



UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MOTRICIDADE HUMANA



**COMPARTIMENTOS HÍDRICOS E DISTRIBUIÇÃO DE
FLUIDOS COMO DETERMINANTES DO ÂNGULO DE
FASE E DOS PARÂMETROS BRUTOS DA
BIOIMPEDÂNCIA EM ATLETAS**

Dissertação elaborada com vista à obtenção do grau de Mestre em
Exercício e Saúde

Orientadora: Professora Doutora Analiza Mónica Lopes de Almeida Silva

Júri:

Presidente

Professora Doutora Cristina Paula Fidalgo Negreiros Monteiro Bento

Vogais

Professora Doutora Analiza Mónica Lopes Almeida Silva

Professora Doutora Ana Catarina Francisco Nunes Matias

RUBEN FRANCISCO

2019

AGRADECIMENTOS

Apaixonado pela carreira académica, o mestrado é o consolidar de mais um passo neste percurso desafiante. Foi fascinante, nos momentos trépidos, sentir o apoio incondicional junto meus entes queridos e professores. A eles, estarei para sempre agradecido e por isso quero dedicar-lhes estas palavras que se seguem.

À professora doutora Analiza Silva, percebi desde as primeiras aulas do mestrado que seria a professora com quem gostaria de trabalhar e adquirir mais conhecimento durante todo o período dedicado à dissertação. Todas as expectativas que criei foram superadas! Obrigado pela orientação cuidada e atenta, pela sua enorme disponibilidade em ajudar sempre que necessário, e pela exigência imposta ao longo deste processo, sem nunca deixar de dar autonomia suficiente para adquirir, aprimorar e consolidar os conhecimentos por mim mesmo. Em todos os momentos de contacto consigo, o seu conhecimento, perícia e experiência nas áreas adjacentes ao metabolismo e composição corporal foram realmente inspiradoras. Foi muito gratificante trabalhar consigo. O meu sentido agradecimento!

Aos meus pais, obrigado por me terem dado a melhor educação e por me transmitirem a importância de lutar com determinação, abraçar os objetivos com paixão e ter a impavidez de escolher um percurso desafiante e exigente.

À Ana, não tenho palavras para agradecer todo o apoio ao longo de todo o mestrado, mas principalmente nos momentos mais árduos e frágeis, foste a minha fortaleza, que me transmitiu a resiliência necessária para ultrapassar todas as adversidades, a bravura para vencer cada desafio e a essência de aproveitar a felicidade inerente a cada momento.

À família Sarmento, ficou sublinhada a vossa disponibilidade, amabilidade e o vosso cuidado incansável. Por várias vezes, em momentos mais agitados e de maior ansiedade, a vossa boa energia foi imperativa. Fico a cada um de vós eternamente agradecido por todo o apoio.

A todos os professores, agradeço por todos os conhecimentos transmitidos, mas acima de tudo quero agradecer por terem sido brilhantes na forma como deixaram questões em aberto, despertaram dúvidas e curiosidades, que no sentido de lhes dar resposta, foram promotoras para seguir este caminho.

Ao laboratório Exercício e Saúde, foi um prazer estar em contacto e trabalhar com grandes investigadores e futuros investigadores deste prestigioso laboratório. Fico extremamente orgulhoso de participar e de colaborar no projeto Champ4Life e agradeço a toda a equipa pelas experiências e conhecimentos partilhados.

À equipa da Clínica das Conchas, obrigado por confiarem no meu trabalho, por valorizarem e fomentarem diariamente o desenvolvimento profissional. Um obrigado especial ao professor doutor Rodrigo Ruivo pela constante disponibilidade, toda a amizade criada e oportunidades profissionais proporcionadas.

A gratidão que sinto por cada um de vós vai muito além das palavras. Obrigado!

RESUMO

Introdução: O objetivo deste estudo foi analisar os compartimentos hídricos e distribuição de fluidos como preditores dos parâmetros brutos da bioimpedância elétrica multiespectral (BIS) em atletas, ajustando para co-variáveis.

Métodos: Foram analisados 209 homens e 80 mulheres atletas, com média de idades de 21.4 ± 4.6 anos e 20.0 ± 3.2 anos, respectivamente. Utilizando técnicas de diluição de isótopos, foram estimados os valores da água corporal total (ACT) e água extracelular (AEC). A água intracelular (AIC) foi calculada ($AIC = ACT - AEC$) e a distribuição de fluidos através do rácio AEC/AIC. O ângulo de fase (AnF), resistência (R) e reactância (X_c) foram obtidos através da BIS (Xitron-4200) a uma frequência de 50kHz. A massa isenta de gordura (MIG) foi determinada por densitometria radiológica de dupla energia (DXA).

Resultados: Independentemente da MIG, idade e categoria de modalidade, a AIC foi considerada um preditor do AnF nas mulheres ($\beta = 0.129$; $p < 0.01$) e nas homens ($\beta = 0.108$; $p < 0.01$), assim como o rácio AEC/AIC ($\beta = -1.022$; $p = 0.016$; $\beta = -2.072$; $p < 0.01$, respetivamente) e também a ACT ($\beta = 0.59$, $p = 0.027$ e $\beta = 0.120$, $p < 0.01$, respetivamente). Nas mulheres, considerando as co-variáveis, a AIC e ACT apresentaram uma associação inversa com a R ($\beta = -0.016$; $p < 0.01$ e $\beta = -11.045$; $p < 0.01$). A mesma associação com a R foi observada, nos homens, para a AIC ($\beta = -5.826$; $p < 0.01$), AEC ($\beta = -3.957$; $p = 0.010$) e ACT ($\beta = -472.23$; $p < 0.01$). O rácio AEC/AIC, nos homens, associou-se de forma positiva com a R ($\beta = 54.25$; $p = 0.020$). Nos homens, depois do ajuste às co-variáveis, a AEC ($\beta = -0.997$; $p < 0.01$) e ACT ($\beta = -0.348$; $p = 0.017$) relacionaram-se de forma inversa com a X_c . Por outro lado, nas mulheres nenhuma das variáveis foi determinante nos valores de X_c .

Conclusão: Valores mais altos de AIC predizem valores mais altos de AnF nos atletas. Valores de R mais baixos são observados em atletas que apresentam valores mais altos de ACT e dos seus compartimentos. Para a X_c observou-se um dimorfismo sexual, já que valores mais baixos de X_c dependem de valores mais altos de ACT e AEC nos homens, mas não nas mulheres.

Palavras chave: Ângulo de fase, reactância, resistência, bioimpedância, água intracelular, água extracelular, água corporal total, distribuição de fluidos, atletas, métodos de diluição.

ABSTRACT

Introduction: The objective of this study was to analyze water compartments and fluid distribution as predictors of the raw parameters of multispectral electrical bioimpedance (BIS) in athletes, adjusting for covariates.

Methods: A total of 209 men and 80 female athletes were analyzed, with a mean age of 21.4 ± 4.6 y and 20.0 ± 3.2 y, respectively. Using isotope dilution techniques, the values of total body water (TBW) and extracellular water (ECW) were estimated. The ICW was calculated ($ICW = TBW - ECW$) and the distribution of fluids through the ECW:ICW ratio. The phase angle (PhA), resistance (R) and reactance (Xc) were obtained through the BIS (Xitron-4200) at a frequency of 50kHz. Fat-free mass (FFM) was determined by dual-energy X-ray absorptiometry (DXA).

Results: Regardless of FFM, age and sport category, ICW ($\beta=0.129$, $p<0.01$; $\beta=0.108$, $p<0.01$), ECW:ICW ratio ($\beta=-1.022$, $p=0.016$; $\beta=-2.072$, $p<0.01$) and TBW ($\beta=0.59$, $p=0.027$; $\beta=0.120$, $p<0.01$) were considered predictors of PhA in women and men, respectively. In women, adjusting for covariates, ICW and TBW had an inverse association with R ($\beta=-0.016$, $p<0.01$ and $\beta=-11.045$, $p<0.01$). The same association with R was observed in men for ICW ($\beta=-5.826$, $p<0.01$), ECW ($\beta=-3.957$, $p=0.010$) and TBW ($\beta=-472.23$, $p<0.01$). The ECW:ICW ratio in men was positively associated with R ($\beta=54.25$, $p=0.020$) after the adjustment to the covariables. In males, after the adjustment to the covariables, the ECW ($\beta=-0.997$; $p<0.01$) and TBW ($\beta=-0.348$; $p=0.017$) were inversely related to Xc. In the women none of the variables was determinant in predicting Xc.

Conclusion: Higher ICW values predict higher PhA values in athletes. Lower R values are observed in athletes who have higher TBW values and its compartments. For Xc, a sexual dimorphism was observed, since lower values of Xc depend on higher TBW and ECW values in men, but not in women.

Key Words: Phase Angle; resistance; reactance; bioimpedance, intracellular water, extracellular water; total body water, fluid distribution; athletes, dilution techniques.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	III
RESUMO.....	V
ABSTRACT	VI
ÍNDICE DE TABELAS E FIGURAS.....	IX
ABREVIATURAS	XI
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1 COMPARTIMENTOS E DISTRIBUIÇÃO HÍDRICA EM ATLETAS.....	3
2.2 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DOS COMPORTAMINTOS HÍDRICOS	7
2.2.1 Bioimpedância	8
2.2.2 Bioimpedância Unifrequência	16
2.2.3 Bioimpedância multifrequência.....	17
2.2.4 Bioimpedância espectral.....	18
2.2.5 Métodos hidrométricos	20
2.2.5.1 Diluição de deutério.....	21
2.2.5.2 Diluição de brometo de sódio (NaBr).....	23
2.3 ÂNGULO DE FASE EM ATLETAS	24
2.4 DETERMINANTES DO ÂNGULO DE FASE.....	29
3. PERTINÊNCIA DO ESTUDO.....	32
4. METODOLOGIA.....	34
4.1 DESENHO DO ESTUDO E AMOSTRA.....	34
4.1.1 Critérios de inclusão/exclusão dos participantes.....	34
4.1.2 Preparação	35
4.2 INSTRUMENTOS UTILIZADOS NA RECOLHA DE DADOS.....	36
4.3 PROCEDIMENTO	37
4.3.1 Antropometria.....	37
4.3.2 Estado de hidratação	37

4.3.3	Composição corporal.....	38
4.3.4	Hidrometria.....	38
4.3.4.1	Água Corporal Total (ACT)	38
4.3.4.2	Água extracelular (AEC).....	39
4.3.4.3	Água intracelular (AIC).....	39
4.3.5	Parâmetros brutos da bioimpedância.....	40
4.4	PROCEDIMENTO ESTATÍSTICO.....	41
5.	RESULTADOS	43
5.1	CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA	43
5.2	RELAÇÃO ENTRE OS COMPARTIMENTOS HÍDRICOS E DISTRIBUIÇÃO DE FLUÍDOS COM O ÂNGULO DE FASE, RESISTÊNCIA E REACTÂNCIA	45
6.	DISCUSSÃO	51
6.1	ÂNGULO DE FASE	54
6.2	REACTÂNCIA CELULAR.....	55
6.3	RESISTÊNCIA.....	57
7.	LIMITAÇÕES E TRABALHOS FUTUROS	59
8.	CONCLUSÃO.....	60
9.	BIBLIOGRAFIA	62

ÍNDICE DE TABELAS E FIGURAS

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Valores de ângulo de fase (AnF) considerados de referência para a população saudável a uma frequência de 50kHz	28
Tabela 2 - Características demográficas e de composição corporal dos atletas participantes no estudo, amostra feminina e masculina	44
Tabela 3 - Correlações de Pearson entre os parâmetros brutos medidos a uma frequência de 50 kHz e os compartimentos hídricos e distribuição de fluídos na amostra total, masculina e feminina	46
Tabela 4 - Determinantes do ângulo de fase observados através do uso de modelos de regressão linear múltipla ajustados para a massa isenta de gordura, categoria de modalidade e idade	47
Tabela 5 - Determinantes da Reactância observados através do uso de modelos de regressão linear múltipla ajustados para a massa isenta de gordura, categoria de modalidade e idade	49
Tabela 6 - Determinantes da Resistência observados através do uso de modelos de regressão linear múltipla ajustados para a massa isenta de gordura, categoria de modalidade e idade	50

Índice de Figuras

Figura 1 - Derivação gráfica do ângulo de fase (AnF) e a relação com a Resistência (R), Reactância (Xc), Impedância (Z) e a frequência elétrica aplicada (Adaptado de Kyle et al., 2004a).	10
Figura 2 - Princípios da BIA - Modelo de cilindro para a relação entre impedância e a geometria. A resistência oferecida pelo corpo humano à corrente elétrica é proporcional ao C do condutor e inversamente proporcional à sua AST (Adaptado de Mialich, Sicchieri & Junior, 2014).	11
Figura 3 - Assunção do corpo humano como cinco cilindros uniformes, dois membros superiores, dois membros inferiores e tronco, em que a cabeça é excluída (Adaptado de Kushner, 1992).	12
Figura 4 - Colocação padrão de elétrodos mão-punho e pé-tornozelo numa disposição tetrapolar unifrequência (UF-BIA) e de multifrequências (MF-BIA) (Adaptado de Kyle et al., 2004a).	13
Figura 5 - Família de tecnologia de análise da bioimpedância (BIA), organizada por número de frequências, zona corporal medida e análise de dados (Adaptado de Ward, 2018).	15
Figura 6 - Relação entre o AnF , R e Xc . Note-se que o AnF é uma resultante sensível à alteração da Xc celular e à alteração da R . A linha - - - mostra em teoria o comportamento do AnF em caso de uma diminuição da R e aumento da Xc	26

ABREVIATURAS

ACT – Água Corporal Total

AEC – Água Extracelular

AIC – Água Intracelular

AEC/AIC – Rácio Água Extracelular/Água Intracelular

BIA – Bioimpedância

BIS – Bioimpedância Espectral

UF-BIA – Bioimpedância Unifrequência

MF-BIA - Bioimpedância Multifrequência

Xc – Reactância

R – Resistência

Re – Resistência Extracelular

Ri – Resistência Intracelular

Z - Impedância

NaBr – Brometo de Sódio

MIG – Massa Isenta de Gordura

iMIG – Índice de Massa Isenta de Gordura

MG – Massa Gorda

MCC – Massa Celular Corporal

AnF – Ângulo de Fase

IMC – Índice de Massa Corporal

^2H – Deutério

$^2\text{H}_2\text{O}$ - Oxido de Deutério

$^3\text{H}_2\text{O}$ - Trítio

H_2^{18}O - Isótopo Estável do Oxigénio

^{42}K - Isótopo radioativo do Potássio

PCT – Potássio Corporal Total

DXA - Densitometria Radiológica de Dupla Energia

CV – Coeficiente de Variação

R^2 – Coeficiente de Determinação

β – Coeficiente de regressão

ASC – Área de Secção Transversal

C – Comprimento

GEU – Gravidade Específica da Urina

1. INTRODUÇÃO

Pela exigência fisiológica imposta ao longo de uma carreira desportiva, os atletas apresentam necessidades energéticas muito específicas que por sua vez levam a alterações na composição corporal, nomeadamente ao nível da água corporal (Sawka et al., 2007). Sujeitos a um elevado desgaste físico consequente de um grande volume de treinos e competições, o rendimento biológico é um parâmetro suscetível a alterações refletindo-se no seu estado de saúde geral.

A análise de bioimpedância elétrica (BIA) tem sido largamente utilizada como método de avaliação da composição corporal, com várias vantagens associadas, como o custo relativamente baixo, facilidade de transporte e a sua metodologia simples. A BIA, têm como fundamento base a diferença nos valores de resistência oferecidos pela passagem da condução elétrica pelos diferentes tecidos biológicos (Ward, 2018).

O método BIA permite a medição de parâmetros brutos – Resistência (R) e Reactância (Xc). A R representa a oposição encontrada pela corrente elétrica alternada através das soluções iónicas intra e extracelulares. Portanto, a R depende fortemente da hidratação dos tecidos, sendo inversamente associada ao conteúdo de fluidos (Kyle et al., 2004a). A Xc representa a capacitância oferecida à passagem da corrente elétrica ao nível das membranas celulares e dos tecidos não iónicos. Por outras palavras, a Xc, é a capacidade que as estruturas dos tecidos têm em “atrasar” o estímulo elétrico e reflete a massa e função das membranas celulares (Ribeiro et al., 2018; Buffa, Floris & Marini, E., 2003; Bosy-Westphal et al., 2006).

Além da R e Xc, a BIA permite determinar o ângulo de fase (AnF). Este tem sido largamente estudado como indicador de saúde, vitalidade e eficiência celular e varia em função dos parâmetros brutos à passagem de uma corrente elétrica alternada de baixa intensidade (Miura et al., 2019). Para os atletas, o AnF é um indicador biológico que representa uma forma objetiva, rápida, fácil e não invasiva na avaliação da saúde e desempenho celular. A sua interpretação e monitorização recorrentes permitem a treinadores, nutricionistas e fisiologistas do exercício físico a prescrição de diretrizes específicas de modo a melhorar a saúde e rendimento desportivo.

A avaliação dos compartimentos hídricos tem sido destaque nos últimos anos dada a sua influência no rendimento desportivo. Contudo, os atuais métodos considerados de referência para avaliação hídrica são considerados complexos, morosos e dispendiosos, limitando assim a sua utilização em estudos no âmbito do rendimento desportivo (Marini et al., 2019; Quintero, et al., 2009; Battistini, Virgili, & Bedogni, 1994; Silva, Minderico,

Teixeira, Pietrobelli & Sardinha, 2006; Silva, Fields, Heymsfield, & Sardinha, 2011; Silva, Fields, Heymsfield & Sardinha, 2010; Silva et al., 2014).

Gonzalez, Barbosa-Silva, Bielemann, Gallagher & Heymsfield, (2016) verificaram a influência da composição corporal como determinante do AnF em população adulta saudável, tendo sido concluído que para além da idade, massa isenta de gordura (MIG) e altura, o rácio entre água extracelular (AEC) e água intracelular (AIC) são fatores determinantes significativos no AnF. Recentemente Marini et al., (2019) verificaram em atletas, através de técnicas de referência, que maiores valores de AnF relacionam-se com menores valores de rácio AEC/AIC. No entanto, em atletas a forma como a avaliação do AnF é determinada pela quantidade de água corporal total (ACT) e pela redistribuição dos fluídos nos compartimentos intracelular e extracelular não está totalmente explicada, principalmente se consideramos outras variáveis que possam ser impactantes nos compartimentos hídricos como a idade, composição corporal e desporto praticado.

Assim, este estudo tem como objetivo investigar o papel preditivo que os compartimentos hídricos e a distribuição de fluidos apresentam na explicação do AnF e nos restantes parâmetros brutos da bioimpedância (R e Xc) em atletas, considerando co-variáveis como a idade, composição corporal ou categoria de modalidade praticada.

Ao longo deste documento que comporta dez capítulos é apresentada uma Introdução e justificação da escolha do tema no capítulo 1. No capítulo 2 é reunida a revisão de literatura referente à hidratação nos atletas, incluindo o estudo e a diferenciação dos compartimentos hídricos intracelular e extracelular, assim como as várias metodologias e ferramentas para a sua avaliação e monitorização. Ainda neste segundo capítulo são abordados o AnF e a sua importância no rendimento desportivo, assim como os fatores atualmente conhecidos que o determinam.

De seguida será apresentada a relevância deste estudo assim como os seus objetivos no capítulo 3. A metodologia utilizada ao longo deste estudo está descrita no capítulo 4, mais concretamente a amostra utilizada e os seus critérios de seleção, os procedimentos, técnicas e instrumentos utilizados, bem como a análise estatística efetuada.

Nos capítulos 5, 6 e 7 serão apresentados, respetivamente, os resultados do estudo, uma discussão fundamentada dos mesmos bem como as principais limitações e linhas futuras de investigação. O capítulo 8 é dedicado às principais conclusões do estudo. Por último, no capítulo 9 é apresentada a bibliografia que deu suporte teórico e que auxiliou a conceção deste estudo.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 COMPARTIMENTOS E DISTRIBUIÇÃO HÍDRICA EM ATLETAS

A água é o composto mais abundante dos organismos vivos. Está presente em várias reações químicas e de hidrólise essenciais à vida do ser humano, sendo um meio de difusão e transporte para muitas substâncias. Serve como solvente e veículo para substâncias nutritivas às células, assim como transporte de resíduos metabólicos (Guyton & Hall, 2006). É essencial na manutenção de uma temperatura estável. Assim, resumida a sua importância, à nascença representa cerca de 70-75% do peso corporal, num adulto saudável cerca de 60% e em adultos obesos pode representar 40% do peso corporal (Schoeller, 2005; Guyton & Hall, 2006). Com base nestes valores, significa que um indivíduo saudável de 70kg apresenta aproximadamente 42kg de água corporal.

Numa abordagem aos estudos da composição corporal, a MIG assume-se como o maior reservatório de água do corpo humano. A estabilidade da hidratação da MIG é uma assunção nos métodos de diluição de isótopos, assumindo que 73,2% da MIG é composta por água. Este valor tem sido aceite desde a primeira proposta realizada em 1945 por Pace e Rathbun que analisaram dados de várias espécies de pequenos mamíferos (Rathbun, Pace, Hinshaw & Buntin, 1945). Estes métodos são amplamente utilizados para estimar a MG, embora existam desvios conhecidos na hidratação dos tecidos, assim esta assunção representa uma limitação destes métodos de diluição (Wang et al., 1999).

Como referido anteriormente, dada a forte influência do estado de hidratação no desempenho biológico em diferentes tarefas fisiológicas, a sua variação ao longo do dia é muito pequena. Esta ligeira variação acontece devido às perdas de fluidos através de quatro principais mecanismos. A função renal representa o principal mecanismo para regular o equilíbrio entre a ingestão e a excreção da água. Ocorre também uma pequena perda diária através das fezes. De referir também as perdas que são insensíveis, tais como a respiração. Por fim, muito importante em atletas, através da sudorese, sendo esta dependente do nível da atividade física e das condições ambientais (Baker & Jeukendrup, 2014). Sabemos hoje em dia que apenas uma pequena redução (2-3%) do estado de hidratação é suficiente para limitar os processos fisiológicos do organismo, e por consequência, pode resultar numa diminuição da força, potência e resistência muscular (Silva et al., 2010; Judelson et al., 2007). No entanto, adaptando uma dieta equilibrada e uma reposição de líquidos adequada às características fisiológicas do indivíduo e ao seu dia-a-dia (por exemplo níveis de atividade física), os efeitos negativos da desidratação

podem ser evitados (King, Jones & O'Hara, 2018; Evans, James, Shirreffs, & Maughan, 2017). Nos atletas em particular, por questões relacionadas à saúde e ao rendimento biológico, o estado de hidratação é considerado um parâmetro crucial, assim, o aporte de água, reposição hídrica, a alteração dos compartimentos hídricos e os efeitos da desidratação têm sido largamente estudados (Martins, Hansen, Silva & Silva, 2018; Evans et al., 2017; Silva et al., 2014; 2011; 2010; Judelson et al., 2007).

Na literatura subjacente à temática da distribuição dos fluídos corporais, a água corporal total (ACT), isto é, toda a água existente no nosso organismo, está presente em várias zonas corporais como no sangue, tecido muscular, órgãos, dentro de cada célula, entre outros. A ACT é influenciada pela idade, género, nível de desempenho físico e pode ser organizada em dois diferentes compartimentos: a água intracelular e a água extracelular. Estes dois compartimentos estão separados por membranas celulares, que estabelecem a fronteira entre o espaço intracelular e extracelular tendo como função regular o fluxo de fluídos e materiais entre a célula e o seu ambiente (Guyton & Hall, 2006).

A AEC, localizada fora das células, está distribuída no plasma, no tecido intersticial, nos tecidos conectivos e no líquido transcelular. Este compartimento hídrico apresenta grandes quantidades de sódio, cloreto, iões bicarbonato e assume funções importantes ao facilitar o controlo e movimento dos eletrólitos, permite a entrega de oxigénio às células e elimina os desperdícios dos processos metabólicos (Guyton & Hall, 2006; Vaisman, Pencharz, Koren, & Johnson, 1987).

A AIC, localizada dentro das células, assume cerca de dois terços da ACT em adultos saudáveis, compreende grandes quantidades de potássio, magnésio e iões fosfato. Este compartimento hídrico permite um melhor funcionamento dos processos metabólicos e assume funções importantes como o transporte de moléculas para diferentes organelos intracelulares (Guyton & Hall, 2006).

Nos atletas, a medição do equilíbrio dos compartimentos supramencionados e da respetiva distribuição hídrica ganhou destaque nos últimos anos, verificando-se nos atletas que o conteúdo de AIC apresenta uma ligação com a melhoria do rendimento, sendo o componente hídrico cujas alterações afetam a força dos membros inferiores independentemente da idade, sexo, duração da temporada e modalidade desportiva (Silva et al., 2014). Em atletas de judo experientes, existe evidência de uma redução de potência nos membros superiores, associada ao decréscimo de ACT e de AIC (Silva et al., 2010).

A AIC, ao contrário da ACT e AEC parece ser um bom preditor do risco de diminuição de força de prensão em atletas de elite de judo, sendo que a força de prensão é essencial nas técnicas de ataque e de defesa (Silva et al., 2011).

Portanto, o ser humano depende da redistribuição diária dos seus compartimentos hídricos para o correto e equilibrado funcionamento do organismo nas diferentes tarefas motoras (Matias et al., 2012; Silva et al., 2011). Em atletas, estes mecanismos de regulação aparentam estar bem definidos. Estudos recentes mostram que indivíduos que estejam abrangidos num programa de treino podem estar sujeitos a alterações positivas no seu conteúdo de AIC. Por exemplo, um estudo realizado por Battistini et al. (1994) reportou que existe uma maior tendência para uma expansão da AEC nos atletas recreativos comparativamente com um grupo de atletas de elite. Segundo estes autores esta diferença é explicada por fatores nutricionais e de treino. Num outro estudo de natureza idêntica, atletas universitários envolvidos em desportos individuais, com maior volume e frequência de treino semanal, apresentaram maiores rácios de AEC/AIC quando comparados com atletas universitários envolvidos em desportos coletivos com menor volume e carga de treino (Martins et al., 2018). Estes autores expõem que, quando existe demasiado volume de treino pode haver uma expansão de fluido extracelular. Esta expansão de líquido pode diminuir o transporte de oxigénio para as células e aumentar a compressão dos capilares sanguíneos. Sendo que uma característica básica das células é a necessidade de oxigénio para a produção de energia (Guyton & Hall, 2006), esta expansão hídrica pode desencadear disfunções no sistema metabólico e assim impactar negativamente no desempenho biológico. Adicionalmente, pressupõem-se do ponto de vista fisiológico que uma carga demasiado alta de treino pode associar-se a um maior stress oxidativo limitando o funcionamento da célula através do aumento da produção de radicais livres. Estas moléculas caracterizam-se por possuírem um eletrão desemparelhado, tornando-as altamente reativas e a procurarem reações de oxidação com outras moléculas como as proteínas, podendo assim comprometer o rendimento e/ou saúde celular (Steinbacher & Eckl, 2015).

Para além da influência do volume de treino na distribuição hídrica, os estudos apontam também para uma atenção especial ao tipo de treino, mais precisamente ao treino de força. Reconhecidos os seus benefícios morfológicos, neuromusculares, fisiológicos e metabólicos associados à realização deste tipo de treino, uma das alterações mais visíveis é a ocorrência de hipertrofia muscular, isto é, o aumento do tamanho das células

musculares. À medida que as células aumentam de tamanho necessitam cada vez mais de água para manter as suas funções metabólicas. Uma explicação fisiológica possível pode estar relacionada com processos osmóticos, isto é, ao movimento de água através da membrana celular. Este movimento efetua-se de um meio de menor concentração em soluto para maior outro de maior concentração (Goodhead & MacMillan, 2017). Uma possível hipótese aceita relaciona-se com a acumulação aguda de lactato intracelular resultante da via anaeróbia láctica envolvida no esforço físico. Assim, o meio intracelular permanece momentaneamente mais concentrado e desta forma contribui para alterações osmóticas favoráveis ao aumento de AIC e à otimização metabolismo celular (Ribeiro, et al., 2014).

Outra hipótese plausível deve-se à potencialidade do treino de força em contribuir, de uma forma crónica, para uma maior acumulação de reservas de glicogénio intramuscular como forma de sobrecompensar a sua utilização durante este esforço. Tendo o glicogénio um grande poder osmótico, por cada grama de glicogénio são atraídas três gramas de água (Chan, Johnson, Moore, Kapadia & Dudley, 1982), este aumento poderá contribuir para uma maior retenção de água ao nível intracelular. Portanto, os atletas ao possuírem grandes níveis de massa muscular e reduzidos níveis de gordura corporal, justificam a grande concentração de glicogénio no sarcoplasma muscular e assim uma maior hidratação celular (King, et al., 2018; Ribeiro, et al., 2014). É de realçar também que os homens apresentam maior conteúdo de AIC comparativamente às mulheres. Estas diferenças podem dever-se ao facto das fibras musculares do tipo II (com maior preponderância nos homens) serem, particularmente, mais sensíveis a alterações osmóticas pela alta concentração de canais específicos de transporte da água designados aquaporina-4 (Frigeri, Nicchia, Verbavatz, Valenti & Svelto, 1998).

Estes resultados que evidenciam uma relação próxima entre a AIC e o rendimento biológico estão de acordo com a teoria proposta por Haussinger, Roth, Lang & Gerok (1993) que referem que “um aumento na hidratação celular (aumento do seu tamanho) atua como um sinal anabólico proliferativo, enquanto a redução celular é catabólica e anti proliferativa”. Os mesmos autores acrescentam ainda que, este estado de hidratação celular é facilmente alterado por vários fatores através da atividade de transporte de iões que atravessam a membrana plasmática, afetando assim o turnover proteico (Haussinger et al., 1993; Haussinger, Lang & Gerok, 1994).

Por outro lado, um aumento da AEC relativamente à AIC não é desejável. Embora durante a fase fetal o líquido extracelular exceda o líquido intracelular, durante a infância a relação AEC/AIC progressivamente decresce até ao ponto em que a AIC é responsável pela maior proporção da ACT. No envelhecimento esta situação volta a reverter, sendo a AEC responsável por ocupar maior proporção da ACT (Forbes, Reid, Bondurant & Etheridge, 1956; Silva et al., 2005). Durante a fase adulta, um aumento da AEC é característico de várias patologias, incluindo insuficiência cardíaca, distúrbios endócrinos, cirrose, fase terminal de doença hepática e função renal comprometida (Park et al., 2018; Roumelioti et al., 2018).

Em suma, a avaliação do estado de hidratação, a prevenção de desidratação e o aconselhamento técnico fazem parte de um programa multidisciplinar de treino cujo principal objetivo é aumentar o rendimento desportivo. Dada a importância da distribuição hídrica no nosso organismo, tanto numa perspetiva do aumento do rendimento como na melhoria da saúde, importa conhecer do ponto vista prático as diferentes formas de mensurar e monitorizar os compartimentos hídricos. Os métodos considerados os estados da arte assentam nas técnicas de diluição de isótopos (também designados métodos hidrométricos), de utilização limitada por serem mais complexos, laboriosos e dispendiosos (Matias et al., 2018; Moon et al., 2009) quando comparados com a análise de impedância biológica (BIA), considerada um método alternativo, menos operoso e mais rápido. Mais adiante, no próximo capítulo, estes métodos serão descritos detalhadamente.

2.2 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DOS COMPARTAMENTOS HÍDRICOS

Como referido anteriormente, a água é de extrema importância para a manutenção do desempenho biológico nas diferentes tarefas diárias e desportivas. Embora fisiologicamente cada indivíduo, em condições normais, seja capaz de manter diariamente a homeostasia hídrica, quando a reposição de água é negligenciada, a ACT e os seus comportamentos (AIC e AEC) ficam comprometidos (King et al., 2018).

Para um atleta, independentemente da fase de cada época desportiva onde se encontra, é essencial avaliar e monitorizar os compartimentos hídricos, para tal, importa conhecer detalhadamente os vários métodos disponíveis de avaliação do estado de hidratação.

Nos próximos capítulos serão descritas as técnicas de diluição consideradas as de referência pela comunidade científica. Embora reconhecidas e muito precisas são limitadas na medição de alterações dos compartimentos hídricos em intervalos muito curtos. Para além desta limitação, necessitam de um procedimento moroso, dispendioso e que requer uma grande desenvoltura técnica (Matias et al., 2016). Sugerida como alternativa a estes métodos de referência, importa mencionar e descrever a BIA que representa uma forma não invasiva, rápida, fácil de utilizar e com grande potencial para medir a ACT, AEC e AIC (Gonçalves, Matias, Santos, Sardinha & Silva, 2014).

2.2.1 Bioimpedância

A história da análise de bioimpedância (BIA) remonta a meados da década de 1980. Através da sua comercialização, a BIA começou a ser largamente utilizada por profissionais de saúde. Este exame através de eléctrodos colocados à superfície da pele, baseia-se na passagem de uma corrente eléctrica alternada de baixa intensidade pelo corpo (Foster & Lukaski, 1996). Popularizado por ser um método não invasivo, rápido (aproximadamente 2 minutos), fácil de utilizar e com resultados reprodutíveis, permite prever componentes de composição corporal. Embora tenha sido inicialmente proposto em estudos conduzidos por Hoffer et al., (1969) como método de análise para estimar a água corporal total (ACT), progressivamente estendeu-se à estimativa de outras componentes da composição corporal, como a massa gorda (MG) e massa isenta de gordura (MIG).

A BIA, têm como fundamento base a diferença nos valores de resistência oferecidos pela passagem da condução eléctrica pelos diferentes tecidos biológicos. Por outras palavras, a corrente eléctrica sofre uma oposição dos tecidos não condutores e é transmitida através dos tecidos condutores. Então, à medida que a corrente eléctrica percorre os tecidos biológicos depara-se com duas condicionantes, a resistência (R) e a reactância (X_c) corporal, ambas são medidas e representadas em ohms (Ω) (Ward, 2018; Zamberlan, Feferbaum, Doria Filho, de Carvalho & Delgado, 2018; Lukaski, Kyle, & Kondrup 2017; Kyle et al., 2004a). Segundo Norman, Stobäus, Pirlich & Bosy-West (2012) estas condicionantes são consideradas os parâmetros brutos da BIA, pois permitem a obtenção de variáveis da composição corporal através da sua introdução em equações específicas para cada população, sendo que a resistência se refere à oposição da corrente eléctrica num material condutor de características homogéneas. No corpo humano este condutor é

naturalmente a água, que se encontra alojada nos compartimentos intracelulares e extracelulares. A R oferecida pelo corpo humano à corrente elétrica é a mesma que em condutores não biológicos, ou seja, é proporcional ao comprimento (C) do condutor e inversamente proporcional à sua área de secção transversal (AST). Posto isto, indivíduos mais altos terão maiores valores de resistência. Em relação à influência da condutividade dos tecidos biológicos na R , os tecidos magros por apresentarem grandes quantidades de água e eletrólitos, são altamente condutivos da corrente elétrica, exibindo uma baixa resistência. Por outro lado, os tecidos ósseo e adiposo apresentam uma baixa capacidade de condução e valores de resistência elevados em função de uma menor quantidade de água. Assim, sumariamente, a condutividade da corrente elétrica é proporcional às quantidades de ACT (Diouf et al., 2018; Ward, 2018).

Em contraparte, a X_c representa a capacitância oferecida à passagem da corrente elétrica ao nível das membranas celulares e dos tecidos não iónicos. Por outras palavras, a X_c , é a capacidade que as estruturas dos tecidos têm em “atrasar” o estímulo elétrico. No corpo humano, as membranas celulares têm a possibilidade de armazenar energia por curtos períodos de tempo e, desta forma, tardar a passagem da corrente elétrica (Zamberlan et al., 2018; Meleleo et al., 2017; Kyle et al., 2004a). Portanto, uma maior quantidade de tecidos moles está diretamente relacionada com os valores de X_c .

Através de estímulos elétricos de frequências mais baixas (por exemplo 5kHz), a corrente elétrica apenas consegue transcorrer a AEC devido à capacidade isolante das membranas celulares. Já com frequências mais altas a corrente elétrica flui para os espaços intracelulares e como as membranas celulares, até certo ponto, apresentam a capacidade de atrasar o estímulo elétrico, obtém-se valores de X_c mais altos (Chumlea & Sun, 2005). Como é possível observar na figura 1. a reactância é máxima em níveis específicos de altas frequências (geralmente a 50 kHz obtém-se o máximo de reactância dos tecidos musculares), mas se as frequências continuarem a aumentar, o efeito capacitivo decresce e a X_c é novamente baixa. Este fenómeno significa que com frequências muito altas (por exemplo 100kHz), a membrana celular deixa de ter capacidade mecânica de suportar a intensidade do estímulo elétrico, a corrente penetra igualmente todos os tecidos corporais e conseqüentemente a reactância é mínima (Ward, 2018; Chumlea & Sun, 2005; Kyle et al., 2004a).

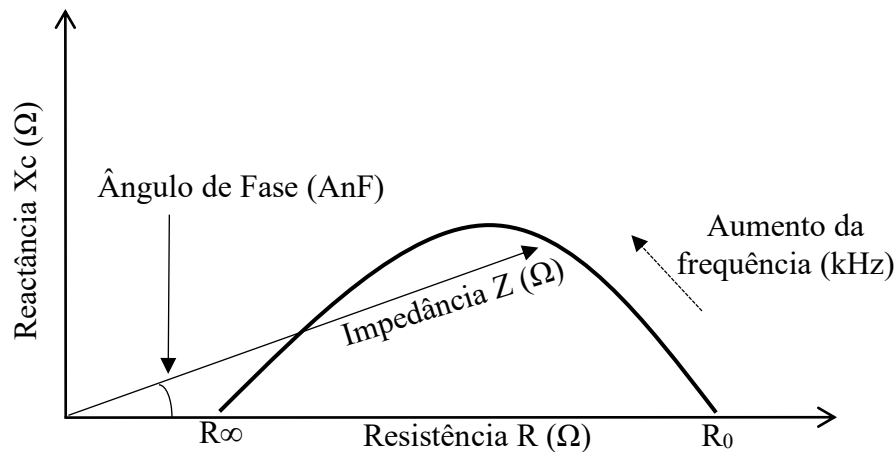


Figura 1 - Derivação gráfica do ângulo de fase (AnF) e a relação com a Resistência (R), Reactância (Xc), Impedância (Z) e a frequência elétrica aplicada (Adaptado de Kyle et al., 2004a).

Como resultado entre a R e Xc obtidas de acordo com uma determinada frequência de corrente elétrica obtém-se a impedância (Z) através da equação $Z^2 = R^2 + Xc^2$ (Figura 1). É utilizado o vetor Z para descrever a combinação entre a R e Xc e representa a oposição corporal total, isto é, a dificuldade em conduzir a corrente elétrica num determinado tecido condutor (Foster & Lukaski, 1996; Chumlea & Sun, 2005). O cálculo deste vetor é crucial para determinar o ângulo de fase (AnF), possível de observar na figura 1, formado entre o vetor Z e vetor R. O AnF tem vindo a revelar-se com grande utilidade clínica e desportiva, e será alvo de estudo minucioso mais adiante (Sardinha, 2018; Miura et al., 2019; Marini et al., 2019; Koury, Trugo & Torres 2014; Koury, Oliveira-Junior, Portugal, Oliveira & Donangelo, 2018).

Como referido anteriormente, a resistência oferecida pelo corpo humano à corrente elétrica é proporcional ao C do condutor e inversamente proporcional à sua AST, por outras palavras, todos os aparelhos de BIA operam com a suposição de que o corpo humano é um cilindro isotrópico (Figura 2), com comprimentos e AST homogênea. Porém, esta suposição não é totalmente verdade, uma vez que o corpo humano mais se assemelha a cinco cilindros (Figura 3) dispostos em série (dois membros inferiores, dois membros superiores, em que a cabeça é excluída).

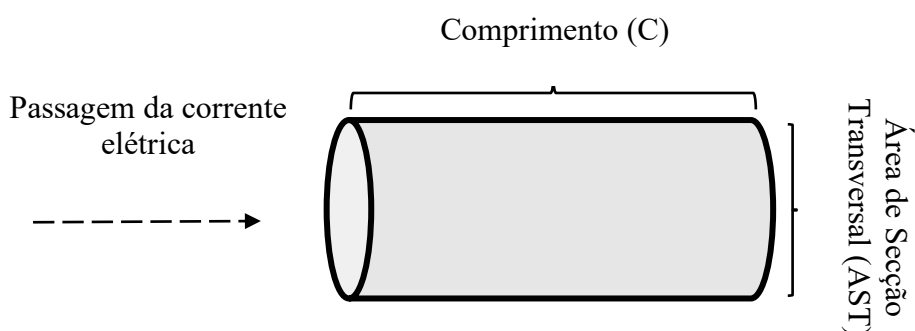


Figura 2 - Princípios da BIA - Modelo de cilindro para a relação entre impedância e a geometria. A resistência oferecida pelo corpo humano à corrente elétrica é proporcional ao C do condutor e inversamente proporcional à sua AST (Adaptado de Mialich, Sicchieri & Junior, 2014).

Desta forma, o volume de um cilindro é diretamente relacionado com a Z biológica e pode ser calculado através da seguinte fórmula (Chumlea & Sun, 2005):

$$V = \rho L^2 / R$$

Em que R representa a resistência medida, L o comprimento do cilindro que seria substituído pela altura do indivíduo e ρ representa a resistividade específica do tecido condutor, que varia intra e inter individualmente pela diferença na composição dos vários tecidos (Chumlea & Sun, 2005). Porém, a resistividade é assumida como uma constante para o corpo inteiro. No âmbito da avaliação da composição corporal, o uso desta constante, explica em parte os erros preditivos, dada a variação real entre os diferentes tecidos e indivíduos (Ward, 2018; Kyle et al., 2004a; Chumlea & Sun, 2005). Uma vez que R é inversamente proporcional à área de secção transversal, os membros superiores e membros inferiores, naturalmente apresentam uma menor área de secção transversal, representam o maior contributo de R para as medições de corpo inteiro. Inversamente, o tronco contém cerca de 50% da massa corporal e contribui apenas com uma pequena parte da R corporal (Foster & Lukaski, 1996; Kushner, 1992).

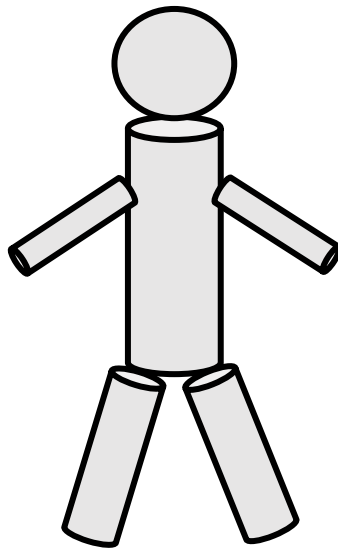


Figura 3 - Assunção do corpo humano como cinco cilindros uniformes, dois membros superiores, dois membros inferiores e tronco, em que a cabeça é excluída (Adaptado de Kushner, 1992).

Com base na equação anterior (equação simplificada), podemos especificar cada segmento corporal se a resistência for medida separadamente por segmento. Assim, com a seguinte equação é possível determinar o volume total ao estabelecer uma soma da Z de cada segmento:

$$V_{\text{total}} = 2 (\rho L^2 / R)_{\text{braço}} + 2 (\rho L^2 / R)_{\text{perna}} + (\rho L^2 / R)_{\text{tronco}}$$

A primeira equação (equação simplificada) assume que todos os indivíduos têm distribuição relativamente idêntica entre os membros e o tronco, embora seja insensível às alterações hídricas. Em casos de suspeita de distribuição anormal de fluidos esta análise deve ser realizada com cautela. Nos casos clínicos, onde existem alterações hídricas (por exemplo edema) ao nível segmentar, analisar o corpo como cinco cilindros (figura 3) dispostos em série (análise segmentar) é especialmente útil, (Ward, 2012). Assim, estimar o volume de um determinado corpo requer conhecer exatamente a sua geometria. Na análise de corpo inteiro é assumida uma geometria entre sujeitos igual. Embora esta suposição não seja totalmente verdade (Foster & Lukaski, 1996), alguns estudos mostram que é possível realizar uma avaliação de corpo todo, com precisão, em população saudável ou em casos onde não exista suspeitas de distribuição alterada de líquidos (Patel, Matthie, Withers, Peterson & Zarowitz, 1994; Van Loan, Withers, Matthie & Mayclin,

1993), incluindo De Lorenzo, Andreoli, Matthie, & Withers (1997) que estudaram o efeito da geometria corporal no comportamento da resistividade do corpo.

Na prática, para avaliar a impedância corporal, coloca-se o indivíduo deitado em decúbito dorsal para evitar os efeitos da gravidade, que tendem a impulsionar grande parte da ACT para os membros inferiores (Chumlea & Sun, 2005), o que significa que versões mais comerciais dos aparelhos de BIA que avaliam os sujeitos na posição bípede apresentem à priori alguma limitação. É frequentemente utilizado um modelo tetrapolar no qual se utilizam quatro elétrodos à superfície da pele colocados na mão e no pé (Figura 4), contudo, existem equipamentos que utilizam elétrodos colocados pé-a-pé ou elétrodos mão-a-mão numa disposição bipolar (Foucart, De Decker, Sioen, De Henauw & Michels, 2017; Mulasi, Kuchnia, Cole & Earthman, 2015; Kyle et al., 2004; Elia & Ward, 1999).

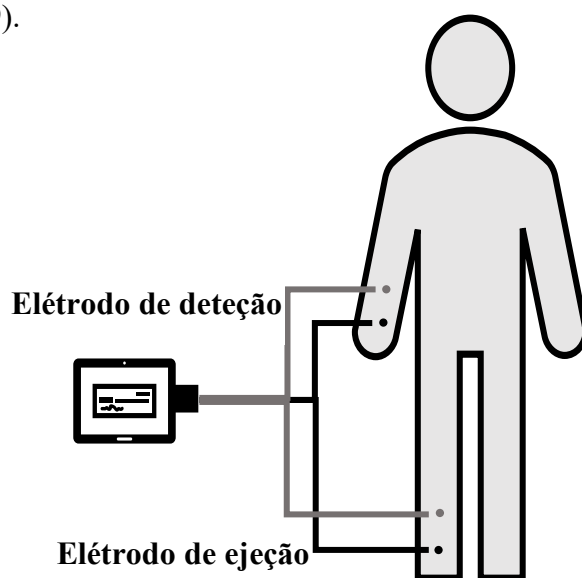


Figura 4 - Colocação padrão de elétrodos mão-punho e pé-tornozelo numa disposição tetrapolar unifrequência (UF-BIA) e de multifrequências (MF-BIA) (Adaptado de Kyle et al., 2004a).

Na abordagem tetrapolar, dois elétrodos ejetores são colocados no dorso da mão e do pé, ao nível do terceiro metacarpo e do terceiro metatarso, através dos quais a corrente elétrica entra no corpo. Os outros dois elétrodos recetores são colocados no punho, ao nível da proeminência do osso pisiforme e no tornozelo, na linha imaginária de união da parte mais saliente dos dois maléolos, sendo estes dois elétrodos os responsáveis pela aferição dos valores de R e Xc (Kyle et al., 2004b; Kushner, 1992). Tecnicamente, o comprimento do condutor é a distância linear entre os dois elétrodos recetores, em adultos existe uma distância mínima permitida entre os elétrodos ejetores e recetores de 4 a 5cm

para evitar interferência elétrica (Chumlea & Sun, 2005), sendo que estas especificações podem variar ligeiramente entre equipamentos específicos.

Para além da posição de supina, a National Institute of Health (1994) e alguns autores de referência (Moon, 2013; Kyle et al., 2004a; Hannan, Cowen, Plester, Fearon & De Beau, 1995; Ellis et al., 1999; Kushner, 1992) recomendam outros parâmetros de forma a padronizar as condições de medição, tais como:

- Os indivíduos avaliados devem estar deitados em decúbito dorsal pelo menos durante 10 minutos antes da realização do teste;
- A posição dos membros superiores e membros inferiores deve estar entre 30 a 45° abduzidos, já que uma adução dos mesmos pode levar a uma alteração no percurso elétrico reduzindo a impedância. Em indivíduos incapazes de separar adequadamente os membros, como os indivíduos obesos, devem ser utilizadas roupas isolantes;
- Dado que existem alterações no volume corporal após as refeições, e por consequência uma impedância mais baixa, as medições devem ser realizadas num estado de jejum de pelo menos 4 horas;
- A medição da altura do sujeito é utilizada como comprimento do condutor, por isso, a medição da altura deve ser minuciosa e cuidada com aproximação de 0,5cm. Uma sobrestimação ou subestimação da altura podem dar origem a erros na ACT de 1,0L;
- Variáveis como a desidratação, perfusão vascular, temperatura dos tecidos, aumento da vasodilatação e fluxo sanguíneo devem também ser controladas. Assim sendo, o exercício físico de intensidade moderada a intensa não deve ser realizado até 8h antes e a desidratação causada pelo exercício deve ser corrigida até à medição.
- Nas mulheres, a variabilidade da impedância é maior o que pode refletir alterações no estado de hidratação devido ao ciclo menstrual. Portanto, o ciclo menstrual deve ser tomado em conta e padronizado para nas várias medições;
- Alterações na condutibilidade elétrica podem também ocorrer com a utilização de adereços vestuários, como anéis, pulseiras, brincos, relógios, entre outras peças de metal;
- Testes realizados próximos da hora de acordar parecem ser mais reprodutíveis à custa de uma menor variação do metabolismo de repouso;

- As áreas onde são colocados os elétrodos devem estar limpas com álcool para melhorar as condições à superfície da pele;
- Os indivíduos devem garantir o esvaziamento da bexiga antes da avaliação;
- Por último, as condições do ambiente envolvente devem ser adequadas de forma a garantir uma temperatura à superfície da pele normal.

Uma vez que uma das limitações do método BIA é incluir uma constante de proporcionalidade relacionada à resistividade do corpo ou segmento, esta padronização permitiu uma utilização mais adequada e consecutivamente um aumento da sua viabilidade nos estudos científicos. Hoje em dia é possível identificar um vasto leque de tecnologias que possibilitam a BIA. Comumente, estas podem ser organizadas por número de frequências utilizadas, região corporal medida e análise de dados (Figura 5).

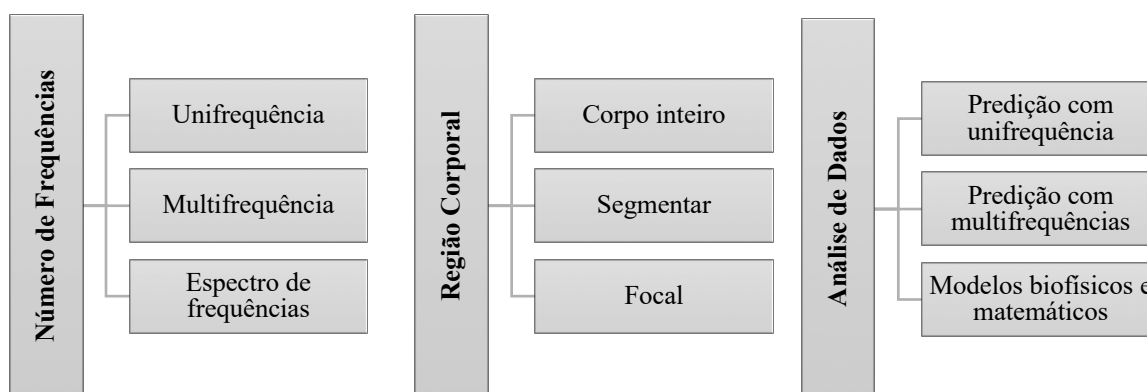


Figura 5 - Família de tecnologia de análise da bioimpedância (BIA), organizada por número de frequências, zona corporal medida e análise de dados (Adaptado de Ward, 2018).

Embora os primeiros estudos realizados sobre a impedância corporal tenham sido realizados com aparelhos que operavam apenas a uma frequência, hoje em dia, existe a possibilidade de aferir a impedância através das técnicas que utilizam multifrequências fixas ou através de um espectro de frequências (Ward, 2018). Estas possibilidades serão discutidas mais adiante nos próximos capítulos. Relativamente à região corporal, como já referido anteriormente, usualmente as medições são realizadas no corpo todo (desde o punho até ao tornozelo) mas podem ainda ser realizadas especificamente em segmentos corporais (BIA-segmentar) tal como demonstrado por Chumlea, Baumgartner & Roche (1998) na perspetiva de detetar anormalidades em pacientes com deformidades corporais (por exemplo edema) e/ou com alterações nos compartimentos hídricos. Segundo Ward

(2012), podemos ainda aferir uma região específica no corpo (por exemplo leito muscular dos gêmeos), ao que se designa BIA focal.

As técnicas de análise de dados evoluíram também de simples abordagens preditivas empíricas sustentadas em técnicas de regressão estatística para métodos baseados em modelos matemáticos biofísicos que fornecem algumas vantagens e também serão descritos adiante.

Por último, é de salientar a precisão da BIA na avaliação da composição corporal, pois esta apresenta uma forte correlação com outros métodos de referência, como por exemplo a densitometria radiológica de dupla energia (DXA) e métodos de diluição. Os estudos neste âmbito, apontam para correlações superiores a 0,95 tanto entre a BIA e métodos de diluição na avaliação da ACT como entre a BIA e a DXA na avaliação da MIG. Apesar de existir um grande corpo de evidência científica a confirmar a utilidade das tecnologias de impedância é de salientar que os erros padrões das equações de regressão da BIA são estimados em 3-8% para a ACT e 3-6% para a MIG que em termos desportivos podem ser representativos no sucesso de uma carreira desportiva (Castizo-Olier et al., 2018; Kyle et al., 2004a; Kyle et al., 2004b). Como tal, para além da importância de reconhecer as limitações deste método, existe a extrema necessidade de respeitar a padronização dos procedimentos e protocolos supramencionados de forma a evitar o mínimo de erros possíveis (Ward, 2018).

2.2.2 Bioimpedância Unifrequência

Em 1985 a BIA reportada nos estudos de Lukaski e seus colaboradores (Lukaski, Johnson, Bolonchuk & Lykken, 1985) ganhou destaque na comunidade científica operando apenas a uma frequência, desde então tem sido largamente utilizada. Esta análise de bioimpedância elétrica de frequência única (UF-BIA) concentra-se exclusivamente à frequência de 50kHz (Ward, 2018).

Por norma, a corrente de 50kHz é passada entre os elétrodos colocados na superfície da mão e no pé, numa disposição tetrapolar (Figura 4), contudo, existem equipamentos que utilizam elétrodos colocados pé-a-pé ou elétrodos mão-a-mão numa disposição bipolar (Foucart et al., 2017; Mulasi et al., 2015; Kyle et al., 2004).

Usualmente os dados brutos de BIA (R e X_c) retirados a 50kHz são utilizados para estimar vários componentes corporais através de equações de regressão estatística previamente derivadas de dados de referência. A título de exemplo, uma equação para

predizer a ACT é desenvolvida através de uma medição prévia da diluição de deutério (considerado o atual método de referência) numa amostra homogênea de uma população em estudo, submetendo posteriormente a nova equação a um processo de validação.

Após este processo anteriormente referido, hoje em dia, a UF-BIA é considerada razoavelmente precisa na medição da ACT em indivíduos normalmente hidratados. Contudo, é limitada na distinção da ACT em AEC e AIC (Chumlea & Sun, 2005) uma vez que ao emitir apenas uma frequência de 50kHz torna a penetração no espaço intracelular reduzida. No fundo, a UF-BIA não está estritamente a medir a ACT, mas sim uma soma ponderada da resistividade da AEC e AIC sem conseguir detetar alterações na AIC. Isto significa que, em indivíduos com alterações no rácio AEC/AIC (por exemplo com edema, desnutrição, obesidade, insuficiência renal etc.), a UF-BIA pode sobrestimar a ACT (Chumlea & Sun, 2005; Kyle et al., 2004a). Esta constatação é de extrema importância pois a UF-BIA permite ainda estimar a MIG derivada da quantidade de ACT que por sua vez pode estar sobrestimada. Assim, a MIG pode ser estimada assumindo uma hidratação constante de 73.2% (Mulasi et al., 2015). Posteriormente, é possível determinar a MG pela diferença entre o peso corporal total e a MIG (Peso corporal = MIG + MG).

A assunção de um valor padronizado para a hidratação da MIG assume-se como a principal limitação da UF-BIA, uma vez que, esta percentagem varia entre diferentes indivíduos e populações (Chumlea & Sun, 2005) para além do cálculo do ACT poder estar enviesado em populações com distúrbios hídricos (Chumlea & Sun, 2005; Kyle et al., 2004a).

2.2.3 Bioimpedância multifrequência

A bioimpedância multifrequência (MF-BIA) é uma otimização mais recente da tecnologia BIA. Tal como a UF-BIA, a MF-BIA utiliza regressões estatísticas para predizer a ACT, MIG, AIC e AEC, mas utiliza várias frequências limitadas e definidas, por exemplo, 5, 50, 100, 200 ou 500kHz (Hannan et al., 1994; Kyle et al., 2004a). Importa lembrar que, a uma frequência de 50 kHz a via principal utilizada pela corrente elétrica é a extracelular, o que significa que a impedância é dada principalmente pela AEC uma vez que a membrana celular atua como isolante, permitindo apenas pequenas penetrações no espaço intracelular (Yamada et al., 2017). Portanto, com a possibilidade de emitir frequência de intensidade superior a 50kHz, a MF-BIA consegue superar a capacidade

isolante da membrana celular, e assim aferir a ACT. No fundo, a MF-BIA surge para colmatar a incapacidade de discernir os diferentes compartimentos hídricos, representando uma potencialidade importante para estudar o balanço hídrico, sendo esta a maior vantagem comparativamente com a UF-BIA (Chumlea & Sun, 2005).

Teoricamente, as frequências ótimas para avaliar os espaços da AEC e ACT são zero e infinito, respetivamente. Na prática não é possível realizar tais medições (Hannan et al., 1995). Com frequências mais baixas (1 e 5kHz) a penetração para o espaço intracelular através das membranas celulares não é possível, como tal, assume-se que a resistência oferecida às frequências baixas representa a resistência oferecida no espaço extracelular. Contrariamente as frequências altas (100, 200 e 500kHz) conseguem ultrapassar as membranas celulares e a condução no espaço intracelular aumenta até se tornar totalmente condutiva. Assim, considera-se que a resistência oferecida a frequências mais elevadas representa a resistência oferecida pela ACT. Posteriormente, a AIC é calculada pela diferença entre a ACT e a AEC (Mulasi et al., 2015; Ellis et al., 1999).

Dadas as potencialidades da MF-BIA, esta substitui muitas vezes a UF-BIA na avaliação da ACT, pois permite através de frequências bem definidas separadamente (por exemplo 5, 50, 100, 200 e 500kHz) estimar para além da ACT, a AEC e AIC (Hannan et al., 1994).

2.2.4 Bioimpedância espectral

Para além da abordagem da MF-BIA referida no capítulo anterior, existe uma outra abordagem à utilização de multifrequências. A bioimpedância espectral (BIS), reportada pela primeira vez em 1992 para medição da ACT, AEC e AIC (De Lorenzo et al., 1997), representa uma variante da MF-BIA que produz uma impedância mensurada a partir de um espectro de frequências que vai desde 5kHz a 1000kHz. Contrariamente à UF-BIA e MF-BIA, a BIS ao invés de utilizar equações de regressões estatísticas, utiliza modelos físicos, matemáticos e equações de mistura (Modelo Cole-Cole e Hanai) para criar relações entre a R e os compartimentos hídricos corporais (Finch, 2017; Yamada et al., 2016; Moon, 2013; Earthman, Traugher, Dobratz & Howell, 2007; Lichtenbelt, Westerterp, Wouters & Luijendijk 1994; Thomas, Ward, & Cornish, 1998).

Segundo o modelo de Cole & Cole (1941), o corpo humano é comparado a um circuito elétrico com membranas celulares a servirem como isolantes elétricos que separam as vias intracelulares e extracelulares. De acordo com este modelo, o princípio básico da

BIS baseia-se nas variações de impedância em função da frequência utilizada (Du, Wan, Chen, Pu & Wang, 2017), isto é, o equipamento com base num assentamento não-linear, através das resistências e reactâncias medidas, formula impedâncias teóricas a frequências zero e infinito, assim a resistência intracelular (R_i) e a resistência extracelular (R_e) podem ser calculadas e a AEC e a AIC podem ser diferenciadas (Moon et al., 2009; Bartok & Schoeller, 2004; Thomas et al., 1998).

O modelo de Hanai (1968) baseia-se numa ideia teórica para descrever a condutividade dentro de um conteúdo heterogéneo onde existe material condutor e material não condutor. O corpo é um meio condutor constituído por água e tecidos ricos em eletrólitos (por exemplo o tecido muscular), mas também por tecidos não condutores. A título de exemplo, espaços preenchidos por gordura, osso, ou membranas celulares, como apresentam uma reduzida quantidade de água, não são considerados partes condutoras (Lukaski, 2013). Este modelo apresenta uma melhoria ao modelo de Cole-Cole porque considera os efeitos das partes não condutoras no conteúdo heterogéneo melhorando assim a sensibilidade às alterações de água corporal definindo com melhor precisão os valores de ACT, AEC e AIC.

Supõe-se que a ACT seja a soma da AEC e AIC que são preditas separadamente e que dependem das equações que incluem os parâmetros de R estimados no modelo Cole-Cole. O modelo Cole-Cole e o modelo Hanai são complementares e úteis para a avaliação e diferenciação dos compartimentos hídricos.

De facto, nos atletas avaliar apenas o volume da ACT representa um conhecimento muito redutor do nível de rendimento e da saúde desportiva. Embora os níveis de ACT possam manter-se estáveis ao longo do tempo, os compartimentos hídricos intracelular e extracelular podem sofrer alterações frequentes (Earthman et al., 2007). Então, nos atletas, enfatiza-se a necessidade de identificar, avaliar e monitorizar os diferentes compartimentos hídricos dado o impacto que representam na performance desportiva (Silva et al., 2010, 2011, 2014). Ainda hoje aceite e em congruência com a teoria da hidratação celular proposta em 1993 por Haussinger e seus colaboradores, uma expansão da AEC pode representar uma falha nos sinais anabólicos e uma conseqüente diminuição do rendimento celular (Haussinger et al., 1993, 1994).

Considerando que em muitas ocasiões as metodologias de referência (diluição de isótopos) para discernir os compartimentos hídricos em AIC e AEC não estão disponíveis na rotina diária dos atletas ou não são factíveis, seja pelo custo associado ou pela

complexidade que os métodos exigem, a BIS parece ser uma boa solução alternativa pela facilidade em operar, diminuição de custos e rapidez que oferece. Existe alguma literatura que compara este método com os atuais métodos de referência em diferentes populações, inclusivamente em atletas (Gonçalves et al., 2014; Matias et al., 2013). Estes estudos revelam uma boa concordância entre os valores hídricos obtidos por BIS e pelos métodos de diluição, acrescentando facilidade e velocidade de manuseamento aos investigadores, e também a quem está no terreno, como treinadores, nutricionistas, médico, fisiologistas do exercício físico ou outros profissionais de saúde que possam cruzar-se ao longo do seu percurso profissional com atletas com determinados objetivos desportivos ou de composição corporal.

2.2.5 Métodos hidrométricos

Os métodos de referência para a avaliação da ACT e da AEC são sustentados por técnicas de diluição (também designadas técnicas hidrométricas) e têm sido utilizadas há mais do que 50 anos (Schoeller, 2005; Ellis, 2000; Wagner & Heyward, 1999). Para a avaliação da ACT é frequentemente utilizada a diluição de deutério e para avaliação da AEC utiliza-se a diluição de brometo de sódio (NaBr) (Valencia, Alemán-Mateo, Salazar & Triana, 2003). Não sendo objetivo deste estudo e embora tenha caído em desuso, importa referir que a diluição do isótopo radioativo de potássio (^{42}K) foi utilizada para avaliação da AIC. Acredita-se que o desenvolvimento da medida direta do potássio corporal total (PCT) contribuiu para o declínio desta técnica (Ellis, 2000). Atualmente, a forma mais comum e prática de avaliar a AIC é obter a diferença entre a ACT e a AEC avaliadas através das técnicas à frente descritas (Matias et al., 2012).

Uma vez que são técnicas muito dispendiosas, complexas e que exigem grande perícia, poucos estudos utilizam as técnicas de diluição para obter a distribuição dos compartimentos hídricos em atletas. O conhecimento preciso da distribuição da ACT, nos seus compartimentos intracelulares e extracelulares são de extrema importância, principalmente ao nível da AIC dada a sua relevância na performance desportiva (Silva et al., 2010, 2011).

De seguida serão descritos com base na literatura científica disponível, os métodos supramencionados para avaliação da ACT e AEC. Serão debatidos os seus procedimentos, os seus pressupostos e limitações.

2.2.5.1 Diluição de deutério

A diluição de deutério apresenta ser a técnica de excelência pela comunidade científica na avaliação da ACT sendo uma totalmente inócua ao ser humano. Analisada através de espectrometria de massas de razões isotópicas, sendo esta uma técnica sofisticada, de custo elevado e por isso pouco disponível (Schoeller, 2005).

O deutério (^2H) é um isótopo não radioativo do Hidrogénio administrado oralmente numa concentração e volume conhecidos, geralmente em forma de óxido de deutério ($^2\text{H}_2\text{O}$) que, em poucas horas dissolve-se na água do organismo e é posteriormente eliminado do corpo através da urina, saliva e exsudação. O principal pressuposto deste método é que o isótopo está distribuído de forma homogênea na ACT (Ellis, 2000). É também assumido que a taxa de equilíbrio do isótopo é relativamente rápida e distribuída de igual forma pela água presente em todas as estruturas anatómicas. Acredita-se também que durante o tempo de equilíbrio, não existe metabolização do isótopo.

Com base no princípio fundamental da diluição, o corpo humano apresenta naturalmente uma pequena percentagem em ^2H . Os procedimentos assentam numa primeira medição do isótopo nos fluidos corporais antes da respetiva administração. Após uma fase de equilíbrio do isótopo no organismo segue-se uma última análise aos fluidos corporais (Schoeller, 2005).

Relativamente aos procedimentos laboratoriais, de acordo com alguns autores de referência (Schoeller, 2005; Ellis, 2000) o sujeito avaliado deve:

- Estar em jejum entre 12-15 horas para minimizar a quantidade de água no intestino;
- Apresentar condições normais de hidratação.
- Não deve praticar exercício vigoroso ou qualquer atividade suscetível a grandes perdas hídricas no dia anterior para evitar a desidratação;
- Ingerir o mínimo de líquidos possível várias horas antes da avaliação para evitar a hiperhidratação.

Garantidas as condições de preparação do indivíduo, numa primeira fase são recolhidas amostras fisiológicas (urina, saliva ou plasma sanguíneo). De seguida é administrada uma dose de 0,1g de $^2\text{H}_2\text{O}$ por kg de peso corporal diluída em 50ml de água seguidos de uma nova recolha após duas a quatro horas (período necessário para o

equilíbrio do isótopo no organismo). Neste período os indivíduos devem evitar comer ou beber para minimizar as alterações na água corporal.

Após a realização das recolhas o cálculo da ACT é baseado na seguinte relação:

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

Onde C_1V_1 representa a concentração e o volume respetivamente da dose de oxido de deutério, C_2 a concentração do oxido de deutério na amostra de fluido corporal e V_2 o volume de ACT (Lukaski, 1987).

Embora o $^2\text{H}_2\text{O}$ seja o marcador mais utilizado nas técnicas de diluição, podem ser utilizados trítio ($^3\text{H}_2\text{O}$) ou o isótopo estável do oxigénio (H_2^{18}O). O $^3\text{H}_2\text{O}$ por ser radioativo não convém ser utilizado em todo o tipo de populações (por exemplo grávidas) ou em estudos que requerem amostragens temporalmente próximas como é comum em atletas para efeitos de comparação ou evolução hídrica ao longo da época desportiva. O H_2^{18}O é um isótopo estável, não radioativo, por isso consegue medições muito precisas da ACT, no entanto é de todos o mais oneroso (Lukaski, 1987). Sendo um deles radioativo e outro mais oneroso, a opção direcionada para a utilização do método de diluição de $^2\text{H}_2\text{O}$ tem sido aconselhada (Ellis, 2000). Segundo o mesmo autor, a escolha de diferentes isótopos para a avaliação hídrica tem implicações na seleção dos métodos de análise. Contagem radioativa para avaliação do $^3\text{H}_2\text{O}$, espectrometria de massas de razões isotópicas para o H_2^{18}O ou absorção de infravermelhos, cromatografia gasosa ou espectrometria de massas de razões isotópicas para o ^2H .

Após a exposição da preferência da comunidade científica para a diluição de ^2H , é de salientar que este método apresenta condicionantes subjacentes à sua utilização que o tornam inacessível a vários contextos. Para além dos custos associados, exige um processo cuidado e minucioso, que vai desde a preparação rigorosa do participante, seleção da dosagem correta, recolha das amostras biológicas e a sua consequente análise (Schoeller, 2005).

Por último, para cálculos da MG este método parte da assunção de um valor fixo de 73,2% de água presente na MIG. As possíveis variações hídricas presentes em algumas populações (como em pessoas com obesidade) podem dar origem a erros significativos de estimação (Wagner & Heyward, 1999). Contudo, dado o pouco potencial para

apresentar erros de medição na avaliação da ACT, os métodos de diluição são considerados de referência.

2.2.5.2 Diluição de brometo de sódio (NaBr)

O volume da AEC pode ser mensurado utilizando o princípio da diluição num método idêntico ao da ACT, mas ao invés de utilizar isótopos estáveis, a forma mais comum de avaliação da AEC é através da diluição de brometo de sódio (NaBr). Administrado por via oral é posteriormente medido por cromatografia iônica após recolha de uma amostra de plasma ou de saliva. A decisão do tipo de recolha das amostras biológicas deve ter em consideração as respetivas metodologias. Sendo que uma amostra de plasma apresenta ser mais invasiva e menos prática comparativamente à de saliva, que representa uma abordagem não invasiva, mas útil para evitar comprometer as rotinas e o processo de treino dos atletas (Matias et al., 2012).

A justificação biológica da utilidade do NaBr em medir a AEC é que apesar de solúvel em água, apresenta uma capacidade diminuta em entrar no espaço intracelular. Assim, o NaBr é praticamente todo distribuído na AEC e posteriormente eliminado pela urina. Desta forma é possível quantificar com precisão o volume de AEC (Schoeller, 2005).

A preparação do sujeito para a medir a AEC requer critérios idênticos aos da avaliação da ACT, onde o rigor na sua aplicação é fundamental. Uma vez mais, de acordo com autores de referência (Schoeller, 2005; Ellis, 2000) os participantes devem:

- Estabelecer as 12-15 horas de jejum para minimizar a quantidade de água no intestino;
- Garantir condições normais de hidratação;
- Evitar a prática de exercício extenuante ou qualquer atividade suscetível a grandes perdas hídricas no dia anterior para evitar a desidratação;
- Ingerir o mínimo de líquidos possível várias horas antes da avaliação para evitar a hiperhidratação.

Após a preparação do sujeito, é administrada uma dose de 0,030g/kg corporal de NaBr diluídos numa quantidade de 50mL de água destilada. Como referido anteriormente, antes da administração oral, é recolhida uma amostra biológica de plasma ou saliva, bem como 3 a 4 horas após a administração (tempo necessário para o equilíbrio do isótopo no organismo).

Após a realização dos procedimentos e feitas as respectivas recolhas, a AEC é calculada através da seguinte fórmula (Matias et al., 2012):

$$\text{AEC (L)} = [\text{dose} - (\text{concentração de Br} - \text{concentração de Br inicial})] \times 0,90 \times 0,95$$

Ao observar a fórmula do cálculo da AEC as multiplicações finais sobressaem. Estas são introduzidas na fórmula pois as diluições de Br têm tendência a sobrestimar a água extracelular devido à pequena penetração do Br no espaço intracelular (principalmente nos eritrócitos e leucócitos) e ao efeito de Gibbs-Donnan (Silva et al., 2008; Schoeller, 2005). De uma forma sucinta, este efeito diz respeito à falha numa determinada membrana semipermeável em manter o equilíbrio entre dois compartimentos aquosos, ou seja, representa uma falha da membrana em equilibrar as cargas elétricas. Isto acontece quando existe alguma substância não permeável que altera a pressão osmótica de um dos seus lados (Wiggins, van Ryn & Ormrod, 1991). Portanto, na fórmula mencionada, 0,90 representa o fator de correção para a quantidade de Br que penetre ao nível intracelular e 0,95 representa o fator de correção para o efeito de Gibbs - Donnan (Silva et al., 2008; Schoeller, 2005). Posteriormente deve ser realizada uma correção para o conteúdo de sólidos residuais nos fluidos biológicos. É utilizado o valor de 0,9745 e 0,996 para plasma e saliva, respetivamente.

2.3 ÂNGULO DE FASE EM ATLETAS

Apesar da BIA ser bastante utilizada em vários tipos de contexto com grande foco na estimativa da composição corporal a sua precisão pode ser questionada. Esta está dependente de regressões estatísticas que assumem tecidos isotrópicos ou com hidratação constante, excluindo a existência de variações entre indivíduos (Castizo-Olier et al., 2018). Na tentativa de colmatar esta limitação e aproximar os valores obtidos dos valores reais, existem modelos e as equações validados para o cálculo dos diversos componentes da composição corporal ajustados às diferentes populações (Mulasi et al., 2015), tendo então critérios subjacentes à sua escolha.

O AnF surge para suprimir estas limitações baseando-se exclusivamente em parâmetros de impedância bruta (Castizo-Olier et al., 2018), ou seja, reflete as contribuições relativas da água corporal (R) e das membranas celulares (Xc). Sumariamente, a vantagem do uso dos parâmetros elétricos brutos, sem recurso de

equações ou modelos para análise de composição corporal, significa que a suposição principal de uma constante hidratação tecidual, que é condição variável entre diferentes indivíduos, não é necessária. Ao utilizar os parâmetros brutos da BIA também não é imperativo considerar os critérios subjacentes à escolha da equação e da população de referência (Bosy-Westphal et al., 2006).

O AnF tem sido largamente estudado e é definido como o ângulo geométrico formado pela relação da R com a Xc (Baumgartner, Chumlea & Roche, 1988). É calculado através da seguinte equação:

$$\text{AnF} = \text{Arctang} (Xc/R) \cdot 180^\circ/\pi$$

Para esta equação o papel da Xc é fundamental pois o AnF é muito suscetível à sua variação (Sardinha, 2018; Nescolarde et al., 2013, 2017). Como referido anteriormente as membranas celulares exercem Xc, isto é, possuem a capacidade de armazenar o estímulo elétrico durante um determinado tempo que varia em função da saúde da própria célula. Por outras palavras, o AnF identifica o intervalo entre a aplicação da corrente elétrica e a penetração ao nível dos tecidos, que é tanto maior quanto maior a vitalidade celular (Miura et al., 2019). Posto isto, um aumento do AnF ocorre quando existe uma maior Xc celular, ou seja, quando existe uma maior capacidade de armazenar energia elétrica nas membranas celulares (Figura 6). Portanto, quanto maior a densidade celular e integridade das membranas, maior será a capacidade biológica da célula atrasar o estímulo elétrico e conseqüentemente maior será o AnF (Barbosa-Silva et al., 2005; Bosy-Westphal et al., 2006; Gonzales et al., 2016).

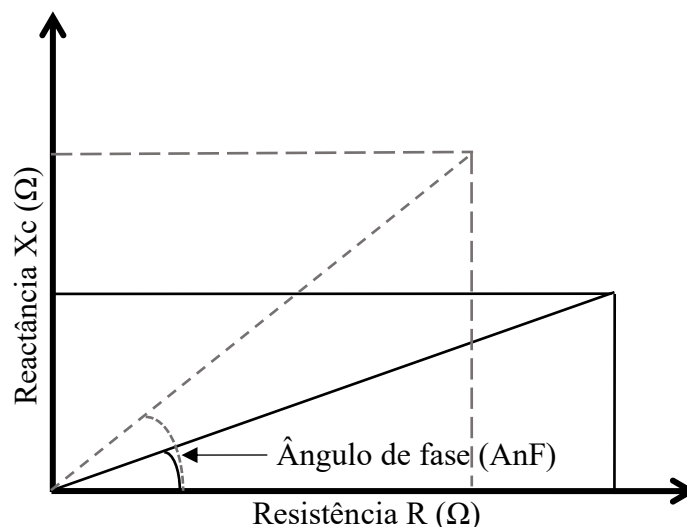


Figura 6 - Relação entre o AnF, R e Xc. Note-se que o AnF é uma resultante sensível à alteração da Xc celular e à alteração da R. A linha - - - mostra em teoria o comportamento do AnF em caso de uma diminuição da R e aumento da Xc

Embora o AnF não seja totalmente compreendido na comunidade científica é atribuído como um indicador de massa celular, vitalidade e integridade das membranas celulares, tendo sido referenciado em vários estudos. É espectável, do ponto de vista fisiológico, que a população atleta apresente os valores mais elevados deste indicador biológico em função dos valores elevados de Xc que apresentam (Barbosa-Silva et al., 2005; Bosy-Westphal et al., 2006). De facto, na literatura existente, os atletas revelam valores elevados do AnF, tal como demonstrando num estudo de Matias et al., (2015) em que os atletas de judo apresentaram, em média, valores de AnF de 7.78°. Outros estudos idênticos, como é exemplo o de Koury, Trugo & Torres (2014) onde foram avaliados atletas adultos de diferentes modalidades desportivas (atletismo, natação, triatlo, polo aquático, entre outros), reportaram valores médios de AnF de 8.0°. Estes valores não são surpreendentes na medida em que a integridade das membranas celulares é melhorada através do exercício físico (Fukuda et al., 2015; Campa, Silva & Toselli, 2018; Ribeiro et al., 2018). Por outro lado, um aumento do AnF pode também ser associado a uma diminuição da componente R, sugerindo assim uma relação inversa entre estas duas variáveis (Ribeiro et al., 2017; Stobaus et al., 2012).

Esta tendência para valores mais elevados de AnF nos atletas parece ser proporcional ao IMC (até a 30kg/m²) devido a elevados valores de MIG que estes apresentam (Santos

et al., 2014; Sonksen, 2016; Nana, Slater, Stewart & Burke, 2015; Stobäus, Pirlich, Valentini, Schulzke, & Norman 2012). Esta premissa está sustentada por estudos realizados com população adulta saudável (Gonzales et al., 2016). Estes elevados valores de MIG advêm frequentemente dos treinos de força incutidos nas rotinas dos atletas das mais variadas modalidades. A evidência científica atribui ao treino de força uma contribuição no aumento do AnF (Sardinha et al., 2018; Campa et al., 2018; Ribeiro et al., 2017; Fukuda et al., 2015). Existe também uma associação entre a carga e o volume de treino na integridade celular influenciado os valores de Xc que por sua vez têm um papel crucial no valor do AnF (Martins et al., 2018).

No campo da prevenção de lesões e reabilitação o AnF pode ser também um indicador bastante útil para os atletas. A título de exemplo, Nescolarde et al., (2013) determinaram o potencial dos parâmetros brutos da BIA como marcadores biológicos práticos para avaliar lesões musculares em atletas. Estes autores verificaram em atletas lesionados uma redução dos valores de R associados a uma acumulação de fluidos ou de sangue e um decréscimo dos valores de Xc congruente com a alteração da integridade das membranas celulares. Para além destas alterações locais nos parâmetros brutos da BIA, o AnF também mostrou ser um indicador sensível à gravidade da lesão. Assim, a BIA pode representar um método prático para identificar lesões comuns em atletas e para caracterizar a gravidade da lesão. Pode também ser um método alternativo para monitorar a recuperação e assim contribuir para um retorno aos treinos e competição de forma segura e eficiente.

Direcionando a leitura para o extremo oposto, em casos clínicos é notável uma menor Xc celular como reflexo de uma menor permeabilidade, integridade e saída de nutrientes pelo colapso celular e, conseqüentemente valores mais baixos de AnF (Sardinha, 2018; Norman et al., 2010). Dada a estreita relação do AnF com a saúde celular, este tem sido reportado como uma ferramenta de prognóstico em vários casos clínicos como por exemplo cancro, HIV, bacteremia, cirrose hepática, doença renal e tuberculose pulmonar (Miura et al., 2019; Garlini et al., 2018; Selberg & Selberg, 2002; Schwenk, Ward, Elia & Scott, 1998; Maggione et al., 1996; Schwenk, Beisenherz, Römer, Kremer, Salzberger & Elia., 2000; Van Lettow et al., 2004). A título de exemplo, num estudo realizado por Lee, Lee, Yang, Kim, & Choi (2014) foi observado que doentes com cancro e com valores de AnF inferiores a 4,4° tinham menor tempo de sobrevivência do que os doentes que apresentavam valores superiores. Previamente a este estudo, Torso et al., (2000) também

verificaram que doentes com cancro do pulmão apresentavam menor tempo de sobrevivência quando o AnF era inferior a 4,5°.

A dificuldade prende-se em interpretar e comparar os valores do AnF pois, nos estudos elaborados são específicos da população alvo e não existe a possibilidade de associar às restantes populações (Bosy-Westphal et al., 2006). Inclusive, num estudo realizado por Gonzales et al., (2016) verificou-se que a raça é uma variável que influencia os valores do AnF o que por si só demonstra a dificuldade de estabelecer valores universais. Contudo, alguns estudos apontam para determinados valores que podem ser considerados de referência para uma população saudável (Tabela 1) e oferecem a possibilidade de avaliar desvios individuais de um sujeito em relação à média populacional, a fim de auxiliar na identificação da saúde celular (Barbosa-Silva, Barros, Wang, Heymsfield & Pierson Jr, 2005).

Tabela 1 – Valores de ângulo de fase (AnF) considerados de referência para a população saudável a uma frequência de 50kHz

Valores de referência para o Ângulo de Fase		
Grupo de Idades	Sexo Masculino	Sexo Feminino
18-20 anos	7.90	7.04
20-29 anos	8.02	6.98
30-39 anos	8.01	6.87
40-49 anos	7.76	6.91
50-59 anos	7.31	6.55
60-69 anos	6.96	5.97
≥ 70 anos	6.19	5.64

Adaptado de Barbosa-Silva et al., 2005

Embora exista uma grande diversidade de valores em função da população em estudo, o que é importante realçar é que, de uma forma consistente, estes estudos mostram que a partir de um determinado valor de AnF existe um maior tempo de sobrevivência. É geralmente aceite, para qualquer pessoa, que um valor de AnF inferior a 5° é meritório de uma avaliação e monitorização mais detalhada para averiguar a sua sensibilidade clínica e prestar os cuidados médicos necessários (Lee et al., 2014).

Em suma, valores elevados de AnF são congruentes com um estilo de vida saudável, consequentemente massa celular e integridade celular elevadas e podem sobretudo ser encontrados em atletas. Contrariamente, valores baixos de AnF estão associados a morte celular, colapso da membrana celular e malnutrição podendo ser encontrados em casos clínicos.

Para um atleta este indicador é de extrema importância porque pode fornecer informações úteis no controlo e avaliação do treino, estado de hidratação e estado nutricional. Desta forma, a sua avaliação e monitorização possibilita aos treinadores, nutricionistas e outros profissionais inerentes à área do treino e exercício fornecer recomendações específicas por forma a melhorar o rendimento desportivo (Koury et al., 2014).

2.4 DETERMINANTES DO ÂNGULO DE FASE

Recordando, o AnF é avaliado por BIA e definido como o ângulo geométrico formado pela relação entre a R e Xc (Sardinha, 2018). Do ponto de vista fisiológico dá indicação precisa da vitalidade celular que influencia diretamente o nosso rendimento biológico. (Lukaski et al., 2017). Assim, importa conhecer e compreender de que forma alguns parâmetros podem ser considerados determinantes e de que forma influenciam o AnF. Alguns estudos apontam para a idade, o género e o IMC como os principais determinantes do AnF em indivíduos saudáveis (Barbosa-Silva et al., 2005; Bosy-Westphal et al., 2006). Num estudo realizado por Gonzales et al., (2016) verifica-se a influência dos componentes da composição corporal na explicação do AnF em 1442 adultos saudáveis, onde estimaram a ACT por diluição de $^3\text{H}_2\text{O}$, a AIC avaliada pela quantificação de potássio e a AEC calculada pela diferença entre ACT – AIC. Posteriormente, a distribuição de fluídos foi calculada através do rácio AEC/AIC. Os compartimentos da MG e MIG foram estimados por DXA, pesagem hidrostática e através da ACT. A maior correlação positiva foi encontrada entre o AnF e a MIG obtida por pesagem hidrostática, tanto para homens como para mulheres. Por outro lado, a correlação negativa mais alta foi demonstrada entre o AnF e o rácio AEC/AIC, também para ambos os géneros. As análises de regressão linear multivariadas foram realizadas separadamente em homens e mulheres, onde foram incluídas as seguintes variáveis: idade, peso, IMC, altura, raça,

ACT, AEC/AIC, sendo a MIG obtida por pesagem hidrostática a que apresentou maior correlação.

Em ambos os géneros, a idade, a raça, a altura, rácio AEC/AIC e MIG foram associadas ao AnF. O IMC apenas foi associado com o AnF no sexo masculino. A raça e a MIG foram as únicas variáveis positivamente associadas ao AnF. No sexo feminino o IMC não foi estatisticamente associado com o AnF já o rácio AEC/AIC, altura e idade foram negativamente associados.

Este estudo demonstrou que a idade é o maior fator biológico determinante do AnF porque por si só, relaciona-se com um menor tamanho celular seguido de um incremento compensatório da AEC, levando a um aumento do rácio AEC/AIC. De forma a sustentar esta associação, verifica-se em adolescentes uma maior quantidade de membranas celulares intactas pelo incremento de tecidos metabólicos decorrente da maturação biológica, o que leva a valores de AnF mais elevados, tendo assim a idade uma relação positiva com o AnF. Contrariamente, em adultos com idades a partir dos 40 anos, ocorre uma relação inversa, um declínio do AnF com o aumento da idade, sugerindo uma diminuição massa celular corporal (MCC), integridade e diminuição da ACT, resultando no aumento da R à passagem do estímulo elétrico da BIA (Koury et al., 2014; Stobaus et al., 2012). De acordo com o estudo de Gonzales et al., (2016) o IMC apresentou uma relação negativa com o AnF. Em concordância, outros estudos apresentaram declínios do AnF a partir de valores de 40 kg/m² (Bosy-Westphal et al., 2006). Alguns autores sugerem que indivíduos com obesidade apresentam uma maior hidratação da MIG e uma maior expansão dos compartimentos de AEC (Das et al., 2003) o que leva a um maior rácio AEC/AIC e este incremento pode ser a explicação para um menor AnF encontrado em pessoas com excesso de peso e obesidade (Dittmar, 2003).

Como referido anteriormente, o AnF está positivamente relacionado com a quantidade de MCC e também com a quantidade de MIG, o que significa que em relação ao género, geralmente as mulheres apresentam menores valores de AnF em consequência de uma menor quantidade de massa muscular, por outro lado, os homens apresentam maior quantidade de massa muscular e maiores valores de AnF (Stobaus et al., 2012; Kuchnia et al., 2017; Barbosa-Silva et al., 2005).

Em relação à estatura, esta relaciona-se negativamente com o AnF, o que significa que pessoas mais altas apresentam menores magnitudes deste parâmetro. Uma hipótese explicativa advém da possibilidade de existir uma menor quantidade de MIG para a

respetiva estatura. A esta relação é importante associar-se o termo índice de massa isenta de gordura (iMIG) e que se calcula dividindo o valor da MIG (kg) pela altura (m)². Recentemente valores baixos de iMIG foram associados com a alta taxa de mortalidade em doentes com cancro, independentemente do IMC e MG (Gonzalez, Pastore, Orlandi & Heymsfield, 2014).

Outras variáveis como o IMC e rácio AEC/AIC são também explicativas na variação do AnF. Devido a um maior número de células para valores de IMC até 30 kg/m² existe uma relação positiva com o AnF, curiosamente, a partir de valores de 40 kg/m² há novo declínio nos valores de AnF que pode ser atribuído ao distúrbio entre os compartimentos hídricos, isto é, a um aumento da AEC face à AIC (Bosy-Westphal et al., 2006; Stobaus et al., 2012; Kyle et al., 2004b). Esta sobrecarga hídrica é típica em casos de malnutrição patológica (como a obesidade).

Miura et al., (2019) encontraram uma correlação negativa do AnF com a retenção hídrica através do rácio AEC/ACT em doentes em condição de cancro avançado. Segundo estes autores, um rácio AEC/ACT > a 0,40 sugere a prevalência de edema e simultaneamente, nestes pacientes, foram encontrados valores de AnF ≤ 5°. Estes autores também verificaram a relação entre o AnF com a retenção hídrica em doentes com cancro em estado avançado. Contudo, neste estudo, o volume de AEC e ACT foi estimado através da BIA, considerado um método de avaliação hídrica alternativo aos atuais métodos de referência que incluem a diluição de isótopos.

No entanto em população saudável é pouco comum encontrar distúrbios nos compartimentos hídricos, ainda assim o rácio AEC/AIC continua a ser um preditor da variação do AnF, ou seja, maiores valores de AnF são encontrados com menores rácios AEC/AIC, tal como verificado por Gonzales et al., (2016) e Marini et al., (2019).

3. PERTINÊNCIA DO ESTUDO

Os atletas apresentam necessidades energéticas muito peculiares pelo elevado dispêndio energético durante os treinos e competições, como tal, necessitam de cuidados nutricionais e controlos fisiológicos muito específicos para promover a eficiência dos sistemas biológicos (Michalczyk, Czuba, Zydek, Zając & Langfort, 2016). Com a exigência acrescida na preparação física dos atletas, recolher o maior número de informação fisiológica sobre os mesmos será diferenciador na maximização dos seus resultados desportivos sem comprometer o estado de saúde.

O AnF, como referido anteriormente, representa um indicador de saúde, vitalidade e eficiência celular muito útil em várias populações e varia em função dos parâmetros brutos à passagem de uma corrente elétrica alternada de baixa intensidade (Miura et al., 2019). A sua avaliação pode ser valiosa para treinadores, médicos, nutricionistas, e fisiologistas do exercício para fornecer recomendações específicas de modo a melhorar o rendimento e saúde desportiva. Do vasto leque de condicionantes da carreira de um atleta, as lesões musculares podem ser determinantes ao limitar a participação nos treinos ou competições. O AnF é um indicador prático que permite determinar a gravidade das lesões musculares e monitorizar o subsequente processo de recuperação (Nescolarde et al., 2013). Assim, dada a sua relevância, torna-se pertinente perceber qual a importância dos compartimentos hídricos e da distribuição de fluidos no AnF e nos parâmetros que lhe dão origem (R e X_c), de forma a criar estratégias práticas para melhorar este precioso indicador.

Apenas Marini et al., (2019) verificaram em atletas a relação entre as variáveis brutas da BIA e os compartimentos hídricos. Efetivamente, os métodos de avaliação hídrica atualmente considerados de referência, por apresentarem uma metodologia morosa, complexa e dispendiosa limitam a sua existência em estudos deste âmbito (Marini et al., 2019; Quintero, et al., 2009; Battistini et al., 1994; Silva et al., 2006, 2011, 2010, 2014). No estudo de Marini et al., (2019) foi possível verificar que maiores valores de AnF relacionaram-se com menores valores de rácio AEC/AIC (indica a distribuição de fluidos). Neste estudo, os autores, verificaram apenas a magnitude de correlação entre os parâmetros da BIA e as variáveis AIC, AEC, rácio AEC/AIC e ACT, mas sem o ajuste para outras possíveis variáveis impactantes. Este controlo é particularmente importante para verificar a associação entre o ângulo de fase (AnF) e cada um dos compartimentos hídricos ou o rácio AEC/AIC, pois podem ser afetados por variáveis de confundimento

como a idade, composição corporal ou o desporto praticado. Desta forma, a associação deve ser ajustada para o efeito destas co-variáveis e esta análise ainda não foi considerada anteriormente. Além disso, embora tenham sido utilizados métodos de referência para a avaliação dos compartimentos hídricos, os parâmetros brutos da BIA foram avaliados através de um aparelho unifrequência (UF-BIA). Recentemente Silva et al., (2018) verificaram que pode existir falta de concordância entre UF-BIA e MF-BIA na medição do AnF e restantes parâmetros brutos a uma frequência de 50kHz. Assim, são necessários estudos da mesma natureza com equipamento que inclua multifrequências.

Assim, após exposta a revisão de literatura e justificada a pertinência do tema, este estudo utilizando técnicas de avaliação hídrica atualmente consideradas o estado da arte na determinação dos fluidos corporais, tem como objetivo investigar o papel preditivo que os compartimentos hídricos e a distribuição de fluidos apresentam na explicação do AnF e nos restantes parâmetros brutos da bioimpedância (R e X_c) em atletas, considerando co-variáveis como a idade, composição corporal, sexo ou categoria de modalidade praticada.

4. METODOLOGIA

O conteúdo deste capítulo visa descrever o tipo de estudo, a amostra utilizada, os procedimentos e instrumentos utilizados na recolha de dados, assim como o tratamento e abordagem estatística.

4.1 DESENHO DO ESTUDO E AMOSTRA

Para a conceção deste estudo, com um desenho observacional, transversal e analítico, participaram 289 atletas portugueses, 209 do sexo masculino e 80 do sexo feminino. Todos os participantes colaboraram de forma voluntária durante as suas respetivas épocas desportivas. Esta amostra foi constituída por atletas de 13 diferentes modalidades: 21 mulheres e 25 homens do basquetebol, 4 mulheres e 18 homens do andebol, 4 mulheres e 42 homens do judo, 4 mulheres e 6 homens do karate e taekwondo, 1 mulher e 5 homens do pentatlo, 26 homens do rugby, 3 homens do futebol, 18 mulheres e 20 homens da natação, 6 mulheres e 11 homens do atletismo (inclui velocistas, saltadores e barreiras), 6 mulheres e 31 homens do triatlo, 14 mulheres e 17 homens do voleibol, 2 mulheres e 3 homens do ténis, e por último 2 homens da vela.

Estes atletas, durante a fase de pré-época desportiva, deslocaram-se até ao laboratório de Exercício e Saúde da Faculdade de Motricidade Humana, da Universidade de Lisboa, onde foram realizadas medições da ACT, AEC e AIC através de métodos atualmente considerados de referência (diluição de isótopos). O AnF e os respetivos parâmetros brutos da BIA – R e Xc, foram mensurados através da BIS. Desta recolha de dados já resultaram alguns estudos científicos (Matias et al., 2016). Estes indivíduos foram recrutados através de clubes desportivos locais.

Antes da participação no estudo, cada participante e/ou o responsável legal do participante preencheu um consentimento informado por escrito, com todos os procedimentos aprovados pelo Comité de Ética da Faculdade de Motricidade Humana da Universidade Técnica de Lisboa e conduzidos de acordo com a declaração de Helsínquia.

4.1.1 Critérios de inclusão/exclusão dos participantes

Os critérios de inclusão dos participantes neste estudo foram:

- Através de uma autoavaliação um estágio Tanner \geq a V, que corresponde ao estágio de maturação adulta ou maturação final (Tanner, 1962).
- Mais de 10 horas semanais de treino específico da modalidade;

- Nível de atividade física ≥ 2.0 De acordo com “Food and Nutrition Technical Report” da Food and Agriculture Organization (2001) um nível de atividade física ≥ 2.0 considera todas as pessoas que estão envolvidas com regularidade em atividades extenuantes ou atividades de lazer vigorosas por várias horas. Pode considerar-se o exemplo prático de um indivíduo que percorra, durante o seu horário de trabalho, grandes distâncias a pé ou indivíduos que praticam exercício físico em média 2 horas por dia;
- Não utilização de substâncias para promover o desempenho físico;
- Sem tomar medicação e suplementação em geral;

4.1.2 Preparação

Para que todas as avaliações fossem realizadas da forma irrefutável, foram exigidos alguns pré-requisitos a todos os participantes que incluíam:

- Preenchimento do consentimento informado previamente à realização dos testes e após cada participante e/ou parente responsável (no caso dos participantes menores de idade) serem informados sobre os riscos desta investigação;
- Não realizar exercício físico nas 12 horas precedentes aos testes;
- Estar em jejum de pelo menos 12 horas;
- Não beber álcool nas 24 horas anteriores ao teste;
- Estar num estado normal de hidratação, que inclui esvaziamento da bexiga e intestinos;
- Retirar todos os objetos de metal;
- Estar vestido adequadamente de forma a possibilitar o mínimo de roupa que alguns testes exigem;

Efetivamente, este conjunto de pré-requisitos é mais facilmente obtido algumas horas após o sono da noite, como tal, as avaliações foram realizadas de manhã no laboratório com uma temperatura ambiente de aproximadamente 23°C. Os exames foram realizados por profissionais treinados, e cada exame foi realizado sempre pelo mesmo profissional a fim de minimizar os erros de medição.

4.2 INSTRUMENTOS UTILIZADOS NA RECOLHA DE DADOS

Embora descritos adiante no capítulo que comporta os procedimentos deste estudo, importa realizar um levantamento os instrumentos utilizados nas diferentes medições.

As medições antropométricas foram executadas com auxílio balança eletrónica conectada a um pletismógrafo (BOD POD © Cosmed, Rome, Italy). A estatura foi medida com aproximação de 0,1cm através de um estadiómetro de parede (Seca, Hamburg, Germany).

Para a realização dos testes para verificar o estado de hidratação dos atletas foi utilizado um refratómetro (Urisys 1100, Roche Diagnostics, Portugal).

Neste estudo, o AnF e os parâmetros brutos da BIA (R, Xc e Z) foram mensurados através da BIS modelo 4200 (Xitron Technologies, San Diego, CA) com recurso aos eléctrodos de baixa impedância (Impedimed, IU0GELTD, Pinkenba, QLD, Australia) e com apresentação dos resultados no software *Hydra Data Acquisition Utility*.

Os valores de ACT e AEC forem avaliados através de metodologias, atualmente consideradas de referência na comunidade científica. A ACT foi obtida através da diluição de $^2\text{H}_2\text{O}$ com uso do espectrómetro de massa de razão isotópica estável Hydra (PDZ, Europa Scientific, UK). Os valores de AEC foram obtidos através da diluição de NaBr, com respetiva medição da concentração de NaBr através de cromatografia líquida de alta eficiência (Dionex Corporation, Sunnyvale, CA). Para a recolha das amostras de saliva foram utilizadas salivetes.

Para além dos instrumentos anteriormente mencionados, neste estudo foram realizadas avaliações da composição corporal. Para aceder a estes componentes foi realizado um scanner de corpo inteiro através da DXA (Scan Hologic Explorer-W, fan-beam densitometer, software QDR para windows version 12.4; Hologic, Waltham, USA).

Após recolhidos todos os dados, os ficheiros com os respetivos dados de cada individuo foram convertidos em formato *xlsx*, transferidos para o programa *Microsoft Office Excel 365* versão 16.22 e foram posteriormente transportadas para o programa *IBM SPSS StatisticsTM 24.0* para se proceder ao respetivo tratamento estatístico.

4.3 PROCEDIMENTO

De seguida será descrito o procedimento que inclui as medições antropométricas, as técnicas de hidrometria para avaliação da quantidade de ACT, AEC e AIC e por último a avaliação do AnF, R, Xc e Z através da BIS. Todos os indivíduos realizaram os testes após 12 horas de jejum e após serem questionados sobre todos os restantes pré-requisitos.

4.3.1 Antropometria

Todos os participantes foram pesados com o mínimo de roupa possível com a aproximação de 0,01kg através de uma balança eletrónica conectada a um pletismógrafo (BOD POD © Cosmed, Rome, Italy). A estatura foi medida com aproximação de 0,1cm através de um estadiómetro de parede (Seca, Hamburg, Germany). Todas as medições foram realizadas de acordo com os procedimentos de Lohman, Roche & Martorell (1988), que incluem todos os sujeitos descalços, na posição bípede com pernas e pés alinhados, peso distribuído em ambos os pés, braços relaxados ao lado do tronco com as palmas das mãos voltadas para o corpo. De costas para a parede, os indivíduos foram instruídos a colocar o calcanhar, glúteos, costas e zona posterior da cabeça na parede. Com a cabeça dos indivíduos alinhada com o plano de Frankfurt, o cursor do estadiómetro foi encostado contra a cabeça e foi realizada a leitura e registo do valor.

Depois de recolhidas as variáveis antropométricas, estas serviram para introduzir no software da BIS, para cálculos da quantidade correta de isótopos nos testes hidrométricos e para a avaliação da composição corporal por DXA.

4.3.2 Estado de hidratação

Para garantir que todos os participantes se apresentavam corretamente hidratados foi verificada a gravidade específica da urina (GEU) após a sua recolha. Para a realização do teste foi utilizado um refratómetro (Urisys 1100, Roche Diagnostics, Portugal). Considerou-se um atleta corretamente hidratado com a GEU < 1,010 (Casa, Clarkson & Roberts, 2005). No laboratório de Exercício e Saúde, com base em dez sujeitos, o coeficiente de variação (CV) do teste GEU foi verificado e obteve-se um resultado de 0,1% (Silva et al., 2013).

4.3.3 Composição corporal

Os componentes da composição corporal foram acedidos através da DXA (Scan Hologic Explorer-W, fan-beam densitometer, software QDR para windows version 12.4; Hologic, Waltham, USA), onde foram estimadas a MG e MIG. Foi pedido a cada sujeito para permanecer relaxado e imóvel na posição de decúbito dorsal no equipamento da DXA. O teste de corpo inteiro teve a duração de cerca de sete minutos. Anteriormente no laboratório de Exercício e Saúde, com base em dez sujeitos, o CV para a MG e MIG foi respetivamente 2,5 e 1,1% tal como referido por Matias et al., (2012).

4.3.4 Hidrometria

4.3.4.1 Água Corporal Total (ACT)

A diluição de deutério, como referido anteriormente, é considerada a técnica de referência para a medição da ACT, totalmente inócua ao ser humano, mas pouco disponível pela exigência técnica requerida e pelo custo elevado que está associado. Neste estudo os valores de ACT foram obtidos pela diluição de deutério, através de um espectrómetro de massa de razão isotópica estável Hydra (PDZ, Europa Scientific, UK).

Após 12 horas de jejum, com cada participante, foi recolhida a primeira amostra de urina e em seguida foi administrada uma dose de 0,1g de 99,8% $^2\text{H}_2\text{O}$ por cada quilograma (kg) de peso corporal (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Devido ao efeito de memória da bexiga, previamente à segunda recolha de urina, foi pedido aos atletas para esvaziarem a bexiga. Após quatro horas (período necessário à estabilização do isótopo no organismo), foi recolhida a segunda amostra de urina.

Após a segunda recolha, em tubos com 0,5ml de urina, foram cheios com hidrogénio gasoso e permaneceram em equilíbrio ao longo de 3 dias à temperatura ambiente amostras de urina. Após este procedimento as espécies de hidrogénio são introduzidas num fluxo constante de Hélio e analisadas no espectrómetro de massas para análise da razão $^1\text{H}/^2\text{H}$. Este método designa-se como técnica de equilíbrio de Prosser e Scrimgeour (1995).

Os enriquecimentos de padrões de água locais equilibrados foram calibrados de acordo com Standard Mean Ocean Water (SMOW). Com base no delta SMOW, a ACT foi estimada com um fator de correção de 4% devido ao equilíbrio reconhecido da diluição de deutério em outros compartimentos (Schoeller, 2005). Posteriormente a ACT foi convertida em quilogramas através da multiplicação dos valores em litros por 0,9937kg / L, assumindo uma temperatura corporal média de 36,8°C. Anteriormente, foi

realizado o teste - re-teste para verificar o coeficiente de variação (CV) com 10 participantes no laboratório de Exercício e Saúde para a ACT com resultados de 0,3% (Silva et al. 2012).

4.3.4.2 Água extracelular (AEC)

Através da diluição de brometo sódico (NaBr) foi calculada a AEC. Antes da toma da dose foi recolhida uma amostra inicial de saliva e posteriormente foi pedido a cada individuo que ingerisse 0,030g/kg de NaBr diluídos em 50 mL de água destilada. Para a medição da concentração de NaBr foi utilizada cromatografia líquida de alta eficiência (Dionex Corporation, Sunnyvale, CA), e após 3 horas foi recolhida a nova amostra enriquecida com NaBr.

O volume de AEC foi calculado através da seguinte fórmula:

$$\text{AEC (L)} = [\text{dose} - (\text{concentração de Br} - \text{concentração de Br inicial})] \times 0,90 \times 0,95$$

Na fórmula mencionada, 0,90 representa o fator de correção para a quantidade de Br que naturalmente existe ao nível intracelular (principalmente ao nível dos glóbulos vermelhos) e 0,95 representa o fator de correção para o efeito de Gibbs – Donnan (Schoeller, 2005), descritos previamente na revisão de literatura.

A AEC foi convertida em kg multiplicando os valores de AEC em litros por 0,9937 kg/L assumindo a temperatura corporal constante de 36°C.

Previamente, num estudo anterior realizado por Matias et al., (2012), o teste- re-teste para verificar o coeficiente de variação (CV) foi verificado em sete participantes para a AEC utilizado a cromatografia iónica no laboratório de Exercício e Saúde da Faculdade de Motricidade Humana com o resultado de 0,4%. Segundo Schoeller (2005), o fluido extracelular comporta 94% de água e 6% de material sólido. Relativamente à saliva, tal como no estudo supramencionado, foi utilizado um fator de correção de 0,996 para o conteúdo de sólidos contidos neste fluido biológico (Matias et al., 2012).

4.3.4.3 Água intracelular (AIC)

Os valores de AIC foram obtidos através da diferença entre a ACT e a AEC (AIC = ACT - AEC). A ACT e AEC foram obtidas através das técnicas de referência anteriormente mencionadas (Schoeller, 2005).

4.3.5 Parâmetros brutos da bioimpedância

Os parâmetros brutos da bioimpedância - resistência (R), reactância (Xc) e impedância (Z), assim como o ângulo de fase (AnF), foram medidos através da Bioimpedância espectral (BIS) modelo 4200 (Xitron Technologies, San Diego, CA) após um período de 10 minutos de repouso em decúbito dorsal e após a introdução das variáveis antropométricas, gênero e idade do indivíduo o exame foi iniciado. Em cada participante, após limpeza da pele com álcool etílico, foram colocados quatro elétrodos do lado direito do corpo (abordagem tetrapolar), dois elétrodos ejetores são colocados no dorso da mão e no pé, ao nível do terceiro metacarpo e do terceiro metatarso, pelos quais a corrente elétrica entra no corpo. Os outros dois elétrodos recetores são colocados no punho (num plano imaginário de união das duas apófises estiloides do rádio) e no tornozelo (na linha imaginária de união da parte mais saliente dos dois maléolos). Os elétrodos ejetores e recetores ficaram separados em cerca de 5cm para evitar interferência elétrica. Foi introduzida uma corrente alternada de 240 μ A a 50 kHz no elétrodo distal de cada par (elétrodo ejetor), e a detecção de corrente no corpo foi medida através de um elétrodo proximal em cada um dos pares (elétrodo recetor). Foram utilizados elétrodos de baixa impedância (Impedimed, IU0GELTD, Pinkenba, QLD, Australia) para medir os parâmetros brutos da bioimpedância, especificamente 27 Ω , 0,9 Ω e 27 Ω para R, Xc e Z, respetivamente. Os resultados foram apresentados no software *Hydra Data Acquisition Utility*.

Antes de cada avaliação foram realizados testes para verificar o desempenho e a funcionalidade do dispositivo, tal como proposto pelo fabricante do equipamento. Através deste teste, o usuário pode a qualquer momento, verificar se o dispositivo está a operar corretamente, ao comparar os resultados obtidos com os resultados esperados. Este está disponível na opção TS4201, que simula a R típica de um contato com a pele e os valores de R e Xc obtidos no punho até ao tornozelo através da projeção de um circuito em paralelo e em série. Este circuito simula a avaliação de um homem de 175cm de estatura e 70kg de peso corporal e consiste em um componente de resistência de 1% 681 Ω em paralelo com um componente de resistência em série de 1% 909 Ω e 5% de um componente de capacitância de 3,3 nF.

A confiabilidade biológica deste equipamento, medida no laboratório de Exercício e Saúde, foi medida para a R e Xc a uma frequência de 50kHz com resultados de 0,6 e 1,5% respectivamente (Silva et al., 2018).

Este equipamento apresenta os resultados em 3 grupos distintos. Primeiro é possível observar os parâmetros brutos (R, Xc, Z) e o AnF medidos em diferentes frequências. O segundo grupo engloba a R dos fluidos extracelulares e dos fluidos intracelulares. Por último, o terceiro grupo, inclui a determinação da ACT, AEC, AIC e MIG. Para este estudo foram apenas utilizados os parâmetros brutos (R e Xc) e o AnF a uma frequência de 50 kHz.

4.4 PROCEDIMENTO ESTATÍSTICO

Após a recolha de dados, os ficheiros de cada participante com os respetivos dados foram convertidos para o formato *.xlsx* para serem estruturados e organizados no programa *Microsoft Office Excel 365* versão 16.22. Posteriormente foram transportados para o programa *IBM SPSS StatisticsTM 24.0* para MacOS para se proceder ao respetivo tratamento estatístico.

Inicialmente, para verificar a existência de erros, foi realizada uma primeira análise com recurso à estatística descritiva (média \pm desvio padrão, mínimos e máximos) para todas as variáveis independentes e dependentes em estudo. Para todos os testes estatísticos realizados foi considerada significância estatística para um $p < 0.05$. Posteriormente foi realizado o teste Modelo Geral Linear Univariado a fim de verificar a interação das variáveis independentes com o sexo. Embora estatisticamente fizesse sentido realizar todos os testes com a amostra total ($p > 0,05$ para as interações), existe literatura que evidencia diferenças entre os géneros nas variáveis biológicas em estudo que poderão afetar os resultados (Marini et al., 2019; Gonzales et al., 2016), como tal, todas as análises estatísticas foram realizadas separadamente para o género masculino e feminino.

Após a divisão da amostra por géneros foram realizadas correlações de *Pearson* para verificar o grau de associação entre as variáveis brutas da BIS e os compartimentos e distribuição hídrica dos atletas em estudo. Foi realizada uma análise descritiva separada por sexo com média \pm desvio padrão e a fim de estudar as diferenças entre sexos para a idade, massa corporal, estatura, IMC, MG, MIG, R, Xc, AnF, AIC, AEC, AEC/AIC e

ACT foram realizados *testes t* para amostras independentes. Previamente aos *testes t* foram verificados os seus pressupostos: normalidade das duas populações ($n_1 \geq 30$ e $n_2 \geq 30$) e igualdade de variâncias pelo *teste de Levene*.

Foi realizado um Modelo de Regressão Múltipla para construir um modelo matemático para testar o poder preditivo das variáveis independentes X (AIC, AEC, AEC/AIC e ACT) na explicação dos valores da variável dependente Y (AnF, R e Xc). Cada variável independente foi introduzida individualmente no modelo e através da opção “*enter*” foram introduzidas as co-variáveis idade, categoria de modalidade e MIG, uma vez que podem interferir na associação entre os compartimentos hídricos com as variáveis dependentes (Miura et al., 2019; Martins et al., 2018; Gonzales et al., 2016). A categoria de modalidade foi uma variável criada para diferenciar atletas de modalidades de: 1) “*endurance*” onde foram incluídos atletas da natação, pentatlo, triatlo e vela, 2) “*velocidade/potência*” que englobou as modalidades de judo, karate, taekwondo e atletismo e 3) “*desportos coletivos*” que incluiu basquetebol, andebol, voleibol, rugby e futebol.

Os seguintes pressupostos, de acordo com o modelo de regressão múltipla, foram verificados: 1) os erros E_i são variáveis aleatórias de média zero; 2) os erros E_i são variáveis de variância constante (σ^2); 3) as variáveis aleatórias $E_1, E_2, E_n...$ são independentes; 4) As variáveis explicativas $X_1, X_2...X_k$ não são correlacionadas entre si e 5) Os erros E_i apresentam uma distribuição normal.

Em determinados casos não foi possível verificar todos os pressupostos nos modelos analisados, nomeadamente ao nível da distribuição normal dos erros aleatórios. Nestes casos podem ser utilizadas transformações das variáveis de resposta e também de algumas variáveis predictoras de forma a obter a distribuição normal. Nestes casos em particular do presente estudo, foi utilizado a função “*Ln*” no menu “*transformar variável*” do SPSS.

Foi também analisado o coeficiente de determinação r^2 para todas as variáveis independentes que mede a qualidade do modelo ajustado às restantes co-variáveis. O r^2 varia entre 0 e 1, indicando em percentagem o quanto o modelo consegue explicar os valores observados na variável dependente. Quanto maiores os valores de r^2 melhor é a explicação da variável dependente pelas variáveis presentes no modelo.

5. RESULTADOS

Neste capítulo serão apresentados os dados relevantes para o desenvolvimento deste estudo. A primeira abordagem será referente às características demográficas e da composição corporal que caracterizam os atletas participantes nesta investigação. Posteriormente uma análise analítica entre o AnF, R e Xc com os compartimentos hídricos e distribuição de fluidos.

5.1 CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA

Na tabela seguinte (tabela 2.) apresentam-se as principais características dos atletas incluídos na amostra, sendo que estão representadas as médias da idade, massa corporal, estatura, IMC, MG, MIG, resistência, reactância, ângulo de fase, água intracelular, água extracelular, água corporal total e rácio entre a água extracelular e água intracelular. Nesta mesma tabela é possível verificar, para as variáveis referidas, as diferenças entre o género masculino e feminino.

Tabela 2 - Características demográficas e de composição corporal dos atletas participantes no estudo, amostra feminina e masculina

Variáveis	Total N = 289	Feminino N = 80	Masculino N = 209
Idade (anos)	21.0 ± 4.8	20.0 ± 3.2 [§]	21.4 ± 4.6 [§]
Massa corporal (kg)	73.5 ± 12.5	63.0 ± 9.0 ^{§§}	77.5 ± 12.9 ^{§§}
Estatura (cm)	178.1 ± 10.8	170.4 ± 7.7 ^{§§}	181.1 ± 10.4 ^{§§}
IMC (kg/m ²)	23.1 ± 3.8	21.7 ± 2.2 ^{§§}	23.7 ± 4.1 ^{§§}
MG (kg)	12.4 ± 5.7	15.3 ± 4.4 ^{§§}	11.2 ± 5.8 ^{§§}
MIG (kg)	60.4 ± 11.4	47.3 ± 6.1 ^{§§}	65.4 ± 8.6 ^{§§}
Resistência* (Ohm)	487.2 ± 77.1	566.0 ± 67.8 ^{§§}	457.1 ± 56.5 ^{§§}
Reactância* (Ohm)	64.2 ± 8.3	67.5 ± 8.4 ^{§§}	62.9 ± 7.9 ^{§§}
Ângulo de Fase* (°)	7.6 ± 0.9	6.8 ± 0.7 ^{§§}	7.9 ± 0.7 ^{§§}
Água Intracelular (kg)	27.2 ± 7.4	19.9 ± 3.9 ^{§§}	30.0 ± 6.4 ^{§§}
Água Extracelular (kg)	18.2 ± 3.4	15.1 ± 2.2 ^{§§}	19.4 ± 3.0 ^{§§}
Água Corporal Total (kg)	45.4 ± 9.7	34.9 ± 5.2 ^{§§}	48.4 ± 7.9 ^{§§}
Rácio AEC/AEC	0.7 ± 0.2	0.8 ± 0.2 ^{§§}	0.7 ± 0.2 ^{§§}

Abreviaturas: IMC, Índice de Massa Corporal; MG, Massa Gorda; MIG, Massa Isenta de Gordura; AEC, Água Extracelular; AIC, Água Intracelular

§ Diferenças significativas entre sexos (P<0,05); §§ Diferenças significativas entre sexos (P<0,01)

* Medidos a uma frequência de 50 kHz.

A amostra é composta por um total de 289 participantes, dos quais 209 do género masculino com idade média de 21.4 (± 4.6) anos e 80 do género feminino com idade média de 20.0 (± 3.2) anos. Posteriormente, após a exposição dos dados obtidos, para verificar as diferenças entre sexos foi realizado um estudo através do *teste-t* para amostras independentes. Este estudo revelou que todas as variáveis em estudo foram significativamente diferentes entre o género masculino e género feminino. A idade foi superior no grupo masculino (p< 0.05), assim como a massa corporal e estatura (p< 0.01). Referente à composição corporal, avaliada através da DXA, verifica-se que a amostra masculina apresenta valores superiores de MIG (p< 0.01), por outro lado a amostra feminina apresenta valores de MG significativamente superior à masculina (p< 0.01). Nos

dados recolhidos pela BIS, a R e a Xc foram superiores no grupo feminino ($p < 0.01$), enquanto o AnF foi superior no grupo masculino ($p < 0.01$). Nas variáveis hídricas os homens apresentaram valores superiores de AIC, AEC e ACT ($p < 0.01$), enquanto as mulheres apresentaram maiores valores de rácio AEC/AIC ($p < 0.01$).

5.2 RELAÇÃO ENTRE OS COMPARTIMENTOS HÍDRICOS E DISTRIBUIÇÃO DE FLÚIDOS COM O ÂNGULO DE FASE, RESISTÊNCIA E REACTÂNCIA

Como primeira análise realizou-se um estudo de correlações de *Pearson* para verificar se existe algum grau de associação entre o AnF, R e Xc com os compartimentos hídricos (AIC, AEC e ACT) e distribuição de fluidos (rácio AEC/AIC). Na tabela 3. é possível observar a relação entre os parâmetros brutos da BIA e os diferentes compartimentos hídricos e distribuição de fluidos. É notório uma correlação significativa e positiva entre o AnF e a AIC, AEC e ACT. O rácio AEC/AIC embora se correlacione de forma significativa com o AnF apresenta uma correlação negativa o que significa que quanto menor o rácio AEC/AIC maior será o AnF. Quando se dividiu a amostra por sexo a AEC deixou de se correlacionar significativamente com o AnF em ambos os géneros. Por outro lado, a AIC, ACT e rácio AEC/AIC mantiveram os seus níveis de correlação com o AnF. No grupo feminino, verifica-se a correlação mais forte entre a AIC e AnF ($r = 0,40$; $p < 0.01$). No grupo masculino o AnF apresenta a correlação mais forte, embora negativa, com o rácio AEC/AIC ($r = -0.42$; $p < 0.01$).

Tabela 3 - Correlações de Pearson entre os parâmetros brutos medidos a uma frequência de 50 kHz e os compartimentos hídricos e distribuição de fluidos na amostra total, masculina e feminina

	Ângulo de Fase			Resistência			Reactância		
	Total N = 289	Fem N = 80	Masc N = 209	Total N = 289	Fem N = 80	Masc N = 209	Total N = 289	Fem N = 80	Masc N = 209
AIC	0.60** p < 0.01	0.40** p < 0.01	0.41** p < 0.01	-0.77** p < 0.01	-0.60** p < 0.01	-0.67** p < 0.01	-0.41** p < 0.01	-0.25* p = 0.028	-0.37** p < 0.01
AEC	0.28** p < 0.01	0.13 p = 0.254	-0.08 p = 0.234	-0.65** p < 0.01	-0.51** p < 0.01	-0.45** p < 0.01	-0.53** p < 0.01	-0.41** p < 0.01	-0.52** p < 0.01
AEC/ AIC	-0.46** p < 0.01	-0.28* p = 0.013	-0.42** p < 0.01	0.38** p < 0.01	0.19 p = 0.093	0.28** p < 0.01	0.03 p = 0.554	-0.07 p = 0.553	-0.03 p = 0.631
ACT	0.55** p < 0.01	0.36** p = 0.001	0.30** p < 0.01	-0.82** p < 0.01	-0.67** p < 0.01	-0.72** p < 0.01	-0.50** p < 0.01	-0.36** p = 0.001	-0.50** p < 0.01

Abreviaturas: AIC, Água Intracelular; AEC, Água Extracelular; AEC/AIC, rácio água extracelular/água intracelular; ACT, Água Corporal Total.

Correlação significativa: * (p<0,05); ** (p<0,01).

Relativamente às correlações de *Pearson* entre a R e os compartimentos hídricos e distribuição de fluidos verifica-se a existência de uma correlação significativa e positiva com o rácio AEC/AIC. Todos as restantes variáveis correlacionam-se de forma negativa com a R. Quando a análise é realizada separadamente por sexo, observa-se uma correlação estatisticamente significativa e negativa com todas as variáveis em ambos os grupos à exceção do rácio AEC/AIC no grupo feminino que não apresentou uma correlação significativa. A R apresenta a correlação mais robusta com a ACT ($r = -0,67$; $p < 0.01$ e $r = -0,72$; $p < 0.01$ para o género feminino e masculino, respetivamente).

Na tabela supramencionada é também possível observar o estudo de correlações entre a Xc e as restantes variáveis hídricas. À exceção do rácio AEC/AIC, a AIC, AEC e a ACT estão significativamente correlacionadas de forma negativa com a Xc. O mesmo resultado é observado quando a análise é realizada separadamente por sexo, o rácio AEC/AIC não apresenta uma correlação significativa e todas as outras variáveis apresentam uma correlação estatisticamente significativa e negativa com a Xc celular. Para a Xc a correlação mais forte foi com a AEC ($r = -0,41$; $p < 0.01$ e $r = -0,52$; $p < 0.01$ para o género feminino e masculino, respetivamente).

De seguida foram realizadas análises de regressão múltipla entre as variáveis da BIS e os compartimentos e distribuição hídrica. Cada modelo de regressão múltipla foi realizado passo por passo (através do menu *enter*) e controlado para a MIG, idade e categoria de modalidade. Relembrando, a categoria de modalidade foi uma variável criada para diferenciar atletas de modalidades de: 1) “*endurance*”, 2) “*velocidade/potência*” e 3) “*desportos coletivos*”.

Os modelos de regressão múltipla para o AnF, Xc e R estão representados na tabela 4, tabela 5 e tabela 6, respetivamente.

Relativamente ao AnF (tabela 4), a AIC, AEC/AIC e ACT apresentam-se como preditores significativos para ambos os sexos, independentemente da categoria de modalidade praticada, a idade e MIG. A AIC é considerada um preditor significativo, tanto para o género feminino ($\beta=0.129$; $p < 0,01$) como para o masculino ($\beta=0.108$; $p < 0,01$). A AIC quando analisada individualmente (sem o ajuste das co-variáveis) explica 16% e 16.4% dos valores do AnF respetivamente.

Tabela 4 - Determinantes do ângulo de fase observados através do uso de modelos de regressão linear múltipla ajustados para a massa isenta de gordura, categoria de modalidade e idade

Variável Dependente: Ângulo de Fase							
Coeficientes não padronizados							
	r^2	$r^{2\text{ajustado}}$	EPE	β	EP	$p\text{-value}$	
Feminino	AIC	0.293	0.256	0.58	0.129	0.27	<0.01**
	AEC	-----					
	AEC/AIC	0.155	0.110	0.63	-1.022	0.415	0.016*
	ACT	0.527	0.278	0.240	0.59	0.120	0.027*
Coeficientes não padronizados							
	r^2	$r^{2\text{ajustado}}$	EPE	β	EP	$p\text{-value}$	
Masculino	AIC	0.334	0.321	0.61	0.108	0.011	<0.01**
	AEC	-----					
	AEC/AIC	0.180	0.164	0.68	-2.072	0.332	<0.01**
	ACT	0.306	0.293	0.63	0.120	0.013	<0.01**

Modelo de regressão múltipla ajustado para: Categoria de modalidade, idade e massa isenta de gordura (DXA);

Abreviaturas: AIC, Água Intracelular; AEC, Água Extracelular; ACT, Água Corporal Total; EPE, Erro padrão de estimativa; EP, Erro Padrão; β , coeficiente de regressão; R^2 , coeficiente de determinação;

* ($p < 0,05$); ** ($p < 0,01$).

No modelo utilizado, a ACT foi também considerada um preditor significativo. Quando analisada isoladamente explica 12.6% e 9.0% do AnF no sexo feminino e masculino, respetivamente. Esta, quando ajustada ao modelo com as co-variáveis, apresentou um valor de $\beta = 0.120$ para um $p < 0.01$ nas mulheres e um valor de $\beta = 0.120$ para um $p = 0.027$ nos homens. A forma como os fluidos se distribuem no nosso organismo, sem a influência das co-variáveis, explica no género feminino cerca de 7.7% dos valores do AnF e 17.2% no género masculino. Neste caso em particular, quando ajustado ao modelo com as co-variáveis, o rácio AEC/AIC apresentou um valor de β negativo, o que significa que se relaciona de forma inversa com o AnF no género feminino ($\beta = -1.022$; $p = 0.016$) e no género masculino ($\beta = -2.072$; $p < 0.01$), tal como demonstrado anteriormente no estudo de correlações.

Relativamente à análise da reactância celular (tabela 5) sobressai o dimorfismo sexual presente na amostra. Para o sexo masculino apenas a AIC não foi considerada determinante dos valores de X_c , sendo que a AEC ($\beta = -0.997$; $p < 0.01$) e ACT ($\beta = -0.348$; $p = 0.017$) relacionaram-se de forma inversa com a X_c . Respetivamente, estas variáveis explicaram, sem o ajustamento às co-variáveis, cerca de 26.7% e 24.5% dos valores de X_c celular.

Tabela 5 - Determinantes da Reactância observados através do uso de modelos de regressão linear múltipla ajustados para a massa isenta de gordura, categoria de modalidade e idade

Variável Dependente: Reactância							
Coefficientes não padronizados							
	r²	r²ajustado	EPE	β	EP	p-value	
Feminino	AIC	0.185	0.142	7.77	0.302	0.369	0.415
	AEC	0.215	0.173	7.62	-0.978	0.519	0.063
	AEC/AIC	-----					
	ACT	0.180	0.137	6.85	-0.163	0.357	0.650
Coefficientes não padronizados							
	r²	r²ajustado	EPE	β	EP	p-value	
Masculino	AIC	0.231	0.216	6.97	0.055	4.360	0.663
	AEC	0.304	0.291	6.63	-0.997	0.214	<0.01**
	AEC/AIC	-----					
	ACT	0.251	0.237	6.88	-0.348	0.144	0.017*

Modelo de regressão múltipla ajustado para: Categoria de modalidade, idade e massa isenta de gordura (DXA);

Abreviaturas: AIC, Água Intracelular; AEC, Água Extracelular; ACT, Água Corporal Total; EPE, Erro padrão de estimativa; EP, Erro Padrão; β , coeficiente de regressão; R², coeficiente de determinação;

* (p<0,05); ** (p<0,01).

Por outro lado, no sexo feminino nenhuma das variáveis foi determinante nos valores de reactância no modelo ajustado à MIG, categoria de modalidade e idade. O rácio AEC/AIC não foi analisado no modelo de regressão múltipla dada a falta de correlação previamente observada em ambos os sexos.

Por último, no modelo de regressão múltipla com a R como variável dependente (tabela 6) as variáveis hídricas mantiveram-se significativas no sexo masculino.

Tabela 6 - Determinantes da Resistência observados através do uso de modelos de regressão linear múltipla ajustados para a massa isenta de gordura, categoria de modalidade e idade

		Variável Dependente: Resistência					
		Coefficientes não padronizados					
		r²	r²ajustado	EPE	β	EP	p-value
Feminino	AIC	0.519	0.493	0.085	-0.016	0.004	<0.01**
	AEC	0.443	0.413	51.90	-6.894	3.529	0.054
	AEC/AIC	-----					
	ACT	0.575	0.552	45.35	-11.045	2.079	<0.01**
		Coefficientes não padronizados					
		r²	r²ajustado	EPE	β	EP	p-value
Masculino	AIC	0.452	0.441	42.26	-5.83	0.764	<0.01**
	AEC	0.318	0.305	47.13	-3.96	1.519	0.010*
	AEC/AIC	0.314	0.301	47.27	54.25	23.056	0.020*
	ACT	0.606	0.598	35.85	-472.23	37.309	<0.01**

Modelo de regressão múltipla ajustado para: Categoria de modalidade, idade e massa isenta de gordura (DXA);

Abreviaturas: AIC, Água Intracelular; AEC, Água Extracelular; ACT, Água Corporal Total; EPE, Erro padrão de estimativa; EP, Erro Padrão; β , coeficiente de regressão; R², coeficiente de determinação;

* (p<0,05); ** (p<0,01).

No sexo feminino apenas a AIC e ACT foram consideradas preditores dos valores da R corporal, após o ajuste para a MIG, idade e categoria de modalidade, embora a AEC tenha apresentado um valor próximo da significância estatística (p = 0.054). Ainda no sexo feminino, o rácio AEC/AIC não foi analisado por não ter apresentado previamente correlação com a R. Também a AEC, embora se tenha mostrado correlacionada com os valores de R, perdeu a significância estatística ao ser introduzida no modelo de regressão linear múltipla nas mulheres.

No género feminino a AIC e ACT apresentaram uma associação inversa com a R (β = -0.016; p<0.01 e β = -11.045; p<0.01, respetivamente). A AIC, sem o ajuste das co-variáveis, explicou 37.2% e a ACT 45% dos valores de R. O mesmo aconteceu, no género masculino, para a AIC (β = -5.826; p<0.01), AEC (β = -3.957; p=0.010) e ACT (β = -472.23; p<0.01). Estas variáveis explicaram, respetivamente, 45.8%, 20.4% e 52% dos

valores de R sem o ajuste das co-variáveis. Contrariamente o rácio AEC/AIC, no género masculino, associou-se de forma positiva com a R ($\beta = 54.25$; $p=0.020$) com um poder explicativo de 8.1% quando analisado sem o ajuste da MIG, idade e categoria de modalidade praticada.

6. DISCUSSÃO

Atualmente, como já referido, são escassos os estudos que verificaram a influência dos compartimentos hídricos na explicação do AnF em atletas, particularmente se forem utilizadas técnicas de referência para avaliação dos compartimentos hídricos e distribuição de fluidos. Recentemente Marini et al., (2019) verificaram em atletas, através de técnicas de referência, qual a relação entre os compartimentos hídricos e o AnF. Contudo, neste estudo os autores não ajustaram outras variáveis com impacto nos compartimentos hídricos, como a idade, composição corporal ou o desporto praticado. Assim, o principal objetivo da presente investigação foi verificar o papel preditivo dos compartimentos hídricos (AIC, AEC e ACT) e da distribuição de fluidos (AEC/AIC) no comportamento dos parâmetros brutos da BIA (R, Xc e AnF), recorrendo a técnicas de avaliação hídrica consideradas de referência numa amostra composta por 289 atletas, considerando a idade, MIG e categoria de modalidade como co-variáveis. As principais descobertas foram: 1) A AIC é o melhor preditor do AnF em ambos os sexos. A ACT e o rácio AEC/AIC também se mostraram determinantes do AnF independentemente da MIG, idade e categoria de modalidade; 2) Ao nível da Xc celular existe um dimorfismo sexual, observando-se uma associação entre os compartimentos e a distribuição de fluidos nos homens mas não nas mulheres; 3) Todos os compartimentos hídricos foram considerados determinantes nos valores de R, independentemente da MIG, idade e categoria de modalidade, embora nas mulheres atletas a AEC não tenha chegado a atingir um valor significativo ($p=0.054$).

Relativamente às características da amostra, neste estudo foram observados valores de AnF em média total de 7.6 ± 0.9 , sendo que o grupo masculino apresentou um valor de 7.9 ± 0.7 e o grupo feminino um valor de 6.8 ± 0.7 . Estes valores foram idênticos aos encontrados em outros trabalhos com atletas (Marini et al., 2019; Ribeiro et al., 2017; Matias et al., 2015). Tal como demonstrado anteriormente, os homens apresentam maiores valores de AnF (Marini et al., 2019; Gonzales et al., 2016). Este valoroso parâmetro biológico está positivamente relacionado com a quantidade de MCC e também

com a quantidade de MIG, o que significa que em relação ao género, geralmente as mulheres apresentam menores valores de AnF em consequência de uma menor quantidade de massa muscular (Gonzales et al., 2016; Barbosa-Silva et al., 2005). De acordo com os trabalhos científicos supramencionados, neste estudo, o género masculino exibiu maiores valores de MIG quando comparados com o género feminino ($65.4\text{kg} \pm 8.6$ e $47.3\text{kg} \pm 6.1$, respetivamente), o que pode representar uma das possíveis explicações biológicas para os maiores valores de AnF apresentados. Concomitantemente, Bosy-Westphal et al., (2006) verificaram que o sexo é o maior determinante do AnF.

Relativamente à R, nesta investigação verificou-se que o género masculino apresenta valores significativamente menores quando comparados ao género feminino (457.1 ± 56.5 e 566.0 ± 67.8 , respetivamente). Estes valores são considerados normais e congruentes com outros estudos realizados em atletas (Marini et al., 2019; Ribeiro et al., 2017; Matias et al., 2015). A R refere-se à oposição oferecida pelo corpo humano à passagem da corrente elétrica. De uma forma sucinta, a condutividade dos tecidos é proporcional à quantidade de água presente (Ward, 2018; Kyle et al., 2004a). Os homens apresentaram valores significativamente maiores que as mulheres de ACT, o que significa que a corrente elétrica flui mais livremente no organismo masculino quando comparado com o organismo feminino. Complementarmente, as mulheres apresentaram maiores valores de MG quando comparadas com os homens. A MG apresenta uma baixa capacidade de condução em função da sua constituição pobre em água (Guyton & Hall, 2006).

A Xc, isto é, a capacidade que as estruturas dos tecidos têm em “atrasar” o estímulo elétrico (Kyle et al., 2004a), neste estudo foi superior no género feminino comparativamente com o género masculino (67.5 ± 8.4 e 62.9 ± 7.9 , respetivamente). O mesmo foi demonstrado nos estudos de Marini et al., (2019) em população atleta e por Ribeiro et al., (2017) com população jovem adulta não atleta. As diferenças entre homens e mulheres ainda não são totalmente conhecidas. Curiosamente o AnF tem sido apontado como um indicador sensível à Xc celular (Nescolarde et al., 2013, 2017), neste presente estudo apesar do género feminino apresentar maiores valores de Xc, foi o grupo masculino quem apresentou os maiores valores do AnF. Outros trabalhos científicos mostram que o aumento do AnF após um programa de treino de força não foi sensível à componente Xc celular, mas sim ao decréscimo da R (Ribeiro et al., 2017). Assim, neste

estudo a menor R no grupo masculino pode ser parte da explicação para um maior AnF nos homens.

Verificou-se no presente estudo, quando comparado com populações não atletas, valores de Xc celular consideravelmente elevados. Relativamente aos compartimentos hídricos, Gatterer et al., (2014) verificaram que depois de uma sessão de exercício os valores de AEC diminuíram e os valores de Xc aumentaram, sugerindo uma relação inversa entre estas duas variáveis. Em populações clínicas uma maior expansão ao nível extracelular pode afetar a distância entre cada elemento celular prejudicando assim a capacidade em retardar a penetração da corrente elétrica (Ribeiro et al., 2018), assim como, aumentar a compressão dos vasos sanguíneos, diminuir o transporte de oxigénio e contribuir para uma maior degradação celular (Guyton & Hall, 2006). Aparentemente, os atletas apresentam mecanismos biológicos bem definidos na redistribuição hídrica ao nível das membranas celulares que lhes permite obter valores de Xc elevados. Neste estudo foi verificado uma relação negativa entre a AEC e a Xc, embora no grupo masculino essa relação ter sido significativa ($\beta = -0.997$; $p < 0.01$), o grupo feminino apresentou uma tendência para uma associação ($\beta = -0.978$; $p = 0.063$), sugerindo que os maiores valores de Xc são observados para os atletas com menor AEC.

O grupo masculino apresentou também valores superiores de AIC comparativamente com o grupo feminino ($29,97 \pm 6,42$ e $19,85 \pm 3,89$ respetivamente). Alguns autores referem que estas diferenças ao nível intracelular podem dever-se ao facto de os homens apresentarem maior preponderância de fibras musculares tipo II (Sale, MacDougall, Alway & Sutton, 1987), sendo estas mais sensíveis a alterações osmóticas pela alta concentração de canais específicos de transporte da água designados aquaporina-4 (Frigeri et al., 1998). Estas ações osmóticas são altamente dependentes das reservas de glicogénio musculares (1g de glicogénio atrai 3g de água).

Além disso, o tecido muscular é considerado um tecido com bons níveis de hidratação, assim atletas com maiores valores de massa muscular poderão apresentar maiores quantidades de AIC total (Alway, MacDougall, Sale, Sutton e McComas, 1988; Brzank e Pieper, 1986; Hubbard, Ianuzzo, Mathew e Linduska, 1975; Wang, Hikida, Staron e Simoneau, 1993). Tal como referido anteriormente, neste estudo verificou-se que a amostra masculina apresentou valores superiores de MIG (65.5 ± 8.6) quando comparado com as mulheres (47.3 ± 6.1). Assim, é plausível considerar que a AIC é dependente do género em função da informação supramencionada (Ribeiro et al., 2017).

Após uma primeira reflexão sobre as características gerais da amostra e as suas diferenças entre géneros, de seguida, serão discutidos individualmente, os modelos de regressão múltipla analisados para cada um dos parâmetros brutos da bioimpedância.

6.1 ÂNGULO DE FASE

Recorde-se que a AIC apresentou uma correlação significativa e positiva com o AnF. Quando criado o modelo de regressão múltipla com o AnF como variável dependente, é possível constatar que a AIC é um dos seus preditores, tanto para o género feminino ($\beta=0.129$; $p < 0,01$) como para o masculino ($\beta=0.108$; $p < 0,01$), independentemente da MIG, categoria de modalidade praticada e idade, explicando individualmente 16% e 16.4% dos valores do AnF, respetivamente. Silva et al., (2010) verificaram em atletas de judo experientes que existe uma redução de potência nos membros superiores, associada ao decréscimo da ACT, principalmente se for ao nível AIC. A AIC, ao contrário da ACT e AEC parece ser um bom preditor do risco de diminuição de força de prensão em atletas de elite de judo, sendo que a força de prensão é essencial nas técnicas de ataque e de defesa (Silva et al., 2011). O presente estudo serve uma vez mais para expandir e reforçar a importância da AIC. Os mecanismos que explicam a relação entre a AIC e o AnF ainda não são totalmente compreendidos, mas podemos especular que em atletas, tal como anteriormente referido, existe uma dependência do glicogénio como substrato energético e possivelmente existirá uma sobrecompensação glicolítica intracelular. Este glicogénio possui um grande poder osmótico, atraindo 3 gramas de água por cada grama de glicogénio para dentro da célula (Chan et al., 1982), contribuindo para uma maior retenção hídrica dentro da célula e assim para o seu fortalecimento. Há muito se postula que um maior volume intracelular é promotor de sinais anabólicos e conseqüente aumento do rendimento celular. Contrariamente uma redução de volume intracelular promove ações catabólicas na própria célula (Haussinger et al., 1993, 1994). Assim, com base nos conhecimentos supramencionados, é consensual considerar que a AIC seja um forte determinante do AnF em atletas.

A ACT foi também considerada um preditor significativo, que explica 12.6% e 9.0% do AnF no sexo feminino e masculino, respetivamente. Hoje em dia existe evidência científica robusta quanto à importância da ACT no rendimento biológico, sendo que apenas uma pequena redução no estado de hidratação pode limitar alguns processos fisiológicos do organismo, nomeadamente ao nível da força, potência e resistência

muscular (Silva et al., 2010; Judelson et al., 2007; Sawka et al., 2007). Apesar da quantidade de ACT ser de extrema importância, focar somente neste parâmetro pode ser redutor. Ribeiro et al., (2018), num estudo realizado em população não atleta, verificaram que apesar da manutenção da ACT, o treino de força contribuiu para uma melhor distribuição dos fluidos ao nível intracelular e conseqüentemente um aumento do AnF. A forma como a ACT se distribui pelos seus compartimentos hídricos ganha uma vez mais destaque. Assim, quando se objetiva estudar sincronicamente com o AnF é de extrema importância uma avaliação dos compartimentos hídricos e distribuição de fluidos através de métodos de referência.

A distribuição de fluidos, isto é, o rácio AEC/AIC já foi anteriormente estudado em população adulta saudável não atleta (Gonzalez et al., 2016), onde foi considerado um preditor do AnF. De forma concordante, esta investigação apresenta uma extensão destes resultados, onde o rácio AEC/AIC relacionou-se de forma inversa com o AnF no género feminino e no género masculino, considerando as co-variáveis mencionadas anteriormente (MIG, idade e categoria de modalidade praticada) e com um poder explicativo de 7.7% e 17.2%. Como referido por Dittmar (2003), uma expansão ao nível da AEC pode levar a um incremento do rácio AEC/AIC, sendo este aumento típico de situações patológicas como a obesidade e que pode ser causa de menores valores de AnF. Esta investigação foi realizada com uma amostra de atletas que revelam quanto menor o rácio AEC/AIC maiores os valores de AnF, sobretudo nos homens este rácio foi mais baixo (0.7 ± 0.2) quando comparado com as mulheres (0.8 ± 0.2), o que pode justificar a diferença nos valores do AnF entre sexos.

Neste estudo a AEC não apresentou qualquer correlação com o AnF, portanto não foi analisada no modelo de regressão múltipla. Estes resultados sugerem que os atletas apresentam mecanismos de regulação hídrica bem definidos ao nível das membranas celulares, preservando uma maior quantidade de AIC.

6.2 REACTÂNCIA CELULAR

Relativamente à Xc celular, Marini et al., (2019) verificaram em ambos os géneros a inexistência de correlação com a distribuição de fluidos (através do rácio AEC/AIC) e verificaram também, para o género feminino, a ausência de correlação entre a Xc e a AIC. Todas as restantes variáveis hídricas (ACT e AEC) foram negativamente correlacionadas com a Xc. No presente estudo, o rácio AEC/AIC foi a única variável que não demonstrou

qualquer correlação com a Xc em ambos os géneros. Quando se ajustou o modelo de regressão múltipla para as co-variáveis MIG, idade e categoria de modalidade praticada, observou-se um dimorfismo sexual. No grupo feminino nenhuma das variáveis permaneceu significativa, enquanto no grupo masculino a ACT e AEC foram consideradas determinantes independentemente das co-variáveis anteriormente referidas. Respetivamente, cada uma destas variáveis explicou individualmente 24.5% e 26.7% dos valores de Xc celular.

Enquanto a R tem sido associada ao estado hídrico (Kyle et al., 2004a) a Xc tem sido associada à estrutura e integridade celular. Recentemente alguns autores verificaram que lesões musculares estão negativamente associadas com o AnF principalmente por meio de uma redução consistente da Xc celular congruente com a alteração da integridade das membranas celulares (Nescolarde et al., 2013, 2017), como tal, não é espectável que os compartimentos hídricos forneçam grande informação da Xc celular.

Contudo, lembrando que a Xc celular contribui para a capacitância da membrana celular, isto é, à capacidade de atrasar a penetração de um estímulo elétrico e partindo do princípio teórico de que uma maior quantidade de AEC prejudicaria essa capacidade através do aumento dos desvios da corrente a uma frequência fixa (Ackmann & Seitz, 1984), a relação negativa entre a Xc e a AEC em ambos os géneros pode ser uma possível justificação biológica para os valores elevados de Xc neste estudo, quando comparados com população clínica (Toso et al., 2000). Estes resultados demonstram, uma vez mais, que os mecanismos bem definidos, ao nível das membranas celulares, é uma característica que diferencia os atletas das restantes populações.

Marini et al., (2019) verificaram em atletas, tanto no sexo masculino como no sexo feminino, uma correlação negativa entre a Xc com a MIG. No presente estudo, de forma concordante, ambos os sexos apresentaram uma correlação negativa da Xc com a MIG ($r = -0.369$; $p = 0.01$ no sexo feminino e $r = -0.477$; $p < 0.01$). Num estudo realizado por Ribeiro et al., (2018), os autores verificaram que a Xc celular aumentou significativamente após um programa de treino de força em mulheres idosas. Os mesmos autores sugerem que, funcionalmente, a Xc celular reflete a proximidade das células e dos tecidos e o seu aumento pode refletir um aumento das células (reduzindo o espaço entre elas) ou redução do próprio conteúdo ao redor das células, produzindo desta forma uma maior capacidade de atrasar a penetração de um estímulo elétrico. Portanto, neste estudo o aumento da Xc manifestou-se provavelmente devido à hipertrofia muscular.

Embora esta presente investigação forneça dados importantes, a Xc celular em atletas não é totalmente compreendida, devem ser realizados mais estudos que permitam expandir o atual conhecimento deste parâmetro, principalmente no sentido de explorar as diferenças encontradas entre homens e mulheres.

6.3 RESISTÊNCIA

Por último, importa realçar que tal como seria de esperar todos os compartimentos hídricos (AIC, AEC, ACT e AEC/AIC) permaneceram significativos na explicação da R após ajuste com as co-variáveis no grupo masculino. Tal como demonstrado anteriormente, a R depende principalmente da hidratação dos tecidos, sendo esta relação inversamente proporcional (Kyle et al., 2004a). No grupo feminino o rácio AEC/AIC não foi analisado dada a inexistência de correlação com a R. A AEC embora tenha mostrado correlação com R, esta não permaneceu significativa no modelo ajustado. Assim, no género feminino apenas a AIC e ACT foram consideradas determinantes dos valores da R. Em teoria uma diminuição da R leva a menores valores do AnF, estes resultados sugerem que nas mulheres os valores da R e consequentemente do AnF podem estar associados à hidratação celular, sendo que a AEC não permaneceu significativa no modelo criado. Sugere-se então que nas mulheres é de extrema importância criar medidas e estratégias para aumentar a hidratação intracelular. De facto, estes resultados estão de acordo com Ribeiro et al., (2017), onde verificaram uma forte influência da R no aumento do AnF em jovens adultos de ambos os géneros. Um programa de treino de força de 16 semanas foi suficiente para aumentar a hidratação intracelular e desta forma diminuir a R corporal com consequente aumento do AnF.

Em suma, em ambos os sexos, os valores de R mais baixos são encontrados nos atletas que apresentam valores mais elevados de ACT. Esta informação reforça e é congruente com os estudos anteriormente realizados face à importância da ACT no rendimento biológico, nomeadamente ao nível da força, potência e resistência muscular. Verificou-se que uma pequena redução neste parâmetro traz repercussões fisiológicas ao organismo (Silva et al., 2010; Judelson et al., 2007; Sawka et al., 2007).

Por fim, alguns estudos levantam a hipótese de uma possível ação da suplementação de creatina em aumentar a hidratação da célula muscular em atletas, durante um programa de treino. A creatina pode atuar criando um fluxo osmótico de água na célula e estimulando a síntese de proteínas (Francaux & Poortmans, 1999; Bembien, Bembien,

Loftiss & Knehans, 2001). Com isto, deduz-se que o aumento da hidratação das células por ação da creatina levará a maiores valores de AnF. Contudo, a influência que a creatina pode apresentar no AnF, R e Xc é ainda desconhecida.

7. LIMITAÇÕES E TRABALHOS FUTUROS

Apesar deste estudo apresentar um contributo valoroso na compressão do papel preditivo dos compartimentos hídricos no AnF e nos restantes parâmetros brutos da BIA em atletas, em função do calendário desportivo, alguns destes atletas passam por períodos competitivos longos. Como tal, no futuro são necessárias investigações longitudinais que possibilitem entender de que forma a alteração dos compartimentos hídricos e da distribuição de fluidos afetam o AnF, a R e Xc ao longo de uma época desportiva.

Neste estudo após verificação da interação entre géneros, estatisticamente era aceitável realizar uma análise com a amostra total mas com base na literatura científica mais recente, sabe-se que existem diferenças consideráveis entre os géneros nas variáveis biológicas em estudo que poderiam afetar os resultados (Marini et al., 2019; Gonzales et al., 2016), como tal, todas as análises estatísticas foram realizadas separadamente para o género masculino e feminino. Embora a amostra total ($n = 289$) seja considerada uma mais valia neste trabalho (principalmente se considerarmos as técnicas hidrométricas de referência), quando feita a separação por sexo, o número de indivíduos do grupo feminino ($n = 80$) pode não ter permitido atingir a significância estatística em determinadas análises, sendo esta uma limitação do presente estudo. Assim, recomenda-se que as futuras investigações devam incluir indivíduos de ambos os géneros em número suficiente, de forma a entender os mecanismos biológicos responsáveis pelo dimorfismo sexual encontrado neste estudo referente à Xc celular. Um maior entendimento da influência dos compartimentos hídricos e/ou da distribuição de fluidos nestes parâmetros biológicos, em ambos os sexos, permitirá aos profissionais de exercício e saúde adequar e direcionar estratégias práticas para promover um maior rendimento e saúde celular.

Recentemente verificou-se nos atletas que o conteúdo de AIC apresenta uma ligação com a melhoria do rendimento, nomeadamente ao nível da força dos membros inferiores, potência e força de preensão dos membros superiores (Silva et al., 2010, 2011, 2014). No presente estudo, uma vez mais, a AIC ganhou destaque ao ser considerada um preditor do AnF, R e Xc. Embora alguns autores tenham vindo a sugerir a importância do treino de força em aumentar o conteúdo intracelular e conseqüentemente o aumento do AnF, é necessário desenvolver mais ferramentas que possam reforçar estes resultados. A suplementação com creatina continua extremamente popular e alguns autores reconhecem o seu papel em aumentar o conteúdo intracelular (Francaux & Poortmans, 1999; Bembien, Bembien, Loftiss & Knehans, 2001), contudo se poderá ter um efeito

direto nos parâmetros brutos da BIA continua uma incógnita. Será necessário produzir estudos que comprovem a sua potencialidade em coadjuvar nos valores do AnF, Xc e R celulares.

8. CONCLUSÃO

Neste estudo conclui-se que independentemente da MIG, idade e categoria de modalidade praticada a AIC, ACT e AEC/AIC são preditores significativos do AnF em ambos os sexos. Sendo que valores mais elevados de AIC predizem valores mais elevados de AnF. Estes resultados são congruentes com investigações que realçam a importância da AIC no rendimento biológico (Silva et al., 2010, 2011, 2014).

Apenas AIC e ACT foram preditores dos valores da R no género feminino. Por sua vez, a AIC, ACT, AEC e AEC/AIC apresentaram um papel preditivo no sexo masculino. Os valores de R mais baixos são observados em atletas que apresentam valores mais elevados de ACT e dos seus compartimentos intra e extracelulares.

Observou-se um dimorfismo sexual na Xc celular, já que os valores mais baixos de Xc celular dependem de maiores valores de ACT e AEC nos homens e não nas mulheres.

Em suma, o AnF tem sido apontado como um indicador de saúde, rendimento biológico e permite avaliar e monitorizar lesões musculares. Este é uma resultante sensível à alteração da Xc celular e à alteração da R. Neste estudo verificou-se de que forma os compartimentos hídricos bem como a forma como a água está distribuída no nosso organismo influenciam estes parâmetros em atletas. Assim, conhecer o impacto das diferentes variáveis hídricas nos parâmetros brutos da BIA contribui para uma utilização mais adequada deste equipamento. A utilização dos parâmetros brutos da BIA promove uma monitorização prática e acessível às equipas multidisciplinares no acompanhamento dos atletas no decorrer das épocas desportivas de forma a manterem um ótimo nível de saúde e de rendimento biológico. Para além do efeito do treino regular, devem ser criadas ferramentas práticas que permitam manipular as variáveis hídricas de forma a otimizar o rendimento dos atletas nas suas rotinas de treinos e de recuperação. Para uma melhor compreensão destes resultados, mais estudos devem ser realizados através das técnicas de referência para a avaliação dos compartimentos hídricos, principalmente à luz do elevado desgaste físico consequente de um grande volume de treinos e competições ao longo de uma época desportiva.

9. BIBLIOGRAFIA

- Ackmann, J. J., & Seitz, M. A. (1984). Methods of complex impedance measurements in biologic tissue. *Critical reviews in biomedical engineering*, 11(4), 281-311.
- Alway, S. E., MacDougall, J. D., Sale, D. G., Sutton, J. R., & McComas, A. J. (1988). Functional and structural adaptations in skeletal muscle of trained athletes. *Journal of Applied Physiology*, 64(3), 1114-1120.
- Baker, L. B., & Jeukendrup, A. E. (2014). Optimal composition of fluid-replacement beverages. *Comprehensive Physiology*, 4(2), 575-620.
- Barbosa-Silva, M., Barros, A., Wang, J., Heymsfield, S., & Pierson, R. (2005). Bioelectrical impedance analysis: population reference values for phase angle by age and sex. *American Journal of Clinical Nutrition*, 82, 49-52.
- Bartok, C., & Schoeller, D. A. (2004). Estimation of segmental muscle volume by bioelectrical impedance spectroscopy. *Journal of applied physiology*, 96(1), 161-166.
- Baumgartner, R. N., Chumlea, W. C., & Roche, A. F. (1988). Bioelectric impedance phase angle and body composition. *The American journal of clinical nutrition*, 48(1), 16-23.
- Battistini, N., Virgili, F., & Bedogni, G. (1994). Relative expansion of extracellular water in elite male athletes compared to recreational sportsmen. *Annals of Human Biology*, 21(6), 609-612.
- Beberashvili, I., Azar, A., Sinuani, I., Shapiro, G., Feldman, L., Stav, K., ... & Averbukh, Z. (2014). Bioimpedance phase angle predicts muscle function, quality of life and clinical outcome in maintenance hemodialysis patients. *European journal of clinical nutrition*, 68(6), 683.
- Bemben, M. G., Bemben, D. A., Loftiss, D. D., & Knehans, A. W. (2001). Creatine supplementation during resistance training in college football athletes. *Medicine and science in sports and exercise*, 33(10), 1667-1673.
- Bosy-Westphal, A., Danielzik, S., Dörhöfer, R. P., Later, W., Wiese, S., & Müller, M. J. (2006). Phase angle from bioelectrical impedance analysis: population reference values by age, sex, and body mass index. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 30(4), 309-316.
- Brodie, D. A. (1988). Techniques of measurement of body composition Part I. *Sports medicine*, 5(1), 11-40.

- Buffa, R., Floris, G., & Marini, E. (2003). Migration of the bioelectrical impedance vector in healthy elderly subjects. *Nutrition*, *19*(11-12), 917-921.
- Brzank, K. D., & Pieper, K. S. (1986). Characteristics of muscle-cellular adaptation to intense physical loads. *Biomedica biochimica acta*, *45*(1-2), S107-10.
- Campa, F., Silva, A. M., & Toselli, S. (2018). Changes in phase angle and handgrip strength induced by suspension training in older women. *International journal of sports medicine*, *39*(06), 442-449.
- Casa, D. J., Clarkson, P. M., & Roberts, W. O. (2005). American College of Sports Medicine roundtable on hydration and physical activity: consensus statements. *Current sports medicine reports*, *4*(3), 115-127.
- Castizo-Olier, J., Iruiria, A., Jemni, M., Carrasco-Marginet, M., Fernández-García, R., & Rodríguez, F. A. (2018). Bioelectrical impedance vector analysis (BIVA) in sport and exercise: Systematic review and future perspectives. *PloS one*, *13*(6), e0197957.
- Chan, S. T., Johnson, A. W., Moore, M. H., Kapadia, C. R., & Dudley, H. A. (1982). Early weight gain and glycogen-obligated water during nutritional rehabilitation. *Human nutrition. Clinical nutrition*, *36*(3), 223-232.
- Chumlea, W. C., Baumgartner, R. N., & Roche, A. F. (1988). Specific resistivity used to estimate fat-free mass from segmental body measures of bioelectric impedance. *The American journal of clinical nutrition*, *48*(1), 7-15.
- Chumlea, W.C., Sun, S. (2005) Bioelectrical Impedance Analysis. In Heymsfield SB, Lohman TG, Wang Z and Going SB (Eds) *Human Body Composition (pp.79-87)*, Human Kinetics: Champaign, IL.
- Das, S. K., Roberts, S. B., Kehayias, J. J., Wang, J., Hsu, L. G., Shikora, S. A., ... & McCrory, M. A. (2003). Body composition assessment in extreme obesity and after massive weight loss induced by gastric bypass surgery. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, *284*(6), E1080-E1088.
- De Lorenzo, A., Andreoli, A., Matthie, J., & Withers, P. (1997). Predicting body cell mass with bioimpedance by using theoretical methods: a technological review. *Journal of Applied Physiology*, *82*(5), 1542-1558.
- Diouf, A., Diongue, O., Nde, M., Idohou-Dossou, N., Thiam, M., & Wade, S. (2018). Validity of bioelectrical impedance analysis in predicting total body water and adiposity among Senegalese school-aged children. *PloS one*, *13*(10), e0204486.
- Dittmar, M. (2003). Reliability and variability of bioimpedance measures in normal adults: effects of age, gender, and body mass. *American Journal of Physical*

Anthropology: The Official Publication of the American Association of Physical Anthropologists, 122(4), 361-370.

- Du, Z., Wan, H., Chen, Y., Pu, Y., & Wang, X. (2017). Bioimpedance spectroscopy can precisely discriminate human breast carcinoma from benign tumors. *Medicine*, 96(4).
- Earthman, C., Traugher, D., Dobratz, J., & Howell, W. (2007). Bioimpedance spectroscopy for clinical assessment of fluid distribution and body cell mass. *Nutrition in Clinical Practice*, 22(4), 389-405.
- Elia, M., & Ward, L. C. (1999). New techniques in nutritional assessment: Body composition methods. *Proceedings of the Nutrition Society*, 58(01), 33–38.
- Ellis, K. J., Bell, S. J., Chertow, G. M., Chumlea, W. C., Knox, T. A., Kotler, D. P., ... & Schoeller, D. A. (1999). Bioelectrical impedance methods in clinical research: a follow-up to the NIH Technology Assessment Conference. *Nutrition*, 15(11-12), 874-880.
- Ellis, K. J. (2000). Human body composition: in vivo methods. *Physiological reviews*, 80(2), 649-680.
- Evans, G. H., James, L. J., Shirreffs, S. M., & Maughan, R. J. (2017). Optimizing the restoration and maintenance of fluid balance after exercise-induced dehydration. *Journal of Applied Physiology*, 122(4), 945-951.
- Finch, P. (2017). Intra-abdominal fat: Comparison of computed tomography fat segmentation and bioimpedance spectroscopy. *Malawi Medical Journal*, 29(2), 155-159.
- Forbes, G. B., Reid, A. F., Bondurant, J., & Etheridge, J. (1956). Changes in total body chloride during growth. *Pediatrics*, 17, 334-340.
- Foucart, L., De Decker, A., Sioen, I., De Henauw, S., & Michels, N. (2017). Hand-to-foot bioelectrical impedance analysis to measure fat mass in healthy children: A comparison with air-displacement plethysmography. *Nutrition & Dietetics*, 74(5), 516–520. doi:10.1111/1747-0080.12345
- Francaux, M., & Poortmans, J. R. (1999). Effects of training and creatine supplement on muscle strength and body mass. *European journal of applied physiology and occupational physiology*, 80(2), 165-168.
- Frigeri, A., Nicchia, G. P., Verbavatz, J. M., Valenti, G., & Svelto, M. (1998). Expression of aquaporin-4 in fast-twitch fibers of mammalian skeletal muscle. *The Journal of clinical investigation*, 102(4), 695-703.
- Fukuda, D. H., Stout, J. R., Moon, J. R., Smith-Ryan, A. E., Kendall, K. L., & Hoffman, J. R. (2016). Effects of resistance training on classic and specific bioelectrical impedance vector analysis in elderly women. *Experimental gerontology*, 74, 9-12.

- Garlini, L. M., Alves, F. D., Ceretta, L. B., Perry, I. S., Souza, G. C., & Clausell, N. O. (2018). Phase angle and mortality: a systematic review. *European journal of clinical nutrition*.
- Gatterer, H., Schenk, K., Laninschegg, L., Schlemmer, P., Lukaski, H., & Burtscher, M. (2014). Bioimpedance identifies body fluid loss after exercise in the heat: a pilot study with body cooling. *PloS one*, *9*(10), e109729.
- Gonçalves, E. M., Matias, C. N., Santos, D. A., Sardinha, L. B., & Silva, A. M. (2014). Assessment of total body water and its compartments in elite judo athletes: comparison of bioelectrical impedance spectroscopy with dilution techniques. *Journal of Sports Sciences*, *33*(6), 634–640. doi:10.1080/02640414.2014.953981
- Gonzalez, M. C., Pastore, C. A., Orlandi, S. P., & Heymsfield, S. B. (2014). Obesity paradox in cancer: new insights provided by body composition—. *The American journal of clinical nutrition*, *99*(5), 999-1005.
- Gonzalez, M., Barbosa-Silva, T., Bielemann, R., Gallagher, D., & Heymsfield, S. (2016). Phase angle and its determinants in healthy subjects: influence of body composition. *The American journal of clinical nutrition*, *103*(3), 712-716.
- Goodhead, L. K., & MacMillan, F. M. (2017). Measuring osmosis and hemolysis of red blood cells. *Advances in physiology education*, *41*(2), 298-305.
- Guyton, A., & Hall, J. (2006). *Tratado de fisiologia médica. 11ª edição*. Rio de Janeiro, RJ: Elsevier Editora.
- Hanai, T. (1968). Electrical properties of emulsions. *Emulsion science*.
- Hannan, W. J., Cowen, S. J., Fearon, K. C. H., Plester, C. E., Falconer, J. S., & Richardson, R. A. (1994). Evaluation of multi-frequency bio-impedance analysis for the assessment of extracellular and total body water in surgical patients. *Clinical science*, *86*(4), 479-485.
- Hannan, W. J., Cowen, S. J., Plester, C. E., Fearon, K. C. H., & DeBeau, A. (1995). Comparison of bio-impedance spectroscopy and multi-frequency bio-impedance analysis for the assessment of extracellular and total body water in surgical patients. *Clinical Science*, *89*(6), 651-658.
- Häussinger, D., Lang, F., & Gerok, W. (1994). Regulation of cell function by the cellular hydration state. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, *267*(3), E343-E355.
- Häussinger, D., Gerok, W., Roth, E., & Lang, F. (1993). Cellular hydration state: an important determinant of protein catabolism in health and disease. *The Lancet*, *341*(8856), 1330-1332.

- Heymsfield, S., Lohman, T., Wang, Z., & Going, S. (2005). *Human body composition* (Vol. 918). Human kinetics.
- Hubbard, R. W., Ianuzzo, C. D., Mathew, W. T., & Linduska, J. D. (1975). Compensatory adaptations of skeletal muscle composition to a long-term functional overload. *Growth*, 39(1), 85-93.
- Judelson, D. A., Maresh, C. M., Anderson, J. M., Armstrong, L. E., Casa, D. J., Kraemer, W. J., & Volek, J. S. (2007). Hydration and muscular performance. *Sports medicine*, 37(10), 907-921.
- King, R. F., Jones, B., & O'Hara, J. P. (2018). The availability of water associated with glycogen during dehydration: a reservoir or raindrop?. *European journal of applied physiology*, 118(2), 283-290.
- Koury, J. C., de Oliveira-Junior, A. V., Portugal, M. R. C., de Oliveira, K. D. J. F., & Donangelo, C. M. (2018). Bioimpedance parameters in adolescent athletes in relation to bone maturity and biochemical zinc indices. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 46, 26-31.
- Koury, J., Trugo, N., & Torres, A. (2014). Phase Angle and Bioelectrical Impedance Vectors in Adolescent and Adult Male Athletes. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, 9(5), 798–804. doi:10.1123/ijsp.2013-0397
- Kuchnia, A. J., Teigen, L. M., Cole, A. J., Mulasi, U., Gonzalez, M. C., Heymsfield, S. B., ... & Earthman, C. P. (2017). Phase angle and impedance ratio: Reference cut-points from the United States National Health and Nutrition Examination Survey 1999–2004 from bioimpedance spectroscopy data. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 41(8), 1310-1315.
- Kushner, R. F. (1992). Bioelectrical impedance analysis: a review of principles and applications. *J Am Coll Nutr*, 11(2), 199-209.
- Kyle, U., Bosaeus, I., De Lorenzo, A. D., Deurenberg, P., Elia, M., Gómez, J. M., ... & Scharfetter, H. (2004a). Bioelectrical impedance analysis—part I: review of principles and methods. *Clinical nutrition*, 23(5), 1226-1243
- Kyle, U., Bosaeus, I., De Lorenzo, A. D., Deurenberg, P., Elia, M., Gómez, J. M., ... & Scharfetter, H. (2004b). Bioelectrical impedance analysis—part II: utilization in clinical practice. *Clinical nutrition*, 23(6), 1430-1453.
- Lee, S. Y., Lee, Y. J., Yang, J. H., Kim, C. M., & Choi, W. S. (2014). The association between Phase angle of bioelectrical impedance analysis and survival time in advanced cancer patients: preliminary study. *Korean journal of family medicine*, 35(5), 251-256.
- Lohman TG, Roche AF, Martorell R. (1988). *Anthropometric standardization reference manual*. 1st ed, Champaign, IL: Human Kinetics Publishers.

- Lukaski, H. C. (1987). Methods for the assessment of human body composition: traditional and new. *The American journal of clinical nutrition*, 46(4), 537-556.
- Lukaski, H. C. (2013). Evolution of bioimpedance: a circuitous journey from estimation of physiological function to assessment of body composition and a return to clinical research. *European journal of clinical nutrition*, 67(S1), S2.
- Lukaski, H. C., Johnson, P. E., Bolonchuk, W. W., & Lykken, G. I. (1985). Assessment of fat-free mass using bioelectrical impedance measurements of the human body. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 41(4), 810–817.
doi:10.1093/ajcn/41.4.810
- Lukaski, H., Kyle, U., & Kondrup, J. (2017). Assessment of adult malnutrition and prognosis with bioelectrical impedance analysis: Phase angle and impedance ratio. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*, 20(5), 330-339.
- Maggiore, Q., Nigrelli, S., Ciccarelli, C., Grimaldi, C., Rossi, G. A., & Michelassi, C. (1996). Nutritional and prognostic correlates of bioimpedance indexes in hemodialysis patients. *Kidney international*, 50(6), 2103-2108.
- Marini, E., Campa, F., Buffa, R., Stagi, S., Matias, C. N., Toselli, S., ... & Silva, A. M. (2019). Phase angle and bioelectrical impedance vector analysis in the evaluation of body composition in athletes. *Clinical Nutrition*.
- Martins, P. C., Hansen, F., Silva, A. M., & Silva, D. A. S. (2018). Fluid distribution and cell integrity indicators evaluated by bioelectrical impedance in university athletes: comparison between team sports and individual sports. *Physiological measurement*.
- Matias, C. N., Júdice, P. B., Santos, D. A., Magalhaes, J. P., Minderico, C. S., Fields, D. A., ... & Silva, A. M. (2016). Suitability of bioelectrical based methods to assess water compartments in recreational and elite athletes. *Journal of the American College of Nutrition*, 35(5), 413-421.
- Matias, C. N., Monteiro, C. P., Santos, D. A., Martins, F., Silva, A. M., Laires, M. J., & Sardinha, L. B. (2015). Magnesium and phase angle: a prognostic tool for monitoring cellular integrity in judo athletes. *Magnes Res*, 28(3), 92-98.
- Matias, C. N., Noujeimi, F. A., Sardinha, L. B., Teixeira, V. H., & Silva, A. M. (2018). Total body water and water compartments assessment in athletes: Validity of multi-frequency bioelectrical impedance. *Science & Sports*.
- Matias, C. N., Santos, D. A., Gonçalves, E. M., Fields, D. A., Sardinha, L. B., & Silva, A. M. (2013). Is bioelectrical impedance spectroscopy accurate in estimating total body water and its compartments in elite athletes? *Annals of Human Biology*, 40(2), 152–156. doi:10.3109/03014460.2012.750684
- Matias, C., Santos, D., Júdice, P., Magalhães, J., Minderico, C., Fields, D., ... & Silva, A. (2016). Estimation of total body water and extracellular water with

- bioimpedance in athletes: A need for athlete-specific prediction models. *Clinical Nutrition*, 35(2), 468-474.
- Matias, C., Silva, A., Santos, D., Gobbo, L., Schoeller, D., & Sardinha, L. (2012). Validity of extracellular water assessment with saliva samples using plasma as the reference biological fluid. *Biomedical Chromatography*, 26(11), 1348-1352
- Meleleo, D., Bartolomeo, N., Cassano, L., Nitti, A., Susca, G., Mastrototaro, G., ... Ciccone, M. M. (2017). *Evaluation of body composition with bioimpedance. A comparison between athletic and non-athletic children. European Journal of Sport Science*, 17(6), 710–719. doi:10.1080/17461391.2017.1291750
- Mialich, M. S., Sicchieri, J. F., & Junior, A. A. J. (2014). Analysis of body composition: a critical review of the use of bioelectrical impedance analysis. *Int J Clin Nutr*, 2(1), 1-10.
- Michalczyk, M., Czuba, M., Zydek, G., Zając, A., & Langfort, J. (2016). Dietary recommendations for cyclists during altitude training. *Nutrients*, 8(6), 377.
- Miura, T., Matsumoto, Y., Kawaguchi, T., Masuda, Y., Okizaki, A., Koga, H., ... & Morita, T. (2019). Low Phase Angle Is Correlated With Worse General Condition in Patients with Advanced Cancer. *Nutrition and cancer*.
- Moon, J. R. (2013). Body composition in athletes and sports nutrition: an examination of the bioimpedance analysis technique. *European journal of clinical nutrition*, 67(S1), S54.
- Moon, J. R., Smith, A. E., Tobkin, S. E., Lockwood, C. M., Kendall, K. L., Graef, J. L., ... & Beck, T. W. (2009). Total body water changes after an exercise intervention tracked using bioimpedance spectroscopy: a deuterium oxide comparison. *Clinical Nutrition*, 28(5), 516-525.
- Mulasi, U., Kuchnia, A. J., Cole, A. J., & Earthman, C. P. (2015). *Bioimpedance at the Bedside. Nutrition in Clinical Practice*, 30(2), 180–193. doi:10.1177/0884533614568155
- Nana, A., Slater, G. J., Stewart, A. D., & Burke, L. M. (2015). Methodology Review: Using Dual-Energy X-Ray Absorptiometry (DXA) for the Assessment of Body Composition in Athletes and Active People. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 25(2), 198–215. doi:10.1123/ijsnem.2013-0228
- National Institutes of Health. (1994). Bioelectrical impedance analysis in body composition measurement: National Institutes of Health Technology Assessment Conference statement, December 12-14, 1994. *NIH Office of Medical Applications of Research*.

- Nescolarde, L., Yanguas, J., Lukaski, H., Alomar, X., Rosell-Ferrer, J., & Rodas, G. (2013). Localized bioimpedance to assess muscle injury. *Physiological measurement*, 34(2), 237.
- Nescolarde, L., Yanguas, J., Terricabras, J., Lukaski, H., Alomar, X., Rosell-Ferrer, J., & Rodas, G. (2017). Detection of muscle gap by L-BIA in muscle injuries: clinical prognosis. *Physiological measurement*, 38(7), L1.
- Norman, K., Stobäus, N., Zocher, D., Bosy-Westphal, A., Szramek, A., Scheufele, R., ... & Pirlich, M. (2010). Cutoff percentiles of bioelectrical phase angle predict functionality, quality of life, and mortality in patients with cancer. *The American journal of clinical nutrition*, 92(3), 612-619.
- Norman, K., Stobäus, N., Pirlich, M., & Bosy-West AFl, A. (2012). Bioelectrical Phase angle and impedance vector analysis – Clinical relevance and applicability of impedance parameters. *Clinical Nutrition*, 31(6), 854–861. doi:10.1016/j.clnu.2012.05.008
- Nunes, J. P., Ribeiro, A. S., Silva, A. M., Schoenfeld, B. J., dos Santos, L., Cunha, P. M., ... & Cyrino, L. T. (2018). Improvements in Phase Angle are Related With Muscle Quality Index After Resistance Training in Older Women. *Journal of aging and physical activity*, 1-19.
- Park, S., Lee, C. J., Jhee, J. H., Yun, H. R., Kim, H., Jung, S. Y., ... & Han, S. H. (2018). Extracellular Fluid Excess Is Significantly Associated With Coronary Artery Calcification in Patients With Chronic Kidney Disease. *Journal of the American Heart Association*, 7(13), e008935.
- Patel, R. V., Matthie, J. R., Withers, P. O., Peterson, E. L., & Zarowitz, B. J. (1994). Estimation of total body and extracellular water using single-and multiple-frequency bioimpedance.
- Piccoli, A., & Pastori, G. (2002). BIVA Software 2002. *Department of Medical and Surgical Sciences. University of Padova, Italy.*
- Prosser, S. J., & Scrimgeour, C. M. (1995). High-Precision Determination of 2H/1H in H2 and H2O by Continuous-Flow Isotope Ratio Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 67(13), 1992–1997
- Quiterio, A. L., Silva, A. M., Minderico, C. S., Carnero, E. A., Fields, D. A., & Sardinha, L. B. (2009). Total Body Water Measurements in Adolescent Athletes: A Comparison of Six Field Methods With Deuterium Dilution. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 23(4), 1225–1237.
- Rathbun, E. N., Pace, N., Hinshaw, E., & Buntin, H. (1945). Studies on body composition. 1. The determination of total body fat by means of the body specific gravity. *Journal of Biological Chemistry*, 158, 667-676.

- Ribeiro, A. S., Avelar, A., dos Santos, L., Silva, A. M., Gobbo, L. A., Schoenfeld, B. J., ... & Cyrino, E. S. (2017). Hypertrophy-type resistance training improves phase angle in young adult men and women. *International journal of sports medicine*, 38(01), 35-40.
- Ribeiro, A. S., Avelar, A., Schoenfeld, B. J., Ritti Dias, R. M., Altimari, L. R., & Cyrino, E. S. (2014). Resistance training promotes increase in intracellular hydration in men and women. *European journal of sport science*, 14(6), 578-585.
- Ribeiro, A. S., Nascimento, M. A., Schoenfeld, B. J., Nunes, J. P., Aguiar, A. F., Cavalcante, E. F., ... & Cyrino, E. S. (2017). Effects of Single Set Resistance Training With Different Frequencies on a Cellular Health Indicator in Older Women. *Journal of aging and physical activity*, 1-23.
- Roumelioti, M. E., Glew, R. H., Khitan, Z. J., Rondon-Berrios, H., Argyropoulos, C. P., Malhotra, D., ... & Shapiro, J. I. (2018). Fluid balance concepts in medicine: Principles and practice. *World journal of nephrology*, 7(1), 1.
- Sale, D. G., MacDougall, J. D., Alway, S. E., & Sutton, J. R. (1987). Voluntary strength and muscle characteristics in untrained men and women and male bodybuilders. *Journal of Applied Physiology*, 62(5), 1786-1793.
- Santos, D. A., Dawson, J. A., Matias, C. N., Rocha, P. M., Minderico, C. S., Allison, D. B., ... & Silva, A. M. (2014). Reference values for body composition and anthropometric measurements in athletes. *PloS one*, 9(5), e97846.
- Sardinha, L. (2018). Physiology of exercise and phase angle: another look at BIA. *European journal of clinical nutrition*, 72(9), 1323.
- Sawka, M. N., Burke, L. M., Eichner, E. R., Maughan, R. J., Montain, S. J., & Stachenfeld, N. S. (2007). American College of Sports Medicine position stand. Exercise and fluid replacement. *Medicine and science in sports and exercise*, 39(2), 377-390.
- Schoeller D.A. (2005) Hydrometry. In Heymsfield SB, Lohman TG, Wang Z and Going SB (eds), *Human Body Composition* (pp. 35-49) Human Kinetics: Champaign, IL.
- Schoeller, D. A., & van Santen, E. (1982). Measurement of energy expenditure in humans by doubly labeled water method. *Journal of Applied Physiology*, 53(4), 955–959. doi:10.1152/jappl.1982.53.4.955
- Schwenk, A., Beisenherz, A., Römer, K., Kremer, G., Salzberger, B., & Elia, M. (2000). Phase angle from bioelectrical impedance analysis remains an independent predictive marker in HIV-infected patients in the era of highly active antiretroviral treatment. *The American journal of clinical nutrition*, 72(2), 496-501.

- Schwenk, A., Ward, L. C., Elia, M., & Scott, G. M. (1998). Bioelectrical impedance analysis predicts outcome in patients with suspected bacteremia. *Infection*, *26*(5), 277–282. doi:10.1007/bf02962247
- Selberg, O., & Selberg, D. (2002). Norms and correlates of bioimpedance phase angle in healthy human subjects, hospitalized patients, and patients with liver cirrhosis. *European Journal of Applied Physiology*, *86*(6), 509–516. doi:10.1007/s00421-001-0570-4
- Silva, A. M., Fields, D. A., Heymsfield, S. B., & Sardinha, L. B. (2011). Relationship between changes in total-body water and fluid distribution with maximal forearm strength in elite judo athletes. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, *25*(9), 2488-2495.
- Silva, A. M., Fields, D. A., Heymsfield, S. B., & Sardinha, L. B. (2010). Body Composition and Power Changes in Elite Judo Athletes. *International Journal of Sports Medicine*, *31*(10), 737–741. doi:10.1055/s-0030-1255115
- Silva, A. M., Heymsfield, S. B., Gallagher, D., Albu, J., Pi-Sunyer, X. F., Pierson Jr, R. N., ... & Wang, Z. (2008). Evaluation of between-methods agreement of extracellular water measurements in adults and children-. *The American journal of clinical nutrition*, *88*(2), 315-323.
- Silva, A. M., Júdice, P. B., Matias, C. N., Santos, D. A., Magalhães, J. P., St-Onge, M. P., ... & Sardinha, L. B. (2013). Total body water and its compartments are not affected by ingesting a moderate dose of caffeine in healthy young adult males. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, *38*(6), 626-632.
- Silva, A. M., Santos, D. A., Matias, C. N., Minderico, C. S., Schoeller, D. A., & Sardinha, L. B. (2013). Total energy expenditure assessment in elite junior basketball players: a validation study using doubly labeled water. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, *27*(7), 1920-1927.
- Silva, A. M., Matias, C. N., Nunes, C. L., Santos, D. A., Marini, E., Lukaski, H. C., & Sardinha, L. B. (2018). Lack of agreement of in vivo raw bioimpedance measurements obtained from two single and multi-frequency bioelectrical impedance devices. *European Journal of Clinical Nutrition*, *1*.
- Silva, A. M., Matias, C. N., Santos, D. A., Rocha, P. M., Minderico, C. S., & Sardinha, L. B. (2014). Increases in intracellular water explain strength and power improvements over a season. *International journal of sports medicine*, *35*(13), 1101-1105.
- Silva, A. M., Wang, J., Pierson Jr, R. N., Wang, Z., Heymsfield, S. B., Sardinha, L. B., & Heshka, S. (2005). Extracellular water: greater expansion with age in African Americans. *Journal of applied physiology*, *99*(1), 261-267.

- Silva, A. M., Wang, J., Pierson Jr, R. N., Wang, Z., Spivack, J., Allison, D. B., ... & Heshka, S. (2007). Extracellular water across the adult lifespan: reference values for adults. *Physiological measurement*, 28(5), 489.
- Silva, A. M., Minderico, C. S., Teixeira, P. J., Pietrobelli, A., & Sardinha, L. B. (2006). Body fat measurement in adolescent athletes: multicompartiment molecular model comparison. *European journal of clinical nutrition*, 60(8), 955.
- Sonksen, P. (2016). Determination and regulation of body composition in elite athletes. *British Journal of Sports Medicine*, 52(4), 219–229. doi:10.1136/bjsports-2016-096742
- Steinbacher, P., & Eckl, P. (2015). Impact of oxidative stress on exercising skeletal muscle. *Biomolecules*, 5(2), 356-377.
- Stobäus, N., Pirlich, M., Valentini, L., Schulzke, J. D., & Norman, K. (2012). Determinants of bioelectrical phase angle in disease. *British Journal of Nutrition*, 107(8), 1217-1220.
- Tanner, J. M. (1962). The development of the reproductive system. *Growth at adolescence*, 28-39.
- Thomas, B. J., Ward, L. C., & Cornish, B. H. (1998). Bioimpedance spectrometry in the determination of body water compartments: accuracy and clinical significance. *Applied radiation and isotopes*, 49(5-6), 447-455.
- Toso, S., Piccoli, A., Gusella, M., Menon, D., Bononi, A., Crepaldi, G., & Ferrazzi, E. (2000). Altered tissue electric properties in lung cancer patients as detected by bioelectric impedance vector analysis. *Nutrition*, 16(2), 120-124.
- Vaisman, N., Pencharz, P. B., Koren, G., & Johnson, J. K. (1987). Comparison of oral and intravenous administration of sodium bromide for extracellular water measurements. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 46(1), 1–4. doi:10.1093/ajcn/46.1.1
- Valencia, M. E., Alemán-Mateo, H., Salazar, G., & Hernández Triana, M. (2003). Body composition by hydrometry (deuterium oxide dilution) and bioelectrical impedance in subjects aged >60 y from rural regions of Cuba, Chile and Mexico. *International Journal of Obesity*, 27(7), 848–855. doi:10.1038/sj.ijo.0802315
- Van Lettow, M., Kumwenda, J. J., Harries, A. D., Whalen, C. C., Taha, T. E., Kumwenda, N., ... & Semba, R. D. (2004). Malnutrition and the severity of lung disease in adults with pulmonary tuberculosis in Malawi. *The international journal of tuberculosis and lung disease*, 8(2), 211-217.
- Van Loan, M. D., Withers, P., Matthie, J., & Mayclin, P. L. (1993). Use of bioimpedance spectroscopy to determine extracellular fluid, intracellular fluid, total body water, and fat-free mass. In *Human body composition* (pp. 67-70). Springer, Boston, MA.

- van Marken Lichtenbelt, W. D., Westerterp, K. R., Wouters, L., & Luijendijk, S. C. (1994). Validation of bioelectrical-impedance measurements as a method to estimate body-water compartments. *The American journal of clinical nutrition*, 60(2), 159-166.
- Wagner, D. R., & Heyward, V. H. (1999). Techniques of body composition assessment: a review of laboratory and field methods. *Research quarterly for exercise and sport*, 70(2), 135-149.
- Wang, Z., Deurenberg, P., Wang, W., Pietrobelli, A., Baumgartner, R. N., & Heymsfield, S. B. (1999). Hydration of fat-free body mass: new physiological modeling approach. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, 276(6), E995-E1003.
- Wang, N., Hikida, R. S., Staron, R. S., & Simoneau, J. A. (1993). Muscle fiber types of women after resistance training—quantitative ultrastructure and enzyme activity. *Pflügers Archiv*, 424(5-6), 494-502.
- Ward, L. C. (2012). Segmental bioelectrical impedance analysis: an update. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 15(5), 424-429.
- Ward, L. (2018). Bioelectrical impedance analysis for body composition assessment: reflections on accuracy, clinical utility, and standardisation. *European journal of clinical nutrition*, 1.
- Wiggins, P. M., van Ryn, R. T., & Ormrod, D. G. (1991). Donnan membrane equilibrium is not directly applicable to distributions of ions and water in gels or cells. *Biophysical journal*, 60(1), 8-14.
- World Health Organization. (2001). *Food and nutrition technical report series: human energy requirements*. WHO. Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation, Rome.
- XITRON, H. E. (2007). ICF (Model 4200), Bio-impedance spectrum analyzer, For measuring intracellular and extracellular fluid volumes. *Operating manual*. XITRON Technologies Inc.
- Yamada, Y., Nishizawa, M., Uchiyama, T., Kasahara, Y., Shindo, M., Miyachi, M., & Tanaka, S. (2017). Developing and validating an age-independent equation using multi-frequency bioelectrical impedance analysis for estimation of appendicular skeletal muscle mass and establishing a cutoff for sarcopenia. *International journal of environmental research and public health*, 14(7), 809.
- Yamada, Y., Yoshida, T., Yokoyama, K., Watanabe, Y., Miyake, M., Yamagata, E., ... & Kyoto-Kameoka Study. (2016). The extracellular to intracellular water ratio in upper legs is negatively associated with skeletal muscle strength and gait speed in older people. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*, 72(3), 293-298.

Zamberlan, P., Feferbaum, R., Doria Filho, U., Brunow de Carvalho, W., & Figueiredo Delgado, A. (2018). Bioelectrical Impedance Phase Angle and Morbidity and Mortality in Critically Ill Children. *Nutrition in Clinical Practice*.