ALEXANDRE JUN ZERBINI UEDA

**Determinação dos níveis de testosterona e cortisol na saliva de atletas de
alto rendimento**

Versão Original

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia (Biomateriais e Biologia Oral) para obter o título de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Neves Nogueira

São Paulo

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo-na-Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Ueda, Alexandre Jun Zerbini.

Determinação dos níveis de testosterona e cortisol na saliva de atletas de alto rendimento / Alexandre Jun Zerbini Ueda ; orientador Fernando Neves Nogueira. -- São Paulo, 2016.

52 p. : fig.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) -- Programa de Pós-Graduação em Odontologia (Biomateriais e Biologia Oral). Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

Versão original

1. Odontologia desportiva. 2. Esportes. 3. Saliva. 4. Biomarcadores. 5. Testosterona. 6. Cortisol. I. Nogueira, Fernando Neves. II. Título.

Ueda AJZ. Determinação dos níveis de testosterona e cortisol na saliva de atletas de alto rendimento. Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia (Biomateriais e Biologia Oral) para obter o título de Mestre em Ciências.

Aprovado em: / /2017

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr.(a) _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Dedico aos atletas do Brasil que por sua dedicação e esforço permite que meu trabalho, e de muitos outros pesquisadores, fosse realizado.

AGRADECIMENTOS

Deus

Patrícia

Victória e Eloá

Bernadete e Dante

Renata

Hilton

Fernando

Carol

Flávia

Douglas

Valeu a pena? **Tudo vale a pena**

Se a alma não é pequena.

Quem quer passar além do Bojador

Tem que passar além da dor.

Deus ao mar o perigo e o abismo deu,

Mas nele é que espelhou o céu.

Fernando Pessoa

RESUMO

Ueda AJZ. Determinação dos níveis de testosterona e cortisol na saliva de atletas de alto rendimento [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2016. Versão Original

A atividade esportiva nos últimos anos vem se mostrando uma ferramenta de saúde pública muito importante, o desenvolvimento do esporte em todos os setores que a ele se dedicam tem como base o acompanhamento evolutivo em seu aumento de rendimento e prevenção de lesões físicas ou psicológicas. O treinamento desportivo consiste em repetições programadas e sistematizadas com objetivo de gerar um processo adaptativo contínuo relacionado diretamente a sínteses de proteínas. O treinamento desportivo consiste em repetições programadas e sistematizadas com objetivo de gerar um processo adaptativo contínuo relacionado diretamente a sínteses de proteínas. O atleta, por exigir mais do seu físico em relação às demais pessoas, necessita estar sempre atento à sua saúde, e a saúde bucal não pode ficar fora deste contexto. Constatou-se que o rendimento de um atleta pode ser reduzido se ele tiver algum distúrbio na sua saúde bucal. Deste modo, visando uma melhoria no desempenho do atleta, faz-se necessário um exame odontológico minucioso, a fim de promover o tratamento de eventuais doenças ou mesmo atuar de forma preventiva. Além do sangue, a saliva é apontada como uma fonte potencial de biomarcadores do exercício físico. O exercício físico induz alterações bioquímicas nos sistemas corporais que modificam a composição de alguns componentes salivares. A análise destes componentes é utilizada como indicadora da reposta fisiológica dos vários sistemas aos exercícios físicos. Os hormônios são produzidos pelo organismo em reposta às necessidades fisiológicas basais e a alguns estímulos externos. Na fisiologia do exercício, estudos sobre a relação entre a liberação hormonal e desempenho envolvem principalmente o cortisol e a testosterona, catabolizante e anabolizante, respectivamente. E a determinação dos níveis de testosterona e cortisol em

atletas e esportistas pode orientar a carga e a periodicidade adequada de exercícios, prevenindo danos à saúde, bem como aperfeiçoar a manutenção do rendimento esportivo. Nessa oportunidade analisaremos os prontuários de atletas de alto rendimento e apresentaremos uma referência para atletas do alto rendimento brasileiro do ciclo olímpico 2012/2016 utilizando saliva como matriz para análise de biomarcadores, cortisol e testosterona, e com as concentrações obtidas correlacionar com índices fisiológicos de rendimento esportivo para os atletas de alto rendimento.

Palavras-chaves: Odontologia. Esporte. Saliva. Biomarcadores. Testosterona. Cortisol.

ABSTRACT

Ueda AJZ. Determination of testosterone and cortisol levels in the saliva of high performance athletes [dissertation]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2016. Versão Original

Sports activity in recent years has been proving to be a very important public health tool. The development of sport in all its sectors is based on the evolutionary monitoring of its increase in performance and prevention of physical or psychological injuries. Sport training consists of programmed and systematized repetitions aiming to generate a continuous adaptive process directly related to protein syntheses. Sport training consists of programmed and systematized repetitions aiming to generate a continuous adaptive process directly related to protein syntheses. The athlete, for demanding more of his physique in relation to the other people, needs to be always attentive to his health, and the oral health cannot be left out of this context. It has been found that an athlete's performance can be reduced if he has some disturbance in his oral health. Thus, in order to improve the performance of the athlete, a detailed dental examination is necessary in order to promote the treatment of possible diseases or even to act in a preventive way. In addition to blood, saliva is targeted as a potential source of biomarkers of physical exercise. Physical exercise induces biochemical changes in body systems that modify the composition of some salivary components. The analysis of these components is used as an indicator of the physiological response of the various systems to physical exercises. Hormones are produced by the body in response to the basal physiological needs and some external stimuli. In exercise physiology, studies on the relationship between hormone release and performance mainly involve cortisol and testosterone, catabolic and anabolic, respectively. And the determination of testosterone and cortisol levels in athletes and athletes can guide the load and the appropriate periodicity of exercises, preventing health damage, as well as improving the maintenance of sports performance. In this

opportunity we will analyze the charts of high performance athletes and present a reference for athletes of the Brazilian high performance of the 2012/2016 Olympic period using saliva as a matrix for the analysis of biomarkers, cortisol and testosterone, and with the concentrations obtained correlate with physiological indices of yield for high-performance athletes.

Keywords: Dentistry. Sport Saliva. Biomarkers. Testosterone. Cortisol.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 2.1	The McTigue(esquerda) x Sharkey fight(direita)	20
Figura 2.2	Doutor Mário Trigo(1911-2008), Dentista nas Copas 58/62/66 ..	21
Figura 2.3	Molécula de Colesterol	24
Figura 2.4	Este diagrama mostra as etapas na esteroidogênese levando à produção de testosterona	25
Figura 2.5	Imagem do cérebro humano, a seta vermelha indica a posição do hipotálamo/hipófise (A), e seu desenho em esquema(B)	27
Figura 2.6	Esquema de localização das supra-renais em rins	29
Figura 2.7	Esquema das zonas medular e cortical em um corte da adrenal	30
Figura 2.8	Cavidade oral e detalhes anatômicos	33
Figura 2.9	Estrutura esquemática da histologia das glândulas salivares	34
Figura 2.10	Saliva total	34

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

VO₂ Máximo Consumo máximo de oxigênio representa a capacidade aeróbica máxima de um indivíduo.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1	ATIVIDADE FÍSICA	18
2.2	ODONTOLOGIA DO ESPORTE	19
2.3	ALTO RENDIMENTO E HORMÔNIOS	25
2.3.1	Testosterona	25
2.3.2	Cortisol	29
2.3.3	Marcadores de desempenho esportivo no sangue	31
2.4	SALIVA COMO DIAGNÓSTICO	32
3	PROPOSIÇÃO	37
4	MATERIAL E MÉTODOS	38
5	RESULTADOS	40
6	DISCUSSÃO	42
7	COLCLUSÕES	47
	REFERÊNCIAS	48
	ANEXOS A	52

1 INTRODUÇÃO

A atividade esportiva desde o início do século passado no Oriente e nos últimos anos no Ocidente vem se mostrando uma ferramenta de saúde pública muito útil, principalmente para os tratamentos de diminuição dos índices e prevenção nos riscos de doenças crônicas degenerativas, como por exemplo, osteoporose, diabetes, dislipidemia e hipertensão (1).

O desenvolvimento desta “cultura do esporte”, focada para desportistas amadores e profissionais, tem como base o acompanhamento rotineiro que leva a um aumento de rendimento, mas com prevenção de lesões físicas, como exemplo a Síndrome de Overtraining (Sobre treinamento), ou psicológicas (2-4).

Este treinamento esportivo consiste em repetições programadas e sistematizadas com objetivo de gerar um processo adaptativo contínuo relacionado diretamente a captação de nutrientes, respiração melhorada, frequência cardíaca e vascularização melhorada e sínteses de proteínas. Com os esforços físicos, a resposta para cargas variadas, sejam elas em forma de pesos (exercícios resistidos) ou corridas, o resultado é a alteração na homeostase. As diversas variáveis aplicadas à atividade física como intensidade, velocidade, carga, duração, frequência, sessões, número de exercícios, amplitude de movimentos e combinações de exercícios promovem o efeito na expressão gênica que resultam nas alterações fenotípicas do músculo, e de todo sistema que o auxilia na adequação das capacidades motoras, cardiovascular e respiratória (5, 6).

Os estímulos para esforço seja, aeróbio ou anaeróbio, tendo como resultados índices de alto rendimento exigem mais do corpo humano. O aumento de rendimento esportivo se mostra multifatorial, e entre os fatores implicados está a saúde geral. Neste quesito a boca merece a nossa atenção, pois o rendimento de um atleta pode ser reduzido se ele tiver algum distúrbio em sua saúde bucal. Deste modo, visando uma melhoria no desempenho do atleta, faz-se necessário um exame odontológico minucioso, periódico e

promovendo o tratamento de eventuais doenças ou mesmo atuar de forma preventiva a alterações locais que repercutam com a condição sistêmica (7).

Além do trauma onde mais se remete a área da odontologia no esporte, o sistema estomatognático oferece inúmeras propostas de estudo para o auxílio da Ciência Esportiva, e a saliva, assim como o sangue, é apontada como uma fonte potencial de biomarcadores de desempenho da atividade física. Os avanços da ciência esportiva usam métodos preventivos de lesões e de perda de rendimento quando passam a analisar biomarcadores de desempenho que sofrem alterações de concentração durante as atividades físicas (8).

As atividades físicas podem ter inúmeras alterações séricas de biomarcadores e utilizando a saliva para execução de análises do rendimento esportivo conseguimos atingir os resultados com segurança, com um menor desconforto da coleta para o atleta e o descarte da amostra analisada em condições menos críticas do que quando realizadas utilizando-se sangue. A coleta salivar é um procedimento não invasivo e pode facilmente ser realizada nas situações de treinos e competições com mais facilidade do que a coleta sanguínea. Com treinamento muito simples, pode ser realizada até mesmo, pelo próprio atleta.

A partir da saliva podemos avaliar o fluxo, a atividade da alfa amilase, concentração de proteínas totais, conteúdo de óxido nítrico, variações de pH e hormônios, como cortisol e testosterona. A análise destes hormônios é utilizada como indicadora da resposta fisiológica dos vários sistemas aos exercícios físicos. As respostas a inúmeras variações metabólicas durante a atividade física podem ser verificadas na “quebra” da homeostase com o estresse oxidativo de séries de exercícios no sistema osteomuscular, cardiorrespiratório e vascular. Estes sistemas recebem e emitem sinais para adequações fisiológicas como hipertrofias musculares, remodelação óssea, diminuição da resistência vascular periférica levando a diminuição da pressão arterial, fortalecimento do músculo estriado cardíaco, um retorno ao estado de saúde por assim dizer.

Os hormônios são produzidos pelo organismo em resposta às necessidades fisiológicas basais e a alguns estímulos externos, sejam eles de ordem física ou psíquica. Na fisiologia do exercício, estudos sobre a relação entre a liberação hormonal e desempenho envolvem principalmente o cortisol e a testosterona, sejam eles exercícios físicos agudos ou crônicos promovendo alterações nos níveis séricos (9).

A testosterona desempenha um papel importante em muitos processos metabólicos, tais como o aumento da síntese de glicogênio muscular, alterações na qualidade e quantidade de massa muscular, gordura, humor e remodelações ósseas. Já o cortisol promove a gliconeogênese e a lipólise. Por essa razão a testosterona é em geral o hormônio representativo da atividade anabólica dos tecidos, enquanto o cortisol representa um processo de catabolismo tecidual (10).

As respostas agudas no sistema endócrino durante sessões de treinamento estão relacionadas com a intensidade e duração do estímulo de exercícios específicos. Valores de testosterona e de cortisol são muitas vezes utilizados para monitorar cargas de treinamento porque as mudanças nas concentrações dos hormônios sendo conhecidas afetam a taxa e a duração da recuperação após o exercício (11).

Assim a determinação dos níveis de testosterona e cortisol em esportistas pode orientar a carga e a periodicidade adequada de exercícios, prevenindo danos à saúde, bem como aperfeiçoar a manutenção do rendimento esportivo (12, 13).

A nossa proposta é com a análise de saliva e prontuários de atletas do alto rendimento do programa Bolsa Atleta do Ministério do Esporte durante o período de pré-temporada para o ciclo olímpico 2012-2016, conseguir parâmetros seguros nas concentrações de testosterona e cortisol salivar para o início dos trabalhos e sugerir que alguns procedimentos podem prevenir ocorrências negativas durante os treinos (14).

2 REVISÃO DE LITERATURA:

2.1 ATIVIDADE FÍSICA

A prática de atividade de exercícios físicos promove consequências no corpo com alterações significativas na homeostase bio-psico-social do indivíduo. O vínculo da saúde do ser humano na prática de exercício vem sendo documentada desde o início século passado no Oriente e nos últimos anos no Ocidente e vem se mostrando uma ferramenta de saúde pública muito útil nos tratamentos de saúde para a diminuição e prevenção nos riscos de doenças crônicas degenerativas, como por exemplo, diabete e hipertensão (1). O desenvolvimento da ciência focado no esporte em todos os setores que a ele se dedicam, tem como base o acompanhamento evolutivo para o aumento de rendimento e prevenção de lesões físicas ou psicológicas, como exemplo a Síndrome de Overtraining – Síndrome de Sobre treinamento (2-4).

O treinamento esportivo consiste em repetições programadas e sistematizadas com objetivo de gerar um processo adaptativo contínuo relacionado diretamente a sínteses de proteínas, principalmente as musculares. Com os esforços, a resposta para cargas variadas, sejam elas em forma de pesos (exercícios resistidos) ou corridas, ambos resultam em alteração na homeostase celular.

As variáveis aplicadas à atividade física são intensidade (esforço para executar um exercício), velocidade (execução lenta ou rápida), carga (quantidade de peso), duração (minutos da sessão), frequência (quantas repetições são realizados os movimentos), sessões (repetições das atividades), número de exercícios (variações de movimentos), amplitude de movimentos (exercícios de cadeias musculares) e combinações de exercícios (exercícios cruzados).

O efeito das várias sessões na expressão gênica leva a alterações fenotípicas do músculo, e de todo sistema que o auxilia na adequação das

capacidades motoras (reflexos e densidade melhorada), cardiovascular(frequência e pressão arterial reduzidas) e respiratória(aproveitamento gasoso aumentado) (5).

O esportista que responde a estímulos de esforço aeróbio ou anaeróbio com resultados para índices de perfil alto rendimento exige mais do seu físico em relação aos demais esportistas, necessitando sempre ficar atento à sua saúde, pois o alto rendimento é fruto de muitos fatores, e a saúde bucal não pode ficar fora deste contexto. Constatou-se que o rendimento de um atleta pode ser reduzido se ele tiver algum distúrbio na sua saúde bucal. Deste modo, visando uma melhoria no desempenho do atleta, faz-se necessário um exame odontológico minucioso, a fim de promover o tratamento de eventuais doenças ou mesmo atuar de forma preventiva (6).

2.2 ODONTOLOGIA DO ESPORTE:

A Odontologia do Esporte é a especialidade da Odontologia voltada para o conhecimento, prevenção das lesões e doenças do sistema estomatognático na prática esportiva (CROSP, 2015). Vem sendo considerada uma área em evidência da Odontologia, pois a saúde bucal e dental pode limitar as habilidades dos atletas profissionais e amadores em suas competições. A Odontologia do Esporte baseia-se, portanto, no estudo da interferência do esporte no sistema estomatognático e como a saúde bucal pode comprometer o desempenho físico e psicológico do esportista (8).

A Odontologia começou a despertar a atenção na história do esporte em 1890 com o Dentista londrino Woolf Krause, quando usou guta percha para proteger os incisivos de um lutador de boxe antes de entrar no ringue. De 1910 a 1920 o Protetor Bucal(PB) foi usado por Ted-The Kid–Lewis, confeccionado por Phillip Krause, filho de Woolf Krause criador do primeiro PB reutilizável. Em um confronto em 1927, Jack Sharkey x Mike McTigue (Figura 2.1), foi vencida por Jack que usava PB permitido pelas regras, fato este fundamental, pois até

o momento o PB era visto como questionável para sua utilização. No ano de 1930 foi reportada a confecção do primeiro PB na literatura com moldagem em cera e confecção em borracha (15).

Nos Estado Unidos da América tiveram nas décadas 1940 e 1950, na “NFL”, 53% de 4000 jogadores de futebol americano sofrerem algum tipo de trauma dental(16). Durante este período (1953), a Life Magazine mostrou a foto do ídolo de futebol de Notre-Dame com incisos quebrados. Esta foto trouxe uma grande repercussão negativa. A American Dental Association em 1960 indica o uso de látex na confecção de PB em esportes de contato, influenciando a NFA a indicar o uso de PB para futebol nos colégios na temporada de 1962 (17-19).

Figura 2.1 - The McTigue(esquerda) x Sharkey fight(direita)

<https://keystoneind.wordpress.com/2013/09/19/the-history-of-athletic-mouthguards/>

Um parêntese deve ser aberto para aquele que pode ser chamado de “Pai da Odontologia do Esporte Brasileira” o Professor Doutor Mário Trigo (1911-2008) (Figura 2.2). Sua vida foi inteiramente dedicada à odontologia e ao futebol. Ele sempre agiu e trabalhou por amor à profissão, da qual se orgulhava. “Quero cumprimentar a pessoa que escreveu ou o responsável por esse trabalho, pois mostrou respeitadamente os passos de seu trabalho na

divulgação da odontologia. No livro que deixou (O Eterno Futebol) ele não conta, mas a verdade é que como o consultório dele, no Rio de Janeiro, embora muito bom, não tinha estrutura para o atendimento aos 33 jogadores, dirigentes, etc, Mário procurou várias clínicas no Rio, cujos donos se negaram a somar com ele porque não viam sucesso no projeto. A Seleção estava desacreditada desde 1954. Essa foi a razão do atendimento ocorrer na Faculdade Nacional de Odontologia da Praia vermelha, onde ele foi magnificamente recebido e cujos mestres o incentivaram. Inclusive ele já havia sido professor nessa Universidade.” Palavras de sua esposa por conta de evento realizado em 2009 e que marcou de modo fundamental a busca da Odontologia do Esporte como especialidade (20).

Figura 2.2 - Doutor Mário Trigo(1911-2008), Dentista nas Copas 58/62/66

Como recurso para acompanharmos os processos de treinamento e atividade física, usamos na Fisiologia do Exercício vários métodos, com números para registrar, calcular e conduzir as variáveis que compõem um processo de treinamento. Esses números podem ser oriundos de elementos extrínsecos do treinamento, como variações de velocidade, variações de repetições em determinado exercício, alterações na resistência maior ou menor ao carregar pesos. E também variações intrínsecas ao esportista, como variações de peso, percentual de massa magra ou gorda, frequência cardíaca,

pressão arterial, elementos componentes de fluidos corporais como sais, imunoglobulinas e hormônios (21).

Avanços da ciência esportiva permitem o uso de métodos preventivos de lesões e perda de rendimento e passam analisar biomarcadores de desempenho que sofrem alterações de concentração durante a atividade física, e para isso fazem estudos de fluidos e de gases como análise do índice ventilatório máximo, o VO_2 , assim como das resistências dos vasos sanguíneos na aferição da pressão arterial. E avançando os acompanhamentos, quantificamos concentrações de biomarcadores sanguíneos. Esse último é um rico veículo de estudo por transportar todos os biomarcadores de interesse fisiológico (22). Mas além do sangue, a saliva é apontada como uma fonte potencial de biomarcadores do exercício físico (23).

O corpo humano responde a inúmeras variações metabólicas durante a atividade física. A quebra da homeostase com o estresse oxidativo de séries de exercícios faz com que os sistemas muscular, ósseo e cardiorrespiratório recebam e emitam sinais para adequações fisiológicas como hipertrofias musculares, remodelação óssea, diminuição da resistência vascular periférica levando a diminuição da pressão arterial, fortalecimento do músculo estriado cardíaco, um retorno ao estado de saúde por assim dizer. Esses eventos não ocorrem sem a presença de mediadores orgânicos, e os hormônios fazem parte deste rol de elementos que em concentrações diminutas mediam adaptações fundamentais na resposta fisiológica da atividade física (24).

2.3 ALTO RENDIMENTO E HORMÔNIOS.

2.3.1 Testosterona

A testosterona por mais de décadas apresenta-se um importante biomarcador de referencia anabolizante. Sua capacidade em aumentar a força física é conhecida desde o final do século XIX, mas seu papel fisiológico real como o hormônio sexual masculino não foi revelado até a caracterização e síntese em meados de 1930 que resultou no prêmio Nobel em química para Butenandt e Ruzicka em 1939 (25).

Sendo um Androgênio, esse hormônio, promove e mantém as características secundárias masculinas, como o crescimento de pelos (iniciando-se pela região pubiana e axilas), aparecimento da barba, engrossamento da voz e desenvolvimento de massa muscular.

As principais fontes são os testículos e a adrenal, que captam as moléculas de colesterol (Figura 2.3) por endocitose de lipoproteínas após o estímulo por sinais liberados no eixo Hipotálamo – Hipófise (Figura 2.4) e destes liberam sinais às Gônadas, realizado pela liberação de hormônio liberador de gonadotrofinas, que por sua vez estimula a hipófise a liberar no mesmo ritmo o hormônio luteinizante (LH) e o hormônio folículo estimulante (FSH) – ambas as gonadotrofinas que atuam diretamente no testículo e controlam a produção de hormônios. O FSH estimula a produção de proteína ligadora de androgênios. O LH e esse mecanismo são representados em cinco etapas(26):

1. Colesterol – CYP 11A1 – Clivagem da cadeia lateral de colesterol
2. Pregnenolona - 3β – HSP Hidroxiester Desidrogenase
3. Progesterona – CYP 17 α Hidroxilase
4. 17 OH Progesterona – 17, 20 – liase

5. Androstediona – β Hidroxiesteroide

Testosterona

Estradiol

Deidrotestosterona

Figura 2.3 - Molécula de Colesterol

<http://docentes.esalq.usp.br/luagallo/lipideos.html>

Figura 2.4 - Imagem do cérebro humano, a seta vermelha indica a posição do hipotálamo/hipófise (A), e seu desenho em esquema(B)

A

B

<http://gracieteoliveira.pbworks.com/w/page/40680349/Doen%C3%A7as%20da%20hip%C3%B3fise%20e%20hipot%C3%A1lamo>

A clivagem da cadeia lateral do colesterol é realizada nas mitocôndrias, já as demais são realizadas no retículo endoplasmático. A produção diária de testosterona é de 5 a 9mg e a circulação é acoplada à proteína ligadora de

hormônios sexuais e á albumina, mas 2% fica livre circulante, sendo esta a forma que é captada pelas células alvo. Na medida em que o consumo dos elementos livres vão sendo efetuadas novas moléculas de hormônio se desprende das proteínas ligadoras e albumina, recompondo o estoque de testosterona livre.

Os androgênios exercem seus efeitos por meio de receptores nucleares, que são fatores de transcrição e regulam a produção de m-RNA de genes alvo, por mecanismo dependente da ligação do hormônio. Estando o androgênio, e seu receptor ligados, ocorre uma modificação conformacional que resulta na dissociação do receptor de choque térmico. Esse complexo hormônio-receptor forma então um homodímero com outra molécula hormônio-receptora de androgênio e interage com uma série de co-ativadores ou co-repressores para formar um complexo transcricional ativado, este por sua vez acopla uma região receptora de DNA da célula alvo – elemento responsivo aos andrógenos, representado por uma sequência específica de nucleotídeos. O processo resulta em recrutamento de uma RNA polimerase e na transcrição – mRNA com tradução de genes específicos, que serão alvo da ação androgênica. (Figura 2.5)

Figura 2.5 - Este diagrama mostra as etapas na esteroidogênese levando à produção de testosterona

http://www.just.edu.jo/~mafika/733_Reproductive%20Endocrinology/Male%20Reproductive%20System_733.htm

Tabela de correlações entre hormônio e características.

Tabela 2.1 Características físicas que Testosterona(T), Estradiol(Est) e Di Hidro Testosterona(DHT) são responsáveis

Ações	Esteróide
Diferenciação sexual: crescimento e ductos de Wolff	T
Diferenciação sexual: masculinização da genitália externa	DHT
Maturação sexual na puberdade	DHT
Promoção e manutenção da espermatogênese	T
Desenvolvimento da próstata, crescimento e atividade	DHT e Est
Inibição do desenvolvimento mamário	T
Efeito anabólico sobre os Músculos	T
Anabolismo na medula óssea aumentando a eritropoese	T
Agravamento da voz,	T
Atividade das glândulas sebáceas	DHT
Desenvolvimento de pelos corporais terminais	DHT
Padrão masculino de distribuição de pêlos do escalpo	DHT
Indução enzimoregulatória de síntese proteica hepática	T e DHT
Regulação da secreção de gonadotrofinas e GnRH	T e Est
Efeitos sobre a libido	T, DHT e Est

2.3.2 Cortisol

O cortisol é um hormônio glicocorticoide produzido pelo córtex da adrenal (Figura 2.6), e secretado pela zona fasciculada do córtex adrenal. O córtex adrenal é subdividido em 3 zonas, cada uma com características anatômicas específicas. A zona glomerulosa, mais externa secreta um hormônio mineralocorticoide conhecido como aldosterona. A zona fasciculada vem logo a seguir e produz o glicocorticoide, o cortisol e, por fim, a zona reticular que produz os hormônios sexuais ou esteroides androgênicos (Figura 2.7).

Figura 2.6 - Esquema de localização das supra-renais em rins

http://mundoeducacao.bol.uol.com.br/upload/conteudo_legenda/71f581317b3fcc47bdc754ef4ff95262.jpg

Figura 2.7 - Esquema das zonas medular e cortical em um corte da adrenal

http://www.uff.br/fisiovet/Conteudos/supra_renaais.htm

No fígado tem sua ação metabólica aumentando a glicogênese gerando glicose a partir de aminoácidos e outras substâncias, sendo essas oriundas inclusive dos tecidos extra-hepáticos como músculo. Exerce também ação no metabolismo de gorduras, sendo também necessário na produção de energia. Na situação de estresse, podendo ser essa também decorrente de atividade física, e de inflamações a córtex da adrenal atua como bloqueadores dos estágios inflamatórios iniciais.

O cortisol é regulado pelo eixo hipotálamo-hipófise, iniciando pela liberação do fator de corticotrofina (CRH) que estimula a hipófise anterior a liberar o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e o *feed-back* ocorre quando da elevação dos níveis de cortisol plasmáticos retornando sinais ao cérebro tanto em hipófise como em hipotálamo.

A relação entre cortisol e testosterona demonstra matematicamente o quanto de rendimento, ou não o atleta apresenta. A testosterona é ativada na prática do esporte dependendo do nível de oxigênio consumido e dióxido carbônico produzido pelos músculos, índice esse denominado de volume de oxigênio máximo (VO_2 máximo) (27).

O valor de VO_2 máximo representa quanto o oxigênio inalado é aproveitado pelos músculos nas atividades aeróbias respeitando a binômia intensidade e duração (28).

O valor representa quantitativamente a ressíntese aeróbica do ATP, exercícios que apresentam 40 minutos de duração com VO_2 entre 50% a 70% do esforço máximo exigido, não apresentam qualquer aumento nos níveis de testosterona (21).

Os exercícios que têm o aumento da temperatura, porém excedendo a duração dessa atividade de 60 minutos com o mesmo esforço tem um aumento significativo da testosterona circulante. Nas atividades anaeróbias, modalidades de explosão como lançamentos e levantamentos de peso, altas velocidades em pista ou piscina, que requerem o metabolismo glicolítico realizado por meio de fermentação sem utilização de oxigênio, a concentração de testosterona e cortisol também é alterada de modo representativo (29).

2.3.3 Marcadores de desempenho esportivo no sangue:

Reconhecidamente o sangue por décadas se coloca como um ótimo carreador de marcadores de desempenho. Suas propriedades físicas e químicas são de controle total pela ciência médica, sendo um dos tecidos mais analisados em todo mundo. No mesmo sentido no esporte não é diferente. Sabidamente utiliza-se o sangue para inúmeros testes de acompanhamento no rendimento e na prevenção dos estados de evolução esportiva. O conjunto de substâncias presentes no sangue permite que as alterações iônicas como sódio, potássio, cálcio, iodo, magnésio entre outros sejam identificados e podem ser corrigidos rapidamente permitindo que alterações musculares deletérias sejam prevenidas. Nos grupos moleculares mais complexos como as vitaminas, gorduras, hormônios, imunoglobulinas, os estudos e formação de curvas de aproveitamento dos treinos colocam-se como uma ferramenta de uso rotineiro nos dias de hoje (30).

Na necessidade periódica dos testes de avaliação física e de rendimento e seus resultados com números que possam ser trabalhados por profissionais do esporte - fisiologistas, preparadores físicos, nutricionistas entre outros, fez com que alternativas fossem procuradas, se possível de obtenção indolor, atraumática, de fácil coleta e armazenamento. Algumas alternativas foram achadas cumprindo o propósito como o da coleta sanguínea, a exemplo de esfregaços atraumáticos de mucosa, urina, lágrima, cabelo e saliva (31, 32).

2.4 SALIVA COMO DIAGNÓSTICO

A saliva é produzida por glândulas que se encontram na cavidade oral e são divididas anatomicamente em dois grupos – Glândula Maiores, as Parótidas, as Submandibulares e as Sublinguais; e as Menores distribuídas por toda cavidade oral (Figura 2.8). Fluido oral ou saliva total é o produto da mistura da saliva com o fluido do sulco gengival e contém outros materiais (restos de alimentos, bactérias, sangue, proteínas, etc.), com 99% de água, promovendo lubrificação, auxílio no paladar, fonação, digestão, Clearance salivar(eliminação de substâncias neutralizadas) e 1% de substâncias orgânicas com moléculas proteínas, hormônios, uréia e amônia, lipídeos, imunoglobulinas, glicose, entre outros que ativam a ação antimicrobiana e inorgânicas, atuando como agentes tamponantes e remineralizantes da superfície dental (Sódio (Na^+); Potássio (K^+); Cloro (Cl^-); Cálcio (Ca^{2+}); Fosfato (PO_4^{3-}); Bicarbonato (HCO_3^-); Flúor (F^-); Tiocianato (SCN^-) e Hipotiocianato (OSCN^-))(33).

Figura 2.8 - Cavidade oral e detalhes anatômicos

<https://odontoayuda.files.wordpress.com/2010/03/cavidadoral.png>

Figura 2.9 - Estrutura esquemática da histologia das glândulas salivares

<http://estudandomed.blogspot.com.br/2011/08/aula-de-histologia-glandulas-salivares.html>

Figura 2.10 - Saliva total

<http://cro.sagepub.com/content/13/2/197/F1.expansion.html>

Existem fatores que influenciam a composição da saliva total, e para estudá-la é necessário seu conhecimento. São elas:

- Variação em seu fluxo, ou seja, intensidade, duração e tipo. A quantidade por unidade de tempo, e pode ser estimulada de modo mecânico, gustativo e olfatório. Tabela .
- Variação de fluxo por efeitos a luz, hidratação, estado emocional, posição corporal, dieta e má nutrição, idade, gênero, ação de fármacos e drogas, radioterapia e patologias e disfunção mastigatória.
- Variação individual em circunstâncias diferentes como repouso e atividade.
- Variação de acordo com a contribuição de cada glândula maior e menor.
- Variação de acordo com o ritmo circadiano.

Tabela 2.2: Produção salivar em ml/min

ml/min	MUITO BAIXO	BAIXO	NORMAL
Repouso	<0,1	0,10-0,25	0,25-0,35
Estimulado	<0,7	0,70-1,00	1,00-3,00

2.4.1 Marcadores de desempenho na saliva

O exercício físico induz alterações bioquímicas nos sistemas corporais e a composição de componentes salivares pode ser alterada e a partir da saliva podemos avaliar o fluxo, a atividade da alfa amilase, concentração de proteínas totais, óxido nítrico, variações de pH, hormônios, como cortisol e testosterona. A análise destes componentes é utilizada como indicador da resposta fisiológica dos vários sistemas aos exercícios físicos (34).

Na saliva os hormônios atravessam a porção vascular plasmática e são liberados por difusão passiva, apresentam monitoramento da função endócrina;

apresentam suas concentrações em valores indiretamente proporcionais ao fluxo salivar, sendo os hormônios substâncias esteroidais, são lipossolúveis, respeitam os ciclos do ritmo circadiano, e podem ser correlacionados com o sangue (23).

A determinação dos níveis de testosterona e cortisol em esportistas pode orientar os treinamentos como a carga e a periodicidade adequada de exercícios, prevenindo danos à saúde, bem como aperfeiçoar a manutenção do rendimento esportivo (34).

A testosterona um androgênio produzida em sua grande concentração no testículo captam as moléculas de colesterol por endocitose de lipoproteínas estimulada por sinais liberados no eixo Hipotálamo – Hipófise – Gonadal, detentor da grande capacidade anabolizante. A testosterona desempenha um papel importante em muitos processos metabólicos, tal como o aumento da síntese de glicogênio muscular, alterações na qualidade e quantidade de massa muscular e gordura, humor e remodelações ósseas (29).

Atualmente vários estudos colocam a saliva como meio indicado para contornar as dificuldades promovidas pela coleta para estudos de biomarcadores de rendimento em sangue. A coleta pode ser realizada em períodos de treinos e em competição. Não é necessário treino muito elaborado. A coleta salivar é totalmente atraumática, sem necessidade de aparatos de biossegurança para um operador e não coloca o examinado a qualquer risco de infecção. Pode ser realizado pelo próprio examinado. De fácil armazenamento e transporte inicial, onde uma simples refrigeração em geladeira portátil com quantidade adequada de gelo pode ser utilizada pelas primeiras horas. Após análise, o seu descarte é fácil e seguro, sem necessidade de incineração como ocorre com o sangue (35-37).

3 PROPOSIÇÃO

Os objetivos deste estudo são:

- 1) Analisar os prontuários de atletas de alto rendimento participantes do projeto “Avaliação de Atletas em Odontologia do Esporte”, correlacionando dados salivares com dados de desempenho físico, na tentativa de estabelecer parâmetros salivares de desempenho físico e possível uso da saliva como indicador de rendimento esportivo.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados 1300 prontuários de atletas participantes da pesquisa intitulada “Avaliação de Atletas em Odontologia do Esporte”, pesquisa esta sob-responsabilidade do pesquisador Hilton Sadayuki Tiba. Deste total, foram selecionados somente os atletas classificados como “excelência olímpica”. Este critério é estabelecido pelas federações de cada modalidade, respeitando seletivas olímpicas internacionais, chegando-se a um total de 276 atletas.

Deste grupo seletivo, foram verificados nos prontuários os dados salivares, clínicos e fisiológicos, descritos a seguir:

- Anamnese

- Dados salivares:

 - Concentração de Cortisol

 - Concentração de Testosterona

 - Concentração de Lactato

- Dados Clínicos:

 - Exame extrabucal

 - Avaliação de ATM

 - Exame Intrabucal

 - Radiografias extra e intra-oral

- Dados Fisiológicos:

 - Índice de massa corporal – $\text{Peso} / (\text{Altura})^2$

 - Frequência Cardíaca

 - Em repouso

 - Em esforço

- Pressão Arterial

Em repouso

Em esforço

- Teste de esforço físico em esteira, segundo o protocolo de Bruce modificado (38).¹

Dos dados salivares, foram determinados valores médios.

Através dos dados fisiológicos, foram determinados VO₂ máx de cada atleta².

Foram correlacionados os dados fisiológicos com os dados salivares na tentativa de estabelecermos correlações e valores de referência salivares que possibilitem a estimativa de condições fisiológicas através de análises salivares. Estas correlações foram realizadas através de teste de Pearson, estabelecendo um nível de significância de 95%.

¹ Teste de Bruce modificado é um teste de esforço físico de avaliação cardiológica não invasivo por esforço de corrida em esteira com controle de inclinação, velocidade e respostas de pressão arterial e frequência cardíaca por períodos de tempo.

² O VO₂ máx foi calculado seguindo-se a equação:
$$\frac{\text{IMC} \times \text{Velocidade final} \times \text{Inclinação} \times 10}{\text{Tempo do teste} \times \text{peso}}$$

5 RESULTADOS

Dos 276 prontuários analisados, 122 possuíam os dados salivares. Estes foram separados pelo sexo e determinados os valores médios de cortisol e testosterona salivar.

Tabela 5.1 Concentração de Cortisol e Testosterona Salivares em saliva de atletas de alto rendimento do Brasil. Média $\pm$ desvio padrão

	Homens	Mulheres
Cortisol (ng/dl)	202 $\pm$ 104 (n=74)	166 $\pm$ 120 (n=46)
Testosterona (pg/ml)	198,9 $\pm$ 43,7 (n=72)	128,9 $\pm$ 29,9 (n=46)

Quando buscamos os prontuários com os dados clínicos, fisiológicos e salivares, obtivemos 55 documentos completos. Destes, foram calculados o VO₂ máx, que define a capacidade ventilatória do atleta, ou seja, a quantidade máxima de oxigênio que o organismo pode usar no exercício, sendo uma importante referência para determinarmos a condição máxima de desempenho.

Desta forma, realizamos correlações dos VO₂máx com os dados salivares de lactato, cortisol, testosterona e relação cortisol/testosterona. Os resultados estão apresentados na tabela de correlações (Tabela 5.2).

Tabela 5.2 Correlação entre os valores de VO₂máx, cortisol, testosterona e lactato salivares. Nas células o dado superior corresponde ao valor de correlação de Pearson. O dado inferior refere-se ao P-value

	VO ₂ máx	Lactato	Cortisol/testosterona	Testosterona
Lactato (nM)	0,119 0,523			
Cortisol/testosterona	0,261 0,156	0,174 0,222		
Testosterona (pg/dl)	-0,351 0,053	0,253 0,073	-0,318 0,022	
Cortisol (ng/dl)	-0,030 0,873	0,374 0,007	0,822 0,000	0,212 0.131

6 DISCUSSÃO

A atividade física em desportistas sejam eles profissionais ou amadores têm como meta, números de aumento de rendimento. O acompanhamento com profissionais da área esportiva colocam a ciência na busca frenética de recursos, de métodos de treinamento usando tecnologia da informática, têxtil, engenharia, nutricional e bioquímica para alcançar o objetivo tão almejado, seja ele a vitória nas competições ou mesmo a vitória pessoal. Na área bioquímica análises de biomarcadores de rendimento podem ser executadas tanto em laboratórios como na beira de quadras, campos, pistas ou piscinas. Os biomarcadores de rendimento esportivo são elementos que sofrem alterações em suas concentrações, aumentando ou diminuindo, quando comparada com condições fora da atividade física ou mesmo com índices durante exercícios físicos. Os elementos utilizados pelos fisiologistas podem ser desde o peso corporal, volumes de gases inalados e exalados, descompensações eletrolíticas sanguíneas, e análise de hormônios como testosterona e cortisol, objetos deste estudo por representar elementos de interesse tanto para as atividades em execução, como durante o período de recuperação de lesões ou férias.

Todos os prontuários foram provenientes de um estudo anterior, onde tive a oportunidade de participar, intitulado “Avaliação de Atletas em Odontologia do Esporte”. Este foi criado para suprir a necessidade de um acompanhamento odontológico dos atletas de alto rendimento brasileiro. A iniciativa vem depois de alguns pesquisadores do grupo INPES passar por um período de estudos no Japão, onde tiveram contato com outras nacionalidades (Itália, Inglaterra, EUA e Austrália), onde em todas elas a atenção a odontologia era um pré requisito em um período de treinamento para grandes competições (a exemplo a olimpíada).

Encontramos este grande numero de atletas no programa “Bolsa Atleta do Ministério do Esporte”, vinculados a uma entidade de prática desportiva (clubes), filiado à Entidade de Administração de sua modalidade, tanto em nível

Estadual (Federação) como Nacional (Confederação), tendo integrado na qualidade de atleta a delegação brasileira (como titulares em modalidades individuais ou com seus nomes presentes nas súmulas de modalidades coletivas e individuais na última edição dos **Jogos Olímpicos ou Paralímpicos – 2008/ Pequim**. Desta forma, este projeto, que teve início em 2010, atendeu atletas que participariam das olimpíadas de 2012, e seriam potenciais atletas para a olimpíada de 2016.

O foco principal deste projeto foi a análise, diagnóstico de uma condição bucal ideal, pois sabemos hoje o quanto ela afeta o desempenho deste atleta.

Um outro objetivo foi o de identificar na saliva, potenciais biomarcadores de rendimento destes atletas. Para isso a saliva total não estimulada foi coletada na primeira parte da manhã (entre 08h00min e 11h00min, para minimizar os efeitos circadianos, com pelo menos 1 h de jejum), sendo determinadas as concentrações de cortisol, testosterona e lactato. Todas as análises foram realizadas Laboratório de Bioquímica Oral do Departamento de Biomateriais e Biologia Oral da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, onde participei ativamente deste processo, junto ao grupo coordenado pelo meu atual orientador, o Prof. Fernando Nogueira.

Em virtude do encerramento inesperado do projeto, não houve tempo hábil para analisarmos os dados salivares, daí a realização deste estudo.

Foram verificados os dados com os valores salivares de cortisol, testosterona e lactato.

O cortisol é um hormônio envolvido no processo catabólico e está intimamente ligado ao estresse. No caso do esporte, é um potencial responsável a ocorrência da síndrome do over training, ou sobretreinamento, onde encontraremos um aumento da sua concentração sistêmica. Esta síndrome caracteriza-se por somatórios de sinais e sintomas prejudiciais ao desempenho esportivo, levando ao atleta a fadigas prematuras, distensões musculares, apatia e até mesmo a depressão, entre outras patologias. Esta síndrome pode durar dias, meses ou até mesmo anos. A intenção em estudá-lo está na prevenção da ocorrência desta síndrome, visto que nosso período de

coleta ocorreu em pré-temporada de treinamentos intensos visando o ciclo olímpico.

Em oposição a ação do cortisol, o corpo produz um outro hormônio chamado de testosterona. De finalidade anabólica. No esporte ele tem sua importância por ser liberado no período de recuperação e está relacionado ao aumento de massa muscular, melhora no desempenho pulmonar, frequência cardíaca, resistência vascular e resistência articular. Naturalmente ele é responsável pelas características masculinizantes, como perda de gordura e aumento de massa muscular. As mulheres também produzem esse hormônio, porém em menor concentração.

A relação entre os hormônios cortisol e testosterona é um índice muito utilizado por fisiologistas para estabelecer o grau de aproveitamento do planejamento de treino proposto. Em um atleta em treino intenso, esperamos encontrar uma elevação dos níveis de cortisol (em decorrência do aumento do estresse físico), mas um aumento da concentração de testosterona (em decorrência da resposta fisiológica ao exercício). Desta forma, em condições ideais a relação entre os dos hormônios deve permanecer menor do que zero, demonstrando um anabolismo da atividade, com ganho de rendimento. Por outro lado, um aumento na concentração do cortisol indicaria um catabolismo, ou seja, um treinamento acima dos limites físicos do atleta.

O lactato é um metabolito decorrente da glicólise anaeróbica sendo produzido em momentos de esforço máximo no esporte. Devido a isso, ele é utilizado como um marcador de esforço, onde podemos estabelecer o limite do esforço máximo deste atleta.

Diversos estudos já demonstraram uma correlação entre os valores salivares e sanguíneos, demonstrando o potencial do uso da saliva como uma fonte segura de análise destes hormônios (Ref). Já em relação ao lactato, não há ainda um consenso na literatura (Ref).

Em nosso estudo encontramos na saliva dos atletas do sexo masculino uma maior concentração de testosterona do que no grupo feminino, o que seria esperado. Em relação aos níveis de cortisol, encontramos valores maiores para

os atletas do sexo masculino do que no feminino. Quando calculamos a relação entre os 2 hormônios, os valores do grupo masculino permanece próximo a 1, enquanto no grupo feminino está próximo a 1,3.

A coleta dos atletas foi realizada em um período de pré-temporada, onde esperaríamos encontrar níveis de equilíbrio ou menores do que 1, que permitiriam um pronto retorno as atividades físicas sem riscos de lesões físicas ou psíquicas. O fato de encontrarmos uma relação elevada no grupo feminino sugere um maior cuidado ao retorno das atividades físicas em mulheres deste grupo seletivo de atletas.

O aumento desta relação no grupo feminino pode ser devido a um aumento do conteúdo de cortisol (em decorrência de um possível estresse provocado pela falta do treinamento) ou uma redução dos níveis de testosterona (também devido a uma redução da carga de treinos). Nossa análise não permite concluir as reais causas desta alteração, mas pode sugerir uma maior atenção no retorno aos treinos das atletas.

No projeto foram realizados teste de esforço em esteira com o objetivo de verificar a capacidade de esforço físico máximo (aeróbico e anaeróbico). Para isso levantamos dados antropométricos (peso e altura), pressão arterial inicial e final, frequência cardíaca inicial e final, além do aumento de inclinação da esteira para atingir o esforço máximo durante a corrida. Com estes dados executamos o que chamamos de teste de Bruce modificado, o que, fornece de modo indireto através da fórmula:

$$\frac{\text{IMC} \times \text{Velocidade final} \times \text{Inclinação} \times 10}{\text{Tempo do teste} \times \text{peso}}$$

O índice $\text{VO}_2\text{máx}$, que se refere a capacidade do aproveitamento máximo útil de oxigênio durante a atividade física. Em nossos atletas encontramos um valor de 55,61 à 11,63. Vale ressaltar que estes atletas, por serem de alto rendimento, tem valores de $\text{VO}_2\text{máx}$ muito superior ao da média da população em geral, e varia conforme a modalidade esportiva, determinada pelo tipo de fibras musculares (brancas e vermelhas) exigidas.

Quando realizamos as correlações do $\text{VO}_2\text{ Max}$ com os dados salivares, encontramos somente uma correlação negativa com a concentração salivar de testosterona, com valor de $P=0,053\%$. Esperávamos encontrar uma correlação positiva com os níveis de cortisol, pois este hormônio está relacionado ao estresse e a atividade catabólica. O fato de encontrarmos somente a correlação com a testosterona e sendo este hormônio um indicador anabólico, não nos parece, apesar da estatística mostrar um dado significativo, fisiologicamente esta informação acaba sendo pífia.

Os valores de lactato salivar mostraram interessantes correlações positivas com testosterona e cortisol principalmente. Esse dado nos permite indicar que, no período de pré-temporada as concentrações destes biomarcadores são proporcionais e podem ser interessantes ferramentas também nos períodos de treinamento intenso.

Os resultados obtidos nos permitem, portanto, afirmar que no período de pré-temporada, as análises salivares conseguem demonstrar uma condição de ausência de Overtraining e pode ser uma excelente fonte de análise para o futuro planejamento de treinamento esportivo. Quando tentamos relacionar os dados salivares com dados fisiológicos ($\text{VO}_2\text{ Max}$), não obtivemos sucesso em encontrar valores significativos, tanto estatisticamente quanto fisiologicamente, que sustente o uso da saliva (não estimulada) como um indicador de condição física em atletas de alto desempenho em pré-temporada.

Vale a pena ressaltar que este estudo foi um projeto inovador em nosso país, onde acreditamos no papel da odontologia no desenvolvimento da ciência esportiva. Outras formas de coleta e análise de saliva, assim como em diferentes períodos de treino ou mesmo em competição, são necessárias para que possamos realmente verificar e aprimorar o possível uso da saliva como um biomarcador de desempenho esportivo.

7 CONCLUSÕES

Nas condições e nos períodos de treinamento nos quais foram realizadas as coletas e análises fisiológicas nos atletas de alto rendimento, podemos concluir que:

- A saliva é uma excelente ferramenta coadjuvante para verificarmos a ocorrência de Overtraing e com isso planejar o retorno dos treinamentos físicos destes atletas.

- Não há subsídios para indicar o uso dos biomarcadores analisados na saliva (cortisol, testosterona e lactato) como indicador de desempenho quando correlacionados com o uso de indicador fisiológico adotado (VO_2 Max)

REFERÊNCIAS

1. Lee IM. Physical activity and cancer prevention--data from epidemiologic studies. *Medicine and science in sports and exercise*. 2003;35(11):1823-7.
2. Urhausen A, Kindermann W. Diagnosis of overtraining: what tools do we have? *Sports Med*. 2002;32(2):95-102.
3. Coutts AJ, Wallace LK, Slattery KM. Monitoring changes in performance, physiology, biochemistry, and psychology during overreaching and recovery in triathletes. *International journal of sports medicine*. 2007;28(2):125-34.
4. Armstrong LE, VanHeest JL. The unknown mechanism of the overtraining syndrome: clues from depression and psychoneuroimmunology. *Sports Med*. 2002;32(3):185-209.
5. Cooper DM, Radom-Aizik S, Schwindt C, Zaldivar F, Jr. Dangerous exercise: lessons learned from dysregulated inflammatory responses to physical activity. *J Appl Physiol* (1985). 2007;103(2):700-9.
6. Toigo M, Boutellier U. New fundamental resistance exercise determinants of molecular and cellular muscle adaptations. *Euro J Appl Physiol*. 2006;97(6):643-63.
7. Moura A. Respirador Oral. 2004 [cited 2015 05/11]; Available from: <http://www.respiradororal.blogger.com.br/>.
8. CROSP. Odontologia do esporte. CROSP WEB PAGE. CROSP WEB PAGE2006.
9. Hoogeveen AR, Zonderland ML. Relationships between testosterone, cortisol and performance in professional cyclists. *Int J Sports Med*. 1996;17(6):423-8.
10. Simsch C, Lormes W, Petersen KG, Baur S, Liu Y, Hackney AC, et al. Training intensity influences leptin and thyroid hormones in highly trained rowers. *Int J Sports Med*. 2002;23(6):422-7.
11. Kuipers H, Keizer HA. Overtraining in elite athletes. Review and directions for the future. *Sports Med*. 1988;6(2):79-92.
12. Steinacker JM, Lormes W, Kellmann M, Liu Y, Reissnecker S, Opitz-Gress A, et al. Training of junior rowers before world championships. Effects on performance, mood state

and selected hormonal and metabolic responses. *The J Sports Med Physical Fit.* 2000;40(4):327-35.

13. Ramson R, Jurimae J, Jurimae T, Maestu J. Behavior of testosterone and cortisol during an intensity-controlled high-volume training period measured by a training task-specific test in men rowers. *J Strength Condit Res.* 2009;23(2):645-51.

14. Esporte Md. Bolsa Atletas pré requisitos. Ministério do Esporte. WEB PAGE: Ministério do Esporte; 2010.

15. Industries K. The History of Athletic Mouthguard. Keystone Industries; 2013.

16. Daneshvar DH, Baugh CM, Nowinski CJ, McKee AC, Stern RA, Cantu RC. Helmets and mouth guards: the role of personal equipment in preventing sport-related concussions. *Clin Sports Med.* 2011;30(1):145-63, x.

17. ADA. Protecting teeth with mouthguards. *JADA.* 2006;137.

18. ADA. The importance of using mouthguard. *JADA.* 2004;135.

19. ADA. Statement on athletic Mouthguards. *JADA.* 2009;2.

20. Trigo M. O Eterno Futebol: Thesaurus; 2002. 240 p.

21. Fellmann N, Coudert J, Jarrige JF, Bedu M, Denis C, Boucher D, et al. Effects of endurance training on the androgenic response to exercise in man. *Int J Sports Med.* 1985;6(4):215-9.

22. Groschl M, Kohler H, Topf HG, Rupprecht T, Rauh M. Evaluation of saliva collection devices for the analysis of steroids, peptides and therapeutic drugs. *J Pharma Biomed Anal.* 2008;47(3):478-86.

23. Nogueira FN. A importância da saliva como método de diagnóstico. *J APCD.* 2003;55:1-18.

24. Lac G, Maso F. Biological markers for the follow-up of athletes throughout the training season. *Pathologie-biologie.* 2004;52(1):43-9.

25. Sequard B. The Effects Produced on Man by Subcutaneous Injections of a Liquid Obtained from the Testicles of Animals. *J Urology* 1889.

26. Hall JE, GUYTON AC. Guyton E Hall Tratado De Fisiologia Médica: Elsevier Health Sciences Brazil; 2011.
27. Chatard JC, Atlaoui D, Lac G, Duclos M, Hooper S, Mackinnon L. Cortisol, DHEA, performance and training in elite swimmers. *Int J Sports Med*. 2002;23(7):510-5.
28. Scheadler CM, Devor ST. VO2max Measured with a Self-selected Work Rate Protocol on an Automated Treadmill. *Med Scie Sports Exerc*. 2015;47(10):2158-65.
29. Hough J, Robertson C, Gleeson M. A 10-day Training Camp Blunts Exercise-Induced Salivary Testosterone in Elite Level Triathletes. *Inter J Sports Physio Perform*. 2015.
30. Mackinnon LT, Hooper SL, Jones S, Gordon RD, Bachmann AW. Hormonal, immunological, and hematological responses to intensified training in elite swimmers. *Med Scien Sports Exerc*. 1997;29(12):1637-45.
31. Lindsay A CJ. Realising the Potential of Urine and Saliva as Diagnostic Tools in Sport and Exercise Medicine. *Sports Med*. 2016.
32. Papacosta E NGP. Saliva as a tool for monitoring steroid, peptide and immune markers in sport and exercise science. *J Scienc Med Sport*. 2011;14:10.
33. Chiappin S AG, Gatti R, De Palo EF. Saliva specimen: A new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. *Clinic Chimica*. 2007;383:10.
34. Thomas NE, Leyshon A, Hughes MG, Davies B, Graham M, Baker JS. The effect of anaerobic exercise on salivary cortisol, testosterone and immunoglobulin (A) in boys aged 15-16 years. *Euro J App Physio*. 2009;107(4):455-61.
35. Pfaffe T, Cooper-White J, Beyerlein P, Kostner K, Punyadeera C. Diagnostic potential of saliva: current state and future applications. *Clin Chem*. 2011;57(5):675-87.
36. Zhang A, Sun H, Wang P, Wang X. Salivary proteomics in biomedical research. *Clinica chimica acta; Inter J Clin Chem*. 2013;415:261-5.
37. Spielmann N, Wong DT. Saliva: diagnostics and therapeutic perspectives. *Oral Dis*. 2011;17(4):345-54.

38. Pollock ML, Foster C, Schmidt D, Hellman C, Linnerud AC, Ward A. Comparative analysis of physiologic responses to three different maximal graded exercise test protocols in healthy women. *Am Heart J.* 1982;103(3):363-73.

ANEXO A - Este projeto foi aprovado pelo Comitê de ética da Faculdade de Odontologia da USP (CAAE 28132414.6.0000.0075).