



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

Predição da máxima fase estável do lactato em adolescentes obesos ativos pelo Limiar de Concentração de Proteínas Totais Salivares

Aluno: Heitor Santos Cunha

Orientador: Prof^a Dr^a Nadia Carla Cheik

Co-Orientador: Prof. Dr. Foued Salmen Espíndola

UBERLÂNDIA – MG
2012



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA**

Predição da máxima fase estável do lactato em adolescentes obesos ativos pelo Limiar de Concentração de Proteínas Totais Salivares

Aluno: Heitor Santos Cunha

Orientador: Prof^a Dr^a Nadia Carla Cheik

Co-Orientador: Prof. Dr. Foued Salmen Espindola

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Genética e Bioquímica (Área Bioquímica)

**UBERLÂNDIA - MG
2012**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

C972p
2012

Cunha, Heitor Santos, 1986-

Predição da máxima fase estável do lactato em adolescentes obesos ativos pelo limiar de concentração de proteínas totais salivares / Heitor Santos Cunha. -- 2012.

39 f. : il.

Orientador: Nadia Carla Cheik.

Coorientador: Foued Salmen Espindola.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica.

Inclui bibliografia.

1. Bioquímica - Teses. 2. Obesidade - Teses. 3. Lactatos - Teses. 4. Limiar anaeróbio - Teses. 5. Proteínas salivares. I. Cheik, Nadia Carla. II. Espindola, Foued Salmen. III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica. IV. Título.

CDU: 577.1



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

Predição da máxima fase estável do lactato em adolescentes obesos ativos pelo Limiar de Concentração de Proteínas Totais Salivares

ALUNO: Heitor Santos Cunha

COMISSÃO EXAMINADORA

Presidente: Prof^a Dr^a Nadia Carla Cheik

Examinadores: Prof^a Dr^a Ana Raimundo Dâmaso

Prof. Dr. Nilson Penha Silva

Data da Defesa: 30 / 07 / 2012

As sugestões da Comissão Examinadora e as Normas do PPGGB para o formato da dissertação foram contempladas

Prof^a Dr^a Nadia Carla Cheik

Nós somos aquilo que fazemos repetidas vezes, repetidamente.

A excelência, portanto, não é um feito, mas sim um hábito.

Aristóteles

*Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo,
todos podem começar agora e fazer um novo fim.*

Chico Xavier

*À minha fonte maior de inspiração, meus pais e ídolos,
Oswaldo e Antônia,
por dedicarem toda a sua vida e amor
aos seus filhos, incondicionalmente.
Aos meus irmãos, Hugo e Jéssica, e minha namorada Aretusa.
Ao meu mestre e amigo, Dr. Guilherme Agostini.
Dedico a vocês essa realização*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente aos meus pais, que dedicaram toda a sua vida em buscar o melhor para mim e meus irmãos antes mesmo de suas vontades próprias, sem jamais pedir algo em troca. O amor e a luta de vocês para que tudo isso se tornasse possível é algo a que serei eternamente grato, e é por vocês que busco cada dia me tornar uma pessoa melhor.

Aos meus irmãos, que mesmo distantes, são meus alicerces, meus melhores amigos. Sem o apoio de vocês e o ombro amigo nos momentos de dificuldade a jornada seria árdua demais. Obrigado por estarem sempre presentes e ouvirem as lamúrias, mesmo quando não tivessem nenhum fundamento.

Não posso deixar de agradecer àquela que tolera quase todos os meus dias, os melhores e piores, sem nunca deixar de me apoiar e amar. Sua força, carinho, companheirismo e alegria me tornam forte e feliz. Sua paciência, Aretusa, foi fundamental para que tudo isso fosse possível. Obrigado pelo incentivo, pela presença constante, pelo suporte que representa à minha vida, pelo amor que dedica a nós.

Aos amigos e familiares pela companhia e amizade, sempre. Obrigado pelo apoio em todos os momentos.

Ao Professor, Mestre e Amigo, Guilherme Agostini. Você, Dr Gaúcho, foi responsável pelo começo de tudo isso. Assistindo às suas aulas (brilhantes, sempre) e palestras é que vislumbrei um caminho profissional diferente, no meio acadêmico. Sua sede de conhecimento sem nunca deixar a experiência prática de lado, foi e é o maior exemplo. Muito Obrigado Mestre Agostini.

À Prof^a Dr^a Nadia Carla Cheik, minha querida e paciente orientadora, por aceitar me acompanhar nessa jornada e por mostrar com tanto carinho e paciência os caminhos mais corretos. Sua dedicação integral àquilo que faz (e por isso é sempre tão bem feito), gentileza inigualável e sabedoria serão marcas constantes em minha carreira. Obrigado por tudo e Parabéns Mamãe Cheik, fico aguardando a companhia da Ana Laura no Iron de 2025 (rsrs).

Ao Professor João Elias por dividir quase tudo nesse processo árduo, os intermináveis dias de coleta, as viagens para análise (pra São Carlos e para o Umuarama), os momentos bons e ruins da pesquisa e por dividir até a própria

sala. Muitíssimo obrigado Dr João. Foram 2 anos intensos de muitos ensinamentos, foi uma honra compartilhar esse momentos com você.

Aos alunos de IC, psicólogas, nutricionistas e treinadores do projeto (Zul, Allison, Bruno, Renatinha e demais) pelo apoio durante todas as avaliações e treinamentos, o projeto jamais teria continuidade sem a ajuda de vocês.

Ao grande parceiro de São Carlos, agora amigo também, Danilo Bertucci, e também à 'Casa dos Artistas' por nos receber tão bem em um dos momentos mais difíceis dessa jornada, a nebulosa briga com o lactímetro. Você possibilitou que esses dados pudessem estar aqui. Danilão, muito obrigado.

À técnica e Dra Renata Roland, pelo auxílio sem restrições às análises salivares. Sou grande admirador de seu trabalho e dedicação. Muito Obrigado.

Aos Professores Vilmar Baldissera, Sérgio Perez e Audrey B Silva, pela colaboração prestada às análises, cedendo os laboratórios tão amigavelmente nos momentos de urgência

Ao programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica da Universidade Federal de Uberlândia e seus professores, pelos ensinamentos fantásticos desse período que serão levados sempre.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) e à Universidade Federal de Uberlândia (UFU) pelo apoio indispensável à realização de todo esse processo, bem como à oportunidade apresentada.

A todos que direta ou indiretamente participaram dessa conquista, muito obrigado!!

LISTA DE ABREVIATURAS

FC – Frequência Cardíaca

IMC – Índice de Massa Corporal

LAm – Limiar de α -amilase

LAN – Limiar Anaeróbio

LPTS – Limiar de Proteínas Totais Salivares

MFEL – Máxima Fase Estável do Lactato

OMS – Organização Mundial de Saúde

RTC – Razão de Troca Respiratória

VLL – velocidade associada ao limiar de lactato

VLPTS – velocidade associada ao limiar de proteínas totais salivares

VMFEL – velocidade associada à máxima fase estável do lactato

VO₂ max – consumo máximo de oxigênio

VVO₂max – velocidade associada ao consumo máximo de oxigênio

ÍNDICE DE FIGURAS – CAPÍTULO 1

Figura 1. Resposta do lactato sanguíneo a diferentes intensidades de exercício com carga constante. A maior carga na qual a concentração de lactato pode ser mantida em estado estável é definida como a máxima fase estável do lactato (MFEL).....6

Figura 2. Representação do método de análise da curva do lactato $D_{m\acute{a}x}$, maior distância perpendicular da curva da lactatemia até a linha que conecta a concentração inicial e a final do lactato.....7

ÍNDICE DE TABELAS – CAPÍTULO 2

Tabela 1. Valores expressos por Média \pm Desvio Padrão. Massa Corporal (MC), Índice de Massa Corporal (IMC), Ultrassonografia (USG) e Consumo Máximo de Oxigênio (VO_2 max)..... 32

Tabela 2. Velocidade Associada ao VO_2 máx. (VVO_2 máx); Máxima Fase Estável do Lactato (MFEL); Limiar de Proteínas Totais Salivares (LPTS); Limiar de Lactato (LL); Percentual em relação a VVO_2 máx (%). Desvio Padrão (DP). 33

ÍNDICE

ABREVIATURAS.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS – CAPÍTULO 1	ix
ÍNDICE DE TABELAS – CAPÍTULO 2	x
APRESENTAÇÃO.....	1
CAPÍTULO 1: FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	2
REFERÊNCIAS.....	12
CAPÍTULO 2:	22
Predição da MFEL em adolescentes obesos ativos pelo Limiar das Concentrações de Proteínas Totais Salivares	
Resumo.....	24
Abstract	25
Introdução	26
Procedimento e Método	27
Resultados	30
Discussão.....	31
Conclusão	33
Legendas.....	34
Tabelas	35
Referências.....	37

APRESENTAÇÃO

A obesidade tornou-se um dos maiores problemas de saúde pública mundial, não só pelas diversas doenças associadas como também pelo assustador crescimento de sua prevalência tanto em adultos quanto em crianças e adolescentes. Sendo a predição da obesidade e todas as suas comorbidades na fase adulta fortemente influenciada pelo sobrepeso e obesidade na infância e adolescência, a busca por tratamentos e/ou prevenções efetivas estão em evidência.

Dentre as ferramentas não-farmacológicas utilizadas nesse processo, podemos destacar a atividade física e seu papel fundamental não só na prevenção como também na atenuação dos quadros de obesidade, essencialmente por promover elevado gasto calórico e conseqüente balanço energético negativo.

Para que a atividade física seja prescrita de maneira adequada e eficiente, faz-se necessária a utilização de apropriados modelos de avaliação, delimitando parâmetros específicos a cada tipo de indivíduo. Nesse sentido, tradicionalmente têm-se como ferramenta a determinação do Limiar Anaeróbio (LAN), bastante utilizado no meio esportivo bem como em grupos especiais. Sua detecção, na maioria dos casos, é feita por análises sanguíneas, coletadas durante testes máximos e submáximos. Buscando maior facilidade e praticidade na detecção da variável fisiológica (LAN) foi desenvolvido o método salivar, que é mais cômodo ao avaliado e ao avaliador, bem como mais barato e rápido, sendo bastante evidenciado nos últimos anos.

Diante da necessidade de se avaliar para a correta prescrição do treinamento e da clara evidência da importância desse procedimento para grupos especiais, como o adolescente obeso, e levando em consideração a ausência de estudos com o método salivar para indivíduos desta população, propusemos a detecção do LAN pelo método salivar através da comparação deste com os modelos tradicionalmente utilizados: Limiar de Lactato e o padrão ouro MFEL.

CAPÍTULO I

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A obesidade foi considerada pela Organização Mundial de Saúde (OMS), a partir de 1985, uma doença caracterizada pelo excesso de tecido adiposo. Atualmente, esta doença constitui um sério problema de saúde pública, pois alcança proporções epidemiológicas em adultos e a prevalência de crianças e adolescentes vem aumentando assustadoramente. Além disto, a susceptibilidade ao desenvolvimento de outras doenças crônicas degenerativas está aumentada e a qualidade de vida diminuída (WEISS; KAUFMAN, 2008).

Estima-se que existam 100 milhões de obesos no mundo. Nos Estados Unidos entre 60 e 65% da população têm sobrepeso ($IMC \geq 25,0 \text{ kg/m}^2$), e 21% são obesos ($IMC \geq 30,0 \text{ kg/m}^2$) (MOKADAD et al. 2003). No Brasil, observou-se que 50,1% dos homens e 48% das mulheres apresentam sobrepeso, sendo que 12,4% dos homens e 8% das mulheres são obesos (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2010), tornando-se este um dos mais importantes problemas de saúde pública nacional (ABRANTES; LAMOUNIER; COLOSIMO, 2003).

A prevalência da obesidade infantil tem aumentado de forma acentuada nas últimas décadas. Nos EUA, entre 1965 a 1995, esta aumentou 106% em meninas de 6 a 11 anos; 69% em meninas de 12 a 17 anos; 108% em meninos de 6 a 11 anos e 148% em meninos de 12 a 17 anos (BAR-OR, 2003). Este aumento ocorreu também nos países em desenvolvimento, onde a desnutrição costumava ser prevalente, inclusive no Brasil (FERNANDEZ et al. 2000; SEIDELL, 1999; STELLA et al. 2003). No Brasil, a prevalência de excesso de peso na população adolescente (10-19 anos) passou de 3,7% em 1974-1975 para 21,7% em 2008-2009 para meninos, já para meninas estes índices aumentaram de 7,6% 1974-1975 para 19,4% em 2008-2009 (IBGE, 2010).

A constatação do enorme aumento no número de crianças e adolescentes obesos representa um sério problema de saúde pública, uma vez que o sobrepeso ou obesidade nessa população jovem não só aumenta em demasia a chance de desenvolver severas condições médicas (diabetes, hipertensão,

doenças cardiovasculares e respiratórias, problemas ortopédicos e câncer) (PELONE et al. 2012), como também as chances de tornarem-se adultos obesos (JABBOUR et al. 2011). Estima-se que, atualmente, haja aproximadamente 18 milhões de crianças com sobrepeso no mundo todo (EBBELUNG; PAWLAK; LUDWIG, 2002), desde a década de 80 o número de adolescentes obesos triplicou e o de obesos na infância mais que dobrou (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2004).

A obesidade pode ser desencadeada por vários fatores e entre estes o ambiente e o estilo de vida adotado pela população têm forte impacto sobre o desenvolvimento ou refreamento da mesma, a partir do potencial genético herdado. Fundamentalmente, a obesidade resulta de uma ingestão excessiva de nutrientes energéticos em relação à demanda calórica do organismo (balanço energético positivo) (COLAGIURI, 2010). Dentre os principais causadores da obesidade, destacam-se o estilo de vida sedentário aliado ao alto consumo de alimentos. Relacionados às causas intrínsecas, os fatores endógenos, dentre eles principalmente o componente genético, representam aproximadamente 5% dos casos de obesidade (DAMASO, 2009).

Em relação aos fatores genéticos, admite-se que pode ocorrer interação destes com o meio ambiente, e que mudanças no padrão da atividade física e no consumo alimentar podem ser afetadas pela predisposição genética (CLÉMENT; FERRE, 2003), assim como por fatores sociais, psicológicos e comportamentais (RANK et al. 2012). Evidências científicas têm demonstrado que os genes desempenham um papel fundamental na regulação do peso corporal (LEIBEL, 2008; HAN; LAWLOR; KIMM, 2010), sendo que um alto risco determinado geneticamente para a obesidade pode ser atribuído a diferentes polimorfismos de nucleotídeos, como o observado no gene *FTO*, que está relacionado à obesidade prematura (RANK et al. 2012). Entretanto, esta predisposição genética somente levará a um fenótipo obeso na presença de um ambiente obesogênico. Além do mais, estas associações podem ser alteradas por modificações no estilo de vida (BARSH; FAROOGI; O'RAHILLI, 2000; MARTI et al. 2004).

Uma importante modificação no estilo de vida é a adoção da prática regular de atividade física. Diversos autores demonstraram em seus estudos (ANTIC; LAZAREVIC; VELOJIC, 2009; MELLO et al. 2011; STRASSER;

SCHOBERSBERGER, 2010; GORAN; REYNOLDS; LINDQUIST, 1999; HILLS; BYRNE, 2006) o importante papel da atividade física regular como ferramenta não farmacológica para tratamento e/ou prevenção da obesidade, bem como de suas comorbidades associadas (Doenças Cardiovasculares, Diabetes Mellitus 2, Resistência Insulínica, Síndrome Metabólica, dentre outras). De acordo com Strasser e Schobersberger (2010) há boas evidências de que, independentemente de restrição dietética, a atividade física (em seu estudo, o treinamento resistido) reduz a massa gorda corporal total bem como o tecido adiposo visceral. Assim, não sendo os fatores genéticos a causa principal da grande prevalência da obesidade, a atividade física pode ser o maior alvo para prevenção da mesma em jovens, uma vez que a inatividade física prediz forte e independentemente a obesidade (MELLO et al. 2011).

Sabendo-se do fundamental papel da atividade física como terapia eficiente contra a obesidade, o primeiro passo a ser dado é a avaliação da aptidão física desses indivíduos para a prescrição apropriada da intensidade de trabalho (PASCHOAL; FONTANA, 2011). Nader e Nery (2003) ressaltam a importância de se avaliar os indivíduos durante o exercício, pois não há uma única variável de repouso justificada clinicamente e fisiologicamente que consiga prever, com exatidão, o quanto capaz um indivíduo é para efetuar uma tarefa física. O exercício físico pode ser definido como a produção de movimento corporal pela ação muscular, com aumento do gasto energético além do repouso (MCARDLE; KATCH; KATCH, 2005), sendo vários os seus componentes (resistência, força, flexibilidade, dentre outros). A resistência se refere à capacidade de tolerar a fadiga e depende do suprimento energético aos músculos em trabalho, podendo ser avaliada pelo consumo máximo de oxigênio (VO_{2MAX}) (KYROLAINEN et al. 2010) como também pelo limiar anaeróbio (LAN), dois dos parâmetros mais utilizados para avaliar a capacidade física tanto de indivíduos saudáveis quanto de doentes (WASSERMAN; BEAVER; WHIPP, 1990; DAVIS, 1985; WASSERMAN; MCLLROY, 1964; WASSERMAN et al. 1973).

Inicialmente o LAN foi proposto com o intuito de identificar criteriosamente uma intensidade de exercício, que não necessitasse levar indivíduos cardiopatas ao máximo (WASSERMAN; MCLLROY, 1964), sendo que, atualmente, seu uso é rotineiro também em populações atléticas visando não só a predição do

desempenho (BENEKE; HUTLER; LEITHAUSE, 2000; BILLAT, 1996), mas também o controle das intensidades de treinamento.

O LAN representa o ponto no qual o exercício passa a estressar de maneira acentuada o organismo do indivíduo. Sob o ponto de vista metabólico, determina a intensidade na qual ocorre acentuada atividade glicolítica. Wasserman e McIlroy (1964) determinaram essa intensidade pela plotagem da ventilação pelo consumo de oxigênio, o que tornou popular o método de predição da aptidão física pelas trocas gasosas, principalmente no meio clínico (FAUDE; KINDERMANN; MEYER, 2009).

Na década de 60 foi desenvolvido o método enzimático para mensurar as concentrações de lactato de amostras de sangue capilarizados (FAUDE; KINDERMANN; MEYER, 2009), o que possibilitou o desenvolvimento de diversos outros estudos posteriormente. Nesses, foi identificado então que, em exercício de baixa intensidade, há pequeno aumento inicial na lactatemia proveniente da anaerobiose muscular; após esse breve aumento, a concentração sanguínea de lactato retorna aos valores basais. Entretanto, em elevada intensidade de exercício, o lactato exibe aumento sustentado até o final do exercício.

Além disso, existe também uma intensidade de exercício na qual a concentração de lactato aumenta no início e depois se estabiliza, mantendo-se constante até o final. Essa intensidade representa uma condição de equilíbrio de estado estacionário, situação em que a taxa de formação de lactato é igual a sua taxa de remoção, tendo sido denominada de máxima fase estável do lactato (MFEL) (Figura 1) (BOSQUET; LEGER; LEGROS, 2002).

Segundo Faude; Kindermann; Meyer (2009), a MFEL também pode ser definida como a maior intensidade constante de exercício que pode ser mantida por um longo período de tempo sem um contínuo aumento do lactato sanguíneo. Essa faixa de intensidade é correspondente à do LAN identificado por Wasserman e McIlroy (1964) pelo método ventilatório, ou pelo menos ambos os métodos (MFEL e LAN) visavam a identificação da mesma intensidade. Ainda segundo Faude; Kindermann; Meyer (2009), o conhecimento da MFEL possibilita a correta descrição da intensidade dos treinamentos aeróbios, o que claramente apresenta um ponto chave no direcionamento das sobrecargas de treinamentos aplicadas a

grupos especiais, não só pela segurança e eficiência do exercício, como também pela maior chance de adesão aos programas estruturados.

A MFEL é o método mais preciso para determinação da intensidade de exercício onde ocorre o equilíbrio entre a produção e a remoção do lactato, sendo então considerado como padrão ouro. A intensidade correspondente a ela é dada pela variação da lactatemia de, no máximo, 1 mM entre o décimo e o trigésimo minuto de exercício (HECK et al. 1985); no entanto, para que se possa determinar tal intensidade são necessários vários dias de testes, o que aumenta em demasia os custos da avaliação bem como o estresse causado aos indivíduos, além de prejuízos para planejamento dos treinamentos.

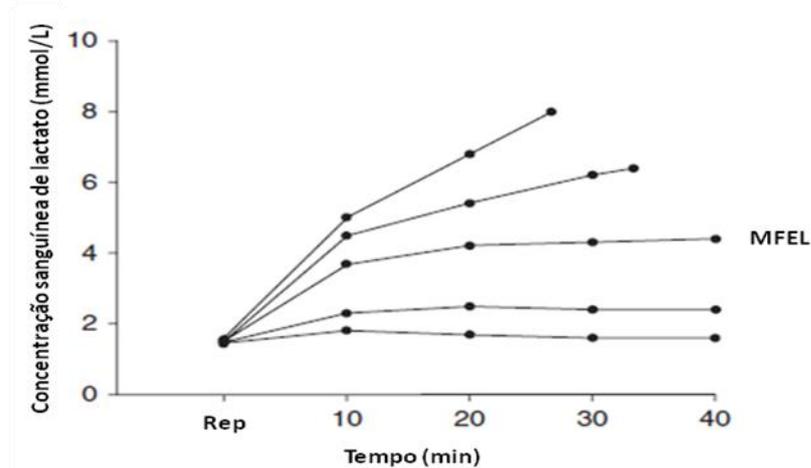


Fig. 1. Resposta do lactato sanguíneo a diferentes intensidades de exercício com carga constante. A maior carga na qual a concentração de lactato pode ser mantida em estado estável é definida como a máxima fase estável do lactato (MFEL). Adaptado de Faude e colaboradores [37].

Diante do desafio de avaliar os indivíduos para que as prescrições das intensidades de treino sejam adequadas, diversos autores propuseram modelos que pudessem identificar com precisão a MFEL em testes de dia único, otimizando assim o processo de avaliação (BILLAT, 1996; SJODIN; JACOBS; KARLSSON, 1981; BACON; KERN, 1999; STEGMANN; KINDERMANN; SCHNABEL, 1981, CHENG; KUIPERS; SNYDER, 1992; BISHOP; JENKINS; MACKINNON, 1998; TEGTBUR; BUSSE; BRAUMANN, 1993). A maioria dos protocolos prediz a MFEL pelo ponto de inflexão observado na curva lactacidêmica em resposta a teste incremental, podendo a validação e a fidedignidade desses protocolos serem demonstradas pelas correlações existentes entre os modelos utilizados e a MFEL.

Denadai et al. (2004) submetem homens treinados e não treinados a teste incremental máximo em cicloergômetro de membros inferiores, bem como aos testes de carga constante com duração de 30 min (MFEL), encontrando correlações entre os métodos de $r=0,77$ e $r=0,81$ para os indivíduos treinados e não treinados, respectivamente.

Esse ponto de quebra da linearidade da curva associado à MFEL também é observado no padrão ventilatório, como mostrado em estudo recente de Leti et al. (2012), no qual eles puderam estimar em dia único a MFEL pela correlação e concordância da velocidade associada à razão de troca respiratória (RTC) igual a 1,00 (RTC=1,00) e a MFEL ($r=0,79$ e $p=0,0008$).

Além de diversos modelos de protocolos incrementais sugeridos para determinação do LAN, também existem vários métodos de análise do ponto de inflexão da curva de lactato. Cheng; Kuipers; Snyder (1992) determinaram a maior distância perpendicular da curva da lactatemia até a linha que conecta a concentração inicial e a final do lactato e a denominaram como $D_{máx}$ (Figura 2), estabelecendo assim um modelo matemático para análise da curva do lactato. Na tentativa de eliminar a influência da carga inicial, Bishop; Jenkins; Mackinnon (1998) modificaram o $D_{máx}$ conectando a linha do primeiro aumento da concentração de lactato com a lactatemia da carga final. Posteriormente, esse modelo de análise do lactato foi confirmado pela alta correlação ($r=0,85$) entre o $D_{máx}$ modificado e a MFEL, em ciclistas de elite (VAN SCHUYLENBERGH; VANDEN EYNDE; HESPEL, 2004).

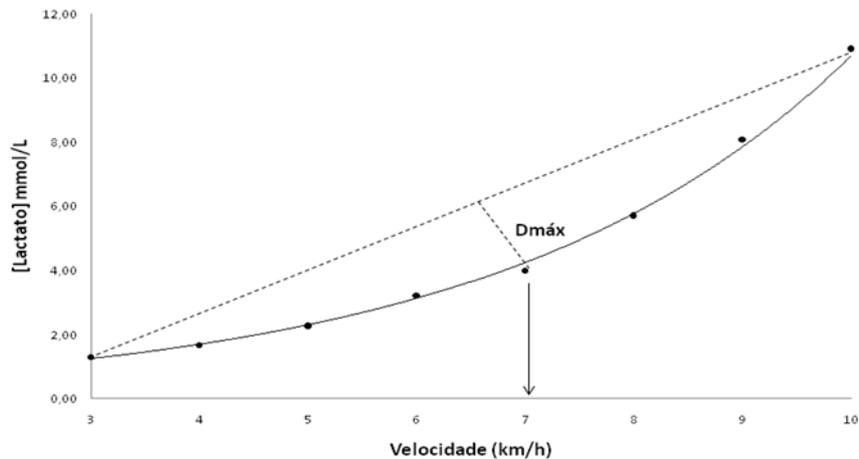


Fig. 2. Representação do método de análise da curva do lactato pela determinação do $D_{máx}$, maior distância perpendicular da curva da lactatemia até a linha que conecta a concentração inicial e a final do lactato.

Nesse mesmo sentido, esse padrão de resposta ao exercício também pode ser visto ao analisarmos a curva das concentrações de catecolaminas em resposta a testes incrementais (WELTMAN, et al. 1994; SCHNEIDER; MACLELLAN; GASS, 2000).

Sendo a liberação de catecolaminas uma resposta à atividade simpática encontrada em determinado momento do exercício e tendo sua resposta um padrão não linear, no qual pode ser observado um ponto em que a curva passa a apresentar uma característica exponencial, várias inferências podem ser feitas sobre o comportamento fisiológico de nosso organismo àquela faixa de intensidade. Acima desta intensidade há maior recrutamento das fibras do tipo IIx, assim como, maior atividade glicolítica e consequente utilização de maior quantidade de glicogênio. Ambos os fatores, são mediados pelo aumento da atividade adrenérgica. Essa resposta das fibras musculares concomitante com o aumento da atividade metabólica leva a maior produção de lactato, o que então justifica a presença das curvas de lactato na predição das intensidades (leve, moderado e intenso) dos exercícios. Diante disso, vários estudos estabeleceram curvas a partir das concentrações das catecolaminas, correlacionando-as com as curvas lactacidêmicas.

Weltman et al. (1994) submeteram remadores a testes incrementais em remoergômetro e esteira ergométrica, sendo observado que independentemente do tipo de exercício o limiar de lactato ocorreu na mesma concentração de

epinefrina. Corroborando esses dados, Schneider; Maclellan; Gass (2000) realizaram testes incrementais em cicloergômetro de braços e de pernas com indivíduos não treinados, sendo coletadas amostras sanguíneas durante todos os estágios. Ao plotarem a concentração das catecolaminas e do lactato em função da carga em cada estágio observaram que o ponto de quebra na curva ocorreu na mesma intensidade, fundamentando a hipótese de que o aumento na concentração plasmática de epinefrina talvez contribua com o ponto de quebra no lactato sanguíneo durante teste incremental.

Essas alterações bioquímicas encontradas no sangue, em resposta ao exercício, também estão presentes em outros componentes dos sistemas corporais, como a saliva (OLIVEIRA et al. 2010). Sabendo-se que a composição e fluxo salivar são controlados pelo sistema nervoso autônomo, qualquer modificação da atividade do mesmo, como a observada em resposta ao exercício de intensidade crescente, pode ser indiretamente identificada por alterações nos componentes do fluido salivar (DENNIS et al. 1978).

Chicharro et al. (1994) confirmaram essa hipótese determinando o LAN pela análise dos eletrólitos salivares (Na^+ e Cl^-). Essa correlação encontrada entre o LAN e a saliva desencadeou a execução de diversos outros trabalhos, principalmente pelas vantagens desse método em relação ao sanguíneo: alternativa não invasiva que gera menor desconforto e dor ao avaliado, conveniência na coleta para o avaliador (simples, barato e rápido) (PARRY, 1973), grande segurança por se tratar de um fluido classe I de biossegurança (SHIRTCLIFF et al. 2001) e facilidade de coleta fora dos laboratórios (manuseio e armazenamento).

Devido à similaridade do ponto de inflexão nas concentrações das catecolaminas e do lactato, Calvo e colaboradores (CALVO; CHICHARRO; BANDRES, 1997) propuseram a identificação do LAN pelas concentrações de α -amilase na saliva e, ao analisar a resposta de 20 indivíduos saudáveis a um teste incremental submáximo em esteira ergométrica, observaram um padrão exponencial da atividade α -amilase e obtiveram alta correlação entre o limiar de lactato (LL) e o limiar de α -amilase (LAm) ($r=0,93$ e $p<0,001$).

Outros estudos também foram publicados mostrando a forte correlação entre o LAm e o LL, Oliveira e colaboradores (OLIVEIRA et al. 2010) submeteram

12 ciclistas a teste incremental máximo em cicloergômetro com coleta de sangue e saliva, sendo encontrada posteriormente correlação entre os limiares (lactato e α -amilase) ($r=0,84$ e $p<0,05$). Por sua vez, Bocanegra et al. (2012), corroborando os estudos anteriores, mostraram correlação entre a α -amilase e o LL ($r=0,81$), ao submeterem 12 nadadores profissionais a teste incremental máximo.

A amilase é a proteína mais abundante na saliva (10-20%) e é sintetizada principalmente pela glândula parótida (SPEIRS et al. 1974; TURNER; SUGIYA, 2002; NATER et al. 2006). A saliva é o produto misto de várias glândulas, sendo 3 pares delas as mais representativas, além da parótida, também há atuação da submandibular e sublingual (PROCTOR; CARPENTER, 2007). No entanto, como enfatizado no estudo de Bosh et al. (2011), as glândulas salivares são órgãos sofisticados e heterogêneos, capazes de responder com alto nível de especificidade a estímulos relevantes para a digestão, função imune, estresse, dentre outros. Estes autores também apontam o conteúdo total de amilase na boca como o resumo de um grande número de fatores intervenientes, sendo a estimulação glandular via atividade simpática somente um deles, necessitando assim que a avaliação do LAN pela atividade da α -amilase seja feita com cautela.

Como alternativa, por representar a atividade de todas as glândulas presentes na boca, têm-se então a análise da concentração total de proteínas na saliva (CTPS). Foi observado que a CTPS é aumentada em resposta a exercícios físicos exaustivos [63], e também após desidratação aguda durante o exercício ou devido ao calor (WALSH et al. 2004).

Diante destas evidências, Bortolini et al. (2008) propuseram um modelo mais simples de detecção do LAN pela saliva. Eles submeteram 13 indivíduos ativos a teste incremental máximo em cicloergômetro e após analisar a CPTS, observaram que estas apresentavam o mesmo padrão de curva encontrado nas concentrações de lactato; ao aplicar um método de identificação do limiar ($D_{m\acute{a}x}$) (CHENG; KUIPERS; SNYDER, 1992), encontraram forte correlação entre os modelos ($r=0,93$ e $p<0,05$), estabelecendo assim, o limiar de proteínas totais salivares (LPTS).

A análise da concentração de proteínas na saliva é feita pelo método de Bradford (1976) através de um espectrofotômetro, e por todas as amostras serem analisadas ao mesmo tempo e em função de uma curva padrão, este método

torna-se bastante aplicável e confiável. Estas inferências podem ser feitas com base nas observações das práticas laboratoriais para os vários métodos de detecção do limiar. O método sanguíneo, modelo eletroenzimático de análise do lactato, só analisa uma amostra por vez, o que o torna demorado e caro. Também utiliza-se de técnica invasiva, o que pode complicar alguns tipos de avaliações bem como a segurança dos atletas (BOCANEGRA et al. 2012), além de necessitar de manuseio e armazenamento cuidadoso, bem como avaliador experiente para coleta das amostras. Em relação ao método da α -amilase bem como outros utilizados na saliva, a avaliação pela concentração total das proteínas apresenta como principais vantagens o menor custo e a rapidez do método (BRADFORD, 1976; TOWBIN; STAEHELIN; GORDON, 1979).

A facilitação oferecida pelo método salivar, não só para o avaliador, mas também para o avaliado, aumenta consideravelmente as chances de sucesso de programas de treinamentos aplicados a populações especiais, como o adolescente obeso, já que soma-se ao quadro fisiológico doente deste tipo de população a baixa aderência em programas de exercícios físicos, pois avaliar sem causar desconforto ao indivíduo, bem como identificar a intensidade correta do treino a ser aplicado, torna-se bastante útil e prático, não só pela segurança, mas também pela comodidade e rapidez (LAFORTUNA et al. 2010).

Interessantemente, esse não é um tema abordado com frequência em estudos relacionados à obesidade (TAN; YANG; WANG, 2010). Diversos trabalhos com populações obesas utilizam como parâmetro de prescrição do treinamento aeróbio marcadores subjetivos de esforço, como a frequência cardíaca (FC), que sequer foram correlacionados com algum marcador bioquímico relacionado ao exercício e à individualidade do sujeito, como o LAN, um conceito básico na fisiologia no exercício (PFITZINGER; FREEDSON, 1997).

No estudo de Pinet et al (2008), sugere-se a utilização do VO_{2MAX} e, na ausência deste, a FC como marcador da intensidade do exercício. No próprio estudo os autores demonstram haver influência do grau de obesidade nesses marcadores de intensidade. Outra dificuldade da utilização do VO_2 e da FC é não se poder prever qual é a intensidade de exercício associada ao LAN, visto que não há, na resposta dessas variáveis, nenhum indício que aponte para determinação do limiar na população obesa. Além disso, como apontado no

estudo de Tan; Yang; Wang (2010) nem todas as crianças e adolescentes atingem VO_{2MAX} em testes, e assim determinar com precisão a intensidade do exercício referente ao LAN, baseando-se somente nos parâmetros anteriormente citados, torna-se inviável. Desta forma fica evidenciada a necessidade de protocolos de avaliação, como o LAN, devidamente adequados para a população de adolescentes obesos.

A resposta alterada das catecolaminas ao exercício nesta população pode causar erros ou mesmo impossibilitar a identificação do LAN. Eliakim et al. (2006) observaram que ao submeter crianças e adolescentes normais e obesos a uma sessão de exercício em cicloergômetro acima do LAN, os indivíduos obesos apresentaram resposta substancialmente atenuada das catecolaminas plasmáticas, bem como do GH. Resposta bastante similar foi encontrada no estudo de Ormsbee et al. (2009), quando adultos obesos e não obesos foram submetidos a sessões de exercícios resistidos.

Como a resposta do lactato e da CPTS parecem ser dependentes da atividade adrenérgica, para que se possa identificar de maneira precisa o LAN nesses indivíduos faz-se necessária a comparação dos métodos, tanto o salivar quanto o de lactato, com o padrão ouro de detecção do LAN, a MFEL, assegurando-se assim a confiabilidade dos dados encontrados.

Diversos estudos comprovam a existência e eficiência do modelo salivar para predizer o LAN, no entanto estes estudos não compararam os limiares encontrados com a MFEL, o que pode gerar conclusões equivocadas, além disso, não foram encontrados estudos que tivessem utilizado o LPTS para identificação da LAN em adolescentes obesos. Diante disso e da necessidade de se obter um parâmetro seguro e eficaz para a prescrição de treinamento para essa população nos propusemos a investigar a hipótese de que, ao submeter adolescentes obesos ativos a testes incrementais máximos, é possível identificar o LAN tanto pela saliva quanto pelo lactato.

REFERÊNCIAS

ABRANTES MM, LAMOUNIER JA, COLOSIMO EA. Prevalência de sobrepeso e obesidade nas regiões Nordeste e sudeste do país. **Revista da Associação Médica Brasileira**. 49(2): 162-166, 2003.

ANTIC S, LAZAREVIC G, VELOJIC M. Exercise as a therapeutic option in cardiometabolic risk reduction. **Medicinski Pregled**. 62(3):59–65, 2009

BACON L, KERN M. Evaluating a test protocol for predicting maximum lactate steady-state. **Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**. 39: 300-308, 1999.

BAR-Or, O. A epidemia da obesidade juvenil: a atividade física é relevante? **Gatorade Sport Science Institute**, julho/agosto/setembro, 2003.

BARSH GS, FAROOGI IS, O'RAHILLI S: Genetics of body-weight regulation. **Nature**. 404:644-651, 2000.

BENEKE R, HUTLER M, LEITHAUSE RM. Maximal lactate steady-state independent of performance. **Medicine and Science Sports Exercise**. 32(6): 1135-1139, 2000.

BILLAT VL. Use of blood lactate measurements for prediction of exercise performance and for control of training: Recommendations for long-distance running. **Sports Medicine**. 22(3): 157-175, 1996.

BISHOP D, JENKINS DG, MACKINNON LT. The relationship between plasma lactate parameters, W_{peak} and 1-h cycling performance in women. **Medicine and Science Sports Exercise**. 30(8): 1270-1275, 1998

BOCANEGRA OL, DIAZ MM, TEIXEIRA RR, SOARES SS, ESPINDOLA FS. Determination of the lactate threshold by means of salivary biomarkers:

chromogranin A as novel marker of exercise intensity. **European Journal of Applied Physiology**. Jan 7, 2012 (epub ahead of print).

BORTOLINI MJ, DE AGOSTINI GG, REIS IT, LAMOUNIER RP, BLUMBERG JB, ESPINDOLA FS. Total protein of whole saliva as a biomarker of anaerobic threshold. **Research Quarterly for Exercise and Sport**. 80: 604-610, 2008.

BOSH JA, VEERMAN ECI, GEUS EJ, PROCTOR GB. α -Amylase as a reliable and convenient measure of sympathetic activity: don't start salivating just yet! **Psychoneuroendocrinology**. 36: 449-453, 2011.

BOSQUET L, LEGER L, LEGROS P. Methods to determine aerobic endurance. **Sports Medicine**. 32(11): 675-700, 2002.

BRADFORD MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry** 72:248-254, 1976.

CALVO F, CHICHARRO JL, BANDRES F. Anaerobic threshold determination with analysis of salivary amylase. **Canadian Journal of Applied Physiology** 22:553-56, 1997.

Centers for Disease Control and Prevention. (2004). Overweight among U.S. Children and Adolescents. National Health and Nutrition Examination Survey. [WWW document]. URL <http://www.cdc.gov> (accessed 20 December 2011)

CHENG B, KUIPERS H, SNYDER AC. A new approach for determination of ventilator and lactate thresholds. **International Journal of Sports Medicine**. 1992

CHICHARRO JL, LEGIDO JC, ALVAREZ J et al. Saliva electrolytes as a useful tool for anaerobic threshold determination. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**. 68:214-218, 1994.

CLÉMENT K, FERRE P. Genetics and pathophysiology of obesity. **Pediatric Research**. 53: 721-25, 2003.

COLAGIURI S. Diabetes: Therapeutic options. **Diabetes, Obesity and Metabolism** 12: 463–473, 2010.

DAMASO AR. Obesidade. 2ed. **Guanabara Koogan**, 2009.

DAVIS JA. Anaerobic threshold: review of the concept and directions for future research. **Medicine and Science Sports Exercise**.17(1):6-21, 1985.

DENADAI BS, FIGUEIRA TR, FAVARO OR, GONÇALVES M. Effect of the aerobic capacity on the validity of the anaerobic threshold for determination of the maximal lactate steady state in cycling. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. 37(10):1551-6, 2004.

DENNIS AR, SCHNEYER LH, SUCANTHAPREE C, YOUNG JÁ. Actions of adrenergic agonists on isolated excretory ducts of submandibular glands. **American Journal of Physiology**. 235: 548-556, 1978.

EBBELUNG CB, PAWLAK DB, LUDWIG DD. Childhood obesity: public health crisis, common sense curve. **Lancet** 360: 473–481, 2002.

ELIAKIM A, NEMET D, ZALDIVAR F, et al. Reduced exercise-associated response of the GH-IGF-I axis and catecholamines in obese children and adolescents. **Journal of Applied Physiology**.100(8): 1630-7, 2006.

FAUDE O, KINDERMANN W, MEYER T. Lactate threshold concepts: how valid are they? **Sports Medicine**. 39:469–490, 2009.

FERNANDEZ AC, CINTRA AL, SAWAYA AL, FISBERG M, SILVA AC. Respostas metabólicas e cardio-respiratórias ao exercício máximo e submáximo em meninas

eutróficas e com desnutrição pregressa. **Revista da Associação Médica Brasileira**. 46(4): 1-15, 2000.

GORAN MI, REYNOLDS KD, LINDQUIST CH. Role of physical activity in the prevention of obesity in children. **International Journal Obesity and Related Metabolism Disorders**. 23(3):18-33, 1999.

HAN JC, LAWLOR DA, KIMM SYS. Childhood Obesity – 2010: Progress and Challenges. **Lancet**. 375(9727): 1737–1748, 2010.

HECK H, MADER A, HESS G, MUCKE S, MULLER R, HOLLMANN W. Justification of the 4 mmol/L lactate threshold. **International Journal of Sports Medicine**. 61:219-224, 1985.

HILLS AP, BYRNE NM. State of the science: a focus on physical activity. **Asia Pacific Journal Clinical Nutrition**. 15: 40–48, 2006.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) - Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009. Antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil. Rio de Janeiro, 2010.

JABBOUR G, LEMOINE-MOREL S, CASAZZA GA, HALA Y, MOUSSA E, ZOUHAL H. Catecholamine Response to Exercise in Obese, Overweight, and Lean Adolescent Boys. **Medicine and Science Sports Exercise**., 43(3): 408-415,2011.

KYROLAINEN H, SANTTILA M, NINDL BC, VASANKARI T. Physical Fitness Profile in Young Men: Associations between physical fitness, obesity and health. **Sports Medicine**. 40 (11): 907-920, 2010.

LAFORTUNA CL, LAZZER S, AGOSTI F, BUSTI C, GALLI R, MAZZILLI G, SARTORIO A. Metabolic responses to submaximal treadmill walking and cycle

ergometer pedalling in obese adolescents. **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**. 20: 630–637, 2010.

LEIBEL RL. Energy In, Energy Out, and the Effects of Obesity-Related Genes. **The New England Journal of Medicine**. 359;24, 2008.

LETI T, MENDELSON M, LAPLAUD D, FLORE P. Prediction of maximal lactate steady state in runners with an incremental test on the field. **Journal of Sports Science**. 30(6): 609-16, 2012.

MARTI A, MORENO-ALIAGA MJ, HEBEBRAND J, MARTINEZ JA. Genes, lifestyles and obesity. **International Journal of Obesity and Related Metabolism Disorders**. 28(3):29-36, 2004.

MCARDLE WD, KATCH FI, KATCH VL. Fisiologia do Exercício. Energia, nutrição e desempenho humano, 4 ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 2005.

MELLO MT, PIANO A, CARNIER J, SANCHEZ PL, CORREA FA, TOCK L, ERNANDES RMY, TUFIK S, DAMASO AR. Long-Term Effects of Aerobic Plus Resistance Training on the Metabolic Syndrome and Adiponectinemia in Obese Adolescents. **The Journal of Clinical Hypertension (Greenwich)**. 13:343–350, 2011.

MOKADAD, AH, FORD ES, BOWMAN BA, DIETZ WH, VINICOR F, BALES VS, MARKS JS. Prevalence of obesity, diabetes, and obesity-related health risk factors. **Journal of the American Medical Association**. 289: 76-79, 2003.

NATER UM, LA MARCA R, FLORIN L, MOSES A, LANGHANS W, KOLLER MM, EHLERT U. Stress-induced changes in human salivary alpha-amylase activity – associations with adrenergic activity. **Psychoneuroendocrinology**. 31: 49-58, 2006.

NEDER JA, NERY LE. Fisiologia Clínica do Exercício. **Artes Médicas**. São Paulo 2003.

OLIVEIRA VN, BESSA A, LAMOUNIER RPMS, SANTANA MG, MELLO MT, ESPINDOLA FS. Changes in the salivary biomarkers induced by an effort test. **International Journal of Sports Medicine**. 31:377–381, 2010.

ORMSBEE MJ, CHOI MD, MEDLIN JK, GEYER GH, TRANTHAM LH, DUBIS GS, HICKNER RC. Regulation of fat metabolism during resistance exercise in sedentary lean and obese men. **Journal of Applied Physiology** 106: 1529 – 1537, 2009.

PARRY JV. Simple, reliable salivary tests for HIV and hepatitis A and B virus diagnosis and surveillance. **Annals of the New York Academy of Sciences**. 694: 216-233, 1993.

PASCHOAL MA, FONTANA CC, 2011 Method of Heart Rate Variability Threshold Applied in Obese and Non-obese Pre-adolescents. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. 2011[online].ahead print, PP.0-0).

PELONE F, SPECCHIA ML, VENEZIANO MA, CAPIZZI S, BUCCI S, MANCUSO A, RICCIARDI W, BELVIS AG. Economic impact of childhood obesity on healthsystems: a systematic review. **Obesity Reviews**. 13: 431–440, 2012.

PFITZINGER P, FREEDSON P. Blood lactate responses to exercise in children: Part 2. Lactate threshold. **Pediatric Exercises Sciences**. 9:299–307, 1997.

PINET BM, PRUD'HOMME D, GALLANT CA, BOULAY P. Exercise intensity prescription in obese individuals. **Obesity**. 16: 2088–2095, 2008.

PROCTOR GB, CARPENTER GH. Regulation of salivary gland function by autonomic nerves. **Autonomic Neuroscience**. 133:3–18, 2007.

RANK M, SIEGRIST M, WILKS DC, HALLER B, WOLFARTH B, LANGHOF H, HALLE M. Long-term effects of an inpatient weight-loss program in obese children and the role of genetic predisposition-rationale and design of the LOGIC-trial. **Pediatrics**. 12:30, 2012.

SCHNEIDER DA, MACLELLAN TM, GASS GC. Plasma catecholamine and blood lactate responses to incremental arm and leg exercise. **Medicine and Science Sports Exercise**. 32: 608-613, 2000.

SEIDELL JC. Obesity: a growing problem. **Acta Paediatric Supplement**. 88(428) 46-50, 1999.

SHIRTCLIFF EA, GRANGER DA, SCHWARTS E, CURRAN MJ. Use of salivary biomarkers in biobehavioral research: cotton-based sample collection methods can interfere with salivary immunoassay results. **Psychoneuroendocrinology**. 26: 165-173, 2001.

SJODIN B, JACOBS I, KARLSSON J. Onset of blood lactate accumulation and marathon running performance. **International Journal of Sports Medicine**. 2: 23-26, 1981.

SPEIRS RL, HERRING J, COOPER WD, HARDY CC, HIND CR. The influence of sympathetic activity and isoprenaline on the secretion of amylase from the human parotid gland. **Archives of Oral Biology**. 19: 747-752, 1974.

STEGMANN H, KINDERMANN W, SCHNABEL A. Lactate kinetics and individual anaerobic threshold. **International Journal of Sports Medicine**. 2: 160-165, 1981.

STELLA SG, FERNADEZ A C, VILAR AP, LACROIX C, FISBERG M, MELO MT, TUFIK S. Estudo comparativo das capacidades aeróbia e anaeróbia de adolescentes com obesidade severa da cidade de São Paulo. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**. 11(1): 23-28, 2003.

STRASSER B, SCHOBERSBERGER W. Evidence for Resistance Training as a Treatment Therapy in Obesity. **Journal of Obesity**. 2011; 2011.

TAN S, YANG C, WANG J. Physical Training of 9-to-10-year-old children with obesity to lactate threshold intensity. **Pediatric Exercise Science**. 22: 477-485, 2010.

TEGTBUR U, BUSSE MW, BRAUMANN KM. Estimation of an individual equilibrium between lactate production and catabolism during exercise. **Medicine and Science Sports Exercise**. 25: 620-627, 1993.

TOWBIN H, STAEHELIN T, GORDON J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications **Proceeding of the National Academy of Sciences**. 76(9):4350-4, 1979.

TURNER RJ, SUGIYA H. Understanding salivary fluid and protein secretion. **Oral Diseases**. 8: 3-11, 2002.

VAN SCHUYLENBERGH R, VANDEN EYNDE B, HESPEL P. Correlations between lactate and ventilatory thresholds and the maximal lactate steady state in elite cyclists. **International Journal of Sports Medicine**. 25(6): 403-8, 2004.

WALSH NP, BLANNIN AK, CLARK AM, COOK L, ROBSON PJ, GLEESON M. The effects of high-intensity intermittent exercise on saliva IgA, total protein and alpha-amylase. **Journal of Sports Sciences**. 17: 129-134, 1999.

WALSH NP, MONTAGUE JC, CALLOW N, ROWLANDS AV. Saliva flow rate, total protein concentration and osmolality as potential markers of whole body hydration status during progressive acute dehydration in humans. **Archives of Oral Biology**. 49: 149-154, 2004.

WASSERMAN K, BEAVER WL, WHIPP BJ. Gas exchange theory and the lactic acidosis (anaerobic) threshold. **Circulation**. 81(1): 14-30, 1990.

WASSERMAN K, MCLLROY MB. Detecting the threshold of anaerobic metabolism in cardiac patients during exercise. **American Journal of Cardiology.** 14:844-52, 1964.

WASSERMAN K, WHIPP BJ, KOYAL SN, BEAVER WL. Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise. **Journal of Applied Physiology.** 35(2):236-43, 1973.

WEISS R, KAUFMAN FR. Metabolic complications of childhood obesity: identifying and mitigating the risk. **Diabetes Care.** 31(2): 310-6, 2008.

WELTMAN A, WOOD CM, WOMACK CJ, DAVIS SE, BLUMER JL, ALVAREZ J, SAUER K, GAESSER GA. Catecholamine and blood lactate responses to incremental rowing and running exercise. **Journal of Applied Physiology.** 1144-9, 1994.

CAPÍTULO II

Predição da máxima fase estável do lactato em adolescentes obesos ativos pelo Limiar de Concentração de Proteínas Totais Salivares

O capítulo II está de acordo com as normas da revista *International Journal of Sports Medicine* (versão ainda em português)

(http://www.thieme.de/SID-C1A791F6-FB255C/local_pdf/fz/IJSM_Instructions2012-01.pdf)

Predição da máxima fase estável do lactato em adolescentes obesos ativos pelo Limiar de Concentração de Proteínas Totais Salivares

CUNHA HS¹, NUNES JED¹, AGOSTINI GG¹, TEIXEIRA RR¹, ESPINDOLA FS¹,
CHEIK NC¹

¹ Universidade Federal de Uberlândia, UFU

RESUMO

Este estudo comparou o limiar de proteínas totais salivares (LPTS) e o limiar de lactato (LL) com a máxima fase estável do lactato (MFEL) de adolescentes obesos ativos submetidos a testes máximos e submáximos em esteira ergométrica. Participaram deste estudo 16 adolescentes obesos (IMC=34,1 ± 2,9) (idade 15-19 anos) sendo 6 homens e 10 mulheres, todos pós-púberes. Foi realizado teste incremental em ambiente climatizado (22-25 °C) constituído por estágios de 2 min com 30seg de intervalo (coleta de sangue e saliva) até a exaustão voluntária. A MFEL foi realizada com cargas aleatoriamente escolhidas (entre 55-85% da vVO₂max) e determinada pela análise da concentração de lactato entre o 10^o e o 30^o minuto. O LPTS e o LL foram determinados pelos métodos Dmax e Δ1mmol/L, respectivamente. Os valores de velocidade média (km.h⁻¹) associada à MFEL, ao LPTS e ao LL foram, respectivamente de 6,7 ± 0,7; 6,5 ± 1,1 e 6,8 ± 1,1, não sendo encontrada diferença estatística significativa entre elas. As correlações obtidas foram MFEL e LPTS (r=0,56 e p < 0,05), MFEL e LL (r=0,66 e p < 0,05), LL e LPTS (r=0,60 e p < 0,05). Em conclusão, adolescentes obesos apresentam LPTS similar à MFEL e ao LL, evidenciando a aplicabilidade desse método também para essa população.

Palavras Chave: Exercício, Limiar de Lactato, Limiar Salivar e Proteína Total

ABSTRACT

This study compared the total protein salivary threshold (TPST) and lactate threshold (LT) with maximal lactate steady state (MLSS) of active adolescents with obesity undergoing submaximal and maximal tests on a treadmill. The study included 16 obese, 6 boys and 10 women, (BMI = 34.1 ± 2.9 kg.m²) (age 15-19 years), all post-pubescent. Incremental test was performed (2 minutes of stage and 30 seconds of rest between stages) in air-conditioned environment (22-25 ° C) until volitional exhaustion. The MLSS was assessed by performing submaximal running tests with a maximum duration of 30 minutes. The intensities of 55, 65, 75 and 85% of the velocity associated with VO₂max (vVO₂max) were randomly chosen. The velocities associated with the MLSS, TPST and LT were 6.7 ± 0.7 , 6.5 ± 1.1 and 6.8 ± 1.1 km.h⁻¹, respectively. There was no significant difference between the methods. Significant correlations were found between MLSS and LPTS ($r = 0.56$ and $p < 0.05$), MLSS and LT ($r = 0.66$ and $p < 0.05$), and LL/ LPTS ($r = 0.60$ and $p < 0, 05$). In conclusion, active adolescents with obesity have TPST similar to MLSS and LT, demonstrating the applicability of this method for this population.

Key Words: Exercise, Lactate Threshold, Salivary Threshold and Total Protein

INTRODUÇÃO

A obesidade constitui um sério problema de saúde pública, pois alcança proporções epidemiológicas em adultos e a prevalência em crianças e adolescentes vem aumentando assustadoramente [25]. O risco relativo da criança obesa se tornar um adulto obeso é de 4,7 vezes maior em relação às crianças eutróficas [14].

Dentre as principais intervenções para prevenção e controle da obesidade está a prática regular de exercícios físicos, com seu papel neste tratamento já bem elucidado [13,14]. Um dos parâmetros comumente utilizados para determinação da capacidade física e da intensidade de treino aeróbio é o limiar anaeróbio (LAN) [22-24], expresso pelo ponto de aumento não-linear na concentração de lactato sanguíneo, com tendência exponencial [24]. Para avaliar o LL é necessário realizar várias coletas sanguíneas durante o teste, o que pode gerar inconveniências, por ser um método invasivo e não tolerado por muitos indivíduos. Devido a essas limitações, biomarcadores do exercício que são encontrados na saliva têm sido estudados, por proverem uma alternativa que pode ser utilizada com rapidez, frequência e sem estresse [18].

Em seu estudo, Calvo e colaboradores [5] sugeriram a validade da análise das mudanças na amilase salivar como um método novo e não-invasivo de determinação do LL, em estudo conduzido com 20 homens fisicamente ativos. Nesse mesmo sentido, Oliveira e cols (2010) encontraram alta correlação entre o LL, a concentração de proteínas totais na saliva (CPTS) e a expressão da enzima α -amilase salivar em teste incremental com 12 ciclistas treinados, corroborando os dados de Bortolini e colaboradores [3], que também encontraram forte correlação entre a CPTS e o LL, em estudo no qual utilizou 13 homens treinados. Recentemente, Bocanegra e colaboradores [2], avaliaram a variação intra-individual entre lactato salivar, α -amilase salivar e cromogranina A em relação ao acúmulo de lactato sanguíneo em 12 nadadores profissionais durante teste incremental, observando forte correlação entre as variáveis.

Todos esses estudos evidenciam a detecção do LAN em amostras de saliva, no entanto, esta importante e útil ferramenta de avaliação apresenta a limitação de ser específica a populações de indivíduos atletas ou fisicamente

ativos, não tendo sido encontrado nenhum estudo que utilizasse tal protocolo em adolescentes obesos. Assim, o objetivo deste estudo foi comparar o método salivar de detecção do limiar anaeróbio em adolescentes obesos com o limiar de lactato, bem como, correlacioná-los com a máxima fase estável do lactato (MFEL).

PROCEDIMENTOS E MÉTODO

Amostra

No total, 16 indivíduos participaram voluntariamente do estudo (Tabela 1). Todos os participantes atendiam ao critério de inclusão: idade entre 15-19 anos, serem pós-puberes (de acordo com a classificação de Tanner [20] por estágios) e apresentarem obesidade (IMC > percentil 95 da curva proposta pelo *Center of Control Diseases* – CDC). Critérios de exclusão foram a identificação de doenças genéticas, metabólicas ou endócrinas e uso prévio de drogas. Consentimento Livre e Esclarecido foi obtido de todos os sujeitos e de seus pais para participação neste estudo, o qual teve seu projeto aprovado foi pelo Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de Uberlândia (498/10).

Procedimento Experimental

Teste Incremental para Avaliação do LAN (lactato e saliva)

Os voluntários familiarizados com as condições laboratoriais e os procedimentos de teste realizaram um teste incremental, sendo advertidos para limitarem suas atividades físicas e se absterem de estimulantes (café, guaraná, etc.) ou substâncias contendo corantes nas últimas 24h anteriores ao teste, bem como a realizarem sua última refeição no mínimo 2 horas antes do teste. Todos os testes foram conduzidos em esteira ergométrica (Movement - RT 250pro) e foram iniciados com 1% de inclinação e velocidade de 3km/h. Incrementos na velocidade em 1km/h foram feitos a cada 2,5 min, sendo que os últimos 30 segundos foram utilizados para coleta de sangue e de saliva, com o voluntário

parado ao lado do ergômetro. O critério para interrupção do teste foi a exaustão voluntária.

Determinação do Limiar (lactato e saliva)

A determinação do Limiar pelas concentrações de lactato sanguíneas (LL) plotadas em função da velocidade (km/h) foi feita de acordo com o método $\Delta 1$ mmol/L [7]. Já a detecção do LAN pelas concentrações totais de proteínas salivares (LPTS) plotadas também em função da velocidade (km/h) foi feita pelo método D_{max} [21].

Teste Incremental para Avaliação do Consumo Máximo de Oxigênio (VO_{2max})

Após no mínimo 48 horas de descanso, foi utilizado para detecção do consumo máximo de oxigênio (VO_{2max}) o ergoespirômetro FITMATE (Cosmed Srl - Italy) em teste incremental com protocolo idêntico ao utilizado para determinar o LAN, no entanto neste teste não foram realizadas coletas de sangue e saliva. O VO_{2max} foi determinado pela maior medida obtida pelo aparelho. A velocidade associada ao VO_{2max} (VVO_{2max}) foi obtida pela seguinte fórmula:

$$VVO_{2max} = EC + (TEI \div 120)$$

onde, EC representa a velocidade do último estágio completo (km/h) e TEI representa o tempo em segundos do último estágio incompleto.

Avaliação da Máxima Fase Estável do Lactato (MFEL)

Os voluntários foram submetidos a testes com carga constante na esteira ergométrica a fim de determinar a MFEL individualizada. Foram aleatoriamente utilizadas intensidades de 55 a 85% da VVO_{2max} . Os testes tiveram duração de 30min e foram realizados com no mínimo 24 horas de descanso entre os mesmos. A cada 10 min os voluntários eram instruídos a interromperem o exercício (30 segundos) para que pudessem ser coletadas as amostras de sangue. A MFEL foi determinada pela maior intensidade (km/h) de caminhada ou

corrida na qual o indivíduo não apresentasse concentração de lactato sanguíneo superior a 1 mmol/L entre os minutos 10 e 30.

Proteínas Totais Salivares (PTS)

A coleta de saliva foi feita pelo método de cuspe [17], sendo que não foi utilizado nenhum tipo de estimulação, como parafina ou chiclete, para evocar a secreção salivar. Foi indicada aos voluntários a realização de assepsia da boca antes dos testes, para evitar contaminação das amostras com 'debris' celulares e outros materiais. A saliva foi coletada durante um período de 30 segundos com os 30 segundos anteriores utilizados pelo voluntário para o acúmulo da mesma. As amostras de saliva foram colocadas em mini-tubos e congeladas a -20°C até o dia da análise. Todas as análises foram feitas em duplicata. As proteínas salivares foram mensuradas pelo método de Bradford [4].

Lactato Sanguíneo

Sangue capilarizado (25µL) obtido do lóbulo da orelha foi coletado e armazenado em mini-tubos contendo 50µL de NaCl a 1%, deixado por no máximo 3h no gelo, e em seguida congelado a -20° C até a data das análises. O lactato sanguíneo foi analisado pelo método eletroenzimático (Yellow Springs, model 1500 sports)

Mensuração da Gordura Visceral e Subcutânea

Todos os procedimentos de ultrassonografia abdominal, para mensurações da gordura visceral e subcutânea, foram realizados de maneira duplo-cego pelo mesmo médico, especialista em diagnóstico por imagem, usando um transdutor de multifrequência 3.5-MHz. Este procedimento permite que se reduza o risco de erros de classificação. O coeficiente intra-exame de variação para ultrassonografia foi de 0,8%. A determinação ultrassonográfica da gordura subcutânea foi definida como a distância entre a pele e a face externa do músculo reto abdominal, e a gordura visceral foi definida como a distância entre o mesmo músculo e a parede anterior da aorta.

Análise Estatística

Para todas as variáveis obtidas neste estudo foi aplicado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk, sendo as mesmas descritas como média e desvio padrão. Para determinação das diferenças entre os métodos de avaliação foi utilizada análise de variância (ANOVA “one-way”). Já para a análise da correlação entre os métodos foi utilizada a correlação de Pearson. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$ e o programa utilizado para análise dos dados foi o Statistic, versão 7.0 (StatSoft - USA).

RESULTADOS

As características gerais dos voluntários bem como seu perfil antropométrico e consumo máximo de O_2 estão dispostos na tabela 1.

A VVO_2 máx, a velocidade associada a MFEL (VMFEL), a velocidade associada ao LPTS (VLPTS) e a velocidade associada ao LL (VLL), bem como seus correspondentes percentuais em relação à VVO_2 máx estão representados na tabela 2.

Foi observado que não há diferença estatisticamente significativa das velocidades absolutas ($p=0,7$), bem como, das médias percentuais relativas à VVO_2 max ($p=0,13$) entre MFEL, LPTS e LL.

A análise de correlação entre os métodos demonstrou coeficientes de correlação significativos entre MFEL e LL ($r=0,66$; $p < 0,05$), entre MFEL e LPTS ($r=0,56$; $p < 0,05$) e LPTS e LL ($r=0,60$; $p < 0,05$).

A identificação dos limiares, tanto para as proteínas totais salivares quanto para o lactato, foi possível pela característica exponencial das curvas ($r^2 > 0,85$; $p < 0,05$), em ambos os métodos.

DISCUSSÃO

O principal achado deste estudo foi a confirmação de que o método de identificação do LPTS pode determinar o limiar de lactato e/ou MFEL em adolescentes obesos. Esses achados são confirmados pela diferença não significativa entre os métodos utilizados (LL, LPTS e MFEL) para a velocidade do limiar em km/h e para o percentual da VVO_2 máx, bem como pela correlação significativa encontrada para a velocidade do limiar em km/h entre LPTS e LL e entre LPTS e MFEL.

A existência desta correlação, bem como a não observação de diferença entre os métodos de identificação do limiar, decorre do fato de que as proteínas encontradas na saliva provêm quase que inteiramente de estimulação simpática nas glândulas salivares [19]. Sendo as variações nas concentrações de catecolaminas no sangue em resposta a exercícios máximos dadas por uma curva com característica exponencial [11,15], comportamento esse altamente correlacionado ao do lactato sanguíneo, infere-se, portanto, que as proteínas contidas na saliva responderão da mesma maneira, fato esse corroborado pelos dados de nosso estudo (Tabela 2).

Sob o ponto de vista metodológico, esta é uma ferramenta de grande importância para a avaliação física de indivíduos com os mais variados níveis de condicionamento, uma vez que representa uma maneira não invasiva de correlacionar a intensidade do exercício e o limiar de lactato [3,5,6]. Além disso, a utilização das proteínas oferece um método de fácil coleta e manipulação, e apesar de utilizar-se de técnicas bioquímicas, é de simples e rápida análise, já que todas as amostras são dosadas de uma só vez com os resultados obtidos a partir de uma curva padrão [4], o que os tornam, por esta razão, bastante confiáveis.

Bortolini e colaboradores [3] demonstraram pela primeira vez a alta correlação existente entre o LPTS e o LL ($r=0,93$; $p<0,05$), além da diferença não significativa entre seus valores ($p=0,16$), sendo utilizado neste estudo o método Dmax para análise das curvas em indivíduos ativos. Posteriormente Oliveira e colaboradores [18] e Bocanegra e colaboradores [2] utilizaram em seus estudos o método de regressão linear bissegmentada, também encontrando em seus

respectivos estudos alta correlação entre o limiar salivar e o de lactato em nadadores profissionais. No entanto, nenhum destes estudos utilizou a MFEL como parâmetro de comparação entre os métodos avaliados, fator esse importante ao determinar novas ferramentas de análise, já que a MFEL é considerada o padrão ouro para avaliação do limiar [1, 9].

Adicionalmente, em nosso estudo foi utilizado o método Dmax [21] para a análise das curvas de proteínas totais salivares, por sua fácil aplicação bem como confiabilidade, o que confirma os achados dos estudos anteriormente citados, visto que não foi encontrada diferença significativa entre o LPTS e a MFEL.

Ressalta-se ainda que, de acordo com os nossos conhecimentos, não existe na literatura científica estudos que tenham endereçado esta temática à prescrição de exercícios para indivíduos com obesidade. Sendo esta doença considerada uma epidemia global, com características epidemiológicas, de difícil prevenção e tratamento, somado ao fato de que o exercício físico é uma importante ferramenta de controle da obesidade e melhor prognosticador de novo peso alcançado [13], destacamos a relevância do presente estudo.

O propósito da determinação da MFEL é delimitar com precisão as zonas alvo de treinamento para a ideal prescrição do mesmo. Ao tratarmos de indivíduos obesos ou qualquer outra população que tenha como objetivo a saúde e qualidade de vida, posto que a MFEL represente a intensidade acima da qual o estresse fisiológico do exercício torna-se acentuado [1, 9], a prescrição acertada de intensidades de treinos é de grande importância, dependendo dela o sucesso do treinamento e a segurança do exercício.

Para diversos autores [1, 9, 22-24] a faixa compreendida entre o limiar de lactato e a MFEL, representa uma zona de intensidade na qual o indivíduo sustenta a atividade por aproximadamente 30 a 60min. Desta maneira, a identificação de valores aproximados a essa zona alvo, como os encontrados em nosso estudo podem predizer o limiar com segurança e desta maneira orientar o direcionamento das sobrecargas nos treinamentos.

A crescente prevalência de obesidade e sobrepeso ressalta a necessidade de intervenções para reverter esse quadro. Os dados apresentados neste estudo corroboram com pesquisas previamente executadas [2, 3, 18] nas quais foram encontradas correlações significativas entre o LL e o LPTS em indivíduos ativos

e/ou atletas, e assim a aplicabilidade do método salivar fica evidente também para a população de obesos, por predizer tanto a MFEL quanto LL. Nesse contexto, o exercício físico pode contribuir como tratamento coadjuvante no processo de emagrecimento, por meio de mudanças fisiológicas e bioquímicas agudas e crônicas [8, 12, 16].

CONCLUSÃO

Nossos dados sugerem que é possível fazer a predição da MFEL em adolescentes obesos pelo método salivar, através do LPTS. A facilidade e rapidez da coleta, comodidade e segurança ao avaliado e ao avaliador, bem como eficiência do método sugerem a relevância do LPTS como ferramenta de avaliação também a grupos especiais, especificamente a adolescentes obesos ativos.

LEGENDAS

TABELA 1: Valores expressos por Média \pm Desvio Padrão. Massa Corporal (MC), Índice de Massa Corporal (IMC), Ultrassonografia (USG) e Consumo Máximo de Oxigênio (VO_2 max).

TABELA 2: Velocidade Associada ao VO_2 máx. (VVO_2 máx); Máxima Fase Estável do Lactato (MFEL); Limiar de Proteínas Totais Salivares (LPTS); Limiar de Lactato (LL); Percentual em relação a VVO_2 máx (%). Desvio Padrão (DP).

TABELAS:

Tabela 1:

CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA	
n=16	6 homens; 10 mulheres
Idade (anos)	16,7 ±1,4
MC (kg)	95,8 ± 13,8
Altura (m)	1,7± 0,1
IMC (kg/m ²)	34,1 ± 2,9
Circunferência Abdominal (cm)	108,4 ± 8,5
USG: Espessura da Gordura Subcutânea (mm)	4,4 ± 1,1
USG: Espessura da Gordura Visceral (mm)	4,9 ± 1,5
VO2 max (mL.kg ⁻¹ .min ⁻¹)	27,6 ± 2,7

Tabela 2:

Voluntários	vVO2 max	MFEL		LPTS		LL	
	(km.h ⁻¹)	(km.h ⁻¹)	%	(km.h ⁻¹)	%	(km.h ⁻¹)	%
1	8,0	6,0	75,0	5,0	62,5	6,0	62,5
2	11,2	7,3	65,2	7,0	62,5	7,0	53,6
3	12,0	8,4	70,0	8,0	66,7	10,0	75,0
4	8,8	6,1	69,3	7,0	79,6	7,0	56,8
5	12,0	7,8	65,0	7,0	58,3	7,0	58,3
6	8,7	6,5	74,7	5,0	57,5	6,0	69,0
7	8,4	5,8	69,1	6,0	71,4	6,0	71,4
8	8,0	6,5	69,9	5,0	53,8	6,0	64,5
9	8,6	6,0	69,8	6,0	69,8	7,0	81,4
10	10,0	6,5	65,0	7,0	70,0	7,0	60,0
11	9,9	6,9	69,7	9,0	90,9	7,0	70,7
12	10,4	6,5	62,5	7,0	67,3	8,0	57,7
13	10,0	7,0	70,0	6,0	60,0	7,0	70,0
14	10,3	6,6	64,1	7,0	68,0	5,0	48,5
15	9,2	6,0	65,2	6,0	65,2	6,0	65,2
16	10,2	6,6	64,7	6,0	58,8	7,0	49,0
Média	10,0	6,7	68,1	6,5	66,4	6,8	69,7
DP	±1,3	± 0,7	± 3,7	± 1,1	± 9,2	± 1,1	± 8,9

REFERÊNCIAS

1. BENEKE R, LEITHAUSER RM, OCHENTEL O. Blood lactate diagnostics in exercise testing and training. **Int J Sports Physiol Perform.** 6: 8-24, 2011.
2. BOCANEGRA OL, DIAZ MM, TEIXEIRA RR, SOARES SS, ESPINDOLA FS. Determination of the lactate threshold by means of salivary biomarkers: chromogranin A as novel marker of exercise intensity. **Eur J Appl Physiol.** Jan 7, 2012 (epub ahead of print).
3. BORTOLINI MJ, DE AGOSTINI GG, REIS IT, LAMOUNIER RP, BLUMBERG JB, ESPINDOLA FS. Total protein of whole saliva as a biomarker of anaerobic threshold. **Res Q Exerc Sport.** 80: 604-610, 2008.
4. BRADFORD MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding. **Anal Biochem** 72:248–254, 1976.
5. CALVO F, CHICHARRO JL, BANDRES F. Anaerobic threshold determination with analysis of salivary amylase. **Can J Appl Physiol** 22:553–56, 1997.
6. CHICHARRO JL, LEGIDO JC, ALVAREZ J et al. Saliva electrolytes as a useful tool for anaerobic threshold determination. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol** 68:214–218, 1994.
7. DAMASO AR, PIANO A, SANCHES PL, CORGOSINHO F, TOCK L, OYAMA LM, TOCK L, NASCIMENTO CMO, TUFIK S, MELLO MT. Hyperleptinemia in obese adolescents deregulates neuropeptides during weight loss. **Peptides.** 32: 1384–1391, 2011.
8. FAUDE O, KINDERMANN W, MEYER T. Lactate threshold concepts: how valid are they? **Sports Med.** 39:469–490, 2009.

9. GORAN MI, REYNOLDS KD, LINDQUIST CH. Role of physical activity in the prevention of obesity in children. **Int J Obes Relat Metab Disord.** 23(3):18-33, 1999.
10. GREEN HJ, HUGSON RL, ORR GW, RANNEY DA. Anaerobic Threshold, blood lactate and muscle metabolites in progressive exercise. **J Appl Physiol.** 54: 1032-1038, 1983.
11. HAGBERG JM, COYLE EF. Physiological determinants of endurance performance as studied in competitive racewalkers. **Med Sci Sports Exerc.** 15(4): 287-289, 1983.
12. ISMAIL I, KEATING SE, BAKER MK, JONHSON NA. A systematic review and meta-analysis of the effect of aerobic vs. Resistance exercise training on visceral fat. **Obes Reviews.** 13: 68–91, 2012.
13. JAKICIC JM, CLARK K, COLEMAN E. American College of Sports Medicine position stand. Appropriate intervention strategies for weight loss and prevention of weight regain for adults. **Med Sci Sports Exerc** 2001;33: 2145–2156.
14. KYROLAINEN H, SANTTILA M, NINDL BC, VASANKARI T. Physical Fitness Profile in Young Men: Associations between physical fitness, obesity and health. **Sports Med,** 40 (11): 907-920, 2010.
15. MAZZEO RS, MARSHALL PM. Influence of plasma catecholamines on the lactate threshold during graded exercise. **J Appl Physiol.** 67: 1319-1322, 1989.
16. MELLO MT, PIANO A, CARNIER J, SANCHEZ PL, CORREA FA, TOCK L, ERNANDES RMY, TUFIK S, DAMASO AR. Long-Term Effects of Aerobic

- Plus Resistance Training on the Metabolic Syndrome and Adiponectinemia in Obese Adolescents. **J Clin Hypertens (Greenwich)**. 13:343–350, 2011.
17. NAVAZESH M. Methods for collecting saliva. **Ann N Y Acad Sci**. 694 : 72 – 77, 1993.
18. OLIVEIRA VN, BESSA A, LAMOUNIER RPMS, SANTANA MG, MELLO MT, ESPINDOLA FS. Changes in the salivary biomarkers induced by an effort test. **Int J Sports Med** 31:377–381, 2010.
19. PROCTOR GB, CARPENTER GH. Regulation of salivary gland function by autonomic nerves. **Auton Neurosci**. 133:3–18, 2007.
20. TANNER JM, WHITEHOUSE RH. Clinical longitudinal standards for height, weight velocity and stages of puberty. **Arch Dis Child**. 51:170–9, 1976.
21. VAN SCHUYLENBERGH R, VANDEN EYNDE B, HESPEL P. Correlations between lactate and ventilatory thresholds and the maximal lactate steady state in elite cyclists. **Int J Sports Med**. 25(6): 403-8, 2004.
22. WASSERMAN K, BEAVER WL, WHIPP BJ. Gas exchange theory and the lactic acidosis (anaerobic) threshold. **Circulation**. 81(1): 14-30, 1990.
23. WASSERMAN K, MCLLOY MB. Detecting the threshold of anaerobic metabolism in cardiac patients during exercise. **Am J Cardiol**. 14:844-52, 1964.
24. WASSERMAN K, WHIPP BJ, KOYAL SN, BEAVER WL. Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise. **J Appl Physiol**. 35(2):236-43, 1973.
25. WEISS R, KAUFMAN FR. Metabolic complications of childhood obesity: identifying and mitigating the risk. **Diab Care**. 31(2): 310-6, 2008.