade de obter e comparar resultados individuais de ensaios clínicos, para avaliação de íons, tais como natremia e calemia entre outros, em soro de atletas que executam atividade física intensa por longos períodos, permite uma interpretação detalhada das respostas de cada atleta ao longo do treino.

Considerando que nos últimos anos o Laboratório de Espectroscopia e Espectrometria das Radiações (LEER) do IPEN tem utilizado, com sucesso, a técnica de Análise por Ativação com Nêutrons (AAN) como alternativa para pesquisas e ensaios bioquímicos em fluidos corpóreos (sangue e soro, urina e saliva) [3-11], foi estabelecida uma parceria com o Laboratório de Bioquímica do Exercício (LABEX) da UNICAMP/SP, que é um grupo de referência nacional e internacional em medicina esportiva, para realização dessas análises bioquímicas em sangue total de atletas de fundo (corrida de longa distância) amadores e de elite. Esta parceria teve início em 2009 e já realizou várias medidas em sangue de atletas amadores com treinamento periodizado, para a investigação de distúrbios eletrolíticos usando AAN [12-14].

MOTIVAÇÕES

A motivação para o desenvolvimento deste trabalho é de incentivar parcerias entre áreas, nem sempre correlatas, que possam gerar resultados que propiciem maior conhecimento no âmbito da medicina esportiva de modo a avaliar mais detalhadamente aspectos fundamentais, tais como, nutrição, rendimento e recuperação de atleta. Desta forma a pesquisa clínica utilizando como alternativa a técnica analítica de ativação com nêutrons aliada às ferramentas já disponíveis, na medicina esportiva, podem ser úteis para proposição de novos protocolos de avaliação.

Para enfatizar o potencial do uso da técnica de AAN na investigação do sangue é feita, a seguir, uma descrição das facilidades que podem ser associadas:

- utiliza pequena quantidade de sangue total (dezenas de μL), o que elimina a necessidade separação soro/plasma, simplificando a coleta e o preparo da amostra;
- permite a determinação simultânea de elementos como Ca, Cl, I, K, Mg, Na e outros que nem sempre é possível pelos procedimentos convencionais;
- permite a determinação da concentração de outros elementos pois a técnica de AAN é sensível a ativação de 75 % dos isótopos;
- possibilita a reutilização da amostra após o término de sua atividade induzida por nêutrons pois o método não é destrutivo;
- a amostra não necessita de refrigeração o que facilita seu armazenamento e transporte;
- o descarte da amostra não necessita de nenhum tratamento; pode ser incinerada e descartada como rejeito hospitalar.

Outro aspecto importante a considerar é a obtenção de amostras individuais também durante o treino, isto é, dada à dificuldade de coletar sangue várias vezes (2 a 5 coletas) durante a realização da atividade aeróbica controlada

INTRODUÇÃO

(de 30 a 50 minutos em média), a utilização dos procedimentos convencionais feitos em soro [15] torna-se inadequada, pois requer quantidades da ordem de alguns mililitros de sangue por coleta (para obtenção do soro), o que pode levar o atleta ao estresse e assim alterando os resultados das análises bioquímicas.

Considerando que o LABEX estuda as inter-relações metabólicas que ocorrem com a prática de atividades físicas, monitorando ao longo do ano os efeitos de diferentes periodizações de treinamento, através de ensaios que avaliam seu quadro clínico e capacidades biomotoras específicas, o uso da técnica AAN antes, durante e após o treino pode também complementar estas análises bem como fornecer subsídios para a proposição de novos protocolos de avaliação, ainda não descritos na literatura.

A abordagem do texto é feita em 6 capítulos. No capítulo 1 é apresentado um breve histórico do atletismo. No capítulo 2 são abordados os aspectos comumente investigados na atividade física. No capítulo 3 é apresentada uma descrição das necessidades minerais associada ao exercício. No capítulo 4 é feita a descrição da metodologia nuclear e do experimento: população de estudo, coleta e preparo das amostras e qualidade das medidas. No capítulo 5 são apresentados os resultados e discussões. No capítulo 6 são apresentadas as conclusões e na sequência os anexos e referências.

OBJETIVOS

OBJETIVOS

Avaliação bioquímica dos íons e metais de relevância clínica e nutricional em sangue de atletas de fundo, amadores e de elite, utilizando a técnica de análise por ativação neutrônica, visando obtenção dos valores de referência para gerar maior entendimento das necessidades nutricionais e adequação das necessidades diárias em função do desempenho esportivo, bem como dados que possibilitem dimensionar adequadamente intensidade, frequência e duração dos treinamentos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- determinar a concentração de Br, Ca, Cl, Fe, I, K, Mg, Na, S e Zn em sangue de atletas de fundo de elite no repouso (antes do treino).
- determinar a concentração Br, Ca, Cl, I, K, Mg, Na e S em sangue de atletas de fundo amadores, antes, durante e após o treino físico.

Os elementos Ca, Cl, Fe, I, K, Mg e Na foram selecionados para esta investigação em função da sua relevância clínica para avaliação de disfunções eletrolíticas bem como pela importância nutricional. A avaliação de Zn, embora não seja usual, é importante principalmente para a função imune [16]. Da mesma forma, embora a avaliação clínica de Br e S não sejam usuais, esses elementos também foram investigados, pois estão presentes na dieta dos brasileiros, principalmente em carnes, vegetais e frutas secas (alimentos ricos em enxofre) e em frutos do mar (ricos em brometos) podendo apresentar níveis sanguíneos elevados [4, 5, 17].

CAPÍTULO 1 – ATLETISMO

O atletismo é um conjunto de esportes constituído por três modalidades: corrida, lançamentos e saltos. É a forma mais antiga de esporte organizado [18] e a sua história rememora os principais sucessos relacionados com a vida do homem na Terra. Desde a Idade da Pedra, é possível reconhecer um protótipo do atletismo [19], quando o homem primitivo praticava suas atividades naturais para sobrevivência como correr, saltar, subir e lançar [18].

A primeira competição esportiva de que se tem notícia foi uma corrida, nos Jogos de 776 a.C. na cidade de Olímpia, que deu origem às Olimpíadas. A prova chamada pelos gregos de "stadium"; tinha cerca de 200 metros e Coroebus, o vencedor, foi considerado o primeiro campeão olímpico da história [19]. Provas como corridas, saltos e arremessos de disco e dardo, eram disputadas pelos gregos [18], contudo sem as mesmas finalidades com que hoje são praticadas. Essas competições na Grécia antiga eram comumente dotadas de significância religiosa, sendo definidos como festivais sagrados [20].

O atletismo se tornou esporte no século XIX. A Inglaterra e outros países como a Irlanda e Escócia foram decisivos na definição do atletismo como esporte na atualidade. A Inglaterra foi à primeira nação esportivizada onde as corridas de cavalo, o tênis, o boxe, o futebol, o rúgbi e o atletismo compuseram manifestações esportivas que se espalharam rapidamente pelo mundo [20].

Em 1896 foi realizada a primeira edição dos Jogos Olímpicos da Era Moderna, que teve sede em Atenas. O interesse em torno do atletismo era crescente e nos Jogos de Saint Louis em 1904 mais de cem atletas estavam inscritos nas corridas. Em 1912, durante os jogos Olímpicos de Estocolmo, na Suécia, foi criada a Federação Internacional de Atletismo Amador (órgão que dirige o atletismo a nível mundial) para atender a necessidade da organização de um programa atlético que abrangesse todas as provas do atletismo. Em 1993 sua sede foi transferida para Mônaco e em 2001 seu nome mudou para Associação

Internacional de Federações de Atletismo (International Association of Athletics Federations, IAAF) No Brasil, a Confederação Brasileira do Atletismo (CBAt), órgão responsável pelo atletismo nacional em todas as suas modalidades, foi criado em 1977 com sede no Rio de Janeiro, e em 1994 foi transferida para Manaus, sua sede atual [19].

Na definição moderna o Atletismo é um esporte que envolve várias provas com características diferentes como: provas de pista (corridas); de campo (saltos e lançamentos); provas combinadas (pista e de campo) como decatlo e heptatlo; pedestrianismo (corridas de rua) como a maratona, corridas em campo (cross country); corridas em montanha e marcha atlética [19].

As provas de corrida diferem entre si principalmente pela extensão a percorrer e são divididas em: provas de curta distância: 100 m, 200 m e 400 m; provas de meio-fundo: 800 m e 1.500 m; e provas de fundo: 3.000 m, 5.000 m, 10.000 m e maratona [19].

A corrida de fundo ou de longa distância é uma prova que consiste em percorrer uma distância maior do que uma milha (1.609 m). As provas vão de 3.000 m aos 42.195 km e vence aquele que percorre no menor tempo possível e cruza a linha de chegada em primeiro lugar [21].

As corridas de fundo de 5.000 m tiveram a sua origem na Antiguidade e a primeira referência foi 720 a.C; a prova se chamava “dolichos” inspirava-se nas proezas dos mensageiros militares que transportavam mensagens e instruções por grandes distâncias, principalmente em tempo de guerra. A partir do século 19 as corridas de fundo ganharam grande interesse popular e assim surgiu o primeiro tempo em 1897, em Paris. Já na era IAAF tem-se o primeiro tempo, marcado em 1912, pelo finlandês Johannes Kolehmainen, na final da V Olimpíada realizada em Estocolmo. No Brasil, o primeiro recorde reconhecido foi do atleta Francisco Amaral, em 1925, vencedor do I Campeonato Brasileiro [19].

As corridas de fundo de 10.000 m eram muito populares no final do século XIX, principalmente nas Ilhas Inglesas. O primeiro tempo que se tem

conhecimento foi em 1877 (Londres), conquistado pelo inglês James Gibb. O primeiro recorde reconhecido pela IAAF foi 1904 (Glasgow) do inglês Alfred Shrubbs e no Brasil o primeiro recorde reconhecido foi em 1925, por Ernesto Todaro, no I Campeonato Brasileiro [19].

As corridas de fundo femininas são recentes. Na prova de fundo dos 3.000 m o tempo mais antigo que se conhece foi estabelecido em 1966 em Don Mills. A prova só foi reconhecida pela IAAF em 1972 e passou a fazer parte dos jogos Olímpicos em 1984 (Los Angeles). No Brasil o primeiro recorde reconhecido foi da atleta Soraya Vieira Telles em 1978, vencedora do Campeonato de Meio-Fundo no Rio de Janeiro. Já a prova de 10.000 m teve sua primeira marca em 1972 e o primeiro recorde reconhecido pela IAAF em 1981, em Moscou. No Brasil, o primeiro recorde reconhecido foi em 1985, da atleta Carmem de Souza Oliveira, vencedora do XXII Campeonato Brasileiro em São Paulo [19].

A maratona foi instituída nos jogos Olímpicos de 1896, em homenagem a Feldípedes, soldado que teria levado a notícia da vitória dos gregos sobre os persas em batalha travada no século V a.C., na planície de Maratona. Ele teria corrido cerca de 40 km (distância entre Maratona e Atenas), tão rapidamente quanto pôde, e ao chegar conseguiu dizer apenas vencemos e caiu morto. Inicialmente, o percurso desta prova era de 40 km, mas em 1908 nos Jogos Olímpicos de Londres para que a família real britânica pudesse acompanhar o início da prova do jardim do Palácio de Windsor foi alterado para 42,195 km [22].

A partir dos anos 70, as maratonas e corridas em ruas tornaram-se populares e atualmente são praticadas em parques e locais públicos. São diferentes das corridas realizadas em pistas, mas também contam com uma estrutura de organização: com inscrições, premiações e todos os aparatos necessários que constituem uma competição oficial. No Brasil é um segmento importante do atletismo; existem cerca de 500 provas registradas realizadas em todo o território nacional com milhares de participantes. A CBAat acompanha o pedestrianismo desde 1987 e criou em 2005 o Circuito Brasileiro Caixa de Corridas de Fundo em Pista, com a intenção de que corredores não permaneçam somente correndo provas de rua [20].

CAPÍTULO 2 - ATIVIDADE FÍSICA E FATORES DE AVALIAÇÃO DE DESEMPENHO

A atividade física é compreendida como qualquer movimento corporal, produzido pela contração dos músculos, acompanhado de gasto energético enquanto o exercício é definido como movimento corporal planejado, estruturado e repetitivo, com objetivo de melhorar o desempenho físico [23]. A prática de atividade física pode proporcionar benefícios à composição corporal, à saúde e à qualidade de vida [24]. No entanto, o esporte competitivo nem sempre representa sinônimo de equilíbrio no organismo. As alterações fisiológicas e os desgastes nutricionais gerados pelo esforço físico podem conduzir o atleta ao limiar entre a saúde e a doença se não houver a compensação adequada desses eventos [25].

Os atletas são aqueles indivíduos que praticam exercícios físicos com o intuito competitivo. São indivíduos que realizam atividades com intensidade, frequência e duração de treinamentos rígidos e com maiores graus de exigência e disciplina. Atletas amadores (AA) são os praticantes de atividade física com objetivo recreativo ou melhoria da qualidade de vida sem o intuito de lucrar; são indivíduos que se submetem a treinamento regular, por períodos prolongados de acordo com as exigências de sua modalidade esportiva e para fins competitivos, não recebendo, nenhuma espécie de remuneração. Os atletas de elite (AE) são os melhores na atividade que praticam; são indivíduos cujo desempenho é compatível com resultados expressivos quando comparados com padrões nacionais e internacionais [26, 27].

O sucesso no desempenho do atleta caracteriza-se pela combinação de fatores entre os quais se destacam: a genética e o treinamento adequado associado à conduta nutricional balanceada [1, 28, 29].

A nutrição é o conjunto dos processos que vão desde a ingestão dos alimentos até a sua assimilação pelas células. Os alimentos contêm nutrientes usados no corpo para fornecer energia (carboidratos, lipídios e proteínas),

construção e manutenção do sistema esquelético (minerais e proteínas), construção e reparo de tecidos (proteínas, lipídios e minerais), e para regular a fisiologia corpórea (vitaminas, minerais, lipídios, proteínas e água) [2].

Todo o organismo necessita de um suprimento contínuo de energia para a realização de funções vitais, atividade física, crescimento e reparo de tecidos. Essa energia é obtida através da oxidação dos alimentos consumidos. A energia contida na estrutura molecular de carboidratos, gorduras e proteínas são utilizadas para formar compostos ricos em energia chamada de ATP (trifosfato de adenosina), liberadas lentamente em pequenas quantidades durante as reações químicas controladas por enzimas que ocorrem no organismo [30].

Considerando que na atividade aeróbia o consumo energético do tecido muscular pode aumentar em até 20 vezes, o fluxo de oxigênio no músculo esquelético pode aumentar em até 100 vezes e o fluxo sanguíneo em até 30 vezes [31], quando a demanda energética imposta pelo exercício se eleva, a adequação do consumo energético é essencial para a manutenção do desempenho, da composição corporal e da saúde dos atletas [23]. Portanto, as recomendações de ingestão calórica e nutricional para pessoas que praticam atividade física moderada ou que são sedentárias são insuficientes para os atletas [32].

Além de uma conduta nutricional balanceada, o organismo necessita também de uma hidratação adequada para a manutenção do esforço e do desempenho físico. Durante o exercício ocorre um aumento da taxa metabólica e cerca de 75% da energia produzida pelo corpo é dissipada como calor elevando a temperatura corporal [33, 34]. O corpo transpira eliminando água e sais minerais que, se não forem repostos, podem levar a desidratação [35]. Com a perda de água corporal ocorre a redução do volume de sangue o que leva ao aumento da frequência cardíaca e do uso do glicogênio muscular [18, 36, 37]. Em decorrência disso se tem uma diminuição do transporte de oxigênio e comprometimento da regulação térmica, o que prejudica o desempenho do atleta [18, 34, 36] além de aumentar o risco do surgimento de distúrbios hidroeletrolíticos causados pelo calor durante o exercício [38, 39].

A nutrição balanceada e a hidratação adequada são fatores essenciais para melhorar o desempenho atlético e reduzir a fadiga permitindo que o atleta se recupere mais rapidamente entre as sessões de exercícios e aumente sua disposição. Esses fatores tem também importante função na prevenção de ocorrência de lesões e infecções que certamente prejudicam os treinamentos programados para estes indivíduos. Condutas nutricionais inadequadas podem ser responsáveis por fracassos em treinamentos e competições e, da mesma forma, podem levar ao aparecimento de enfermidades, independentemente do grau de esforço e dedicação do atleta [2, 40-45].

Particularmente para os atletas de corrida de fundo o consumo máximo de oxigênio (VO_2 máx.) e o limiar anaeróbio são parâmetros usados para avaliação da função cardiorrespiratória máxima e reserva funcional. O VO_2 máx. corresponde à máxima taxa que o O_2 pode ser captado, transportado e utilizado durante treinos intensos de longa duração [30, 46]. Sua avaliação é importante para determinar como um indivíduo consegue realizar um exercício de alta intensidade por mais de 4 a 5 minutos. Alguns fatores afetam o consumo máximo de oxigênio: genética, aptidão, modalidade do exercício, estado de treinamento, idade, gênero e composição corporal. Um maior VO_2 máx. se traduz em um melhor desempenho na corrida [30, 47].

Os limiares (aeróbio e anaeróbio) correspondem a intensidades de exercício a partir das quais ocorrem alterações metabólicas.

O limiar aeróbio determina a carga máxima que o indivíduo poderá usar em seus exercícios, sem que haja a produção excessiva de lactato. Já o limiar anaeróbio é o ponto em que as demandas metabólicas do exercício não podem mais ser satisfeitas pelas fontes aeróbicas disponíveis e no qual ocorre um aumento do metabolismo anaeróbio. A produção de lactato aumenta de forma que não há mais um equilíbrio entre acúmulo e remoção, fato que está associada ao aparecimento da fadiga e, portanto, à progressiva queda de desempenho refletido pelo aumento da concentração sérica de lactato, sendo este acumulado no

ATIVIDADE FÍSICA E FATORES DE AVALIAÇÃO DE DESEMPENHO

sangue e nos músculos durante o exercício e removido no período de recuperação [48-50].

Em síntese, para um treinamento seguro, a prescrição do treino deve ser personalizada visando o estabelecimento de condutas nutricionais e energéticas adequadas para melhorar o desempenho atlético, em atendimento aos objetivos a serem alcançado.

CAPÍTULO 3 - ELEMENTOS INORGÂNICOS E ATIVIDADE FÍSICA

Os elementos inorgânicos, embora presentes em pequenas quantidades, são indispensáveis ao organismo, pois estão presentes em vários processos metabólicos e fisiológicos. Todas as células dependem desses elementos para exercer a sua função e compor sua estrutura. Eles estão relacionados à composição estrutural do corpo, dos ácidos nucleicos, dos tecidos e órgãos [30, 51].

A seguir estão descritas as funções específicas dos elementos investigados neste estudo e sua relevância na atividade física. Nos anexos 1 e 2 são apresentados os valores recomendados e toleráveis, respectivamente, referentes à ingestão diária.

3.1 Sódio

O sódio é o principal cátion nos líquidos extracelulares e está presente em todas as células do organismo. Cerca de 48% do sódio corporal está localizado no esqueleto e o restante no líquido extracelular (~ 45%) e intracelular (~7%) [52]. O sódio regula a quantidade de líquido extracelular, atua na manutenção da pressão osmótica, do equilíbrio ácido-base e é importante também na regulação da pressão arterial, na condução de impulsos nervosos, na contração muscular, no controle da absorção e no transporte de alguns nutrientes como cloro, aminoácidos e glicose [23, 51, 53].

O sódio é absorvido em pequena quantidade no estômago e o restante no intestino delgado. O sódio absorvido é transportado para os rins onde é filtrado e devolvido para a corrente sanguínea, na quantidade exata de que o corpo necessita. Sua principal forma de excreção é através da urina (cerca de 90 a 95%) e o restante pelas fezes e suor [1].

A ingestão adequada de sódio recomendada é de 1,5 g/dia para adultos de 18 a 50 anos, com quantidades menores recomendadas para idosos devido ao decréscimo do consumo energético. O limite superior tolerável de ingestão para adultos é estabelecido em 2,3 g/dia. Entretanto, estes valores não são adequados para indivíduos que perdem grandes volumes de sódio no suor, caso dos atletas, em que a necessidade diária pode ser maior que 10 g/dia [54, 55].

3.1.1 Sódio e atividade física

Estudos sobre o comportamento das concentrações de sódio na atividade física são controversos, tendo relatos de casos de hiponatremia que é a queda anormal da concentração plasmática de sódio no sangue [56-58] e hipernatremia que é o aumento anormal da concentração plasmática de sódio no sangue [59, 60] e outros com o sódio se mantendo na faixa de normalidade [61]. Estudos relatando casos de hiponatremia são mais comuns [56-58, 62-68].

Desde a primeira descrição por Noakes e colaboradores em 1985 [56], a hiponatremia é a complicação médica mais comum associada ao exercício prolongado [57, 58, 62]. A maioria dos atletas que desenvolvem hiponatremia não apresentam sintomas [63, 64]. Em casos graves, sintomas mais específicos incluem desorientação, confusão, cefaléia, fadiga, câimbras, falta de ar, e dependendo da condição física do atleta, tal desordem pode provocar convulsão, edema pulmonar e danos cerebrais, podendo levar o indivíduo a óbito [65-68]. Quanto mais rápida for a diminuição dos níveis de sódio e quanto mais baixo for esse valor, maior o risco de as consequências ameaçarem a vida [65].

Durante a década de 1990 a hiponatremia associada ao exercício prolongado (maratonas e triatlon) foi cada vez mais reconhecida, com incidência de até 30% [67-69]. Especialistas atribuem este aumento aos hábitos alimentares, tais como: dieta com baixo teor de sal, uso de suplementos alimentares sem a correta orientação médica além do excesso de ingestão de líquidos,

principalmente água, os quais estimulam uma excreção elevada de sódio tanto pela urina como pelo suor [67].

Almond e colaboradores [58] estudaram um grupo de 488 maratonistas que haviam participado da Maratona de Boston em 2002, para estimar a incidência de hiponatremia e identificar os principais fatores de risco. Deste, 13% apresentaram hiponatremia e 0,6% apresentaram hiponatremia grave. Este estudo mostrou que a hiponatremia ocorreu em uma pequena fração dos maratonistas, mas pode ser grave, e suas principais causas estão relacionadas ao consumo excessivo de líquidos, tempo de prova e com maior incidência no gênero feminino.

Os mecanismos que causam a hiponatremia associada ao exercício prolongado ainda não são completamente conhecidos, mas dois fatores são importantes no seu desenvolvimento em atletas: depleção de sal com desidratação e excesso de ingestão de líquido durante o exercício [66, 70]. A desidratação é resultante da perda de água e sal pelo suor. Até 1800 mL de suor pode ser perdido por hora, dependendo do peso corporal, intensidade do exercício, umidade do ar e temperatura. Outros fatores de risco também têm sido sugeridos, incluindo alterações de peso, secreção inadequada de ADH (hormônio responsável pelo equilíbrio hídrico) e o uso de drogas anti-inflamatórias não esteróides (AINEs) [57, 63-66, 70-72]. Vários estudos enfatizam que para o gênero feminino esses fatores são acentuados [64, 73, 74].

No Brasil a hiponatremia relacionada ao exercício é uma questão nova, não havendo relatos de caso na literatura em atletas durante eventos nacionais. A ausência de casos pode ser decorrente de um não diagnóstico.

3.2 Potássio

O potássio é o principal cátion do líquido intracelular [1]. Cerca de 98 a 99% do potássio corporal está localizado dentro das células, enquanto cerca de 1 a 2 % encontra-se no líquido extracelular. As células musculares constituem o maior reservatório corpóreo de potássio [1, 75].

O potássio é o principal responsável pela manutenção do volume intracelular e participa de várias funções enzimáticas, agindo como catalisador, especialmente nas diversas etapas da respiração celular. Além disso, regula a excitabilidade neuromuscular (capacidade de responder a um estímulo nervoso), o equilíbrio ácido-base e a contração muscular [1, 23, 76, 77].

O potássio é absorvido no intestino delgado. Os rins mantêm as concentrações séricas normais de potássio através da sua capacidade de filtrar, reabsorver e excretar [23] sob a influência do hormônio aldosterona [78]. Aproximadamente 80 a 90% do potássio ingerido é excretado pelos rins, e o restante pelo suor e pelas fezes. Este controle preciso é necessário porque muitas das funções celulares são sensíveis às alterações da concentração do potássio no líquido extracelular [1, 23].

A ingestão adequada do potássio é de aproximadamente 4,7 g/dia para adultos de 18 a 50 anos. O limite superior tolerável de ingestão ainda não foi estabelecido [54, 55]. Dietas com baixo teor de potássio foram relacionadas ao aumento da hipertensão arterial e arritmias cardíacas [79].

3.2.1 Potássio e atividade física

A liberação de potássio dos músculos para a corrente sanguínea, durante o exercício físico intenso, está diretamente relacionada com a intensidade em que se realiza a atividade física [80, 81].

O aumento de potássio na corrente sanguínea (hipercalemia) reduz a excitabilidade muscular, podendo causar fadiga e câimbra muscular, prejudicando o desempenho do atleta [80-84]. Variações súbitas nos níveis plasmáticos (excessivos) podem afetar a contração do miocárdio e em casos extremos levar à morte súbita [85]. Esta ocorre em uma frequência maior entre corredores de fundo do que em atletas de outras modalidades [86]. A morte súbita entre os maratonistas tem sido estimada em um atleta morto para cada 50.000 (0,002%) [86-89].

Níveis elevados de potássio podem ocorrer também pelo consumo de altas doses de suplementos e os sintomas incluem formigamento das mãos e dos pés, fraqueza muscular e paralisia temporária. Em casos extremos pode ocorrer arritmia cardíaca [90].

A hipocalemia (diminuição da concentração de potássio no sangue) resulta na redução do potencial de repouso da membrana celular, no aumento da excitabilidade dos neurônios e das células cardíacas e musculares. Os sintomas são em geral mal-estar, fadiga, fraqueza muscular progressiva, arritmia cardíaca e parada cardíaca nos casos mais graves. Embora não existam dados precisos de sua incidência associada ao exercício prolongado o interesse em sua avaliação tem aumentado na medicina esportiva devido aos transtornos causados, pois sua baixa concentração, mesmo que instantânea, diminui o desempenho do atleta [91].

3.3 Cloro

O cloro, encontrado no corpo humano na forma de cloreto, predomina no compartimento extracelular (principal ânion) e pode deslocar-se livremente através das membranas, difundindo-se rapidamente entre o líquido intracelular e o extracelular. Combina-se com o sódio no líquido extracelular e com o potássio no líquido intracelular para manter a pressão osmótica e o equilíbrio ácido-base do organismo. Sua difusibilidade facilita também o transporte de gases no sangue [79, 92].

O cloreto é absorvido no trato gastrointestinal, filtrado nos glomérulos renais e reabsorvido junto com o sódio nos túbulos proximais. O cloreto em excesso é excretado principalmente na urina e também perdido no suor [1].

A ingestão adequada de cloreto para adultos de 18 a 50 anos é estabelecida em 2,3 g/dia, e vai diminuindo gradualmente depois dos 50 anos. Em atletas este valor varia de acordo com a ingestão de sódio. O limite superior tolerável de ingestão para adultos é de 3,6 g/dia [54, 55].

3.3.1 Cloro e atividade física

Disfunções do cloro são causadas pela variação anormal de sódio no sangue [23].

3.4 Cálcio

O cálcio é o mineral mais abundante no organismo. Constitui cerca de 1,5% a 2% do peso corporal. A sua principal função é estrutural, aproximadamente 99% do cálcio encontrado no corpo está nos ossos e dentes e 1% restante está no sangue, nos fluidos extracelulares e dentro das células de todos os tecidos [1, 30].

O cálcio tem participação em muitas funções metabólicas do organismo: na transmissão de impulsos nervosos, na regulação das contrações musculares, na coagulação sanguínea, na ativação de várias enzimas, na permeabilidade das membranas celulares, auxilia na manutenção do equilíbrio ácido-base e na liberação de insulina do pâncreas para o sangue. Além disso, atua também como sinalizador intracelular, afetando a instabilidade da membrana celular controlando a sua permeabilidade e suas propriedades elétricas [1, 23].

O cálcio é absorvido por todas as partes do intestino delgado, mas a absorção mais rápida ocorre no duodeno e é eliminado do corpo através da urina, fezes e suor (FIG. 1). A quantidade de cálcio perdida na transpiração é cerca de 15 mg/dia [1].

FIGURA 1 – Metabolismo do cálcio no corpo humano [93]

A ingestão adequada do cálcio é de aproximadamente 1 g/dia para adultos e o limite superior tolerável de ingestão é de 2,5 g/dia [54]. Quando a ingestão não é adequada, o cálcio é mobilizado dos estoques corporais localizados nos ossos para o sangue e para o líquido extracelular (FIG. 1) [18].

3.4.1 Cálcio e atividade física

O exercício físico pode levar a um aumento ósseo, através da fixação de cálcio, e sua prática regular pode adiar o surgimento de fraturas e osteoporose [18, 30]. Mudanças no metabolismo do cálcio durante o exercício dependem da intensidade com que é praticado [94, 95].

No osso, o exercício de resistência aumenta a sua densidade, força e formação. Por outro lado, o exercício extenuante, como corridas de longa distância, diminui a concentração sérica de cálcio e aumenta a excreção urinária, o que resulta em diminuição da densidade óssea [95], que pode levar a fraturas por estresse [33]. Para o gênero feminino, esses fatores levam a "Tríade da Mulher Atleta" (TMA) que é caracterizada pela desordem alimentar, amenorréia (ausência de menstruação) e osteoporose [30, 96, 97].

A suplementação de cálcio, para atletas, pode ser utilizada na prevenção da perda de massa óssea, principalmente em mulheres. Entretanto, ainda não há consenso quanto ao seu uso [30, 34], pois o excesso de cálcio no organismo pode levar ao comprometimento da absorção do ferro e do zinco e ao surgimento de cálculos renais [18].

3.5 Magnésio

O corpo humano possui entre 21 a 28 g de magnésio, dos quais 53% nos ossos, 27% nos músculos, 19% em tecidos moles, 0,5% nas hemácias e 0,3% no soro [98].

O magnésio está envolvido em mais de 300 reações metabólicas essenciais; atua também na produção de energia aeróbia e anaeróbia, na síntese de proteínas e duplicação dos ácidos nucleicos (DNA e RNA), no crescimento e reprodução celular, na contração muscular e no controle da pressão sanguínea [25, 30, 99].

O magnésio é absorvido no trato intestinal [98] e eliminado principalmente pela urina e uma pequena quantidade pelo suor [99].

A ingestão adequada recomendada de magnésio para adultos varia de 400-420 mg/dia para homens e de 310-320 mg/dia para mulheres. Os limites toleráveis de ingestão de suplementos são de 350 mg/dia [54,100]. Indivíduos que consomem suplementos em quantidades excessivas podem ter efeitos adversos como náusea, vômito e diarreia [23].

3.5.1 Magnésio e atividade física

Durante a atividade física o magnésio se movimenta do plasma para as hemácias, tecido adiposo e muscular (FIG. 2), para a produção de energia e prevenção do estresse oxidativo. Esta redistribuição de magnésio no organismo ocorre para os tecidos com maior necessidade metabólica durante a atividade física: muscular e adiposo. A quantidade de magnésio que atravessa o meio extracelular para estes tecidos é regulada pelo nível de produção de energia requerida pela atividade física [101].

FIGURA 2 – Comportamento do fluxo de magnésio durante a atividade física [101]

Após a atividade física ocorre uma redistribuição do magnésio a partir dos tecidos para a circulação (FIG. 3). O magnésio é mobilizado a partir do osso, bem como dos tecidos moles, músculo e tecido adiposo, para restaurar a concentração de magnésio plasmático prévia ao exercício. No tecido muscular ocorre uma compensação de magnésio entre músculo e corrente sanguínea e o grau de dano muscular, causado pela atividade física (duração e intensidade), pode aumentar a liberação de magnésio, enquanto que no tecido adiposo o magnésio remanescente (não utilizado na lipólise) retorna para a corrente sanguínea [101, 102].

FIGURA 3 – Comportamento do fluxo de magnésio após a atividade física [101]

A deficiência de magnésio aumenta a produção de radicais livres, levando a alterações nas membranas celulares e ao aumento nas concentrações de cálcio intracelular. Este aumento dificulta a contração muscular, facilita a suscetibilidade a lesões e conseqüentemente prejudica o desempenho físico [31, 103].

Os atletas submetidos a treinamento físico intenso, por longos períodos, podem apresentar perdas elevadas de magnésio pela urina e pelo suor [99,104]. Por esta razão a necessidade de magnésio no organismo destes indivíduos é de 10-20% mais elevada do que de uma pessoa sedentária [101].

3.6 Enxofre

O enxofre representa 0,25% do peso corporal total e está presente em todas as células do organismo. É encontrado no corpo em uma grande variedade de formas, como aminoácidos e íons de sulfato e sulfeto [23].

O enxofre está envolvido no mecanismo de transferência de energia e nos processos básicos de manutenção da vida, tais como fotossíntese, fixação de nitrogênio e fosforilação oxidativa. O enxofre é importante nos tecidos densos como cabelos, unhas e cartilagens. Constituinte dos aminoácidos taurina, metionina, cistina e cisteína e é indispensável para a síntese do colágeno [1, 23].

A absorção de sulfato ocorre no estômago, intestino delgado e cólon [55]. O enxofre inorgânico em excesso, gerado como resultado do metabolismo hepático ou renal, é excretado na urina como sulfatos. O excesso de enxofre é eliminado pelas fezes [23].

Não existe uma quantidade recomendada de ingestão de enxofre. Entretanto, sua toxicidade pode ocorrer se aminoácidos que contêm enxofre forem ingeridos em grande quantidade [79].

3.6.1 Enxofre e atividade física

Não existem relatos de sua deficiência ou excesso relacionados ao treinamento físico intenso.

3.7 Iodo

O corpo humano contém aproximadamente 20 a 30 mg de iodo, com mais de 75% concentrado na glândula tireóide e o restante nas glândulas salivares, mamárias, gástricas e nos rins [1, 23].

O iodo é utilizado pela glândula tireóide na síntese dos hormônios tiroxina (T_4) e triiodotironina (T_3), hormônios que aceleram as reações químicas em todos os órgãos e tecidos do organismo, que controlam o crescimento, a reprodução, a função neuromuscular, auxiliam na manutenção do metabolismo celular, da síntese proteica e das atividades enzimáticas. O iodo estimula o sistema cardiovascular e a oxidação de açúcares, lipídios e proteínas, tendo um papel essencial em atletas [1, 23].

O iodo ingerido é absorvido na forma de íons iodeto no intestino delgado. No sangue se liga às proteínas transportadoras e é distribuído pelos músculos, glândula tireoide, pele e esqueleto. Sua excreção é feita pelos rins, e uma pequena quantidade pelas fezes e suor (FIG. 4) [105].

FIGURA 4 - Metabolismo do iodo no corpo humano [105]

A ingestão adequada de iodo diária recomendada é de 150 µg/dia para adultos. O limite superior tolerável de ingestão para adultos é estabelecido em 1100 µg/dia [54].

3.7.1 Iodo e atividade física

Vários estudos demonstram que as perdas de iodo pelo suor, em atletas com um programa diário de exercício intenso, resulta em um estado de deficiência de iodo com a possibilidade de hipofunção da tireóide e possíveis consequências que podem comprometer o desempenho atlético [106-108].

3.8 Zinco

O corpo humano possui aproximadamente de 2 a 3 g de zinco [1] distribuídos nos músculos, ossos, pele e fígado e apenas 0,1% do zinco corporal é encontrado no plasma [109].

O zinco é um componente essencial no metabolismo orgânico e atua como cofator em mais de 300 enzimas. Participa da respiração celular e da síntese do DNA e RNA, mantém a integridade das membranas celulares e está relacionado ao sistema endócrino e à resposta imune [25, 51, 90]. O zinco atua na transmissão de impulsos nervosos e no metabolismo energético [90].

O zinco é absorvido no intestino delgado e transportado no plasma pelas proteínas albumina e α_2 -macroglobulina. A principal forma de eliminação do zinco é pelas fezes, sendo também eliminado pela urina e suor [23]. Outras vias de excreção são as perdas pela descamação da pele, crescimento de pelos, sêmen e perda menstrual [2].

A ingestão adequada de zinco recomendada para adultos é de 8 mg/dia para mulheres e 11 mg/dia para homens e o limite superior tolerável de ingestão é estabelecido em 40 mg/dia [54].

3.8.1 Zinco e Atividade Física

O zinco é um nutriente com papel biológico essencial nos mecanismos de proteção antioxidante. A atividade física intensa reduz a concentração de zinco plasmático e pode aumentar o risco de infecções em atletas [2].

Atletas de ambos os gêneros apresentam menores concentrações de zinco em sangue quando comparados com indivíduos sedentários [110]. A prevalência é maior entre as mulheres [25] e podem ser causadas por: baixa ingestão pela dieta, perda excessiva durante os exercícios (através do suor e da urina), expansão do volume plasmático durante o treino resultando em

hemodiluição (diluição da concentração de zinco no sangue) e também pela redistribuição do zinco plasmático para outros tecidos [2,18,102].

De acordo com Lukaski [25] aproximadamente 25% dos competidores de corrida (homens) tem valores de zinco sérico abaixo do valor normal recomendado. Um estudo mais recente, realizado por Shils e colaboradores [111], relata que os hábitos alimentares contribuem para esta baixa concentração de zinco por adotarem uma dieta rica em carboidratos e pobre em proteínas e lipídios. Além disso, o exercício intenso e prolongado, principalmente quando realizado em ambiente quente, pode aumentar a excreção de zinco pelo suor e pela urina [2]. Portanto, a baixa ingestão de zinco associado ao aumento da sua excreção (suor) pode ser responsável pela baixa concentração plasmática de zinco observada em muitos atletas.

A deficiência de zinco pode causar anorexia, perda excessiva de peso corporal, fadiga, queda no rendimento em provas de resistência, prejuízo na recuperação muscular pós exercício, diminuição da proteção antioxidante e risco de osteoporose, prejudicando o desempenho e a saúde do atleta [18, 112].

A suplementação de zinco deve ser feita com cuidado porque uma ingestão elevada pode inibir a absorção de outros minerais e provocar redução do HDL-colesterol. Quando corretamente dimensionada pode ser eficaz no aumento da defesa antioxidante [2, 18, 113].

3.9 Ferro

O corpo humano possui cerca de 3 a 5 g de ferro [114], que é encontrado: principalmente na hemoglobina (60 a 70%) do sangue, na mioglobina (10%) do músculo, no plasma sanguíneo na forma de transferrina e armazenado no fígado, baço e medula óssea na forma de ferritina e hemossiderina [1, 30].

O ferro desempenha importantes funções no metabolismo humano, tais como: transporte e armazenamento de oxigênio, reações de liberação de energia e biossíntese de algumas moléculas orgânicas. O ferro é também um elemento

fundamental para o funcionamento do sistema cardíaco, da atividade imunológica e da função cerebral, entre outros [1, 30].

A maior parte do ferro utilizado pelo organismo é reciclado das hemácias (células que contém a hemoglobina) envelhecidas; essas hemácias, após 120 dias de vida, são retiradas da circulação e destruídas (hemólise), enquanto o ferro, um dos seus constituintes, é reaproveitado para o armazenamento e formação de novas células sanguíneas [104]. O restante do ferro utilizado pelo organismo provém da dieta e é encontrado sob duas formas: ferro heme ou ferro ferroso, presente em alimentos de origem animal, e ferro não heme ou férrico, presente em alimentos de origem vegetal [115]. Após ser absorvido no intestino o ferro é transportado pelo sistema circulatório via transferrina e então armazenado no fígado sob a forma de ferritina (FIG. 5) [1, 23, 33].

O ferro é eliminado pelo corpo, em quantidades muito pequenas, através das fezes, suor, cabelos e descamação da pele ou, em quantidades mais significativas, em caso de sangramento [18].

A ingestão adequada de ferro recomendada para adultos é de 8 mg/dia para homens e 18 mg/dia para mulheres que requerem mais ferro devido à perda de sangue no período menstrual. O limite superior tolerável de ingestão para adultos é estabelecido em 45 mg/dia [54].

FIGURA 5 – Metabolismo do ferro no corpo humano [2]

3.9.1 Ferro e atividade física

A importância do ferro para o desempenho físico está relacionada com o seu papel no transporte de oxigênio e produção de energia [18], desta forma a deficiência de ferro leva à perda da capacidade oxidativa das células, gerando fraqueza e alterações metabólicas [34].

Os atletas, principalmente os que participam de provas de resistência, tendem a apresentar deficiência de ferro [114]. Essa deficiência pode ser causada tanto pela sua ingestão inadequada quanto pelo aumento da perda de ferro durante a realização da atividade física, ou seja, a ocorrência da destruição da hemácia por impacto do pé com o chão durante a corrida e hematúria (presença de sangue na urina), devido à destruição das hemácias, que ocorre com o aumento da temperatura corporal [30, 114]. A deficiência severa de ferro resulta em anemia [116].

Os atletas, comparados à população em geral, apresentam baixas concentrações de hemoglobina e isto é conhecido como anemia do esportista ou pseudoanemia dilucional. Isto ocorre devido ao aumento do volume plasmático*, que ocasiona a diluição das hemácias, resultando na diminuição da concentração de hemoglobina no sangue [117, 118]. Entretanto, os atletas também podem desenvolver anemia causada por deficiência de ferro (anemia ferropriva) e a prevalência deste tipo de anemia é maior em atletas do que em indivíduos sedentários, especialmente no gênero feminino [25, 116]. A anemia ferropriva reduz o desempenho do atleta no exercício, à medida que limita o transporte de oxigênio para os músculos em atividade, além de aumentar a concentração de lactato sanguíneo (aumento da respiração anaeróbica), causando fadiga e diminuindo a sua capacidade de recuperação [2, 34].

A utilização de suplementos é comum em atletas, mas deve ser feita com rigoroso controle, pois o excesso de ferro no organismo pode ser tóxico e com efeitos danosos principalmente no fígado, o que pode aumentar os riscos de desenvolvimento de câncer e infarto agudo do miocárdio [18].

*Com a prática regular de atividade física intensa ocorre a perda do volume plasmático (VP) pelo suor. O organismo “percebe esta perda” e passa ao processo de adaptação para manutenção do VP, ou seja, com a periodicidade dos treinos este mecanismo se inverte, aumentando o VP durante a atividade física. Importante salientar que este aumento de VP é benéfico ao atleta, pois melhora a condição de oxigenação das células (aumento da capacidade de respiração aeróbica).

3.10 Bromo

O bromo é encontrado no corpo humano em pequenas quantidades, de 200-350 mg, ligado a proteínas e aminoácidos. Órgãos com alto teor de bromo são cabelos (30 µg/g), fígado (40 µg/g), pulmões (6,0 µg/g) e testículos (5,0 µg/g). Suas funções não são definidas e seu possível papel biológico pode estar associado ao balanço eletrolítico; a principal via de excreção do bromo é a urinária [109].

Não existe uma quantidade recomendada de ingestão de bromo. A toxicidade por brometos provoca alterações psicóticas no comportamento [15].

3.10.1 Bromo e atividade física

Não existem dados relacionados a disfunções causadas pela variação anormal de bromo em sangue de atletas. Entretanto, a concentração de bromo em sangue na população brasileira é bem diversificada e apresenta índices elevados em função da localização geográfica, hábitos alimentares e alto consumo de medicamentos ricos em brometos [4].

CAPÍTULO 4 - MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Metodologia de ativação com nêutrons

O método denominado Análise por Ativação com Nêutrons consiste em irradiar um material utilizando nêutrons produzidos a partir de um reator nuclear ou fontes de nêutrons [119]. Cada elemento constituinte do material ao tornar-se radioativo emite uma radiação gama (γ) característica, com energia de emissão bem estabelecida. A partir da medida de radiação emitida por esses núcleos radioativos é possível obter informações da composição do material ativado através das análises qualitativas e quantitativas dos elementos químicos presentes na amostra [120].

No método de ativação, denominado instrumental, a amostra e o padrão (material de referência com teor conhecido dos elementos a serem determinados) devem ser irradiados sob a mesma intensidade do feixe de nêutrons garantindo assim as mesmas condições de irradiação. A equação geral que fornece a atividade induzida por um fluxo de nêutrons é expressa por [119]:

$$A = \frac{N_A \cdot \phi \cdot \sigma \cdot m \cdot f \cdot F}{M} \cdot (1 - e^{-\lambda T_i}) \quad (1)$$

onde:

- N_A número de Avogadro (tabelado);
- ϕ fluxo de nêutrons;
- σ secção de choque de ativação (tabelado) [121];
- m massa da amostra;
- f fração do isótopo que irá sofrer a ativação;
- F fração do elemento ativado;
- T_i tempo de irradiação;
- M massa atômica do elemento;
- λ constante de desintegração (tabelado) [122].

Desta forma, a razão entre as atividades (amostra e padrão) reduz-se a,

$$\frac{A_{am}}{A_{pd}} = \frac{m_{am}}{m_{pd}} \quad (2)$$

onde:

- A_{am} atividade da amostra;
- A_{pd} atividade do padrão (conhecida);
- m_{am} massa do elemento na amostra (estabelecida);
- m_{pd} massa do elemento no padrão (estabelecido).

Conhecendo a atividade da amostra é possível calcular a concentração do elemento através da equação (3), inserindo um fator de correção devido à diferença de tempo entre a medida do padrão e da amostra.

$$C_{am} = C_{pd} \cdot \frac{A_{am}}{A_{pd}} \cdot \frac{m_{pd}}{m_{am}} \cdot e^{\lambda t} \quad (3)$$

onde:

C_{am} concentração do elemento na amostra;

C_{pd} concentração do elemento no padrão (conhecido);

A_{am} área da transição gama referente a amostra (calculada pelo programa IDF) [123];

A_{pd} área da transição gama referente ao padrão (calculada pelo programa IDF) [123];

m_{pd} massa do padrão;

m_{am} massa da amostra;

λ constante de desintegração (tabelado) [122];

t intervalo de tempo entre o término da contagem do padrão e o início da contagem da amostra.

Desta forma obtém-se a concentração dos elementos ativados nas amostras biológicas em questão.

4.2 Fonte de nêutrons: reator IEA-R1

As irradiações das amostras foram realizadas no reator nuclear IEA-R1 do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN-SP). Este reator é do tipo piscina: possui cerca de 9 m de profundidade por 3,05 m de largura e 10,65 m de comprimento e contêm 273 m³ de água desmineralizada (FIG. 6).

O núcleo do reator está situado a 6,9 m da superfície da piscina e tem como combustível urânio enriquecido a 20% no isótopo U²³⁵ e como moderador / refrigerador água leve [124]. Na realização deste trabalho o reator operou a uma potência de 3,0 a 4,5 MW, para um intervalo de fluxo de nêutrons térmicos de 4,32·10¹² n·cm⁻²·s⁻¹ a 8,16·10¹² n·cm⁻²·s⁻¹.

FIGURA 6 - Reator de pesquisa IEA - R1 (IPEN/CNEN-SP)

4.3 Instrumentação Nuclear

A instrumentação nuclear instalada no LEER, utiliza um espectrômetro gama constituído por um detector semicondutor de Germânio hiperpuro (HPGe) de 198 cm^3 , modelo ORTEC - GEM-60195, montado no interior de uma blindagem de chumbo, conforme mostra a FIG. 7. Este tipo de blindagem minimiza a radiação de fundo do laboratório. Um suporte circular de lucite, centralizado sobre a face do detector, sustenta a amostra a uma distância de 12,5 cm, que atenua efeitos secundários de detecção como soma e empilhamento, causados pelas transições gama mais intensas. Entre a fonte e o detector não há nenhum tipo de absorvedor, o que minimiza os efeitos de absorção e espalhamento.

FIGURA 7 - Arranjo experimental com detector HPGe do espectrômetro gama no LEER

O sistema de aquisição de dados é constituído de um amplificador linear (ORTEC – modelo 671), operando em modo de rejeição (pile up) e um analisador multicanal ADCAM, (ORTEC – modelo 918-A) ambos conectados a um microcomputador Intel Pentium III (FIG. 8).

FIGURA 8 - Sistema de aquisição de dados do LEER

Com a instrumentação descrita acima pode ser obtida a curva de calibração em energia do espectrômetro gama utilizando-se fontes padrão de: ^{60}Co , ^{109}Cd , ^{133}Ba , ^{137}Cs e ^{152}Eu , com a finalidade de associar a posição dos fotopicos dos espectros resultantes, ao longo dos 4096 canais com suas respectivas energias.

A curva de eficiência do detector, na geometria de detecção, pode ser obtida a partir de dados provenientes das fontes padrão de ^{152}Eu e ^{56}Co , que possuem valores de intensidade de suas transições gama, bem determinadas, obtidas da IAEA [125].

4.4 Casuística

Dois grupos de atletas foram investigados: atletas amadores (AA) e atletas de Elite (AE), em treinamento periodizado. As amostras foram coletadas no LABEX (CAAE: 0200.0.146.000-08 / Comitê de Ética e Pesquisa da UNICAMP). Todos os atletas tinham uma dieta balanceada sem suplementos nutricionais. Na TAB. 1 são apresentadas as informações sobre gênero, peso, altura, índice de massa corpórea (IMC), faixa etária, tempo de treinamento e volume semanal de treino, para os grupos de atletas investigados.

Para o grupo controle (GC) foram coletadas amostras de sangue total de doadores selecionados do Banco de Sangue Paulista em São Paulo [126], (68 homens e 52 mulheres) de mesma faixa etária e peso entre 50 e 85 Kg.

TABELA 1 - Informações sobre gênero, peso, altura, índice de massa corpórea, faixa etária, tempo de treinamento e desempenho do treino dos AA e AE

	AA $n^m = 26^a$	AE $n^m = 6^a$ $n^f = 4^b$
Peso (kg)	69,0 ± 10,1	67,9 ± 8,7
Estatura (cm)	174,00 ± 0,09	174,00 ± 0,10
IMC (kg/m ²)	22,7 ± 2,6	22,6 ± 2,5
Idade (anos)	34,8 ± 5,6	23,2 ± 4,0
Tempo de treinamento (anos)	4,7 ± 2,2	10,0 ± 5,7
Treinamento /semana (km)	37,3 ± 13,0	138,7 ± 20,3

n^m : número de atletas do gênero masculino

n^f : número de atletas do gênero feminino

^a hematócrito na média de 42 %

^b hematócrito na média de 38 %

4.5 Coleta e preparo das amostras

Os atletas amadores foram submetidos à corrida de 10 km em esteira ergométrica em velocidades constantes, correspondentes ao limiar ventilatório, ponto de compensação respiratória e VO₂ máx, determinadas em teste de esforço máximo incremental acoplado a um analisador de gases [127]. As amostras de sangue foram coletadas por punção digital, utilizando um capilar (Clinitubes®, Radiometer Copenhagen®; 210 µL) nos momentos antes (repouso), durante (a cada 2 km) e ao término do exercício. Imediatamente após a coleta, antes da coagulação, alíquotas de 25, 50 e 100 µL foram pipetadas em papel de filtro tipo Whatman n^o 41 (área de deposição de aproximadamente 2,0 cm²), (FIG. 9). Cada amostra foi submetida à secagem utilizando luz infravermelha por alguns minutos, para secagem.

FIGURA 9 – Coleta de sangue por punção digital (esquerda); amostras de sangue total em papel de filtro (direita)

Para os atletas de elite foram coletadas por punção venosa (FIG. 10), cerca de 2 mL de sangue total em tubo seco (sem anticoagulante), no repouso. Imediatamente após a coleta, antes da coagulação, alíquotas de 500 μ L foram pipetadas em cápsulas de polietileno com dimensão de 0,2 cc. Nenhum anticoagulante foi utilizado. Cada amostra foi submetida à secagem utilizando luz infravermelha por alguns minutos, para secagem.

Para o grupo controle foram coletadas por punção venosa, cerca de 3 ml de sangue total em tubo seco. Imediatamente após a coleta, antes da coagulação, alíquotas de 25, 50 e 100 μ L de sangue foram pipetadas em papel de filtro tipo Whatman nº 41 (área de deposição de aproximadamente 2,0 cm²), (FIG. 9) e amostras de 500 μ L foram pipetadas em cápsulas de polietileno. Cada amostra foi submetida à secagem utilizando luz infravermelha por alguns minutos, para secagem.

FIGURA 10 – Coleta de sangue por punção venosa

Posteriormente as amostras foram armazenadas em recipiente apropriado. Não necessitam ficar sob refrigeração e podem ser armazenadas por longos períodos (anos), dependendo da durabilidade do papel ou da cápsula de polietileno.

FIGURA 11 – Armazenamento das amostras

Todas as coletas foram realizadas por pessoal autorizado e sem a utilização de anticoagulante e reagente. Para os atletas as amostras foram coletadas no LABEX (UNICAMP) e para o grupo controle a coleta foi realizada no Banco de Sangue Paulista. Todas as amostras foram enviadas ao LEER (IPEN) para a irradiação com nêutrons.

4.6 Irradiações das amostras

As amostras de sangue foram irradiadas na Estação de Irradiação (FIG. 12) localizada na parte externa do prédio do reator do IPEN. Cada amostra de sangue foi colocada no interior do invólucro padrão de irradiação (“coelho”), com dimensões de 2,5 cm diâmetro interno; 3,0 cm diâmetro externo e 7,0 cm de comprimento (FIG. 12, direita), juntamente com a amostra de solução padrão (material de referência certificado), e submetida à irradiação com nêutrons no reator IEA-R1 (IPEN/CNEN-SP) por minutos. Na FIG. 12 são apresentados detalhes deste sistema de irradiação.

FIGURA 12 - Sistema de Irradiação (esquerda); detalhe do sistema (direita)

Em função das diferentes quantidades de material biológico disponível (sangue), diferentes tempos de irradiação (T_i) e de contagem (T_c) foram empregados. Na TAB. 2 são apresentadas as condições experimentais estabelecidas para: volume (quantidade de sangue), T_i e T_c .

TABELA 2 – Condições experimentais para a realização das medidas utilizando a técnica de análise por ativação com nêutrons em sangue: volume, elemento ativado, T_i e T_c .

Volume (μL)	Elementos	T_i	T_c
25	Br, Ca, Cl, I, Na, S	300 s	1800 s
50 e 100	Br, Ca, Cl, I, K [*] , Mg, Na, S	240 s	1800 s
500	Br, Ca, Cl, I, K, Mg, Na, S	120 s	900 s
500	Fe, Zn	4 h	1 h

* tempo de contagem de 1 hora para determinação de K em amostras de 50 μL

Concluída a irradiação, amostra e padrão foram levados para o laboratório para contagem no espectrômetro gama. Os espectros de raios gama foram analisados utilizando-se o programa IDEFIX [123] e a concentração de cada elemento foi obtida usando o software Ativação [128]. Na TAB. 3 são apresentadas as propriedades nucleares relacionadas aos elementos ativados em sangue e nas FIG. 13 e 14 são apresentados os espectros de raios gama do sangue ativado. Na FIG. 13 são apresentados os espectros de raios gama de 100 μL de sangue irradiado por 240 s e submetido a 1800 s de contagem com o detector de HPGe e na FIG. 14 são apresentados os espectros de raios gama de 500 μL de sangue irradiado por 4 h e submetido a 1 h de contagem com o detector de HPGe.

TABELA 3 - Propriedades nucleares relacionadas aos elementos ativados em sangue: composição isotópica (%), isótopo a ser ativado, reação induzida por nêutrons (n, γ), energia dos raios γ emitidos (E_γ) e o tempo de meia-vida ($T_{1/2}$) associada ao isótopo ativado

Composição Isotópica de X (%)	Isótopos X^A	Reação Nuclear NA (n, γ) NP $\rightarrow$ ($T_{1/2}$)	Energia do Raio γ (E_γ) emitido por NP (keV)
24,23	Cl ³⁷	Cl ³⁷ (n, γ) Cl ³⁸ $\rightarrow$ (37,24 minutos)	1642
6,73	K ⁴¹	K ⁴¹ (n, γ) K ⁴² $\rightarrow$ (12,36 horas)	1525
100	Na ²³	Na ²³ (n, γ) Na ²⁴ $\rightarrow$ (14,96 horas)	1369
50,69	Br ⁷⁹	Br ⁷⁹ (n, γ) Br ⁸⁰ $\rightarrow$ (17,7 minutos)	616
49,31	Br ⁸¹	Br ⁸¹ (n, γ) Br ⁸² $\rightarrow$ (35,3 horas)	1044
0,28	Fe ⁵⁸	Fe ⁵⁸ (n, γ) Fe ⁵⁹ $\rightarrow$ (44,5 dias)	1099
100	I ¹²⁷	I ¹²⁷ (n, γ) I ¹²⁸ $\rightarrow$ (24,99 minutos)	443
11,01	Mg ²⁶	Mg ²⁶ (n, γ) Mg ²⁷ $\rightarrow$ (9,46 minutos)	844
48,6	Zn ⁶⁴	Zn ⁶⁴ (n, γ) Zn ⁶⁵ $\rightarrow$ (244 dias)	1116
0,187	Ca ⁴⁸	Ca ⁴⁸ (n, γ) Ca ⁴⁹ $\rightarrow$ (8,72 minutos)	3084
0,02	S ³⁶	S ³⁶ (n, γ) S ³⁷ $\rightarrow$ (5,05 minutos)	3103

A: número de massa

X: elemento químico

NA: núcleo alvo (sangue)

NP: núcleo produzido após o bombardeio com nêutrons (sangue radioativo)

$T_{1/2}$: tempo de meia-vida

FIGURA 13 - Espectros de raios γ de 100 μ L de sangue irradiado por 240 s e submetido a 1800 s de contagem com o detector de HPGe; os raios γ não identificados compõem a radiação de fundo (Bg) do laboratório (LEER)

FIGURA 13 – (continuação) Espectros de raios γ de 100 μL de sangue irradiado por 240 s e submetido a 1800 s de contagem com o detector de HPGe; os raios γ não identificados compõem a radiação de fundo (Bg) do laboratório (LEER)

FIGURA 13 – (continuação) Espectros de raios γ de 100 μ L de sangue irradiado por 240 s e submetido a 1800 s de contagem com o detector de HPGe; os raios γ não identificados compõem a radiação de fundo (Bg) do laboratório (LEER)

FIGURA 13 – (continuação) Espectros de raios γ de 100 μL de sangue irradiado por 240 s e submetido a 1800 s de contagem com o detector de HPGe; os raios γ não identificados compõem a radiação de fundo (Bg) do laboratório (LEER)

FIGURA 14 - Espectros de raios γ de 500 μ L de sangue irradiado por 4 h e submetido a 1 h de contagem com o detector de HPGe; os raios γ não identificados compõem a radiação de fundo (Bg) do laboratório (LEER)

FIGURA 14 - (continuação) Espectros de raios γ de 500 μL de sangue irradiado por 4 h e submetido a 1 h de contagem com o detector de HPGe; os raios γ não identificados compõem a radiação de fundo (Bg) do laboratório (LEER)

De acordo com as FIG. 13 e 14 os elementos Al, Br, Ca, Cl, Co, Cr, Cu, Fe, I, K, Mg, Mn, Mo, Na, Rb, S, Ti, V e Zn foram ativados em sangue. É importante ressaltar que embora o objetivo da investigação esteja direcionada aos elementos Br, Ca, Cl, Fe, I, K, Mg, Na, S e Zn a técnica de AAN tem potencial para avaliação de outros elementos utilizando pequena quantidade de sangue.

4.7 Qualidade das medidas

Para o controle de qualidade das medidas foi utilizado padrão de referência de sangue (AIEA A-13) e de músculo bovino (NIST 8414). Os valores apresentados na TAB. 4 indicam que os resultados são satisfatórios considerando o intervalo de confiança de 95% ($|Z\text{-score}| < 2$).

TABELA 4 - Concentrações (Média $\pm$ 1DP) dos elementos medidos nos materiais de referência de sangue (AIEA A-13) e músculo (NIST 8414)

Elemento	Presente Estudo	Valor Certificado	Z- score
Br, mgkg ⁻¹	221,8 $\pm$ 1,7	220 $\pm$ 20 ^a	0,10
Ca, mgkg ⁻¹	291 $\pm$ 29	286 $\pm$ 54 ^a	0,09
	135 $\pm$ 14 ^b	145 $\pm$ 20 ^b	0,50
Cl, gkg ⁻¹	13,61 $\pm$ 0,41	13,40 $\pm$ 1,07 ^{a,*}	0,20
	0,188 $\pm$ 0,015	0,194 $\pm$ 0,013 ^b	0,40
Fe, mgkg ⁻¹	2469 $\pm$ 138	2400 $\pm$ 144 ^a	0,48
I, mgkg ⁻¹	0,042 $\pm$ 0,008	0,035 $\pm$ 0,012 ^b	0,58
K, gkg ⁻¹	2,54 $\pm$ 0,50	2,50 $\pm$ 0,35 ^a	0,10
Mg, mgkg ⁻¹	111 $\pm$ 16	99 $\pm$ 29 ^a	0,43
Na, gkg ⁻¹	12,9 $\pm$ 0,24	12,60 $\pm$ 1,01 ^a	0,30
	2,11 $\pm$ 0,10	2,10 $\pm$ 0,08 ^b	0,10
S, gkg ⁻¹	6,62 $\pm$ 0,92	6,50 $\pm$ 0,52 ^a	0,12
Zn, mgkg ⁻¹	13,72 $\pm$ 1,55	13,00 $\pm$ 1,04 ^a	0,21

^a IAEA A -13

^b NIST 8414

* não certificado

4.8 Controle do “branco” (invólucros das amostras)

Os elementos Ca e Mg foram identificados no papel de filtro mas não interferem nos resultados, pois se encontram dentro da incerteza associada. Verificou-se também a presença de Cl e Na em baixa concentração ($0,061 - 0,073 \text{ gL}^{-1}$ para Cl e $0,012 - 0,014 \text{ gL}^{-1}$ para Na). A cápsula de polietileno também foi investigada e os elementos Ca e Mg foram identificados mas em baixa concentração, dentro da incerteza associada.

CAPITULO 5 - RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Apresentação dos resultados e tratamento estatístico

Os resultados das concentrações dos elementos investigados em sangue serão apresentados seguindo a seguinte ordem:

- Concentrações dos elementos Br, Ca, Cl, I, K, Mg, Na e S em sangue medidos em GC, AA e AE e Fe e Zn medidos em GC e AE;
- Concentrações dos elementos Br, Ca, Cl, Fe, I, K, Mg, Na, S e Zn em sangue medidos em AE em função do gênero;
- Concentrações dos elementos Br, Ca, Cl, I, K, Mg, Na e S em sangue medidos em AA antes e após o treino;
- Concentrações dos elementos Br, Ca, Cl, I, K, Mg, Na e S em sangue medidos em AA durante o treino;
- Concentrações dos elementos Br, Ca, Cl, I, K, Mg, Na e S em sangue medidos em AA para diferentes intensidades de VO_2 máx.

Para discutir os resultados das concentrações no GC, AA e AE os seguintes tratamentos estatísticos foram aplicados:

- Distribuição *t-student* para comparação dos valores das concentrações entre GC e AA, GC e AE, AA e AE, AE e gênero, AA (antes) e AA (após o treino);
- Coeficientes de correlação de Pearson (CP) para verificar as relações inter-elementos entre AA e AE.

Em todos os testes foi fixado em 0,05 o nível de significância.

Considerando que a população de estudo do grupo de AE (abrange ambos os gêneros) as análises (*t-student*) foram realizadas primeiramente entre GC e AE em função do gênero, onde foi observada a necessidade de utilizar valores de referência diferenciados para Fe e Zn em AE. Desta forma, na TAB. 5

são apresentados os valores já discriminados, em função do gênero, para Fe e Zn no grupo AE.

Os coeficientes de Pearson foram utilizados para comparar as relações inter-elementos entre os grupos de atletas (amador e elite), ou seja, foram geradas as correlações para AA e AE para elementos Br, Ca, Cl, I, K, Mg, Na e S. Para Fe e Zn as correlações foram elaboradas em função do gênero para AE.

Além da análise estatística foram realizados estudos comparativos entre GC e AA, GC e AE e AA e AE utilizando as razões entre as médias das concentrações para avaliação das similaridades.

5.2 Concentrações dos elementos em sangue de AA e AE

Na TAB. 5 são apresentados os resultados das concentrações expressas pelo Valor Médio (VM) e Desvio Padrão ($\pm 1DP$) de AA e de AE em sangue total, no repouso, bem como os valores de referência considerando intervalo de confiabilidade de 95% (usualmente usado na prática clínica). Os resultados do GC foram incluídos para comparação. Para visualização dos resultados foi elaborada a FIG. 15. Como as concentrações de Fe e Zn foram determinadas somente nos GC e AE essas comparações são apresentadas na FIG. 16.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

TABELA 5 - Concentrações dos elementos medidos em sangue total para o GC, AA e AE em repouso. Os valores de referência para os grupos foram incluídos para comparação

Elementos	VM $\pm$ 1DP [valores de referência]*		
	GC n = 120	AA n = 26	AE n = 10
Br , gL ⁻¹	0,0190 $\pm$ 0,0058 [0,0074 – 0,0306]	0,0068 $\pm$ 0,0014 [0,0040 – 0,0096]	0,0027 $\pm$ 0,0004 [0,0019 – 0,0035]
Ca , gL ⁻¹	0,245 $\pm$ 0,097 [0,051 – 0,439]	0,286 $\pm$ 0,062 [0,162 – 0,410]	0,108 $\pm$ 0,022 [0,064 – 0,152]
Cl , gL ⁻¹	3,05 $\pm$ 0,49 [2,07 – 4,03]	3,28 $\pm$ 0,54 [2,20 – 4,36]	3,63 $\pm$ 0,52 [2,59 – 4,67]
Fe , gL ⁻¹	0,421 $\pm$ 0,066 ^m [0,289 – 0,553] ^m n ^m = 41	nd	0,583 $\pm$ 0,057 ^m [0,469 – 0,697] ^m n ^m = 6
	0,395 $\pm$ 0,059 ^f [0,277 – 0,513] ^f n ^f = 32	nd	0,384 $\pm$ 0,032 ^f [0,320 – 0,448] ^f n ^f = 4
I , µgL ⁻¹	86 $\pm$ 42 [2 – 170]	40 $\pm$ 10 [10 – 50]	23 $\pm$ 9 [5 – 41]
K , gL ⁻¹	1,64 $\pm$ 0,26 [1,12 – 2,16]	1,62 $\pm$ 0,49 [1,20 – 2,04]	2,02 $\pm$ 0,27 [1,48 – 2,56]
Mg , gL ⁻¹	0,032 $\pm$ 0,012 [0,008 – 0,056]	0,056 $\pm$ 0,016 [0,024 – 0,088]	0,034 $\pm$ 0,010 [0,014 – 0,054]

RESULTADOS E DISCUSSÕES

TABELA 5 – (continuação) Concentrações dos elementos medidos em sangue total para o GC, AA e AE em repouso. Os valores de referência para os grupos foram incluídos para comparação

Elementos	VM $\pm$ 1DP [valores de referência]*		
	GC n = 120	AA n = 26	AE n = 10
Na , gL ⁻¹	1,80 $\pm$ 0,29 [1,22 – 2,38]	2,01 $\pm$ 0,50 [1,01 – 3,01]	2,35 $\pm$ 0,34 [1,67 – 3,03]
S , gL ⁻¹	0,49 $\pm$ 0,14 [0,21 – 0,77]	0,65 $\pm$ 0,18 [0,29 – 1,01]	0,74 $\pm$ 0,09 [0,56 – 0,92]
Zn , mgL ⁻¹	6,0 $\pm$ 1,0 [4,0 – 8,0]	nd	6,6 $\pm$ 0,8 ^m [5,0 – 8,2] ^m n ^m = 6
		nd	5,3 $\pm$ 0,7 ^f [3,9 – 6,7] ^f n ^f = 4

*para o intervalo de confiabilidade de 95%

n: número de voluntários

AA: Atletas Amadores

AE: Atletas de Elite

f: feminino

m: masculino

nd: não determinado

FIGURA 15 - Comparativo entre as concentrações dos elementos Br, Ca, Cl, I, K, Mg, Na e S em sangue para o GC, AA e AE (repouso)

FIGURA 16 - Comparativo entre as concentrações dos elementos Fe e Zn em sangue para GC e AE (repouso) em função do gênero

Para discutir os resultados foi elaborada a FIG. 17 na qual é apresentada a avaliação da distribuição *t-student* entre os grupos investigados (FIG. 17A: GC e AA, FIG. 17B: GC e AE e FIG. 17C: AA e AE), considerando a população de estudo constituída somente por voluntários do gênero masculino.

FIGURA 17A – Avaliação da distribuição *t-student* ($p < 0,05$) entre o GC e AA para Br, Mg e S

FIGURA 17B – Avaliação da distribuição *t-student* ($p < 0,05$) entre o GC e AE para Br, Ca, Cl, Fe, K, Na, S e Zn

FIGURA 17C - Avaliação da distribuição *t-student* ($p < 0,05$) entre os AA e AE para Br, Ca, K e Mg

Essas figuras enfatizam alterações no sangue entre GC e AA para os elementos Br, Mg e S (FIG. 17A); somente para Mg entre GC e AE existe compatibilidade entre as estimativas. Entre os grupos de AA e AE também foram verificadas diferenças significativas para Br, Ca, K e Mg (FIG. 17C).

5.3 Concentrações dos elementos investigados em sangue dos AE em função do gênero

Com relação ao gênero, tanto para os AE como para o GC [4, 5, 7,17] existe compatibilidade entre as estimativas de Br, Ca, Cl, I, K, Mg, Na e S na faixa etária investigada. Entretanto para Fe e Zn não existe compatibilidade para o gênero masculino em relação ao GC (FIG. 17B) e nem entre gênero para os AE. Na FIG.18 são apresentados os resultados das concentrações dos elementos em sangue investigados nos AE em função do gênero, expressas percentualmente pelo valor médio e as FIG. 19 e 20 foram elaboradas para visualização individual dos resultados de Fe e Zn ($p < 0,05$).

FIGURA 18 - Comparativo entre as concentrações dos elementos Br, Ca, Cl, Fe, I, K, Mg, Na, S e Zn em sangue para os AE (repouso) em função do gênero

FIGURA 19 - Comparativo entre as concentrações individuais de Fe no sangue para os AE em função do gênero

FIGURA 20 - Comparativo entre as concentrações individuais de Zn no sangue para os AE em função do gênero

As FIG. 19 e 20 mostram que para o gênero masculino as concentrações de Fe (principalmente) e Zn são maiores, enfatizando a necessidade de adotar valores de referência diferenciados também em função do gênero. De acordo com Lancha e colaboradores [34] as mulheres possuem um requerimento de Fe maior do que os homens (ingestão adequada recomendada: 8 mg/dia para homens e 18 mg/dia para mulheres) devido a perda de sangue no período menstrual. Entretanto, Lukaski [25] observou que o consumo inadequado de Fe é comum em atletas do gênero feminino. Um estudo recente, realizado por Mettler e Zimmermann [129], também relacionado à investigação dos níveis de Fe em corredores da maratona de Zurique, mostrou que 28% das mulheres tinham deficiência de Fe contra 2% dos homens e que um em cada seis homens corredores tinham sinais de sobrecarga de Fe. Essas investigações reforçam a necessidade de utilizar valores de referências diferenciados em função do gênero para Fe.

Para Zn as investigações relatam deficiência em atletas (corredores) sendo observadas concentrações mais baixas no gênero feminino [25].

5.4 Avaliação das similaridades entre GC e AA, GC e AE e AA e AE

Após obter a concentração dos elementos em sangue do GC, AA e AE foi realizada uma comparação expressa pela razão entre as médias das concentrações em sangue, dos AA e AE em função das médias das concentrações em sangue do GC. Essas comparações são apresentadas nas TAB. 6 e 7 onde foram incluídas as estimativas percentuais (da variação entre as médias) entre grupos investigados, para cada elemento medido. Essas comparações entre razões podem ser visualizadas na FIG. 21.

TABELA 6 – Razão entre a média da concentração em sangue de AA e GC. As estimativas percentuais (da variação entre as médias) entre grupos investigados (AA e GC) foram incluídas para comparação

Elementos	C_{AA}/C_{GC}	% ^(*)
Br	0,36	< 64
Ca	1,17	> 17
Cl	1,08	> 8
I	0,45	< 55
K	0,99	~ 1
Mg	1,75	> 75
Na	1,12	> 12
S	1,33	> 33

C_{AA} : média da concentração em sangue de AA

C_{GC} : média da concentração em sangue do GC

^(*) C_{GC}/C_{GC} é a razão da concentração em sangue para o GC assumido como 100%, onde: > expressa aumento e < diminuição

RESULTADOS E DISCUSSÕES

TABELA 7 – Razão entre a média da concentração em sangue de AE e GC. As estimativas percentuais (da variação entre as médias) entre grupos investigados (AE e GC) foram incluídas para comparação

Elementos	C_{AE}/C_{GC}	% ^(*)
<i>Br</i>	0,14	< 86
<i>Ca</i>	0,44	< 56
<i>Cl</i>	1,19	> 19
<i>Fe</i>	1,48 ^m	> 47,6 ^m
	0,97 ^f	< 2,9 ^f
<i>I</i>	0,27	< 73
<i>K</i>	1,23	> 23
<i>Mg</i>	1,06	< 6
<i>Na</i>	1,30	> 31
<i>S</i>	1,51	> 51
<i>Zn</i>	1,10 ^m	> 10 ^m
	0,88 ^f	< 11,7 ^f

C_{AE} : média da concentração em sangue de AE

C_{GC} : média da concentração em sangue do GC

^(*) C_{GC}/C_{GC} é a razão da concentração em sangue para o GC assumido como 100%, onde: > expressa aumento e < diminuição

m: masculino

f: feminino

FIGURA 21 - Razão entre as médias das concentrações em sangue, nos grupos de atletas amadores (C_{AA}) e de elite (C_{AE}), em função das médias das concentrações no sangue do grupo controle (C_{GC})

A FIG. 21 mostra uma diminuição significativa dos níveis de Br e I no sangue tanto de AA (diminuição de 64% para o Br e 55% para o I) como AE (diminuição de 86% para o Br e 73% para o I), enquanto que para S ocorre um aumento para ambos os grupos de atletas (33% para os AA e 51% para os AE), comparativamente ao GC. Estas alterações podem estar relacionadas principalmente a dieta dos atletas.

Como no Brasil o dióxido de enxofre é adicionado em frutos secos (para manutenção da cor e conservação); sais de sulfato são usados como promotores de crescimento de animais consumidos pela população brasileira (frango, peru e porco); e S elementar como fertilizante em solos [130-132], a soma desses fatores pode contribuir para índices mais elevados de S no sangue em função de uma dieta a base de carne e verduras, como a de atletas. Entretanto, uma investigação mais detalhada sob o aspecto nutricional para esses atletas é necessária para sustentar esta hipótese. Além disso, a ingestão de aminoácidos e outros compostos sulfatados, também componentes fundamentais

RESULTADOS E DISCUSSÕES

da dieta de atletas, podem contribuir para o aumento de S no sangue [55]. Já, a variação de Br embora possa também ser relacionada a dieta, principalmente pela ingestão de frutos do mar, rica em brometos, um estudo recente [4] sugere que a alta concentração na população controle pode estar também relacionada a ingestão de medicamentos que contém brometos em sua formulação (tais como, antidepressivos, sedativos, analgésicos, anti-inflamatórios) que são consumidos pela população brasileira [15, 133]. Portanto, a diminuição sistemática e acentuada de Br em sangue de atletas pode estar relacionada a um consumo bastante controlado/limitado desses medicamentos.

O comportamento do I em ambos os grupos de atletas é similar e evidencia uma diminuição acentuada em AA (55%) e AE (73%) com relação ao GC (FIG. 21). Alguns estudos relatam um aumento significativo de I em suor de atletas, que executam atividade física intensa, em ambientes quentes [106-108]. Como o suor leva a diminuição do volume plasmático, pode haver alteração (perda) nos níveis de I no sangue [105], com possíveis consequências para o desempenho atlético. Levando em consideração as condições climáticas do Brasil, associada ao tipo de atividade dos atletas investigados neste estudo (corrida de longa distância), a monitoração de I em sangue pode atuar também como mais uma ferramenta na avaliação, prescrição e monitoração do treinamento esportivo. Além disso, esta avaliação clínica pode auxiliar na composição de uma dieta equilibrada em I.

O comportamento do Ca é distinto entre os grupos de atletas (FIG. 21): enquanto para AA encontram-se próximos ao GC para AE tem uma diminuição significativa (56%). De acordo com Lancha e colaboradores [34] e Speich e colaboradores [51] o exercício intenso também pode produzir alguns efeitos adversos no metabolismo do Ca, como seu aumento na excreção renal, levando a uma perda óssea progressiva e fraturas por estresse. Como o osso é um tecido dinâmico, que absorve ou devolve Ca para o sangue para manter seu controle homeostático, a deficiência sanguínea de Ca pode refletir problemas de perda óssea.

Com relação ao Mg enquanto ocorre um aumento significativo para AA (75%) esses níveis permanecem praticamente constantes para AE. Embora todos os indivíduos desta investigação sejam saudáveis, as concentrações de Mg em AA enfatizam a necessidade de um acompanhamento mais assíduo para prevenção de disfunções ósseas.

As investigações relacionadas ao Fe em indivíduos fisicamente ativos apresentam caráter controverso. Enquanto alguns estudos relatam casos de deficiências e anemia maiores em atletas do que em indivíduos sedentários [114, 134], sendo que os corredores formam o grupo mais afetado [25, 116], há também estudos que relatam melhores condições de Fe em corredores do que em indivíduos sedentários [135, 136]. Como o Fe é um elemento crítico para o desempenho atlético, pois sua deficiência prejudica seu desempenho alterando a captação de oxigênio [114] e seu excesso é preocupante devido a sua toxicidade, podendo levar ao mau funcionamento dos órgãos [18], os resultados do presente estudo sugerem que seus níveis sanguíneos precisam ser monitorados considerando valores de referência compatíveis com a atividade física desenvolvida levando-se também em consideração o gênero.

O comportamento do Cl, K e Na para ambos os grupos de atletas é similar, embora para os AE ocorra aumento desses níveis em sangue (31% em Na, 23% em K e 19% em Cl).

5.5 Correlação de Pearson

Nas TAB. 8 e 9 são apresentados os resultados das correlações de Pearson (CP) [137, 138] para verificar a relação inter-elementos entre os grupos de atletas (AA e AE), ou seja, foram geradas as correlação para AA e AE para elementos Br, Ca, Cl, I, K, Mg, Na e S em sangue.

TABELA 8 – Coeficientes de Pearson para o grupo de AA

	Br	Ca	Cl	I	K	Mg	Na	S
Br	1	-0,19	0,97	0,93	0,86	0,78	0,91	0,58
Ca		1	-0,19	-0,39	0,24	-0,65	-0,26	0,03
Cl			1	0,88	0,76	0,66	0,80	0,46
I				1	0,72	0,80	0,96	0,74
K					1	0,56	0,83	0,65
Mg						1	0,81	0,41
Na							1	0,83
S								1

TABELA 9 - Coeficientes de Pearson para o grupo de AE

	Br	Ca	Cl	I	K	Mg	Na	S
Br	1	0,46	0,97	0,77	-0,69	-0,04	0,77	0,71
Ca		1	0,78	-0,39	0,48	-0,53	0,87	-0,16
Cl			1	0,75	0,63	-0,43	0,94	0,65
I				1	-0,63	0,09	0,59	0,65
K					1	-0,25	0,45	-0,16
Mg						1	-0,47	0,44
Na							1	0,29
S								1

Nas TAB. 10 e 11 são apresentadas as matrizes de correlação para Fe e Zn em função do gênero para AE.

TABELA 10 – Coeficientes de Pearson para o grupo de AE do gênero masculino

	Fe	Zn
Br	-0,57	-0,21
Ca	-0,04	0,64
Cl	-0,84	0,00
I	-0,92	-0,38
K	-0,67	0,16
Mg	0,17	-0,95
Na	-0,58	0,11
S	-0,42	-0,45
Fe	1	0,08
Zn		1

TABELA 11 - Coeficientes de Pearson para o grupo de AE do gênero feminino

	Fe	Zn
Br	-0,77	-0,98
Ca	-0,01	-0,19
Cl	0,36	-0,30
I	-0,83	-0,06
K	0,81	0,11
Mg	0,23	0,78
Na	0,13	-0,28
S	0,99	0,69
Fe	1	0,47
Zn		1

5.5.1 Análises das correlações

Cada correlação (r) fornece uma relação linear entre duas variáveis quantitativas. No presente estudo foram analisadas as correlações entre dois elementos no sangue. Considerando que o valor do índice de correlação varia no intervalo $[-1, +1]$, vários comportamentos (entre elementos) podem ser identificados:

se $r = 1$ existe uma correlação positiva perfeita. O índice $+1$ indica uma dependência total entre as duas variáveis (relação direta), isto é, quando um aumenta, o mesmo acontece com a outra na mesma proporção;

se $0 < r < 1$ há uma correlação positiva: quando um aumenta, o mesmo acontece com a outra e vice-versa, não necessariamente na mesma proporção;

se $r = 0$, não existe uma relação linear, mas isso não implica necessariamente que as variáveis são independentes;

se $r = -1$, existe uma correlação perfeita negativa. O índice -1 indica uma dependência total entre as duas variáveis (relação inversa): quando uma aumenta a outra diminui na mesma proporção;

se $-1 < r < 0$, há uma correlação negativa; quando uma aumenta a outra diminui, não necessariamente na mesma proporção.

As correlações entre os elementos majoritários no sangue (Na, K e Cl) são expressas com comportamento similar em ambos os grupos e atletas (TAB. 8 e 9). São correlações positivas ($0 < r < 1$) e, conseqüentemente, quando a concentração de um aumenta o mesmo acontece com a outra, mas não necessariamente na mesma proporção. Para AA tem-se: K:Na (0,83), Cl:Na (0,80) e K:Cl (0,76) e para AE K:Na (0,45), Cl:Na (0,94) e K:Cl (0,63). Mas, a comparação entre as correlações, para AA e AE, também mostram diferenças significativas entre os componentes investigados no sangue: a forte correlação Na:Ca (0,87) no grupo AE é significativamente alterada para o grupo AA (-0,26) pois, além do comportamento inverso (correlação negativa) é pouco relevante (fraca); da mesma forma, enquanto Cl apresenta significativa correlação positiva com Ca (0,78) para AE, essa correlação é praticamente inexistente (-0,19) para AA.

A correlação entre Na e Mg também é alterada entre esses grupos: enquanto para AA esse coeficiente é expresso por 0,81, para o grupo AE seu comportamento é inverso e não apresenta forte correlação (-0,47). Entre K e I o comportamento é inverso: para AA esse coeficiente é expresso por 0,72 e para o grupo AE por -0,63. Ainda com relação ao I, têm-se no grupo AA uma forte correlação com Mg (0,80), sendo praticamente inexistente em AE (0,09).

Com relação ao gênero no grupo AE (TAB. 10 e 11) tem-se correlações significantes entre Fe e I (-0,92 para homens e -0,83 para mulheres) e também entre Mg e Zn, mas com o comportamento inverso: para o gênero masculino esse coeficiente é expresso por -0,95 e para o gênero feminino por 0,78. Mas, as correlações entre gêneros também diferem. No gênero feminino tem-se forte correlação do Zn com Br (-0,98) e do Fe com S (0,99), mas no gênero masculino a correlação Zn:Br é praticamente inexistente (-0,21) e para Fe:S seu comportamento é inverso e menos relevante (-0,42).

Essas comparações forneceram subsídios para a proposição de novos protocolos de avaliação clínica em sangue, pois enfatizam que além das análises habituais (Ca, Cl, Fe, K, Mg e Na) é importante complementar esses ensaios bioquímicos com a monitoração constante de Br, I, S e Zn para atletas que executam atividade física intensa por longos períodos.

5.6 Concentrações dos elementos em sangue de AA antes, durante e após treino

A concentração dos elementos no sangue de 6 AA (AA_n, n= 1 a 6) foi determinada a cada etapa do exercício, isto é, pré (antes, no repouso), durante (a cada 2 km) e após o exercício (término). Considerando que a quantidade de dados (número de atletas amadores x número de elementos investigados x número de amostras coletas/km) é muito grande para ser apresentado (centenas de resultados) foi elaborado um sumário dos resultados, apresentados na TAB.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

12, expresso pelo valor médio (VM) e desvio padrão ($\pm 1DP$) antes e após o programa de exercício.

Nas FIG. 22 a 29 são apresentadas as concentrações dos elementos investigados para os AA (AA_n , $n= 1$ a 6), pré e pós treino; nessas figuras a concentração determinada para o GC ($VM \pm 1DP$) foi incluída para comparação.

TABELA 12 - Resultados das concentrações dos elementos medidos no sangue, dos AA (AA_n , $n= 1$ a 6), antes e depois do treino, expressos por: valor médio (VM) e desvio padrão ($\pm 1DP$)

Elemento	Antes	Depois
Br, mg/L	$6,8 \pm 1,1$	$5,8 \pm 2,3$
Ca, g/L	$0,289 \pm 0,044$	$0,285 \pm 0,035$
CL, g/L	$3,28 \pm 0,57$	$3,78 \pm 0,60$
I, $\mu g/L$ *	42 ± 12	38 ± 12
K, g/L	$1,60 \pm 0,33$	$1,63 \pm 0,68$
Mg, g/L	$0,053 \pm 0,012$	$0,056 \pm 0,023$
Na, g/L	$1,99 \pm 0,45$	$2,08 \pm 0,54$
S, g/L	$0,66 \pm 0,19$	$0,61 \pm 0,25$

* excluído AA_1

FIGURA 22 - Concentração de Br pré e pós treino em sangue de AA; a concentração determinada para o GC foi incluída ($VM \pm 1DP$) para comparação

FIGURA 23 - Concentração de Ca pré e pós treino em sangue de atletas AA; a concentração determinada para o GC foi incluída ($VM \pm 1DP$) para comparação

FIGURA 24 - Concentração de Cl pré e pós treino em sangue de AA; a concentração determinada para o GC foi incluída ($VM \pm 1DP$) para comparação

FIGURA 25 - Concentração de I pré e pós treino em sangue de AA; a concentração determinada para o GC foi incluída ($VM \pm 1DP$) para comparação

FIGURA 26 - Concentração de K pré e pós treino em sangue de AA; a concentração determinada para o GC foi incluída ($VM \pm 1DP$) para comparação

FIGURA 27 - Concentração de Mg pré e pós treino em sangue de AA; a concentração determinada para o GC foi incluída ($VM \pm 1DP$) para comparação

FIGURA 28 - Concentração de Na pré e pós treino em sangue de AA; a concentração determinada para o GC foi incluída ($VM \pm 1DP$) para comparação

FIGURA 29 - Concentração de S pré e pós treino em sangue de AA; a concentração determinada para o GC foi incluída ($VM \pm 1DP$) para comparação

A comparação dos valores médios das concentrações, antes e depois do exercício (TAB. 12), para todos os elementos, mostra que não houve diferença estatística significativa antes e após atividade física ($p > 0,05$), mas a comparação com os valores de referência do GC (FIG. 22 a 29) enfatizam a necessidade de utilizar valores de referência diferenciados.

Com relação às análises individuais (por atleta) algumas incompatibilidades ($p < 0,05$) foram observadas (antes e após o treino): Br em AA₂ (FIG 22), Ca em AA₃ (FIG 23), Cl em AA₆ (FIG 24), K em AA₅ (FIG 26), Mg em AA₂ (FIG 27) e Na AA₂ (FIG 28). Essas alterações sugerem que a monitoração durante o exercício pode auxiliar a interpretar essas variações levando a um melhor rendimento no treino. Outro caso que se destaca está relacionado às concentrações pré e pós treino de I para o AA₁ (FIG 25). Esses dados encontram-se em níveis bem acima do esperado. Considerando que a ingestão diária de I dietético recomendado é de 150 µg/dia para adultos e que cerca de 90% é quase totalmente absorvido de maneira rápida por órgãos (principalmente estômago, intestino e pulmão) e transferidos ao sangue, o valor elevado (FIG. 25) pode estar relacionado a uma ingestão diária de I dietético acima do recomendado. Além disso, para que um quadro de intoxicação por I se desenvolva é necessário uma ingestão de 400 vezes maior que o recomendado [90].

5.6.1 Concentrações dos elementos em sangue de AA durante o treino

Quando a avaliação é realizada individualmente, por elemento e também durante a atividade física tem-se uma situação mais realista e detalhada do comportamento desses elementos no sangue. Fazendo uso da técnica de AAN esses ensaios foram realizados para o grupo de AA. Para visualização foram elaboradas as FIG. 30 a 37 na qual são apresentadas as concentrações dos elementos medidos no sangue para um dos atletas (AA) a cada 2 km (total 10 km). Nestas figuras o valor médio (VM) e o desvio padrão ($\pm 1DP$) bem como os valores de referência estabelecidos para AA (limite AA) e GC (limite GC), para o intervalo de confiabilidade de 95%, foram incluídos para comparação.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

FIGURA 30 - Concentração de Br em sangue total de AA antes, durante e após o treino

FIGURA 31 - Concentração de Ca em sangue total de AA antes, durante e após o treino

RESULTADOS E DISCUSSÕES

FIGURA 32 - Concentração de Cl em sangue total de AA antes, durante e após o treino

FIGURA 33 - Concentração de I em sangue total de AA antes, durante e após o treino

RESULTADOS E DISCUSSÕES

FIGURA 34 - Concentração de K em sangue total de AA antes, durante e após o treino

FIGURA 35 - Concentração de Mg em sangue total de AA antes, durante e após o treino

RESULTADOS E DISCUSSÕES

FIGURA 36 - Concentração de Na em sangue total de AA antes, durante e após o treino

FIGURA 37 - Concentração de S em sangue total de AA antes, durante e após o treino

As FIG. 30 a 37 mostram que, para este atleta, enquanto para Cl, I, K, Na e S nenhuma variação significativa foi observada durante o exercício, para Br e Mg houve variação significativa (6 Km) seguida de recuperação: um aumento de 37% de Br e uma diminuição de 59% de Mg. Além disso, é possível avaliar as diferenças estabelecidas entre os intervalos de referência para indivíduos fisicamente ativos (limite AA) e não ativos (limite GC), ou seja, quando se considera as estimativas (valores de referência) do GC tem-se um quadro que caracteriza hipernatremia o que pode levar a uma interpretação clínica inadequada.

5.7 Concentrações dos elementos em sangue de AA para diferentes intensidades de VO_2 máx.

Ainda fazendo uso das concentrações medidas em sangue, um detalhamento maior pode ser obtido quando a análise das concentrações é feita individualmente, por elemento, durante a atividade física, para diferentes intensidades de VO_2 máx.

Nessas análises observou-se um comportamento similar para o Br, Ca, Cl, I, K e S, independente da intensidade estabelecida (limiar: 25, 50, 75%). As concentrações medidas para I, Mg e S mantiveram-se constantes. Para Cl e K as concentrações mantiveram-se próximas ao limite superior (valores de referência do GC), enquanto para Br mantiveram-se próximas ou abaixo do limite inferior (GC). Com relação ao Ca o comportamento foi sistemático e mostra uma diminuição em função do aumento da intensidade no treino. O Na foi o elemento que apresentou maior variação para todos os atletas, não sendo possível definir um padrão comportamental. A observância desses resultados enfatiza, além da necessidade de se utilizar valores de referência diferenciados (ver TAB. 5), a realização periódica de ensaios clínicos, principalmente natremia e calcemia.

As FIG. 38 a 47 foram elaboradas para visualizar o comportamento das concentrações dos elementos Br, Cl, Ca, K e Na em sangue para um dos AA durante a atividade física, em diferentes intensidades de VO_2 máx. (25% e 50%,

RESULTADOS E DISCUSSÕES

respectivamente). Nestes gráficos o valor médio para o GC, expresso por GC (VM), bem como os valores de referências (para o intervalo de confiabilidade de 68% e 95%) foram incluídos para comparação.

FIGURA 38 - Concentração de Na em sangue total de AA em função de 25% do VO_2 máx.

FIGURA 39 - Concentração de Na em sangue total de AA em função de 50% do VO_2 máx.

FIGURA 40 - Concentração de K em sangue total de AA em função de 25% do VO₂ máx.

FIGURA 41 - Concentração de K em sangue total de AA em função de 50% do VO₂ máx.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

FIGURA 42 - Concentração de Cl em sangue total de AA em função de 25% do VO_2 máx.

FIGURA 43 - Concentração de Cl em sangue total de AA em função de 50% do VO_2 máx.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

FIGURA 44 - Concentração de Ca em sangue total de AA em função de 25% do VO₂ máx.

FIGURA 45 - Concentração de Ca em sangue total de AA em função de 50% do VO₂ máx.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

FIGURA 46 - Concentração de Br em sangue total de AA em função de 25% do VO₂ máx.

FIGURA 47 - Concentração de Br em sangue total de AA em função de 50% do VO₂ máx.

Os resultados e as discussões apresentados, nas subseções 5.2 a 5.7, mostram o nível de detalhamento que esses ensaios clínicos podem agregar nas avaliações dos efeitos de diferentes periodizações de treinamento.

5.8 Considerações Finais

5.8.1 Perspectivas

Estender este procedimento de análise para os demais elementos, passíveis de ativação em sangue total (utilizando as amostras do presente estudo), para obtenção de seus valores de referência e implementação da matriz de correlação.

5.8.2 Uso AAN em outras categorias esportivas

As recomendações de consumo calórico, macronutrientes e hidratação para atletas estão bem determinadas, porém, pouco se conhece sobre as necessidades de vitaminas e minerais. Algumas pesquisas sugerem que os atletas necessitam de mais vitaminas e minerais do que os sedentários, enquanto que outros relatam não ser necessário um maior aporte de micronutrientes [25, 139-141]. A determinação de íons e metais, de importância clínica em sangue e saliva, de atletas submetidos à atividade física aeróbica (natação e ciclismo), utilizando AAN, pode contribuir com esclarecimentos. Essas atividades compõem uma parceria do LEER com a UNIFIEO e UNISA.

5.8.3 Uso da técnica de AAN em experimentação animal

O treinamento físico provoca diversas alterações fisiológicas e morfológicas no organismo. Usualmente, testes *in vivo* são realizados primeiramente em animais de pequeno porte (tais como: camundongos, ratos, coelhos) e posteriormente em humanos. Em muitos casos os ensaios clínicos em animais são realizados somente ao término do estudo, dada à dificuldade de coletar soro e urina. A técnica de AAN pode ser empregada para essas análises

(sangue e urina), também durante os experimentos, bem como para a investigação dos órgãos ao término do experimento [8-10, 142-147]. Encontra-se em andamento medidas que visam determinar a concentração dos elementos no sangue e órgãos de ratos Wistar submetidos a treinos aeróbicos e de força, usando a técnica de análise por ativação com nêutrons em parceria com o Laboratório de Fisiologia Celular e Molecular do Exercício da EEFE (USP/SP).

5.8.4 Procedimentos alternativos

A metodologia de ativação otimizada para análise de elementos inorgânicos no sangue, embora com a necessidade de se utilizar fontes de nêutrons, apresenta vantagens tais como procedimento ágil, preciso, não destrutivo e simultaneidade das análises usando pequena quantidade de sangue. Na tentativa de disponibilizar mais uma alternativa para realização dessas análises em sangue a técnica de fluorescência de raios X (EDXRF e WDXRF), tem se mostrado bastante promissora [3, 142].

CAPÍTULO 6 - CONCLUSÕES

Os ensaios clínicos realizados, fazendo uso da técnica de AAN, demonstram seu potencial de uso no preparo de atletas e a necessidade constante de monitoração de Br, Ca, Cl, Fe, I, K, Mg, Na, S e Zn durante um período de treino.

Os valores de referência obtidos no presente estudo enfatizam a necessidade de adotar limites diferenciados para atletas, para elementos em sangue responsivos a atividade física executada (AA e AE), para uma adequada avaliação bioquímica, melhor rendimento no treino e adaptação da dieta.

As correlações entre tecido sanguíneo e desempenho aeróbio, para os grupos de atletas investigados, forneceram parâmetros que podem ser usados como avaliação complementar da condição clínica de atletas bem como contribuir para a proposição de novos protocolos de avaliação clínica, ainda não descritos na literatura.

Com relação à investigação do sangue em AA, os dados obtidos durante o treino físico fornecem subsídios que permitem a comparação de resultados individuais de atletas proporcionando uma interpretação mais detalhada das respostas ao longo da temporada competitiva. Além disso, com diferentes análises (realizadas no LABEX e LEER) pode-se mapear com mais profundidade o estado nutricional e/ou o grau de estresse do organismo como um todo, relativo a um determinado período de esforço físico aliando saúde, desempenho e aumento da vida útil dos atletas.

Considerando-se os eventos que ocorrerão no Brasil nos próximos anos, principalmente as Olimpíadas, onde várias categorias esportivas são representadas por número restrito de atletas, a utilização deste procedimento alternativo (AAN) pode beneficiar o atleta durante o treino (otimizando tanto seu

CONCLUSÕES

desempenho e recuperação) além de agregar melhorias em sua avaliação clínica e nutricional.

ANEXO 1

Tabela com os níveis de ingestão diária recomendada dos elementos [54]

Dietary Reference Intakes (DRIs): Recommended Dietary Allowances and Adequate Intakes, Elements
Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies

Life Stage Group	Calcium (mg/d)	Chromium (µg/d)	Copper (µg/d)	Fluoride (mg/d)	Iodine (µg/d)	Iron (mg/d)	Magnesium (mg/d)	Manganese (mg/d)	Molybdenum (µg/d)	Phosphorus (mg/d)	Selenium (µg/d)	Zinc (mg/d)	Potassium (g/d)	Sodium (g/d)	Chloride (g/d)
Infants															
0 to 6 mo	200*	0.2*	200*	0.01*	110*	0.27*	30*	0.003*	2*	100*	15*	2*	0.4*	0.12*	0.18*
6 to 12 mo	260*	5.5*	220*	0.5*	130*	11	75*	0.6*	3*	275*	20*	3	0.7*	0.37*	0.57*
Children															
1–3 y	700	11*	340	0.7*	90	7	80	1.2*	17	460	20	3	3.0*	1.0*	1.5*
4–8 y	1,000	15*	440	1*	90	10	130	1.5*	22	500	30	5	3.8*	1.2*	1.9*
Males															
9–13 y	1,300	25*	700	2*	120	8	240	1.9*	34	1,250	40	8	4.5*	1.5*	2.3*
14–18 y	1,300	35*	890	3*	150	11	410	2.2*	43	1,250	55	11	4.7*	1.5*	2.3*
19–30 y	1,000	35*	900	4*	150	8	400	2.3*	45	700	55	11	4.7*	1.5*	2.3*
31–50 y	1,000	35*	900	4*	150	8	420	2.3*	45	700	55	11	4.7*	1.5*	2.3*
51–70 y	1,000	30*	900	4*	150	8	420	2.3*	45	700	55	11	4.7*	1.3*	2.0*
>70 y	1,200	30*	900	4*	150	8	420	2.3*	45	700	55	11	4.7*	1.2*	1.8*
Females															
9–13 y	1,300	21*	700	2*	120	8	240	1.6*	34	1,250	40	8	4.5*	1.5*	2.3*
14–18 y	1,300	24*	890	3*	150	15	360	1.6*	43	1,250	55	9	4.7*	1.5*	2.3*
19–30 y	1,000	25*	900	3*	150	18	310	1.8*	45	700	55	8	4.7*	1.5*	2.3*
31–50 y	1,000	25*	900	3*	150	18	320	1.8*	45	700	55	8	4.7*	1.5*	2.3*
51–70 y	1,200	20*	900	3*	150	8	320	1.8*	45	700	55	8	4.7*	1.3*	2.0*
>70 y	1,200	20*	900	3*	150	8	320	1.8*	45	700	55	8	4.7*	1.2*	1.8*
Pregnancy															
14–18 y	1,300	29*	1,000	3*	220	27	400	2.0*	50	1,250	60	12	4.7*	1.5*	2.3*
19–30 y	1,000	30*	1,000	3*	220	27	350	2.0*	50	700	60	11	4.7*	1.5*	2.3*
31–50 y	1,000	30*	1,000	3*	220	27	360	2.0*	50	700	60	11	4.7*	1.5*	2.3*
Lactation															
14–18 y	1,300	44*	1,300	3*	290	10	360	2.6*	50	1,250	70	13	5.1*	1.5*	2.3*
19–30 y	1,000	45*	1,300	3*	290	9	310	2.6*	50	700	70	12	5.1*	1.5*	2.3*
31–50 y	1,000	45*	1,300	3*	290	9	320	2.6*	50	700	70	12	5.1*	1.5*	2.3*

NOTE: This table (taken from the DRI reports, see www.nap.edu) presents Recommended Dietary Allowances (RDAs) in **bold type** and Adequate Intakes (AIs) in ordinary type followed by an asterisk (*). An RDA is the average daily dietary intake level; sufficient to meet the nutrient requirements of nearly all (97-98 percent) healthy individuals in a group. It is calculated from an Estimated Average Requirement (EAR). If sufficient scientific evidence is not available to establish an EAR, and thus calculate an RDA, an AI is usually developed. For healthy breastfed infants, an AI is the mean intake. The AI for other life stage and gender groups is believed to cover the needs of all healthy individuals in the groups, but lack of data or uncertainty in the data prevent being able to specify with confidence the percentage of individuals covered by this intake.

SOURCES: Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride (1997); Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B₆, Folate, Vitamin B₁₂, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline (1998); Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids (2000); and Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc (2001); Dietary Reference Intakes for Water, Potassium, Sodium, Chloride, and Sulfate (2005); and Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D (2011). These reports may be accessed via www.nap.edu.

ANEXO 2

Tabela com os níveis toleráveis de ingestão diária dos elementos [54]

Dietary Reference Intakes (DRIs): Tolerable Upper Intake Levels, Elements

Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies

Life Stage Group	Arsenic ^c	Boron (mg/d)	Calcium (mg/d)	Chromium (mg/d)	Copper (μg/d)	Fluoride (mg/d)	Iodine (μg/d)	Iron (mg/d)	Magnesium (mg/d) ^b	Manganese (mg/d)	Molybdenum (μg/d)	Nickel (mg/d)	Phosphorus (g/d)	Selenium (μg/d)	Silicon ^c	Vanadium (mg/d) ^d	Zinc (mg/d)	Sodium (g/d)	Chloride (g/d)
Infants																			
0 to 6 mo	ND ^e	ND	1,000	ND	ND	0.7	ND	40	ND	ND	ND	ND	ND	45	ND	ND	4	ND	ND
6 to 12 mo	ND	ND	1,500	ND	ND	0.9	ND	40	ND	ND	ND	ND	ND	60	ND	ND	5	ND	ND
Children																			
1–3 y	ND	3	2,500	ND	1,000	1.3	200	40	65	2	300	0.2	3	90	ND	ND	7	1.5	2.3
4–8 y	ND	6	2,500	ND	3,000	2.2	300	40	110	3	600	0.3	3	150	ND	ND	12	1.9	2.9
Males																			
9–13 y	ND	11	3,000	ND	5,000	10	600	40	350	6	1,100	0.6	4	280	ND	ND	23	2.2	3.4
14–18 y	ND	17	3,000	ND	8,000	10	900	45	350	9	1,700	1.0	4	400	ND	ND	34	2.3	3.6
19–30 y	ND	20	2,500	ND	10,000	10	1,100	45	350	11	2,000	1.0	4	400	ND	1.8	40	2.3	3.6
31–50 y	ND	20	2,500	ND	10,000	10	1,100	45	350	11	2,000	1.0	4	400	ND	1.8	40	2.3	3.6
51–70 y	ND	20	2,000	ND	10,000	10	1,100	45	350	11	2,000	1.0	4	400	ND	1.8	40	2.3	3.6
> 70 y	ND	20	2,000	ND	10,000	10	1,100	45	350	11	2,000	1.0	3	400	ND	1.8	40	2.3	3.6
Females																			
9–13 y	ND	11	3,000	ND	5,000	10	600	40	350	6	1,100	0.6	4	280	ND	ND	23	2.2	3.4
14–18 y	ND	17	3,000	ND	8,000	10	900	45	350	9	1,700	1.0	4	400	ND	ND	34	2.3	3.6
19–30 y	ND	20	2,500	ND	10,000	10	1,100	45	350	11	2,000	1.0	4	400	ND	1.8	40	2.3	3.6
31–50 y	ND	20	2,500	ND	10,000	10	1,100	45	350	11	2,000	1.0	4	400	ND	1.8	40	2.3	3.6
51–70 y	ND	20	2,000	ND	10,000	10	1,100	45	350	11	2,000	1.0	4	400	ND	1.8	40	2.3	3.6
> 70 y	ND	20	2,000	ND	10,000	10	1,100	45	350	11	2,000	1.0	3	400	ND	1.8	40	2.3	3.6
Pregnancy																			
14–18 y	ND	17	3,000	ND	8,000	10	900	45	350	9	1,700	1.0	3.5	400	ND	ND	34	2.3	3.6
19–30 y	ND	20	2,500	ND	10,000	10	1,100	45	350	11	2,000	1.0	3.5	400	ND	ND	40	2.3	3.6
61–50 y	ND	20	2,500	ND	10,000	10	1,100	45	350	11	2,000	1.0	3.5	400	ND	ND	40	2.3	3.6
Lactation																			
14–18 y	ND	17	3,000	ND	8,000	10	900	45	350	9	1,700	1.0	4	400	ND	ND	34	2.3	3.6
19–30 y	ND	20	2,500	ND	10,000	10	1,100	45	350	11	2,000	1.0	4	400	ND	ND	40	2.3	3.6
31–50 y	ND	20	2,500	ND	10,000	10	1,100	45	350	11	2,000	1.0	4	400	ND	ND	40	2.3	3.6

NOTE: A Tolerable Upper Intake Level (UL) is the highest level of daily nutrient intake that is likely to pose no risk of adverse health effects to almost all individuals in the general population. Unless otherwise specified, the UL represents total intake from food, water, and supplements. Due to a lack of suitable data, ULs could not be established for vitamin K, thiamin, riboflavin, vitamin B₁₂, pantothenic acid, biotin, and carotenoids. In the absence of a UL, extra caution may be warranted in consuming levels above recommended intakes. Members of the general population should be advised not to routinely exceed the UL. The UL is not meant to apply to individuals who are treated with the nutrient under medical supervision or to individuals with predisposing conditions that modify their sensitivity to the nutrient.

^aAlthough the UL was not determined for arsenic, there is no justification for adding arsenic to food or supplements.

^bThe ULs for magnesium represent intake from a pharmacological agent only and do not include intake from food and water.

^cAlthough silicon has not been shown to cause adverse effects in humans, there is no justification for adding silicon to supplements.

^dAlthough vanadium in food has not been shown to cause adverse effects in humans, there is no justification for adding vanadium to food and vanadium supplements should be used with caution. The UL is based on adverse effects in laboratory animals and this data could be used to set a UL for adults but not children and adolescents.

^eND = Not determinable due to lack of data of adverse effects in this age group and concern with regard to lack of ability to handle excess amounts. Source of intake should be from food only to prevent high levels of intake.

SOURCES: Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride (1997); Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Vitamin B₆, Folate, Vitamin B₁₂, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline (1998); Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids (2000); Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc (2001); Dietary Reference Intakes for Water, Potassium, Sodium, Chloride, and Sulfate (2005); and Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D (2011). These reports may be accessed via www.nap.edu.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MAHAN, L.K.; STUMP, S.E. **Krause – alimentos, nutrição e dietoterapia**. 12.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.
2. WOLINSKY, I.; HICKSON JR, J.F. **Nutrição no exercício e no esporte**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2002.
3. KOVACS, L.; ZAMBONI, C.B; OLIVEIRA, L.C; SALVADOR, L.R.; AZEVEDO, M.R.A. Analysis of serum and whole blood using NAA for clinical investigation. **J. Radioanal. Nucl. Chem.**, v. 278, n. 3, p. 543–545, 2008.
4. OLIVEIRA, L.C.; ZAMBONI, C.B.; METAIRON, S. Reference values in blood from inhabitants of Brazil: Br, Cl, K and Na determination using NAA. **J. Radioanal. Nucl. Chem.**, v. 282, p. 95-97, 2009.
5. METAIRON, S.; ZAMBONI, C.B.; KOVACS, L.; GENEZINI, F.A.; SANTOS, N. F.; VILELA, E.C. Analysis of elements in human blood of patients with chronic kidney disease using neutron activation analysis. **J. Radioanal. Nucl. Chem.**, v. 282, p. 81-84, 2009.
6. OLIVEIRA, L.C.; ZAMBONI, C.B.; MEDEIROS, J.A.G.; AZEVEDO, M.R. NAA for human serum analysis: Comparison with conventional analyses. **AIP**, v. 1265, p. 457-458, 2010.
7. ZAMBONI, C.B.; OLIVEIRA, L.C.; KOVACS, L.; METAIRON, S. Ca and Mg determination from inhabitants of Brazil using neutron activation analysis. **J. Radioanal. Nucl. Chem.**, v. 291, p. 389-393, 2011.
8. OLIVEIRA, L.C.; ZAMBONI, C.B.; PESSOAL, E.A.; BORGES, F.T. Characterization of ions in urine of animal model with acute renal failure using NAA. **AIP**, v. 1351, p. 353-356, 2011.
9. OLIVEIRA, L.C.; ZAMBONI, C.B.; GENEZINI, F.A.; FIGUEIREDO, A.M.G.; ZAHN, G.S. Use of thermal neutrons to perform clinical analyses in blood and urine samples. **J. Radioanal. Nucl. Chem.**, v. 263, n. 3, p. 783-786, 2005.
10. OLIVEIRA, D.G.L.; SIMONS, S.M.; CHUDZINSKI-TAVASSI, A.M.; ZAMBONI, C.B. Analysis of saliva from *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) species from Brazil by NAA. **J. Radioanal. Nucl. Chem.**, v. 291, p. 385-388, 2012.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

11. LEWGOY, H.R.; ZAMBONI, C.B.; METAIRON, S.; MEDEIROS, I.M.M.A.; MEDEIROS, J.A.G. Quantitative study of non-stimulated human whole saliva using NAA. Aceito. **J. Radioanal. Nucl. Chem**, 2012.
12. KOVACS, L.; ZAMBONI, C.B.; LOURENÇO, T.F.; NUNES, L.A.S; MACEDO, D.V. Potassium concentration in blood of Brazilian athletes using NAA. **AIP**, v. 1351, p. 336-339, 2011.
13. KOVACS, L.; ZAMBONI, C.B.; NUNES, L.A.S; MACEDO, D.V. Sodium analysis in whole blood of athletes using NAA. **AIP**, v. 1265, p. 423-426, 2010.
14. KOVACS, L.; ZAMBONI, C.B.; NUNES, L.A.S; LOURENÇO, T.F.; MACEDO, D.V. Concentrations of ions in blood of athletes using NAA. **Proceedings INAC 2011**, Brazil.
15. LABORATÓRIO FLEURY. **Manual de exames do laboratório Fleury**. São Paulo, 1999.
16. SAMARTIN, S.; CHANDRA, R.K. Obesity, overnutrition and the immune system. **Nutr. Res.**, v. 21, p. 243-262, 2001.
17. ZAMBONI, C.B.; OLIVEIRA, L.C; AZEVEDO, M.R.A.; VILELA, E.C.; FARIAS, F.; LOUREIRO, P.; MELLO, R.; DALAQUA JUNIOR, L. Evaluation of trace elements in whole blood and its possible use as reference value. In: **Anais XXVIII RTFNB**. v. 1. p. 387-389, 2007.
18. BIESEK, S.; ALVES, L.A.; GUERRA, I. **Estratégias de Nutrição e Suplementação no Esporte**. 2.ed. Barueri, S.P.: Manole, 2010.
19. Confederação Brasileira de Atletismo. Disponível em: <<http://www.cbat.org.br/atletismo/origem.asp>>. Acesso em: 10 jun. 2012.
20. MIRANDA, C.F. **Como se vive de atletismo: um estudo sobre profissionalismo e amadorismo no esporte, com olhar para as configurações esportivas**. 2007. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
21. VIEIRA, S.; FREITAS, A. **O que é Atletismo**. Rio de Janeiro, R.J.: Casa da Palavra, 2007.

22. TURCO, B. **Fique por dentro: esportes olímpicos**. Rio de Janeiro, R.J. Casa da Palavra, 2006.
23. DUTRA-DE-OLIVEIRA, J.E.; MARCHINI, J.S. **Ciências Nutricionais – Aprendendo a Aprender**. 2.ed. São Paulo, S.P.: Sarvier, 2008.
24. AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION, DIETITIANS OF CANADA, AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE. Position of American dietetic association, dietitians of Canada, and American college of sports medicine: nutrition and athletic performance. **J. Am. Diet. Assoc.**, v. 100, n.12, p.1543-1556, 2001.
25. LUKASKI, H.C. Vitamin and mineral status: effects on physical performance. **Nutr.**, v. 20, p. 632–644, 2004.
26. SILVA, S.M.C.S.; MURA, J.D'ARC P. **Tratado de Alimentação, Nutrição & Dietoterapia**. 2.ed. São Paulo, S.P.: Roca, 2011.
27. ROSSI, L.; CARUSO, L.; GALANTE, A.P. **Avaliação Nutricional – Novas Perspectivas**. São Paulo, S.P.: Roca, 2009. cap. 9, Praticantes de atividade física. p. 379-393.
28. MACARTHUR, D.G.; NORTH, K.N. Genes and human elite athletic performance. **Hum. Genet.**, v. 116, p. 331–339, 2005.
29. EYNON, N.; RUIZ, J.R.; OLIVEIRA, J.; DUARTE, J.A.; BIRK, R.; LUCIA, A. Genes and elite athletes: a roadmap for future research. **J. Physiol.**, v. 589, n.13, p. 3063–3070, 2011.
30. McARDLE, D.W.; KATCH, I.F.; KATCH, L.V. **Fisiologia do exercício – Energia, Nutrição e Desempenho Humano**. 6.ed. Rio de Janeiro, R.J. Guanabara Koogan, 2008.
31. AMORIM, A.G.; TIRAPEGUI, J. Aspectos atuais da relação entre exercício físico, estresse oxidativo e magnésio. **Rev. Nutr.**, v. 21, n.5, p. 563-575, 2008.
32. TIRAPEGUI, J. **Nutrição, Metabolismo e Suplementação na Atividade Física**. São Paulo, Atheneu, 2005.
33. MAUGHAN, R.J.; BURKE, L.M. **Nutrição esportiva**. Porto Alegre, Artmed, 2004.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

34. LANCHA JUNIOR, A.H.; CAMPOS-FERRAZ, P.L.; ROGERI, P.S. **Suplementação Nutricional no Esporte**. Rio de Janeiro, R.J.: Guanabara Koogan, 2009.
35. ROSÉS, J.M.; PUJOL, P. Hidratación y ejercicio físico. **Apunts - Medicina de l'esport**, v. 150, p. 70-77, 2006.
36. MAUGHAN, R.J. Distance running in hot environments: a thermal challenge to the elite runner. **Scand. J. Med. Sci. Sports.**, v. 20, p. 95–102, 2010. Supplement 3
37. STARKIE, R.L.; HARGREAVES, M.; LAMBERT, D.L.; PROIETTO, J; FEBBRAIO, M.A. Effect of temperature on muscle metabolism during submaximal exercise in humans. **Exp. Physiol.**, v.84, p. 775-784, 1999.
38. BINKLEY, H.M.; BECKETT, J.; CASA, D.J.; KLEINER, D.M.; PLUMMER, P.E. National athletic trainers' association position statement: exertional heat illnesses. **J. Athl. Train.**, v. 37, n. 3, p. 329–343, 2002.
39. CARTER, R. Exertional heat illness and hyponatremia: an epidemiological prospective. **Curr. Sports Med. Rep.**, v. 7, n. 4, p. S20-S27, 2008.
40. MORAN, D.S.; HELED, Y.; ARBEL, Y.; ISRAELI, E.; FINESTONE, A.S.; EVANS, R.K.; YANOVICH, R. Dietary intake and stress fractures among elite male combat recruits. **J. Int. Soc. Sports Nutr.**, v. 9:6, 2012. Disponível em: <<http://www.jissn.com/content/pdf/1550-2783-9-6.pdf>>. Acesso em: 01 jul. 2012.
41. NIEMAN, D.C. Exercise effects on systemic immunity. **Immunology and Cell Biology**, v. 78, p. 496–501, 2000.
42. GLEESON, M.; BISHOP, N.C. Elite athlete immunology: importance of nutrition. **Int. J. Sports Med.** v. 21, p. S44-50, 2000. Supplement 1
43. GLEESON, M.; NIEMAN, D.C.; PEDERSEN, B.K. Exercise, nutrition and immune function. **J. Sports. Sci.**, v. 22, n. 1, p.115-125, 2004.
44. WALSH, N.P.; GLEESON, M.; SHEPHARD, R.J.; GLEESON, M.; WOODS, J.A.; BISHOP, N.C.; FLESHNER, M.; GREEN, C.; PEDERSEN, B.K.; HOFFMAN-GOETZ, L.; ROGERS, C.J.; NORTHOFF, H.; ABBASI, A.; SIMON, P. Position statement part one: immune function and exercise. **Exerc. Immunol. Rev.**, v. 17, p. 6-63, 2011.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

45. ROSA, L.F.P.B.C.; VAISBERG, M.W. Influências do exercício na resposta imune. **Rev. Bras. Med. Esporte**, v. 8, n. 4, p. 167-172, 2002.
46. DENADAI, B.S. Consumo máximo de oxigênio: fatores determinantes e limitantes. **Rev. Bras. Ativ. Fís. Saúde**, v. 1, n. 1, p. 85-94, 1995.
47. WEINECK, J. **Biologia do Esporte**. 7 ed. Manole. São Paulo. 2005.
48. WILMORE, J.H.; COSTILL, D.L. **Fisiologia do esporte e do exercício**. 2.ed. Manole. SP 2001.
49. DENADAI, B.S. Limiar anaeróbio: considerações fisiológicas e metodológicas. **Rev. Bras. Ativ. Fís. Saúde**, v. 1, n. 2, p. 74-88, 1995.
50. ROSSI, L.; TIRAPEGUI, J. Aspectos atuais sobre exercício físico, fadiga e nutrição. **Rev. Paul. Educ. Fís.**, v.13, n.1, p. 67-82, 1999.
51. SPEICH, M.; PINEAU, A.; BALLEREAU, F. Minerals, trace elements and related biological variables in athletes and during physical activity. **Clin. Chim. Acta**, v. 312, p. 1–11, 2001.
52. AIRES, M.M. **Fisiologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.
53. GENTILE, J.K.A.; HADDAD, M.M.C.B.; SIMM, J.A.; MOREIRA, M.P. Hiponatremia: conduta na emergência. **Rev. Bras. Clin. Med.** v. 8, p. 159-164, 2010.
54. Institute of Medicine. The National Academies, Washington, DC. Disponível em: <<http://www.iom.edu/Activities/Nutrition/SummaryDRIs/DRI-Tables>>. Acesso em: 24 jun. 2012.
55. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. The National Academies Press, Washington, DC. Disponível em: <http://www.nap.edu/openbook.php?record_id=10925>. Acesso em: 01 out. 2011.
56. NOAKES, T.D.; GOODWIN, N.; RAYNER, B.L.; BRANKEN, T.; TAYLOR, R.K. Water intoxication: A possible complication during endurance exercise. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v.17, p. 370–375, 1985.
57. SPEEDY, D.B.; ROGERS, I.R.; NOAKES, T.D.; WRIGHT, S.; THOMPSON, J.M.; CAMPBELL, R.; HELLEMANS, I.; KIMBER, N.E.; BOSWELL, D.R.; KUTTNER, J.A.; SAFIH, S. Exercise-induced hyponatremia in ultradistance

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

triathletes is caused by inappropriate fluid retention. **Clin. J. Sport Med.**, v.10, n.4, p. 272–278, 2000.

58. ALMOND, C.S.; SHIN, A.Y.; FORTESCUE, E.B.; MANNIX, R.C.; WYPIJ, D.; BINSTADT, B.A.; DUNCAN, C.N.; OLSON, D.P.; SALERNO, A.E.; NEWBURGER, J.W.; GREENES, D.S. Hyponatremia among runners in the Boston Marathon. **New Engl. J. Med.**, v. 352, p. 1550-1556, 2005.

59. MATEO, R. Efectos de una carrera de maratón sobre los parámetros hematológicos minerales y elementos traza. **Arch. Med. del Deporte**, v. 10, n. 40, p. 413-420, 1993.

60. PASTENE, J.; GERMAIN, M.; ALLEVARD, A.M.; GHARIB, C.; LACOUR, J. Water balance during and after marathon running. **Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.**, v. 73, p. 49-55, 1996.

61. TSINTZAS, O. Influence of carbohydrate supplementation early in exercise on endurance running capacity. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v. 28, p. 1373-1379, 1996.

62. ROSNER, M.H. Exercise-associated hyponatremia. **Seminars in nephrology**, v. 29, n.3, p. 271-281, 2009.

63. SPEEDY, D.B.; TIMOTHY D NOAKES, T.D.; SCHNEIDER, C. Exercise-associated hyponatremia: a review. **Emergency Medicine**, v. 13, p. 17–27, 2001.

64. ACOSTA, P.; VARON, J. Life-threatening hyponatremia in marathon runners: The Varon-Ayus syndrome revisited. **Crit. Care & Shock**, v. 8, p, 23-27, 2005.

65. ADROGUÉ, H.J.; MADIAS, N.E. Hyponatremia. **New Engl. J. Med.** v. 342, p. 1581-1589, 2000.

66. O'CONNOR, R.E. Exercise-induced hyponatremia: causes, risks, prevention, and management. **Cleve Clin. J. Med.**, v. 73, p. S13-S18, 2006. Supplement 3

67. AYUS, J.C.; VARON, j.; ARIEFF, A.I. Hyponatremia, cerebral edema, and noncardiogenic pulmonary edema in marathon runners. **Ann. Intern. Med.** v.132, p. 711-714, 2000.

68. O'TOOLE, M.L.; DOUGLAS, P.S.; LAIRD, R.H, HILLER, D.B. Fluid and electrolyte status in athletes receiving medical care at an ultradistance triathlon. **Clin. J. Sport Med.**, v. 5, p. 116–122, 1995.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

69. VRIJENS, D.M.J.; REHRER, N.J. Sodium-free fluid ingestion decreases plasma sodium during exercise in the heat. **J. Appl. Physiol.**, v. 86, p: 1847-1851, 1999.
70. ROMANO, N.P.; BRÍÑAS, E.P.L. Otras causas de hiponatremia. **Nefrologia Sup. Ext.**, v. 2, n.6, p. 67-74, 2011.
71. ROSNER, M.H.; KIRVEN, K. Exercise-associated hyponatremia. **Clin. J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 2, p. 151–161, 2007.
72. HEW-BUTLER, T.; AYUS, J.C.; KIPPS, C.; MAUGHAN, R.J.; METTLER, S.; MEEUWISSE, W.H.; PAGE, A.J.; REID, S.A.; REHRER, N.J.; ROBERTS, W.O.; ROGERS, I.R.; ROSNER, M.H.; SIEGEL, A.J.; SPEEDY, D.B.; STUEMPFLE, K.J.; VERBALIS, J.G.; WESCHLER, L.B.; WHARAM, P. Statement of the second international exercise-associated hyponatremia consensus development conference, New Zealand, 2007. **Clin. J. Sport. Med.**, v. 18, p.111–121, 2008.
73. MURRAY, B., EICHNER, E.R., STOFAN, J. Hiponatremia em atletas. **Sports Science Exchange. Gatorade Sports Science Institute**. v. 16, n. 1, 2002. Disponível em: <<http://www.gssi.com.br/>>. Acesso em: 10 jun. 2012.
74. EIJSVOGEL, T.M.H.; SCHOLTEN, R.R.; DUIJNHOFEN, N.T.L.V.; HIJSEN, D.H.J.; HOPMAN, M.T.E. Sex difference in fluid balance responses during prolonged exercise. **Scand. J. Med. Sci. Sports**, 2011. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1600-0838.2011.01371.x/full>>. Acesso em: 12 jun. 2012.
75. SEJERSTED, O.M.; SJØGAARD, G. Dynamics and consequences of potassium shifts in skeletal muscle and heart during exercise. **Physiol. Rev.**, v. 80, n. 4, p. 1411-1481, 2000.
76. ÉVORA, P.R.B.; REIS, C.L.; FEREZ, M.A.; CONTE, D.A.; GARCIA, L. V. Distúrbios do equilíbrio hidroeletrólítico e do equilíbrio ácidobásico – uma revisão prática. **Medicina**, v. 32, p. 451-469, 1999.
77. DUTKA, T.L.; LAMB, G.D. Na⁺ - K⁺ pumps in the transverse tubular system of skeletal muscle fibers preferentially use ATP from glycolysis. **Am. J. Physiol. Cell. Physiol.**, v. 293, p. C967–C977, 2007.
78. FRIMM, C.C.; KOIKE, M.K. Ações fisiológicas da aldosterona. **Hipertensão**, v. 6, n. 2, p. 46-49, 2003.
79. WHITNEY, E.; ROLFES, S.R. **Nutrição 1 – entendendo os nutrientes**. São Paulo, S.P. Cengage Learning, 2008.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

80. MOHR, M.; NORDSBORG, N.; NIELSEN, J.J.; PEDERSEN, L.D.; FISCHER, C.; KRUSTRUP, P.; BANGSBO, J. Potassium kinetics in human muscle interstitium during repeated intense exercise in relation to fatigue. **Eur. J. Physiol.** v. 448, n. 4, p. 452-456, 2004.
81. STREET, D.; NIELSEN, J. J.; BANGSBO, J.; JUEL, C. Metabolic alkalosis reduces exercise-induced acidosis and potassium accumulation in human skeletal muscle interstitium. **J. Physiol.** v. 566, n. 2, p. 481-489, 2005.
82. NIELSEN, J.J.; MOHR, M.; KLARSKOV, C.; KRISTENSEN, M.; KRUSTRUP, P.; JUEL, C.; BANGSBO, J. Effects of high-intensity intermittent training on potassium kinetics and performance in human skeletal muscle. **J. Physiol.**, v. 554, n. 3, p. 857-870, 2003.
83. BICKHAM, D.C. Extracellular K⁺ accumulation: a physiological framework for fatigue during intense exercise. **J. Physiol.**, v. 554, n. 3, p. 593, 2003.
84. KRISTENSEN, M.; JUEL, C. Potassium-transporting proteins in skeletal muscle: cellular location and fibre-type differences. **Acta Physiol.**, v. 198, n. 2 p: 105-123, 2010.
85. LINDINGER, M.I. Potassium regulation during exercise and recovery in humans: implications for skeletal and cardiac muscle. **J. Mol. Cell. Cardiol.**, v. 27, n. 4, p. 1011-1022, 1995.
86. BRONZATTO, H.A.; SILVA, R.P.; STEIN, R. Morte súbita relacionada ao exercício. **Rev. Bras. Med. Esporte**, v. 7, n. 5, p. 163-169, 2001.
87. MARON, B.J.; POLIAC, L.C.; ROBERTS, W.O.; Risk for sudden cardiac death associated with marathon running. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 28, p. 428-43, 1996.
88. FERREIRA, M.; SILVA, P.R.S.; ABREU, L.C.; VALENTI, V.E. CRISPIM, V.; IMAIZUMI, C.; FILHO, C.F.; MURAD, N.; MENEGHINI, A.; RIERA, A.R.P.; CARVALHO, T.D.; VANDERLEI, L.C.M.; VALENTI, E.E.; CISTERNAS, J.R.; FILHO, O.F.M.; FERREIRA, C. Sudden cardiac death athletes: a systematic review. **Sports Med. Arthrosc. Rehabil. Ther. Technol.**, v. 2, n. 19, p. 1-6, 2010.
89. VARRÓ, A.; BACZKÓ, I. Possible mechanisms of sudden cardiac death in top athletes: a basic cardiac electrophysiological point of view. **Eur. J. Physiol.**, v. 460, n. 1, p. 31-40, 2010.
90. LANCHA JUNIOR, A.H.; PEREIRA-LANCHA, L.O. **Nutrição e metabolismo aplicados à atividade motora**. 2.ed._São Paulo, S.P.: Atheneu, 2012.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

91. BURGER-MENDONÇA, M.; BIELAVSKY, M.; BARBOSA, F.C.R. Comportamento da calemia antes e após triathlon meio ironman em triathletas brasileiros. **Braz. J. Biomotricity**, v. 2, n. 2, p. 101-108, 2008.
92. NIX, S. **Williams Nutrição Básica & Dietoterapia**. Rio de Janeiro, R.J.: Elsevier, 2010.
93. COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 4.ed. Barueri, S.P.: Manole, 2012.
94. WOLMAN, R.L. Bone mineral density levels in elite female athletes. **Ann. Rheum. Dis.**, v. 49, p. 1013-1016, 1990.
95. CHAROENPHANDHU, N. Physical activity and exercise affect intestinal calcium absorption: a perspective - review. **J. Sports Sci. Technol.**, v. 7, n. 1, p. 171-181, 2007.
96. MANTOANELLI, G.; VITALLE, M.S.S.; AMANCIO, O.M.S. Amenorréia e osteoporose em adolescentes atletas. **Rev. Nutr.**, v.15, n.3, p. 319-332, 2002.
97. NIEVES, J. W. Osteoporosis: the role of micronutrients. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 81, p. 1232–1239, 2005. Supplement
98. MUÑOZ, E.A.; OREJÓN, R.U.; CALVO, F. J. R.; JIMÉNEZ, A.C. Magnésio en anestesia y reanimación. **Rev. Esp. Anesthesiol. Reanim.**, v. 52, p. 222-234, 2005.
99. BOHL, C.H.; VOLPE, S.L. Magnesium and exercise. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 42, n. 6, p. 533–563, 2002.
100. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. The National Academies Press, Washington, DC. Disponível em: <http://www.nap.edu/openbook.php?record_id=5776>. Acesso em: 01 out. 2011.
101. NIELSEN, F.H.; LUKASKI, H.C. Update on the relationship between magnesium and exercise. **Magnes. Res.**, v.19, n. 3, p. 180-189, 2006.
102. LUKASKI, H.C. Magnesium, zinc, and chromium nutriture and physical activity. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 72, p. s585–s593, 2000. Supplement 2
103. LAIRES, M.J.; MONTEIRO, C. Exercise, magnesium and immune function. **Magnes. Res.**, v. 21, n. 2, p. 92-96, 2008.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

104. MAUGHAN, R.J. Role of micronutrients in sport and physical activity. **Br. Med. Bull.**, v. 55, n. 3, p. 683-690, 1999.
105. SMYTH, P.P. A.; DUNTAS, L. H. Iodine uptake and loss - can frequent strenuous exercise induce iodine deficiency? **Horm. Metab. Res.**, v. 37, n. 9, p. 555-558, 2005.
106. SUZUKI, M.; TAMURA, T. Iodine intake of Japanese male university students: urinary iodine excretion of sedentary and physically active students and sweat iodine excretion during exercise. **J. Nutr. Sci. Vitaminol.** v. 31, n. 4, p: 409-415, 1985.
107. MAO, I.F.; KO, Y.C.; CHEN, M.L. The stability of iodine in human sweat. **Jpn. J. Physiol.**, v. 40, n. 5, p: 693-700, 1990.
108. MAO, I.F.; CHEN, M.L.; KO, Y.C. Electrolyte loss in sweat and iodine deficiency in a hot environment. **Arch. Environ. Health**, v. 56, n.3, p. 271–277, 2001.
109. KOK, F.J.; VORSTER, H.H.; GIBNEY, M.J. **Introdução a nutrição humana**. Rio de Janeiro, R.J.: Guanabara Koogan, 2005.
110. LUKASKI, H.C. Micronutrients (magnesium, zinc and copper): are mineral supplements needed for athletes? **Int. J. Sport Nutr.**, v. 5, p. s74-s83, 1995. Supplement
111. SHILS, M.E.; SHIKE, M.; ROSS, A.C.; CABALLERO, B.; COUSINS, R.J. **Nutrição moderna na saúde e na doença**. 10.ed. São Paulo, S.P.: Manole, 2009.
112. HERNANDEZ, A.J.; NAHAS, R.M. Modificações dietéticas, reposição hídrica, suplementos alimentares e drogas: comprovação de ação ergogênica e potenciais riscos para a saúde. **Rev. Bras. Med. Esporte**, v. 15, n. 3, p. 3-12, 2009.
113. CATANIA, A.S.; BARROS, C.R.; FERREIRA, S.R.G. Vitaminas e minerais com propriedades antioxidantes e risco cardiometabólico: controvérsias e perspectivas. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v.53, n.5, p. 550-559, 2009.
114. PEELING, P.; DAWSON, B.; GOODMAN, C.; LANDERS, G.; TRINDER, D. Athletic induced iron deficiency: new insights into the role of inflammation, cytokines and hormones. **Eur. J. Appl. Physiol.**, v. 103, n. 4, p. 381–391, 2008.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

115. HURRELL, R.; EGLI, I. Iron bioavailability and dietary reference values. **Am. J. Clin. Nutr.**; v. 91, p: 1461S–7S, 2010. Supplement
116. BEARD, J.; TOBIN, B. Iron status and exercise. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 72, n.2 p. 594S–597S, 2000. Supplement 2
117. MATEO, R.J.N.; LAÍNEZ, M.G.L. Anemia do atleta (II): incidência e conduta terapêutica. **Rev. Bras. Med. Esporte**, v. 6, n. 4, p. 155-164, 2000.
118. MERCER, K.W.; DENSMORE, J.J. Hematologic disorders in the athlete. **Clin. Sports Med.** v. 24, p. 599–620, 2005.
119. ZAMBONI, C.B. **Fundamentos da Física de Nêutrons**. 1.ed. São Paulo: Livraria da Física, 2007.
120. REUS, U.; WESTMEIER, W. **Catalog of gamma rays from radioactive decay Part 1**. Atomic data and nuclear data tables. Germany: v. 29, p. 1- 192, 1983.
121. MUGHABGHAB, S.F. Atlas of neutron resonances: resonance parameters and thermal cross sections X=1-100. **Elsevier BV**, London, 2006.
122. FIRESTONE, R.B. **Table of Isotopes**. 8.ed. New York, NY.: Wiley, 1996.
123. GOUFFON, P. **Manual do Programa Idefix**. Universidade de São Paulo, Instituto de Física, Laboratório do Acelerador Linear, São Paulo, 1987.
124. CLIFFORD, K.B. **Nuclear reactors for research**. Princeton, N.Y.: D.Van Nostrand, 1957.
125. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. X-Ray and Gamma-Ray standards for detector calibration. (IAEA – TECDOC – 619), Viena, 1991.
126. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (2005). Resolução – RDC Nº 153 - 10 junho 2004. Disponível em:
<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/resolucao_153_2004.pdf>. Acesso em: 10 Jul. 2012.
127. LOURENCO, T.F.; MARTINS, L.E.B.; TESSUTTI, L.S. BRENZIKOFER, R. MACEDO, D.V. Reproducibility of an incremental treadmill VO₂ max. test with gas exchange analysis for runners. **Journal of Strength and Conditioning Research**. v. 25, n. 7, p. 1994-1999, 2011.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

128. MEDEIROS, J.A.G.; ZAMBONI, C.B.; ZAHN, G.S.; OLIVEIRA, L.C.; DALAQUA JR, L. Software para realização de análises hematológicas utilizando processo radioanalítico, In: **Anais**. 39 CBPC/ML, 2005.
129. METTLER, S.; ZIMMERMANN, M. B. Iron excess in recreational marathon runners. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 64, n. 5, p.490–494, 2010.
130. ZAMBONI, C.B.; MEDEIROS, I.M.M.A.; MEDEIROS, J.A.G. Analysis of sulfur in dried fruits using NAA. **Proceedings INAC** 2011.
131. HOROWITZ, N.; MEURER, E.J. Oxidação do enxofre elementar em solos tropicais. **Cienc. Rural**. v. 36, p. 822-828, 2006.
132. CASARIN, V. Enxofre elementar – forte aliado da produtividade. **Campo & Negócios**, n. 44, p. 58-59, 2006.
133. ARRAIS, P.S.D.; COELHO, H. L.L.; BATISTA, M.C.D.S.; CARVALHO, M.L.; ROBERTO E. RIGHI, R.E.; E ARNAU, J.M. Perfil da automedicação no Brasil. **Rev. Saúde Pública**, v.31, n.1, p. 71-77, 1997.
134. NEWHOUSE, I. J.; CLEMENT, D. B. Iron status in athletes - An update. **Sports Med.**, v. 5, n. 6, p: 337–352, 1988.
135. SCHUMACHER, Y. O.; SCHMID, A.; GRATHWOHL, D.; BULTERMANN, D.; BERG, A. Hematological indices and iron status in athletes of various sports and performances. **Med. Sci. Sports Exerc.** v. 34, n. 5, 869–875, 2002.
136. MALCZEWSKA, J.; RACZYNSKI, G.; STUPNICKI, R. Iron status in female endurance athletes and in non-athletes. **Int. J. Sport. Nutr. Exerc. Metab.**, v.10, n. 3, p: 260–276, 2000.
137. GHILANI, C.D.; WOLF, P.R. **Adjustment computations spatial data analysis**. 5.ed. New York, USA: John Wiley and Sons, 2010.
138. FIGUEIREDO FILHO, D.B.; SILVA JÚNIOR, J.A. Desvendando os mistérios do coeficiente de correlação de Pearson (r). **Rev. Política Hoje**, v.18, n. 1, p. 115-146, 2009.
139. BARBOSA, M.G.; SANTOS, G.S.; BANDINELLI, V.; MORAES, C.M.B. Micronutrientes na atividade física: um enfoque nos minerais. **Revista Digital**, Buenos Aires, Jun. 2010. Disponível em:
<<http://www.efdeportes.com/efd145/micronutrientes-na-atividade-fisica.htm>>. Acesso em: 20 Fev 2012.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

140. MELVIN, H. W. Dietary supplements and sports performance: minerals. **J. Int. Soc. Sports Nutr.** v. 2, n. 1, p. 43–49, 2005.
141. PANZA, V.P.; COELHO, M.S.P.H.; PIETRO, P.F.A.; ALTENBURG, M.A.; VASCONCELOS, F.A.G. Consumo alimentar de atletas: reflexões sobre recomendações nutricionais, hábitos alimentares e métodos para avaliação do gasto e consumo energéticos. **Rev. Nutr.**, v. 20, n. 6, p. 681-692, 2007.
142. BAPTISTA, T.S.; REDÍGOLO, M.M.; ZAMBONI, C.B.; SATO, I.M.; MARCELINO, J.R. Comparative study of inorganic elements determination in whole blood from Crioula breed horse by EDXRF and NAA analytical techniques. **J. Radioanal. Nucl. Chem.**, v. 291, p. 399-403, 2012.
143. ZAMBONI, C.B, OLIVEIRA, L.C.; DALAQUA JR, I.; MESA, J. Application of neutron activation analysis to bone. **J. Radioanal. Nucl. Chem.**, v. 269, p. 331-338, 2006.
144. ZAMBONI, C.B.; ZAHN, G.S.; SANT'ANNA, O.A. Trace elements at whole blood of distinct mouse lines by using NAA. **AIP**, v. 884, p. 507-509, 2007.
145. AGUIAR, R.; ZAMBONI, C.B.; GENEZINI, F.A. Analysis in blood of Golden Hamster by NAA for clinical practice. **AIP**, v. 1139, p. 204-205, 2009.
146. ZAMBONI, C.B.; SUZUKI, M.F.; METAIRON, S.; CARVALHO, M.F.D.; SANT'ANNA, O.A. Investigation of whole blood of SJL/J mice using neutron activation analysis. **J. Radioanal. Nucl. Chem.**, v. 281, p. 97-99, 2009.
147. OLIVEIRA, L.C.; ZAMBONI, C.B.; PESSOA, E.A.; BORGES, F.T. Determination of elements in kidney, serum and urine of Wistar rats with acute renal insufficiency using NAA. **J. Radioanal. Nucl. Chem.**, v. 291, p. 395-398, 2011.