

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

**O ESTUDO DE BIOMARCADORES SALIVARES E
PLASMÁTICOS EM INDIVÍDUOS IDOSOS EM CICLO
ERGÔMETRO COM CARGAS CRESCENTES**

ALUNO: Anibal Monteiro de Magalhães Neto, M. Sc.

ORIENTADOR: Foued Salmen Espindola, Ph. D.

UBERLÂNDIA-MG

2007

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

**O ESTUDO DE BIOMARCADORES SALIVARES E
PLASMÁTICOS EM INDIVÍDUOS IDOSOS EM CICLO
ERGÔMETRO COM CARGAS CRESCENTES**

ALUNO: Anibal Monteiro de Magalhães Neto, M. Sc.

ORIENTADOR: Foued Salmen Espindola, Ph. D.

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

UBERLÂNDIA-MG
2007

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

**TÍTULO: O ESTUDO DE BIOMARCADORES SALIVARES E PLASMÁTICOS
EM INDIVÍDUOS IDOSOS EM CICLO ERGÔMETRO COM CARGAS
CRESCENTES**

ALUNO: Anibal Monteiro de Magalhães Neto, M. Sc.

COMISSÃO EXAMINADORA

Presidente: Prof. Dr. Foued Salmen Espindola – UFU

Examinadores: _____

Data da Defesa: ____/____/____

As sugestões da Comissão Examinadora e as Normas da PGGB pra o
formato da Dissertação/Tese foram contempladas

Prof. Dr. Foued Salmen Espindola

Uberlândia-MG, ____/____/____.

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pelo Sistema de Bibliotecas da UFU / Setor de
Catalogação e Classificação

M188e Magalhães Neto, Anibal Monteiro de, 1973-
 O estudo de biomarcadores salivares e plasmáticos em indivíduos
 idosos em ciclo ergômetro com cargas crescentes / Anibal Monteiro de
 Magalhães Neto. 2007.
 82 f. : il.
 Orientador: Foued Salmen Espíndola.
 Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Progra-
 ma de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica.
 Inclui bibliografia.
 1. Exercícios físicos - Aspectos fisiológicos - Teses. I. Espíndola,
 Foued Salmen. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de
 Pós-Graduação em Genética e Bioquímica. III. Título.

CDU: 612.766.1

LISTA DE ABREVIATURAS

°C	Graus Celsius
A	Idosos Atletas Homens
AFRID	Programa de Atividades Físicas e Recreativas para Idosos
DO	Densidade Óptica
ECG	Eletrocardiograma
EROs	Espécies Reativas do Oxigênio
FAEFI	Faculdade de Educação Física
FC _{MÁX}	Frequência Cardíaca Máxima
g	Gramas
H	Idosos Homens
H ₂ O ₂	Água Oxigenada
HC	Hospital de Clínicas
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IE	Elisa
IgA	Imunoglobulinas A
Kg	Kilogramas
LA	Limiar Anaeróbio
LAS	Limiar Salivar
LL	Limiar de Lactato
M	Mulheres Idosas
mg	Miligramas
microL	Microlitros
microM	Micromolar
mL	Mililitros
mm	Milímetros
mm/Hg	Milímetros de Mercúrio
NA ⁺	Sódio
NEED	(1-Naphthyl) ethyl-ene diamine

nm	Nanômetros
NO	Óxido Nítrico
NO ₂ ⁻	Nitrito
NO ₃ ⁻	Nitrato
OPD	Dicloridrato de Ortofenilenadamina
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PQ	Ponto de Quebra
PRPs	Proteínas Ricas em Prolina
T0	Estágio Pré-Exercício
T15	Estágio Pós-Exercício de 15 minutos
T5	Estágio Pós-Exercício de 5 minutos
TF	Estágio Final do Exercício
UFU	Universidade Federal de Uberlândia
VO ₂ MÁX	Medida do consumo máximo do oxigênio em uma determinada unidade de tempo

SUMÁRIO

CAPÍTULO I.....	01
RESUMO GERAL.....	02
ABSTRACT.....	03
INTRODUÇÃO.....	04
As teorias do envelhecimento.....	05
O processo de envelhecimento.....	07
Exercício físico e o processo de envelhecimento.....	10
Biomarcadores plasmáticos.....	11
A saliva.....	12
A saliva e o processo de envelhecimento.....	13
Biomarcadores salivares.....	14
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19
CAPÍTULO II.....	29
RESUMO.....	31
ABSTRACT.....	32
INTRODUÇÃO.....	34
MATERIAL E MÉTODOS.....	37
Critério de inclusão e exclusão dos voluntários.....	37
Protocolo do teste de esforço com cargas crescentes.....	38
Coleta e análises da saliva.....	39
Coleta e análise do sangue.....	41
Análise Estatística.....	42
RESULTADOS.....	43
DISCUSSÃO.....	44
CONCLUSÃO.....	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52
TABELAS.....	62
TABELA 1.....	62
TABELA 2.....	63
TABELA 3.....	64

TABELA 4.....	65
TABELA 5.....	66
LEGENDAS DAS FIGURAS.....	67
FIGURA 1.....	67
FIGURA 2.....	67
FIGURA 3.....	67
ILUSTRAÇÕES.....	68
FIGURA 1.....	68
FIGURA 2.....	69
FIGURA 3.....	70
CONCLUSÃO GERAL.....	71
ANEXOS.....	72
ANEXO I – Termo de Consentimento do Voluntário.....	72
ANEXO II – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa nº 045/06.....	75
ANEXO III – Manuscrito de Submissão de Artigo para Revista <i>Biogerontology</i>	76

CAPÍTULO I

“REVISÃO DA LITERATURA”

RESUMO GERAL

Ao processo de envelhecimento estão associadas as perdas sociais, cognitivas, neuromotoras e metabólicas, capazes de comprometer seriamente a qualidade de vida do idoso, levando-o à perda de autonomia e à dependência física, psicológica e econômica, com relação à família e à sociedade. Já é estabelecido que a prática regular de exercícios físicos contribui para um envelhecimento saudável, mostrando assim um aumento na expectativa de vida. Exercícios físicos praticados regularmente inibem alterações orgânicas que se associam ao processo degenerativo, contribuem para a reabilitação de determinadas doenças que podem aumentar os índices de morbidade e mortalidade, agindo também sobre a saúde mental e eficácia cognitiva. Por esta razão, tem sido criada estratégia de ações com o propósito de estimular os idosos a aderirem à prática regular do exercício físico, pois seus efeitos são decorrentes da prática razoavelmente prolongada e reversíveis. Dessa forma, em particular, os exercícios físicos são considerados como um caso típico de ajustamento ao estresse do estímulo e não como adaptação. O exercício físico pode induzir alterações na concentração, atividade e composição de vários componentes plasmáticos e salivares, tais como, lactato, imunoglobulinas, proteínas, óxido nítrico, amilase e eletrólitos. A saliva é constituída principalmente de água, além de conter também constituintes orgânicos e inorgânicos. O controle da secreção salivar é mediado por uma ação combinada de estímulos simpáticos e parassimpáticos, onde o sistema adrenérgico atua primariamente na secreção de proteínas e o colinérgico na regulação da secreção de eletrólitos e água. Esse estudo analisou os efeitos do exercício físico agudo em esteira no lactato sangüíneo e nos biomarcadores salivares (proteína total, amilase, óxido nítrico e imunoglobulinas A) em idosos ativos e idosos atletas.

PALAVRAS CHAVES: Idoso, Biomarcadores, Exercício físico, Estresse, Saliva, Lactato.

ABSTRACT

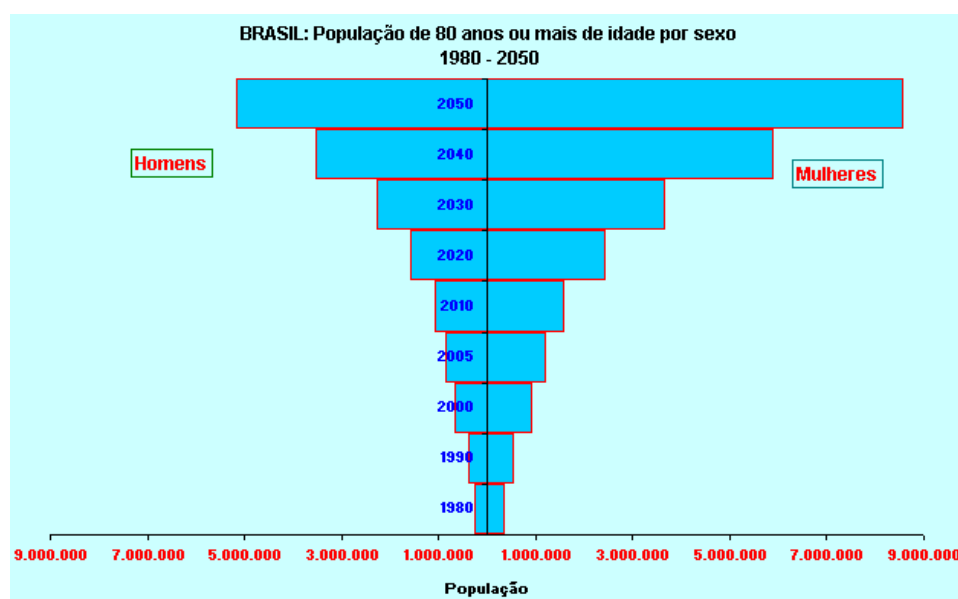
To the ageing process are associated the losses social, cognitive, neuromotors and metabolic, capable of compromising seriously the quality of aged life, leading to the loss of autonomy and physical, psychological and economic dependence, related to the family and society. It is established that the regular practice of physical exercise contributes to healthy ageing, thus showing an increase in expectation of life. Physical exercises regularly practiced inhibit organic changes that are associated to the degenerative process, contribute to the rehabilitation of certain diseases that may increase the rates of morbidity and mortality, acting also on mental and cognitive health. For this reason, has been established strategy with the aim of encouraging the aged to join the regular practice of physical exercise, because their effects are arising from the practice reasonably prolonged and reversible. Thus, in particular, the physical exercises are considered as a typical case of adjustment to stress the stimulus and not as adaptation. The exercise can induce changes in concentration, activity and composition of plasma and salivary several components, such as lactate, immunoglobulin, proteins, nitric oxide, amylase and electrolytes. Saliva is composed primarily of water, and also contain organic and inorganic constituents. The control of the salivary secretion is mediated by a combined share of parasympathetic and sympathetic stimuli, where the adrenergic system operates primarily in the secretion of proteins and cholinergic in regulating the secretion of electrolytes and water. This study examined the effects of acute exercise in the lactate plasmatic and salivary biomarkers (total protein, amylase, nitric oxide and immunoglobulin A) in the active aged and aged athletes.

KEY WORDS: Aged, Biomarcadores, Physical exercise, Stress, Saliva, lactate.

INTRODUÇÃO

O envelhecimento da população mundial esta causando um grande impacto nas nações e o Brasil não fica fora de tal afirmativa. O Instituto de Geografia e Estatística (IBGE, 2000) relata em seus indicadores sociais que a expectativa de vida no Brasil tende a aumentar, tendo sua variação estimada, entre os anos de 1980 e 2050, de uma expectativa de vida variando de 62,97 a 73,59 anos conforme a Figura 1.

FIGURA 1: **Projeção da População do Brasil (1980-2050).**



Assim, a população total do território brasileiro corresponde há 146.825.475, onde que 14.536.029 são de idosos, o que corresponde a 8,56% da população nacional segundo o senso demográfico do IBGE (2000). No estado de Minas Gerais há população está estimada em 15.743.152, onde que 7,3% desta população corresponde a população de idosos. Em Uberlândia-MG residem 37.570 pessoas consideradas idosas (IBGE, 2000).

O envelhecimento é um processo contínuo que acontece no decorrer da vida. A literatura aceita um ponto de corte aos 65 anos de idade a partir do qual as pessoas seriam consideradas idosas. Este corte da faixa etária é adotado pela Organização das Nações Unidas para os países desenvolvidos (ONU, 1985 apud

NETTO, 1996). Além disso, países considerados sub-desenvolvidos ou em fase de desenvolvimento, esta expectativa torna-se menor, por isso, adotou-se os 60 anos como idade de transição dos indivíduos para o segmento idoso da população.

As teorias do envelhecimento

Não está exatamente claro como o corpo envelhece, porém, sabe-se que o processo de envelhecimento difere de pessoa para pessoa. São várias as definições e teorias sobre como e porque envelhecemos, contudo todas concordam que o organismo ao envelhecer sofre, como um todo, alterações em seus sistemas e funções de forma progressiva, tornando-o mais vulnerável às doenças (LIMA, OSELLA e OLIVEIRA, 2003).

Desse modo, faremos uma abordagem sobre cada uma delas:

1 - Teoria da Tábua da Vida: Quanto às mudanças nas causas de mortalidade, constata-se um declínio dos óbitos relacionados às doenças que mais incidem sobre a população infantil (infecção-contagiosas e respiratórias), e a diminuição nas doenças típicas da população idosa (neoplasmas e doenças dos aparelhos circulatório e respiratório). Tais mudanças refletem, principalmente, na diminuição da mortalidade infantil e o prolongamento da expectativa de vida (IBGE, 2000).

2 - Teoria do Envelhecimento dos Órgãos: O organismo envelhece como um todo, mas seus órgãos têm um envelhecimento com tempo próprio mais ou menos acentuado. Os processos de envelhecimento moleculares promovem alterações bioquímicas e fisiológicas no sistema nervoso, no sistema cardiovascular, respiratório e urinário, além de órgãos como fígado, pele e a musculatura esquelética (cartilagens e ossos). Não sabe-se qual o sistema que entra em falência primeiro, porém, quando um sistema ou órgão específico entram em colapso, todos os outros serão comprometidos (KAPPELER e EPELBAUM, 2005).

3 – Teoria das Espécies Reativas do Oxigênio (EROs): As EROs são moléculas altamente reativas contendo um elétron não-pareado em sua órbita mais externa. São produzidos como subprodutos do metabolismo aeróbio e, sendo assim, são formados em maior quantidade durante os exercícios físicos de alta

intensidade ou prolongado, o aumento na taxa de EROs no músculo pode ocasionar lesão tecidual oxidativa, levando a fadiga muscular localizada (JI, 2002). A produção das EROs está relacionado ao uso que o corpo faz do oxigênio, uma parte deste oxigênio que existe no corpo é convertido imediatamente em água. Quando isto não acontece, o oxigênio pode assumir formas mais estáveis, chamados de peróxidos (TERMAN e BRUNK, 2006). Estas moléculas tendem a agir com outras moléculas ao redor, o que pode resultar em sérios danos para as células, sendo mais específicos para as membranas, que por sua vez, ocasiona certas mudanças patológicas associados à velhice (SEDENSKY e MORGAN, 2006).

4 – **Teoria da Apoptose:** O processo degenerativo da célula, ou a morte celular programada é definido pela literatura como apoptose, sendo uma das principais causas do envelhecimento. Sendo capaz de promover o declínio das funções do organismo com o decorrer dos anos. No estudo envolvendo *Drosophila* Fly (moscas), a fragmentação do DNA mostrou que a apoptose ocorre nas moscas mais velhas, sendo este fato relacionado com idade fisiológica. Os resultados estabelecem um par onde que o aumento na expectativa de vida das moscas está ligado com a formação de apoptose nas células musculares, promovendo a perda de massa magra ocasionando assim a sarcopenia. Sendo que essa associação possa ser extrapolada para os idosos que apresentam uma diminuição nas funções locomotoras, provocadas pelo declínio considerado do tecido muscular (ZHENG et al., 2005).

5 – **Teoria dos Telômeros:** Telômeros são estruturas núcleo-protéicas que possuem função crítica na proteção das extremidades dos cromossomos. Sua síntese e manutenção do seu tamanho dependem da telomerase (Transcriptase reversa). Uma vez que as telomerasas possuam uma disfunção programada, este biomarcador celular do envelhecimento é capaz de aumentar os fibroblastos nas peles de primatas idosos (HELBING et al., 2006). As faltas da atividade das telomerasas em seres humanos possuem uma grande correlação com as doenças que aparecem com o passar dos anos (GESERICK e BLASCO 2006).

Portanto, todas as teorias do envelhecimento existentes se completam, e em conjunto, mostram a alta complexidade dos processos de envelhecimento.

O processo de envelhecimento

Diversos são os autores que tentam definir qual o melhor significado para o processo de envelhecimento, mas ainda não se consegue chegar a um conceito único, que deixa claro a enorme dificuldade de entender este processo (WEINECK, 2000; MEIRELLES, 1999). O organismo humano, desde a sua concepção até a sua morte, passa por diversas fases, sendo elas: o desenvolvimento, puberdade, maturidade ou estabilização e envelhecimento (NETTO, 1996; SPERANCINI et al., 1994). Logo, não existe um só fator que cause o envelhecimento, mas a junção de vários.

Existe uma variedade de fatores intrínsecos e extrínsecos que estão associados com o processo de envelhecimento. As mudanças nos fatores intrínsecos que estão relacionados com o envelhecimento muscular incluem: secreção e liberação de hormônios, fatores de crescimento e sistemas associados com a produção de energia como o metabolismo de glicose e ácido graxo. Dentro dos fatores extrínsecos podemos citar: dietas, exercícios físicos e o sedentarismo (CARMELI, COLEMAN e REZNICK, 2002). Os fatores de causas intrínsecas e extrínsecas do processo de envelhecimento são mostrados na Figura 2, adaptada por Carmeli et al. (2002).

FIGURA 2: Causas Intrínsecas e Extrínsecas do Envelhecimento

FATORES EXTRÍNSECOS	FATORES INTRÍNSECOS
Má alimentação.	Metabolismo Reduzido. Diminuição da síntese protéica.
Exercícios físicos inadequados.	Diminuição das atividades enzimáticas e reservas energéticas.
Atrofia muscular.	Funções mitocôndriais reduzidas. Papel do estresse oxidativo.
Lesões traumáticas.	Mudanças no funcionamento do Sistema Nervoso Central (SNC) e na estimulação Neural.
Doenças.	Mudanças na secreção e regulação hormonal.

Desse modo, várias dessas alterações fisiológicas acompanhadas pelos fatores intrínsecos, tendem a levar o idoso à não ter uma vida independente ou autônoma, de certa forma, impossibilitando-o da prática de atividade física diária e conseqüentemente, diminuindo sua qualidade de vida. Alguns dessas alterações ocorrem em diversos sistemas do organismo, como por exemplo:

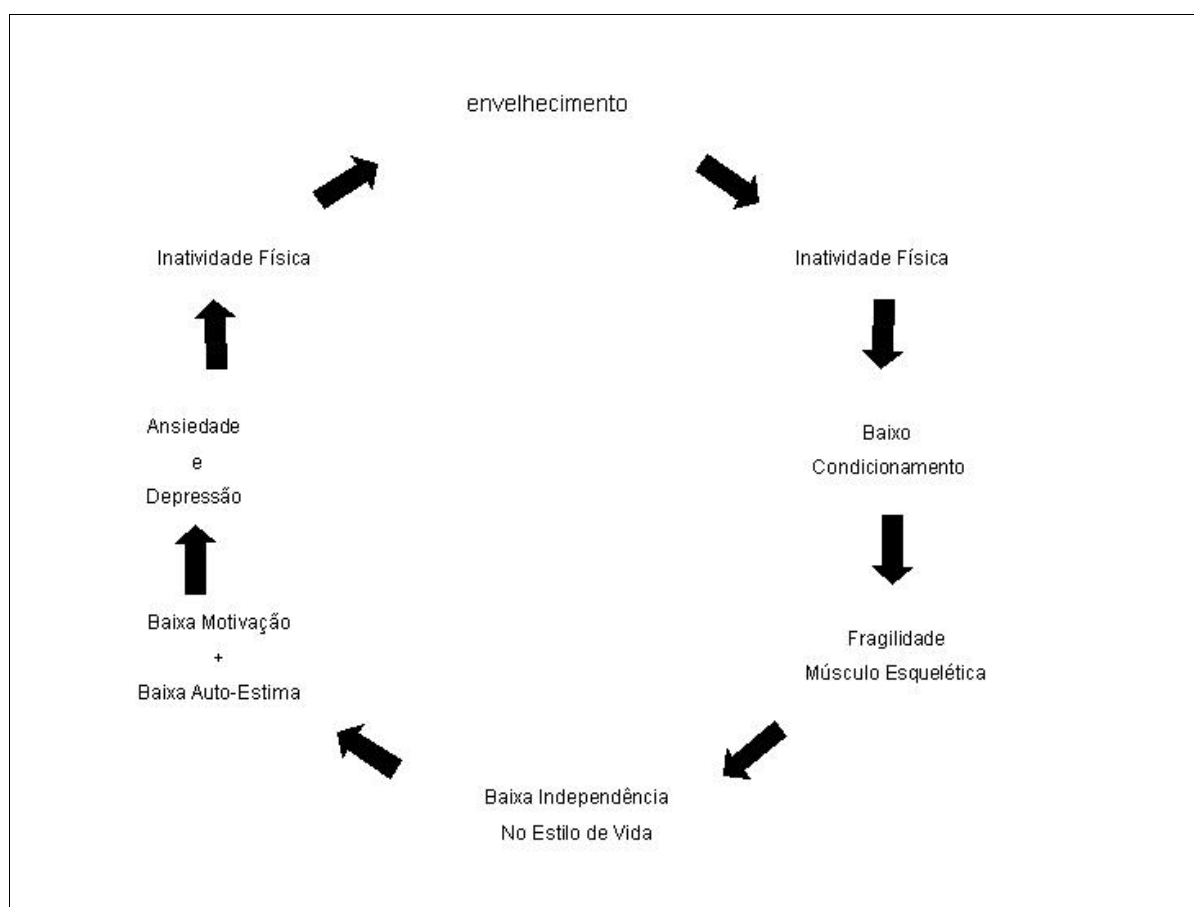
- No Sistema Nervoso, as perdas celulares cerebrais são aproximadamente 0,2% ao ano, o que irá acarretar ao idoso um maior tempo de responder a um certo estímulo/resposta, tal conseqüência, leva a um comprometimento da memória e da cognição. Muitas vezes estas modificações são aceleradas por doenças específicas que afetam o sistema nervoso central, neste caso o mal de Alzheimer (MACK et al., 2005).
- No Sistema Muscular, ocorre um aumento do tecido conjuntivo pelo organismo e pela perda gradual de sua propriedade elástica; acompanhado pelo acúmulo de uma maior quantidade de massa adiposa, seguida pela perda de massa muscular, que induzirá uma redução do número e do tamanho das fibras musculares e finalizando com a diminuição da força muscular (BAUDRY, KLASS, DUCHATEAU, 2005; SHEPHARD, 1999).
- No Sistema Circulatório, a quantidade de sangue que o coração bombeia é diminuída em seu estado de repouso fenômeno denominado braquicardia, que é acometido através das perdas hídricas corporais, pois a quantidade de líquido reduzido nas paredes do coração torna-se menos elásticas, fazendo com que as paredes das veias responsáveis pela condução do sangue torna-se mais rígidas, levando o idoso a um quadro de hipertensão arterial (KONIG et al., 2005; OKAZAKI et al., 2005).
- No Sistema Respiratório, as alterações ocorridas na senescência pela diminuição da elasticidade pulmonar, redução no número de alvéolos e capilares pulmonares, interferem diretamente na diminuição da mobilidade da caixa torácica. Portanto, o idoso terá sua função pulmonar diminuída ou comprometida (JANSSENS, 2005).
- No Sistema Esquelético, as alterações que acontecem em sua grande maioria é pela degeneração dos discos intervertebrais ao longo da coluna, diminuição do líquido sinovial nas cápsulas articulares, seguido pela

incidência de tendões e ligamentos mais enfraquecidos que irão influenciar na amplitude dos movimentos (DEGENS e ALWAY, 2006; LIU et al., 2006).

Tais alterações fisiológicas relatadas pelos fatores intrínsecos são acompanhadas por um estilo de vida sedentário do idoso em geral. O sedentarismo tem um efeito dramático sobre a independência ou autonomia dos idosos, principalmente quando estes estão com suas habilidades físicas sendo exercidas próximas do nível máximo, onde qualquer esforço adicional poderá trazer facilmente um comprometimento em sua autonomia (ARMBRUSTER e GLADWIN, 2001).

A Figura 3 mostra sistematicamente o ciclo vicioso adaptado do processo envelhecimento humano (NOBREGA et al., 1999).

FIGURA 3: Processo de Envelhecimento Humano



Dessa maneira, vale lembrar que a manutenção da qualidade de vida do idoso está vinculada à autonomia ou independência, que são bons indicadores de

saúde para a população idosa. Com a introdução de novas tecnologias na era atual, o idoso do século XXI passa por enormes transformações. Avanços da medicina através do surgimento de novos remédios contribuem para que doenças sejam curadas e muitas dores aliviadas (GEESAMAN, 2006). Contudo a implementação de estratégias preventivas podem ser modificadas pelos fatores extrínsecos, como alterações na dieta alimentar do idoso (CATERINA et al., 2006; KENNEDY, 2006) e a prática regular de exercícios físicos (LARSON et al., 2006). Tais modificações são estratégias bem fundamentadas pela literatura científica que mostram uma melhora e até um retardo no processo de envelhecimento.

Exercício físico e o processo de envelhecimento

Se compararmos duas pessoas de qualquer idade, a mais jovem será aquela cuja capacidade de trabalho, vigor muscular, flexibilidade, equilíbrio e habilidade motora forem maiores. Com o passar do tempo esses fatores físicos se alteram também. Mas a realização de exercícios físicos regular restringe tais alterações e nesse sentido, mesmo que não se assegure o prolongamento do tempo de vida, ele garante algo que pode ser igualmente importante: “o aumento do tempo de juventude” (MATSUDO e MATSUDO, 1992).

Os profissionais das áreas de saúde tem estimulado os idosos a mudarem o seu estilo de vida, inserindo em seu cotidiano um hábito saudável. A adesão à prática de exercícios físicos regular é um dos itens de mudanças de comportamento mais empregado atualmente como medida preventiva e estratégia de saúde pública (LOPES et al., 2005; BARROS e HERNANDES, 2004; FORJAZ et al., 2004).

Os exercícios físicos têm sido considerados um fator determinante na manutenção, promoção e recuperação de funções orgânicas e musculares, contribuindo assim para a melhoria da qualidade de vida do idoso fazendo surgir, ou mesmo acentuando a capacidade de cuidar de si mesmo, bem como as atividades da vida cotidiana. Os efeitos e resultados provindos da prática regular e bem orientada dos exercícios físicos são capazes de atingir todos os sistemas de nosso organismo, trazendo benefícios diversos que podem ser notados pela diminuição da gordura corporal e do tecido adiposo, diminuição da pressão

sangüínea e da resistência vascular, redução da frequência cardíaca no repouso e no trabalho submáximo, menor exigência das articulações, cápsula articular e ligamentos (através do fortalecimento da musculatura), no aumento do VO_{2MAX} (medida do consumo máximo do oxigênio em uma determinada unidade de tempo), aumento do volume sistólico, aumento da massa muscular e conseqüentemente da força, incremento da densidade óssea, melhora do sono, melhora no humor e melhora cognitiva (BENGMARK, 2006; BOUSSUGE et al., 2006; MADDENS, IMAM, ASHKAR, 2005; HUANG et al., 2005; PINTO et al., 2001).

O colégio americano de medicina do Esporte recomenda que a intensidade do treinamento físico esteja entre 60% a 90% da frequência cardíaca máxima (FC_{MAX}) ou entre 50% a 85% do VO_{2MAX} . Entretanto, tais parâmetros são aplicados à população em geral, inclusive podendo ser direcionado à prescrição segura de exercícios físicos para os idosos. O volume e a intensidade do treinamento são variáveis importantes para a prescrição, de forma precisa, de intensidades de trabalhos, que serão empregadas durante os treinamentos de exercícios físicos.

Biomarcadores plasmáticos

O exercício físico induz o organismo a mudanças que podem ser detectadas através de biomarcadores plasmáticos. Entre estes destacam-se o lactato (GOBATTO et al., 2001) e glicemia (SIMÕES, 1996, 1998 e 1999), e FC_{MAX} sendo um biomarcador fisiológico (MARAES et al., 2005). Através destes biomarcadores poderemos monitorar a intensidade do exercício. Seus limiares anaeróbios (LA) correspondem à intensidade de exercício em que a energia aeróbia é suplementada por mecanismos anaeróbios (WASSERMAN, 1984), sendo amplamente estudados para prescrições de treinamentos físicos.

O lactato sanguíneo é um importante marcador do metabolismo e pode ser utilizado para tratamento do diabetes e suas complicações, na análise nutricional e na medicina esportiva (GUILBAULT, PALLESCHI e LUBRANO, 1995). O limiar de lactato (LL) é amplamente estudado para a avaliação da capacidade aeróbia

quando se analisa a cinética do lactato no plasma durante os exercícios com cargas progressivas (WASSERMAN, 1984).

Este biomarcador plasmático apresenta aspectos úteis para que possamos compreender os diferentes comportamentos do VO_{2MAX} . A resposta do lactato é um índice associado à capacidade aeróbica; indica indiretamente a quantidade total de energia fornecida pelo sistema aeróbio e, portanto, permite inferir as conseqüências da falta de condicionamento físico e o que se pode obter com o treinamento adequado (DENADAI, 2000).

A saliva

A saliva é constituída predominantemente por água (97-99,5%) originada do plasma presente na célula acinar (YOUNG e VAN LENNEP, 1979), além de conter também uma grande proporção de constituintes orgânicos e inorgânicos (CHICHARRO et al., 1998). As funções atribuídas à saliva incluem lubrificação, digestão, formação de barreira semipermeável bioativa que recobre a superfície oral e regula a composição da flora oral (PRAKOBPHOL et al., 2000).

O volume do fluido translocado, a cada dia, através das glândulas salivares, se aproxima de 750 mL, o que representa aproximadamente 20% do total do volume plasmático (SCHNEYER, YOUNG e SCHNEYER, 1972). As glândulas parótidas, submandibulares, e sublinguais são responsáveis pela maior parte da produção salivar; sendo que glândulas salivares menores auxiliam-nas nessa produção. A contribuição relativa de cada tipo de glândula na secreção da saliva não estimulada é, em média, 65% da submandibular, 23% da parótida, 4% da sublingual e 8% das glândulas salivares menores (DAWES, 1974). Essas glândulas são estruturas tubuloalveolares formadas por uma região acinar, que é responsável pela secreção do fluido e da maioria (85%) das proteínas exócrinas, e por uma região ductal, que transporta a saliva da região acinar para a cavidade oral (YOUNG e VAN LENNEP, 1979).

O controle da secreção salivar é mediado por uma ação combinada de estímulos simpáticos e parassimpáticos (EMMELIN, 1987). A inervação parassimpática, via ação colinérgica, provoca vasodilatação, o que aumenta a quantidade e a fluidez da saliva contendo baixos níveis de compostos orgânicos e

inorgânicos. A inervação simpática, via ação adrenérgica, provoca vasoconstrição, o que confere um baixo volume do fluxo salivar, porém contém elevados níveis de proteínas, especialmente a alfa-amilase, e compostos inorgânicos. Este estímulo faz com que a saliva se torne mais viscosa (SCHNEYER, 1976; DENNISS e YOUNG, 1978).

A secreção salivar é regulada por arco reflexo, o qual consiste de receptores e nervos aferentes, conexão central e nervos e receptores eferentes agindo nas glândulas salivares. Estes estímulos quando mediados por quimiorreceptores (goma de mascar) nos pontos de gustação e, mecanorreceptores (goma de mascar e tablete de parafina) no ligamento periodontal, representam a maioria da produção aferente, levando a uma despolarização neural e a um aumento da taxa de fluxo salivar (JENSEN et al., 1998).

A salivação pode ser estimulada e não estimulada. A saliva não estimulada seria a saliva coletada sem nenhuma fonte aparente de estimulação, secretada na ausência de estímulos gustatórios, mastigatório ou mecânicos. Esta saliva é dependente da composição e do fluxo, da natureza e da duração do estímulo, e do tamanho das glândulas. Já a estimulada, seria a saliva que sofre influência de vários fatores, onde o grau de hidratação seria um dos fatores estimulantes mais importante, seguido da exposição à luz, do estímulo gustatório, mastigatório e olfatório, do posicionamento do corpo, das estações do ano e do ritmo circadiano (NAVAZESH, 1993).

A saliva e o processo de envelhecimento

A saliva contém uma grande variedade de proteínas únicas com funções biológicas importantes para a saúde oral. Muitas destas proteínas possuem em sua estrutura um alto nível de prolina e são portanto, chamadas de proteínas ricas em prolinas (PRPs). As PRPs consistem em um percentual de 70% da proteína total, presentes na glândulas parótidas humanas, e são divididas em três grupos baseados na troca e degradação da glicosilação: 1- ácidas, 2- básicas e 3- PRPs básicas glicosiladas. A amilase compreende o restante das proteínas totais presentes nas glândulas parótidas, e outras proteínas como as lisossômicas,

lactoferrinas, peroxidases, e imunoglobulina secretória A, esses componentes encontradas na saliva que atendem a relação entre saliva e saúde oral (DODDS, JOHNSON e YEH, 2005).

Durante o processo de envelhecimento estas proteínas com funções biológicas são diminuídas, tornando o idoso propenso a doenças orais. A redução do fluxo salivar (xerostomia) e/ou a composição salivar alterada induzem certas doenças orais como mucosa seca, dificuldade de engolir e falar, desconforto noturno, sensação de queimação na boca, distúrbios no paladar, mau hálito, altas suscetibilidade a infecção oral e cárie dental, gengivite e lesões traumáticas orais (NAGLER, 2004).

Dentre todos os problemas clínicos orais que atinge entre 25 a 60% da população idosa a xerostomia é a de maior queixa desses indivíduos. Ela, portanto têm impacto negativo na saúde oral, e muitos estudos correlacionam que esta alteração é devida a uma perda das células acinar no processo de envelhecimento, mas relacionar a xerostomia diretamente com a idade é muito superficial (BAUM, 1981; PARVINEN e LARMAS, 1982). Isto ocorre porque os idosos sofrem mais de outras doenças e consomem frequentemente mais medicamentos que podem interferir diretamente no fluxo salivar (CASSOLATO e TURNBULL, 2003).

O processo de envelhecimento deve ser observado, cada vez mais, como um processo natural da existência do ser humano e não mais como o preâmbulo do fim desta existência. Esta etapa da vida, com a manutenção de todas as funções, não significa problema nem para o individuo nem para a sociedade, os problemas surgem quando as funções começam a se deteriorar. Diante disto, e do rápido crescimento desta parcela da população, aumentou a procura pelos cuidados profissionais, o que justifica maior desenvolvimento de estudos voltados para o entendimento da senilidade, em diferentes áreas, entre elas a da Bioquímica do Exercício.

Biomarcadores salivares

Biomarcadores presentes na saliva podem monitorar as alterações decorrentes do exercício físico, como: as imunoglobulinas A (IgA) (AKIMOTO et

al., 2003); a proteína total salivar, a atividade da alfa-amilase salivar e eletrólitos (CHICHARRO et al., 1994, 1998; CALVO et al., 1997; WALSH et al., 1999, OLIVEIRA et al., 2005) e o óxido nítrico salivar (STAMLER et al., 2001, COSTA, 2006).

O limiar salivar (LAS) é o momento durante o exercício em que, os níveis de eletrólitos (especialmente Na^+) e a atividade da alfa-amilase salivar, aumentam de forma não linear (ZAGATTO et al., 2004; CHICHARRO et al., 1998, 1995 e 1994; CALVO et al., 1997). Além disto, a concentração de proteína total da saliva apresenta o mesmo comportamento que o lactato, podendo também ser um parâmetro de análise do LAS (BORTOLINI JUNIOR, 2003; OLIVEIRA et al., 2005 e COSTA, 2006).

A IgA pertence a uma classe de imunoglobulinas presente nas secreções corporais como a lágrima e a saliva e são uma importante fonte de defesa primária contra agentes infecciosos (MACKINNON, 1996). A saliva exerce ação protetora nas vias aéreas superiores, sendo uma excelente barreira imunológica (MACKINNON, 1999). Em atletas submetidos ao exercício físico intenso observa-se redução nos níveis de IgA na saliva (AKIMOTO et al., 2003). Como as funções imunológicas diminuem com o avanço da idade, a infecção das vias aéreas superiores torna-se mais prevalente entre os idosos (SHEPHARD, 2000; KOHUT et al., 2002; BUYUKYAZI et al., 2003). Contudo, com a realização de exercício crônico moderado observou-se uma melhora nos níveis de IgA em idosos, conferindo-lhes maior proteção contra infecções virais (AKIMOTO et al., 2003; BUYUKYAZI et al., 2003).

Além disto, a concentração de proteína total salivar e IgA vem sendo estudadas em conjunto, mostrando que tanto as IgA quanto a proteína total salivar sofrem alterações durante o exercício físico em indivíduos jovens. Steerenberg et al. (1997) revelaram alterações tanto na concentração de proteína total e IgA na saliva em triatletas após competição. Os níveis de proteína total no decorrer da competição tiveram aumento significativo no final em comparação com os níveis iniciais. Enquanto, que a IgA foram-se reduzindo no decorrer da prova. Resultados similares foram alcançados por pesquisadores dinamarqueses que utilizaram onze atletas de ciclismo que exercitaram por duas horas em sessões de exercícios em dias alternados. Eles avaliaram na saliva as

concentrações de IgA e proteína total. Os resultados mostraram que ambas as concentrações sofreram alteração no decorrer dos testes. As concentrações de proteínas sempre mantiveram elevadas no final do exercício, mas, reduziam próximo dos níveis basais nos períodos de recuperação enquanto que as concentrações de IgA reduziam no decorrer do exercício e durante o período de recuperação (KRZYWKOWSKI, 2001).

Estudos mostram que a atividade da alfa-amilase e a concentração de eletrólitos na saliva são correlacionados com o lactato. A utilização da atividade da alfa-amilase salivar como marcador de estresse físico foi primeiramente citado na literatura por pesquisadores espanhóis que observaram o comportamento da atividade alfa-amilase em doze jovens bem treinados em ciclo ergômetro com incremento de 25 watts até exaustão. Eles observaram que nos estantes que precedia a exaustão dos voluntários a atividade da alfa-amilase salivar acumulava-se na mesma semelhança do que o lactato sangüíneo, sendo assim, através da saliva, poderia propor método para avaliar a performance no exercício (CHICHARRO et al., 1999).

Uma explicação para resposta da alfa-amilase em situação de estresse fisiológico e/ou psicológico é a influência direta e indireta da ação do sistema nervoso simpático sobre as glândulas salivares. Esta afirmação é confirmada quando foi administrado para treze estudantes do sexo masculino a quantidade de 0,4 mg/Kg de hidrocloreto de yohimbine um α -2-receptor antagonista adrenérgico. Nesta pesquisa utilizaram como variáveis, a atividade da alfa-amilase salivar, pressão sistólica e concentração de noraepinefrina sangüínea. O resultado desta pesquisa mostrou que o grupo que recebeu a infusão da droga teve elevação das três variáveis mensuradas no estudo de $p < 0,01$ para a atividade da alfa-amilase salivar, pressão arterial sistólica e concentrações de noraepinefrina em relação ao grupo controle. Isto nos indica uma ação direta do sistema nervoso central simpático não só sobre as glândulas salivares mas nas demais variáveis estudadas (EHLERT et al., 2006). Por outro lado, Nederfors et al. (1994) administraram dois β -bloqueadores etanolol (50 mg) e propranolol (80 mg) em dezenove homens saudáveis. Avaliou-se então a ação destas drogas sobre a secreção salivar nas glândulas parótidas, submandibular e sublingual. Eles mensuraram entre outros biomarcadores salivares, o fluxo salivar, a

atividade da alfa-amilase e a proteína total. O achado deste estudo contribui para a afirmação direta simpática sobre as glândulas salivares, onde os resultados mostraram que houve uma redução significativa ($p < 0,05$) no fluxo salivar, na atividade da alfa-amilase e proteína total na saliva. A redução da atividade simpática neste trabalho pelas drogas alterou a secreção salivar reduzindo o fluxo salivar, a atividade da alfa-amilase e também as concentrações da proteína total.

O óxido nítrico (NO) é um importante regulador hemodinâmico e metabólico, durante o exercício físico e está envolvido em processos fisiológicos diversos, tais como relaxamento de músculo liso, neurotransmissão, agregação plaquetária e mecanismo de defesa de hospedeiros contra doenças infecciosas (virais), tumores, processos auto-imunes e doenças crônicas degenerativas (BOGDAN, 2001). Estudos mostraram que os níveis de NO sanguíneo e salivar aumentam durante o exercício físico (PANOSSIAN et al., 1999).

O principal mecanismo responsável pela disfunção endotelial relacionada ao envelhecimento parece ser a redução da disponibilidade de NO. Estudos, tendo humanos como modelos experimentais, sugerem que a liberação ou atividade do óxido nítrico é reduzida no idoso (ZEIHER et al., 1993; EGASHIRA et al., 1993; GERHARD et al., 1996; TADDEI et al., 2000). Por outro lado, a disfunção endotelial contribui para o enrijecimento vascular através da modulação do tônus da musculatura lisa. À medida que a vasodilatação mediada pelo endotélio passa a ser comprometida com o avançar da idade, perde-se um importante mecanismo normalizador da pressão arterial, que se eleva com o envelhecimento, em decorrência do enrijecimento arterial, permitindo a elevação da pressão do pulso e expondo o idoso a um risco de doenças cardiovasculares (NUSSBACHER et al., 1999; LAKATTA e LEVY, 2003).

Estudos têm mostrado que o exercício físico praticado regularmente provoca redução significativa na pressão arterial, em pacientes hipertensos (SCHRAGE, EISENACH e JOYNER, 2006). O aumento freqüente da força exercida pelo sangue na parede vascular, em consequência do aumento da pressão de perfusão imposta pelo exercício físico, leva a aumento continuado na liberação de NO e, a partir disso, a uma vasodilatação permanente (GREEN, MAIORANA, O'DRISCOLL e TAYLOR, 2004). Entretanto, nos exercícios crônicos, as concentrações de nitrito e nitrato plasmático se elevaram após três meses de

exercício em mulheres idosas (MAEDA et al., 2004). O exercício físico pode produzir efeitos benéficos no sistema cardiovascular em seus praticantes independentes da idade. Um ponto importante que devemos ressaltar é que o exercício sendo realizado na forma aguda ou crônica, deve ser praticado de forma sistematizada, orientada e regularmente, podendo provocar alterações expressivas no funcionamento cardiovascular que, na maior parte das vezes, resultam em benefícios para a saúde e conseqüentemente, em qualidade de vida.

Porém, a literatura é bastante vasta nos benefícios dos exercícios físicos para a população idosa que o pratica. Entretanto, estudos que compreendam em analisar certas proteínas presentes na saliva de idosos durante o exercício físico são ainda escasso. Propõe-se então, neste estudo, investigar os biomarcadores salivares e plasmáticos, em idosos ativos e idosos atletas submetidos ao teste de ciclo ergômetro com incremento de carga.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Akimoto T, Kumai Y, Akama T, Hayashi E, Murakami H, Soma R, Kuno S, Kono I. Effects of 12 months of exercise training on salivary secretory IgA levels in aged subjects. **Br J Sports Med**. 2003 Feb;37(1):76-9.

Armbruster B, Gladwin L. More than fitness for older adults. American College of Sports Medicine. **Health & Fitness J**. 2001 5(2) 6-12.

Barros JF, Hernandez ESC. Efeitos de um programa de atividades físicas e educacionais para idosos sobre o desempenho em testes de atividades da vida diária. **Rev Bras Cien Mov**. 2004 12(2): pg 43-50.

Baudry S, Klass M, Duchateau J. Postactivation potentiation influences differently the nonlinear summation of contractions in young and aged adults. **J Appl Physiol**. 2005 Apr;98(4):1243-50. Epub 2004 Nov 19.

Baum BJ. Evaluation of stimulated parotid saliva flow rate in different age groups. **J Dent Res**. 1981 Jul;60(7):1292-6.

Bengmark S. Impact of nutrition on ageing and disease. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**. 2006 Jan;9(1):2-7.

Bogdan C. Nitric oxide and the immune response. **Nat Immunol**. 2001 Oct;2(10):907-16.

Bortolini Junior, MA. **Biomarcadores salivares do exercício físico para determinação do limiar anaeróbico humano**. 2003 (Dissertação de mestrado em Genética e Bioquímica) Universidade Federal de Uberlândia. Orientador: Dr. Foued Salmem Espindola.

Boussuge PY, Rance M, Bedu M, Duche P, Praagh EV. Peak leg muscle power, peak VO₂ and its correlates with physical activity in 57 to 70-year-old women. **Eur J Appl Physiol**. 2006 Jan;96(1):10-6. Epub 2005 Oct 13.

Buyukyazi G, Kutukculer N, Kutlu N, Genel F, Karadeniz G, Ozkutuk N. Differences in the cellular and humoral immune system between middle-aged men with different intensity and duration of physically training. **J Sports Med Phys Fitness**. 2004 Jun;44(2):207-14.

Calvo F, Chicharro JL, Bandres F, Lucia A, Perez M, Alvarez J, Mojares LL, Vaquero AF, Legido JC. Anaerobic threshold determination with analysis of salivary amylase. **Can J Appl Physiol**. 1997 Dec;22(6):553-61.

Carmeli E, Coleman R, Reznick AZ. The biochemistry of aging muscle. **Exp Gerontol**. 2002 Apr;37(4):477-89.

Cassolato SF, Turnbull RS. Xerostomia: clinical aspects and treatment. **Gerodontology**. 2003 Dec;20(2):64-77.

Caterina R, Zampolli A, Del Turco S, Madonna R, Massaro M. Nutritional mechanisms that influence cardiovascular disease. **Am J Clin Nutr**. 2006 Feb;83(2):421S-426S.

Chicharro JL, Calvo F, Alvarez J, Vaquero AF, Bandres F, Legido JC. Anaerobic threshold in children: determination from saliva analysis in field tests. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**. 1995;70(6):541-4.

Chicharro JL, Legido JC, Alvarez J, Serratos L, Bandres F, Gamella C. Saliva electrolytes as a useful tool for anaerobic threshold determination. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**. 1994;68(3):214-8.

Chicharro JL, Lucia A, Perez M, Vaquero AF, Urena R. Saliva composition and exercise. **Sports Med**. 1998 Jul;26(1):17-27.

Chicharro JL, Perez M, Carvajal A, Bandres F, Lucia A. The salivary amylase, lactate and electromyographic response to exercise. **Jpn J Physiol.** 1999 Dec;49(6):551-4.

Costa, KE. **Efeito da ingestão de cafeína na taxa de biomarcadores salivares, no lactato plasmático e na performance física.** 2006 (Dissertação de mestrado em Genética e Bioquímica) Universidade Federal de Uberlândia. Orientador: Dr. Foued Salmem Espindola.

Dawes C. Rhythms in salivary flow rate and composition. **Int J Chronobiol.** 1974;2(3):253-79.

Degens H, Alway SE. Control of muscle size during disuse, disease, and aging. **Int J Sports Med.** 2006 Feb;27(2):94-9.

Denadai BS, et al. **Avaliação aeróbia: determinação indireta da resposta o lactato sanguíneo.** Editora Motrix. Rio Claro, SP, 2000.

Denniss AR, Young JA. Modification of salivary duct electrolyte transport in rat and rabbit by physalaemin, VIP, GIP and other enterohormones. **Pflugers Arch.** 1978 Aug 25;376(1):73-80.

Dodds MW, Johnson DA, Yeh CK. Health benefits of saliva: a review. **J Dent.** 2005 Mar;33(3):223-33.

Egashira K, Inou T, Hirooka Y, Kai H, Sugimachi M, Suzuki S, Kuga T, Urabe Y, Takeshita A. Effects of age on endothelium-dependent vasodilation of resistance coronary artery by acetylcholine in humans. **Circulation.** 1993 Jul;88(1):77-81.

Ehlert U, Erni K, Hebisch G, Nater U. Salivary alpha-amylase levels after yohimbine challenge in healthy men. **J Clin Endocrinol Metab.** 2006 Dec;91(12):5130-3.

Emmelin N. Nerve interactions in salivary glands. **J Dent Res.** 1987 Feb;66(2):509-17.

Forjaz CLM, et al. Risco cardiovascular, aptidão física e prática de atividade física de idosos de um parque de São Paulo. **Rev Bras Cien Mov.** 2004 12(2): pg 19-24.

Geesaman BJ. Genetics of aging: implications for drug discovery and development. **Am J Clin Nutr.** 2006 Feb;83(2):466S-469S.

Gerhard M, Roddy MA, Creager SJ, Creager MA. Aging progressively impairs endothelium-dependent vasodilation in forearm resistance vessels of humans. **Hypertension.** 1996 Apr;27(4):849-53.

Geserick C, Blasco MA. Novel roles for telomerase in aging. **Mech Ageing Dev.** 2006 Jun;127(6):579-83.

Gobatto CA, de Mello MA, Sibuya CY, de Azevedo JR, dos Santos LA, Kokubun E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.** 2001 Aug;130(1):21-7.

Green DJ, Maiorana A, O'Driscoll G, Taylor R. Effect of exercise training on endothelium-derived nitric oxide function in humans. **J Physiol.** 2004 Nov 15;561(Pt 1):1-25.

Guilbault GG, Palleschi G, Lubrano G. Non-invasive biosensors in clinical analysis. **Biosens Bioelectron.** 1995;10(3-4):379-92.

Helbing, et al. Cellular senescence in aging primates. **Science.** 2006 3;311(5765): 1257.

Huang G, Shi X, Davis-Brezette JA, Osness WH. Resting heart rate changes after endurance training in older adults: a meta-analysis. **Med Sci Sports Exerc.** 2005 Aug;37(8):1381-6.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Censo 2000. Disponível em: [http:// www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br). 2006.

Janssens JP. Aging of the respiratory system: impact on pulmonary function tests and adaptation to exertion. **Clin Chest Med.** 2005 Sep;26(3):469-84, vi-vii.

Jensen JL, Karatsaidis A, Brodin P. Salivary secretion: stimulatory effects of chewing-gum versus paraffin tablets. **Eur J Oral Sci.** 1998 Aug;106(4):892-6.

Ji LL. Exercise-induced modulation of antioxidant defense. **Ann N Y Acad Sci.** 2002 Apr;959:82-92.

Kappeler L, Epelbaum J. Biological aspects of longevity and ageing. **Rev Epidemiol Sante Publique.** 2005 Jun;53(3):235-41.

Kennedy ET. Evidence for nutritional benefits in prolonging wellness. **Am J Clin Nutr.** 2006 Feb;83(2):410S-414S.

Kohut ML, Cooper MM, Nickolaus MS, Russell DR, Cunnick JE. Exercise and psychosocial factors modulate immunity to influenza vaccine in aged individuals. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci.** 2002 Sep;57(9):M557-62.

Konig K, Heissler HE, Zumkeller M, Rickels E. Age-dependence of cerebrospinal parameters. **Acta Neurochir Suppl.** 2005; 95:315-8.

Krzywkowski K, Petersen EW, Ostrowski K, Link-Amster H, Boza J, Halkjaer-Kristensen J, Pedersen BK. Effect of glutamine and protein supplementation on exercise-induced decreases in salivary IgA. **J Appl Physiol.** 2001 Aug;91(2):832-8.

Lakatta EG, Levy D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part I: aging arteries: a "set up" for vascular disease. **Circulation**. 2003 Jan 7;107(1):139-46.

Larson EB, Wang L, Bowen JD, McCormick WC, Teri L, Crane P, Kukull W. Exercise is associated with reduced risk for incident dementia among persons 65 years of age and older. **Ann Intern Med**. 2006 Jan 17;144(2):73-81.

Lima PRS, Osella OS, Oliveira RJ. **Envelhecimento e associação com fatores de risco para doenças cardiovasculares**. In: **Exercício, Maturidade e Qualidade de Vida** (pg. 304). Ed. Shape. Rio de Janeiro, 2003.

Liu X, Zhao Y, Pawlyk B, Damaser M, Li T. Failure of elastic fiber homeostasis leads to pelvic floor disorders. **Am J Pathol**. 2006 Feb;168(2):519-28.

Lopes PP, Vanderlei LCM, Tarumoto MH. Perfil dos indivíduos freqüentadores de programas ambulatoriais de exercícios físicos para pacientes cardíacos da cidade de Presidente Prudente (SP). **Rev Socesp**. 2005 15(3): suppl A. pg 19-28.

Mack W, Eberle C, Frolich L, Knopf M. Memory for performed actions in dementia of Alzheimer type: further evidence for a global semantic memory deficit. **Dement Geriatr Cogn Disord**. 2005;20(6):381-7.

Mackinnon LT. Advances in exercise immunology. Champaign IL: **Human Kinectics**, p. 13-14, 159-199, 231-235, 315-316, 1999.

Mackinnon LT. Exercise, immunoglobulin and antibody. **Exerc Immunol Rev**. 2:1-32, 1996.

Maddens M, Imam K, Ashkar A. Hypertension in the aged. **Prim Care**. 2005 Sep;32(3):723-53.

Maeda S, Tanabe T, Otsuki T, Sugawara J, Iemitsu M, Miyauchi T, Kuno S, Ajisaka R, Matsuda M. Moderate regular exercise increases basal production of nitric oxide in aged women. **Hypertens Res**. 2004 Dec;27(12):947-53.

Maraes VR, Silva E, Catai AM, Novais LD, Moura MA, Oliveira L, Gallo Jr L. Identification of anaerobic threshold using heart rate response during dynamic exercise. **Braz J Med Biol Res**. 2005 May;38(5):731-5.

Matsudo SH, Matsudo VKR. Prescrição e benefício da atividade física na terceira idade. **Rev Bras Cien e Mov**. Celafisc. pg 19-28. 1992.

Meirelles MAE. **Atividade física na Terceira Idade**. 2º ed. Rio de Janeiro, 1999.

Nagler RM. Salivary glands and the aging process: mechanistic aspects, health-status and medicinal-efficacy monitoring. **Biogerontology**. 2004;5(4):223-33.

Navazesh M. Methods for collecting saliva. **Ann N Y Acad Sci**. 1993 Sep 20;694:72-7.

Nederfors T, Dahlof C, Twetman S. Effects of the beta-adrenoceptor antagonists atenolol and propranolol on human unstimulated whole saliva flow rate and protein composition. **Scand J Dent Res**. 1994 Aug;102(4):235-7.

Netto MP. **Gerontologia: a velhice e o envelhecimento em visão globalizada** (pg 577). Ed. Atheneu. São Paulo, 1996.

Nobrega ACL, et al. Posicionamento da sociedade brasileira de medicina do esporte e da sociedade brasileira de geriatria e gerontologia: atividade física e saúde no idoso. **Rev Bras Med Esp**. 1999 6(5) pg 207-211.

Nussbacher A, Gerstenblith G, O'Connor FC, Becker LC, Kass DA, Schulman SP, Fleg JL, Lakatta EG. Hemodynamic effects of unloading the old heart. **Am J Physiol**. 1999 Nov;277(5 Pt 2):H1863-71.

Okazaki K, Iwasaki K, Prasad A, Palmer MD, Martini ER, Fu Q, Arbab-Zadeh A, Zhang R, Levine BD. Dose-response relationship of endurance training for autonomic circulatory control in healthy seniors. **J Appl Physiol**. 2005 Sep;99(3):1041-9.

Oliveira VN, et al. Biomarcadores salivares na avaliação do limiar anaeróbio. **Fitness Perform J**. v4, nº2, pg 85-89, 2005.

Panossian AG, Oganessian AS, Ambartsumian M, Gabrielian ES, Wagner H, Wikman G. Effects of heavy physical exercise and adaptogens on nitric oxide content in human saliva. **Phytomedicine**. 1999 Mar;6(1):17-26.

Parvinen T, Larmas M. Age dependency of stimulated salivary flow rate, pH, and lactobacillus and yeast concentrations. **J Dent Res**. 1982 Sep;61(9):1052-5.

Pinto BM, Lynn H, Marcus BH, DePue J, Goldstein MG. Physician-based activity counseling: intervention effects on mediators of motivational readiness for physical activity. **Ann Behav Med**. 2001 Winter;23(1):2-10.

Prakobphol A, Xu F, Hoang VM, Larsson T, Bergstrom J, Johansson I, Frangsmyr L, Holmskov U, Leffler H, Nilsson C, Boren T, Wright JR, Stromberg N, Fisher SJ. Salivary agglutinin, which binds *Streptococcus mutans* and *Helicobacter pylori*, is the lung scavenger receptor cysteine-rich protein gp-340. **J Biol Chem**. 2000 Dec 22;275(51):39860-6.

Schneyer LH, Young JA, Schneyer CA. Salivary secretion of electrolytes. **Physiol Rev**. 1972 Jul;52(3):720-77.

Schneyer LH. Sympathetic control of Na, K transport in perfused submaxillary main duct of rat. **Am J Physiol**. 1976 Feb;230(2):341-5.

Schrage WG, Eisenach JH, Joyner MJ. Ageing reduces nitric oxide and prostaglandin mediated vasodilation during exercise. **J Physiol**. 2006 Nov 30.

Sedensky MM, Morgan PG. Mitochondrial respiration and reactive oxygen species in mitochondrial aging mutants. **Exp Gerontol**. 2006 Mar;41(3):237-45

Shephard RJ. Age and physical work capacity. **Exp Aging Res**. 1999 Oct-Dec;25(4):331-43.

Shephard RJ. Overview of the epidemiology of exercise immunology. **Immun and Cell Biol**. 78: 485-495, 2000.

Simões HG, et al. Determinação do limiar anaeróbio por meio de dosagens glicêmicas e lactacidêmicas em testes de pista para corredores. **Rev Paul Ed Fis**. v.12, pg.17-30. 1998.

Simões HG, et al. Determination of maximal lactate steady state velocity: coincidence with lower blood glucose. **Med Sci Sport Exer**. v.28, p.S 68, 1996.

Simões HG, Grubert Campbell CS, Kokubun E, Denadai BS, Baldissera V. Blood glucose responses in humans mirror lactate responses for individual anaerobic threshold and for lactate minimum in track tests. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**. 1999 Jun;80(1):34-40.

Sperancini MAC, et al. Efeitos de um programa de atividades físicas sobre parâmetros físicos e motores de mulheres de 45 a 55 anos. **Rev Min Ed Fis**. 2(1) pg 5-16. 1994.

Stamler, et al. Physiology of nitric oxide in skeletal muscle. **Physiol Reviews**. North Carolina. v81, nº 1, pg 209-237, 2001.

Steerenberg PA, van Asperen IA, van Nieuw Amerongen A, Biewenga A, Mol D, Medema GJ. Salivary levels of immunoglobulin A in triathletes. **Eur J Oral Sci**. 1997 Aug;105(4):305-9.

Taddei S, Galetta F, Viridis A, Ghiadoni L, Salvetti G, Franzoni F, Giusti C, Salvetti A. Physical activity prevents age-related impairment in nitric oxide availability in aged athletes. **Circulation**. 2000 Jun 27;101(25):2896-901.

Terman A, Brunk UT. Oxidative stress, accumulation of biological 'garbage', and aging. **Antioxid Redox Signal**. 2006 Jan-Feb;8(1-2):197-204.

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. **J Sports Sci**. 1999 Feb;17(2):129-34.

Wasserman K. The anaerobic threshold measurement to evaluate exercise performance. **Am Rev Respir Dis**. 1984 Feb;129(2 Pt 2):S35-40.

Weineck J. **Biologia do Esporte**. (pg 321) Ed. Manole São Paulo. 2000.

Young JA, Van Lennep EW. Transport in salivary glands. Giesbisch G. Tosteson DC, Ussing HH, **Memb Trans in Biol**. Bertin, p. 563-674, 1979.

Zagatto AM, et al. Comparação entre a utilização de saliva e sangue para determinação do lactato mínimo em cicloergômetro em ergômetro de braço em mesa-tenistas. **Rev Bras Med Esp**. 2004 vol. 10, nº 6, 475-480.

Zeihner AM, Drexler H, Saurbier B, Just H. Endothelium-mediated coronary blood flow modulation in humans. Effects of age, atherosclerosis, hypercholesterolemia, and hypertension. **J Clin Invest**. 1993 Aug;92(2):652-62.

Zheng J, Edelman SW, Tharmarajah G, Walker DW, Pletcher SD, Seroude L. Differential patterns of apoptosis in response to aging in Drosophila. **Proc Natl Acad Sci U S A**. 2005 Aug 23;102(34):12083-8.

CAPÍTULO II

“EFEITO DO EXERCÍCIO AGUDO EM ESTEIRA COM CARGA CRECENTE NAS CONCENTRAÇÕES DE PROTEINA TOTAL, α -AMILASE, ÓXIDO NITRICO E IgA SALIVAR E DO LACTATO SANGUINEO EM IDOSOS ATIVOS E ATLETAS”

(Escrito conforme as normas da revista *Biogerontology* – ANEXO III)

EFEITO DO EXERCÍCIO AGUDO EM ESTEIRA COM CARGA CRESCENTE NAS
CONCENTRAÇÕES DE PROTEÍNA TOTAL, α -AMILASE, ÓXIDO NÍTRICO E IgA
SALIVAR E DO LACTATO SANGÜÍNEO EM IDOSOS ATIVOS E ATLETAS

Autores: Anibal Monteiro de Magalhães Neto¹, Nathália Maria Resende¹, Romeu Paulo Martins Silva Lamounier¹, Vivian Lamounier Camargos Resende Silva¹, Ednaldo Carvalho Guimarães², Alexandre de Brito³, Deise Aparecida de Oliveira Silva⁴, José Roberto Mineo⁴, Rimmel Amador Guzman Heredia⁵ e Foued Salmen Espindola¹.

Afiliação: ¹Instituto de Genética e Bioquímica – Laboratório de Bioquímica do Exercício e Saúde, ²Faculdade de Matemática, ³Laboratório de Análise Bioquímicas do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, ⁴Instituto de Ciências Biomédicas – Laboratório de Imunoparasitologia e ⁵Setor de Eletrocardiologia do Hospital de Clínicas. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia-MG, Brasil.

Autor correspondente: foued@ufu.br Fone: (55) 34-3218-2477 (Brasil), Fax: (55) 34-3218-2203.

Anibal Monteiro de Magalhães Neto: Av. Brasil nº 4465 Apto 402-B, Bairro Umuarama, Uberlândia-MG, CEP 38405-312, Brasil.

Nathália Maria Resende: Av. Brasil nº 4465 Apto 402-B, Bairro Umuarama, Uberlândia-MG, CEP 38405-312, Brasil.

Romeu Paulo Martins Silva Lamounier: Rua José Antônio de Oliveira nº 35 Apto 23-C, Bairro Ozanan, Uberlândia-MG, CEP 38400-000, Brasil.

Vivian Lamounier Camargos Resende Silva: Rua José Antônio de Oliveira nº 35 Apto 23-C, Bairro Ozanan, Uberlândia-MG, CEP 38400-000, Brasil.

Ednaldo Carvalho Guimarães: Av. João Naves de Ávila nº 2121, Campus Santa Mônica, Bairro Santa Mônica, Uberlândia-MG, CEP 38400-902, Brasil.

Alexandre de Brito: Rua Jorge Cahuy nº 607, Bairro Planalto, Uberlândia-MG, CEP 38413-216, Brasil.

Deise Aparecida de Oliveira Silva: Av. Pará nº 1720, Bloco 4C, Campus Umuarama, Bairro Jardim Umuarama, Uberlândia-MG, CEP 38400-902, Brasil.

José Roberto Mineo: Av. Pará nº 1720, Bloco 4C, Campus Umuarama, Bairro Jardim Umuarama, Uberlândia-MG, CEP 38400-902, Brasil.

Rimmel Amador Guzman Heredia: Av. Pará nº 1720, Setor de Eletrocardiologia, Bairro Jardim Umuarama, Uberlândia-MG, CEP 38400-902, Brasil.

Foued Salmen Espindola: Rua Padre Anchieta nº 39, Bairro Centro, Uberlândia-MG, CEP 38400-061, Brasil.

RESUMO

Este estudo investigou em idosos o efeito do exercício agudo nos biomarcadores salivares e plasmático em esteira pelo protocolo de Bruce original com cargas crescentes até a capacidade máxima de cada voluntário. Avaliou-se em 24 idosos separados por grupos, mulheres idosas ativas, homens idosos ativos e atletas idosos homens, os seguintes momentos, antes do exercício (T0), no final do exercício (TF), e nos períodos pós-exercício de recuperação em 5 e 15 minutos (T5 e T15). Amostras de sangue e saliva foram coletadas no repouso e durante o segundo minuto de cada taxa incremental, congeladas e preparadas para as dosagens bioquímicas. Os resultados revelaram que existe uma correlação ($r=0,7282$) entre proteína total salivar e lactato sanguíneo no grupo de atletas idosos homens. As concentrações de proteína total e atividade da alfa-amilase

salivar aumentaram no final do exercício de todos os grupos ($p<0,05$). Os níveis de óxido nítrico salivar nos grupos de mulheres e homens ativos foram diferentes do grupo de atletas ($p<0,04$). Houve aumento nas concentrações específicas de IgA pós-exercício no grupo de mulheres e atletas ($p<0,05$) e homens ($p<0,01$). Conclui-se que a saliva é uma importante ferramenta para o monitoramento dos níveis de aptidão física em idosos. Através dos biomarcadores salivares, proteína total e atividade da alfa-amilase, observaram-se aumento dos dois parâmetros durante o exercício agudo. A correlação entre a proteína total salivar e o lactato sanguíneo fornece informações bioquímicas quanto fisiológicas mostrando o estado funcional dos idosos durante a sessão de exercício. A concentração de óxido nítrico está diretamente relacionada com a intensidade do exercício, sendo liberado em maior proporção nas idosas ativas, em seguida pelos idosos ativos e por último no grupo de idosos atletas. Desta forma, a avaliação do óxido nítrico salivar pode contribuir para monitorar a prevenção de futuras complicações cardiovasculares. No padrão imunológicos as concentrações específicas de IgA na saliva permaneceram elevadas ao final da sessão aguda de treinamento, favorecendo todos os grupos de idosos provavelmente deixando-os menos susceptíveis à infecções. Portanto, a utilização dos biomarcadores salivares apresenta-se como uma abordagem apropriada para avaliar o efeito do exercício agudo com incremento de carga em diferentes grupos de população idosa.

PALAVRAS CHAVES: Idoso, Exercício, Estresse, Biomarcadores, Saliva, IgA, Óxido Nítrico e Amilase.

ABSTRACT

This study approached the effect of exercise using Bruce protocol in aged person analyzing salivary biomarker and blood lactate. The subjects of this study consisted in 24 aged

separate by three groups of active women and active or athlete men. Samples of blood and saliva had been collected in the rest and during the second minute of each incremental rate. Samples were prepared and stored frozen until the biochemistry and immunological assays. Total protein of the total saliva and blood lactate were analyzed in each interval of the incremental rate. Alpha-amylase activity, nitric oxide (NO) and immunoglobulin (IgA) were analyzed in the following moments: before the exercise (T0), in the end of the exercise (TF), and in the recovery times of five and 15 minutes after-exercise (T5 and T15). The data of salivary total protein and blood lactate in the aged athletes showed a correlation ($r=0.7282$). The total protein concentrations and activity of the salivary alpha-amylase increased in the end of the exercise of all groups ($p<0.05$). Salivary NO differs for aged athletes ($p<0.04$) when compared with the other groups. Specific salivary IgA increased after-exercise in all aged groups. In conclusion, the saliva is an important tool for the assessment of the physical performance in aged persons. Salivary biomarkers such total protein concentration and alpha-amylase activity increased during exercise with incremental rate. The correlation between the salivary total protein and blood lactate can provide physiological insights of functional systems in exercise session for aged person. The NO concentration is related with the intensity of the exercise. The salivary NO levels were higher in the active women, followed by the active men and to the aged athletes men. The evaluation of salivary NO during physical exercise of the elderly may help to prevent them of future cardiovascular complications. Salivary specific IgA levels in all groups were higher in the end of the acute exercise session suggesting them, better immunological strengths for the aged. Therefore, analyzing salivary biomarkers to evaluate the effect of the acute exercise with load increment in different groups of aged population is a promising approach.

KEY-WORDS: Aged, Exercise, Stress, Biomarkers, Saliva, IgA, Nitric Oxide and Amylase.

INTRODUÇÃO

A avaliação fisiológica e bioquímica do exercício monitorado em indivíduos idosos é importante para estabelecer e promover condições necessárias para a sua aplicação clínica. Vários estudos demonstraram que o uso do exercício físico programado pode influenciar favoravelmente na qualidade de vida e na prevenção de doenças crônico-degenerativas (SHEPHARD, 2000). No Brasil os idosos correspondem a 5,85% da população nacional, segundo o censo demográfico do IBGE (2000). Esta tendência que caracteriza o envelhecimento de nossa população vem se acentuando nos últimos censos, podendo gerar um grande impacto nas políticas públicas de saúde se medidas preventivas não forem implementadas, particularmente no que se refere às doenças cardiovasculares.

Um ingrediente fundamental para um envelhecimento saudável é a atividade física regular. Esta, por sua vez, diminui a incidência de doenças cardiovasculares, câncer, hipertensão arterial, depressão, osteoporose, gripe e diabetes (KING et al., 2000). A manutenção da capacidade funcional e independência do idoso podem ser benéficas tanto ao indivíduo quanto à sociedade. Isto conduz ao propósito de considerar o exercício físico como uma relevante estratégia para melhora do funcionamento fisiológico no processo de envelhecimento (OURANIA et al., 2003). O exercício físico induz mudanças fisiológicas que podem ser detectadas de várias maneiras. A utilização de biomarcadores salivares tem ganhado popularidade na pesquisa biomédica e psicológica. Tradicionalmente, a avaliação do cortisol na saliva mostrou-se um método útil para acessar o funcionamento e a reatividade do eixo hipotalâmico-hipofisário (GRUENEWALD et al., 2004.). Entretanto,

não havia sido confirmado até recentemente que a medida da alfa-amilase é um biomarcador da atividade simpática adreno-medular (VAN STEGEREN et al., 2006, YAMAGUCHI et al., 2006a,b; NATER et al., 2005). A maioria dos testes diagnósticos utiliza amostras de sangue cuja coleta requer procedimentos invasivos, que sempre acarretam algum desconforto ao paciente e até podem gerar risco de contaminação. Por outro lado, a coleta da saliva não requer procedimentos invasivos ou equipamentos especiais, como ocorre para a coleta de tecido, sangue ou plasma. Com um a dois mililitros de saliva tem-se volume suficiente para análise de vários biomarcadores.

O exercício físico é capaz de induzir alterações agudas sobre a concentração de alguns biomarcadores salivares (BISHOP et al., 2000; WALSH et al., 1999 e 2004). Além da influência das catecolaminas plasmáticas sobre a secreção salivar, especula-se que estas também influenciem na concentração do lactato sanguíneo. Por exemplo, Schneider et al. (2000), correlacionaram a concentração do lactato sanguíneo com a concentração de epinefrina e noraepinefrina durante exercício físico, e observaram alta correlação entre as variáveis analisadas. Isto sugere que o aumento da atividade simpática, induzida pelo exercício, altera tanto a secreção das glândulas salivares, quanto a atividade metabólica do músculo esquelético, e que as mesmas tendem a retornar aos níveis de repouso ao final do exercício. Muitos dos biomarcadores plasmáticos também estão presentes na saliva, facilitando a coleta de amostras e ajudando a monitorar alterações orgânicas decorrentes do exercício físico. Biomarcadores salivares tais como proteína total, a atividade da alfa-amilase, eletrólitos e lactato podem ser utilizados para determinar o limiar em protocolos com incremento de cargas usando o limiar de lactato sanguíneo como referência (OLIVEIRA et al., 2005; WALSH et al., 2004 e 1999; PEREZ et al., 1999; CHICHARRO et al., 1999, 1995 e 1994; SEGURA et al., 1996).

Outros biomarcadores presentes na saliva devem ser também considerados em relação ao exercício físico e idade. Por exemplo, os anticorpos predominantes na saliva são as imunoglobulinas A (IgA), que servem de barreiras contra corpos estranhos impedindo assim, o risco de infecções, especialmente das vias aéreas superiores. É comum haver declínio das funções da IgA com o decorrer da idade. Todavia, o exercício físico tem sido capaz de representar o estado da função imunológica nos exercícios agudos (HISCOCK e PEDERSEN, 2002; BISHOP et al., 2006 e 2000; STEERENBERG et al., 1997). O óxido nítrico (NO) é um biomarcador importante do exercício e da saúde cardio-vascular (McALLISTER e LAUGHLIN, 2006). NO formado pela ação da eNOS (NO sintase endotelial) no endotélio vascular atua na dilatação dos vasos sanguíneos induzida pelo exercício suprimindo os músculos cardíacos e esquelético. Na recente revisão de McAllister e Laughlin (2006) apresenta-se dados sobre o efeito do exercício no aumento da expressão de eNOs e formação de NO. Além disso, a maior produção de NO endotelial pode prevenir e controlar a aterosclerose e o exercício tem contribuição importante para isto. O NO por ser um gás com potente efeito vasodilatador com duração efêmera após sua liberação é estabilizado como nitrito e nitrato, podendo assim ser determinado na saliva. A maioria dos estudos sobre NO na saliva enfocam problemas de saúde e não o exercício físico (ASTANEIE et al., 2005; BAYINDIR et al., 2005; TAVARES et al., 2005). No exercício físico, Panossian et al. (1999), mostraram aumento do NO salivar e relacionaram este dado com o mecanismo vasodilatador de hiperemia ao exercício.

A maioria dos estudos aqui citados sobre análise de biomarcadores salivares e exercício físico foi realizada com voluntários jovens atletas de diferentes modalidades. Pouco se sabe da avaliação através de biomarcadores presentes na saliva em especial tendo como voluntárias pessoas idosas. Portanto, este estudo tem como objetivo analisar as concentrações de proteína total na saliva e lactato sanguíneo obtidos em todos os estágios

do exercício até exaustão e comparar as concentrações de proteína total, atividade da α -amilase, óxido nítrico e IgA, presente na saliva, nos estágios inicial (T0), final (TF) e após 5 e 15 minutos (T5 e T15) do final do exercício em esteira com cargas crescentes.

MATERIAL e MÉTODOS

O trabalho foi aprovado pelo comitê de Ética em Pesquisa da UFU, parecer 045/06, registro 126/05 obedecendo aos preceitos da resolução do Ministério da Saúde 196 de 1996.

Critério de inclusão e exclusão dos voluntários

Considerou-se como critérios de inclusão dos voluntários: a) considerou-se como idosos ativos, 30 idosos de ambos os sexos, inscritos e participantes do Programa Atividades Físicas e Recreativas para Idosos da Faculdade de Educação Física da Universidade Federal de Uberlândia (AFRID-FAEFI-UFU) por mais de cinco anos fazendo exercícios físicos de três a cinco vezes por semana; e b) convidou-se nove idosos atletas, considerando para isto aquelas pessoas acima dos 60 anos, que começaram a correr após se aposentarem, corredores amadores de corridas de longa distância há mais de cinco anos estando em período de atividade atlética plena e que não fossem atletas quando mais jovens e não estivessem inscritos no AFRID-FAEFI-UFU.

Para exclusão dos voluntários, considerou os seguintes aspectos: a) os exames de sangue com resultados bioquímicos acima dos valores de referência para colesterol, creatina quinase, creatina quinase total, HDL, LDL, triglicerídeos, ácido úrico, uréia, glicose e proteína C reativa; b) alterações da função ventricular sistólica e diastólica e contratilidade segmentar pelo exame ecocardiográfico (modalidade bi-dimensional, modo

M, color e doppler) conforme padrões da Sociedade Americana de Ecocardiografia (HENRY et al., 1980); c) alterações no eletrocardiograma (ECG) basal, nas arritmias, infarto do miocárdio prévio, repolarização ventricular e alterações no segmento ST. As leituras foram feitas no monitor (cardioscópio) e conferidas no registro em papel. O segmento ST foi considerado alterado em três ou mais complexos consecutivos. O intervalo entre as realizações dos exames de ECG e Ecocardiograma foi inferior a um mês. Utilizamos estes rigorosos critérios de exclusões para obtermos o maior grau de homogeneidade entre os participantes do estudo.

Assim, o grupo de idosos ativos foi composta por nove mulheres idosas (M) com média e desvio padrão de idade $66,55 \pm 4,39$, seis homens idosos (H) com média e desvio padrão de idade $63,83 \pm 1,47$ e o grupo de idosos atletas (A) foi composto por oito homens idosos com média e desvio padrão de idade $63,12 \pm 3,13$. Trabalhou-se apenas com atletas idosos do sexo masculino por não ter encontrado voluntárias atletas do sexo feminino que enquadrassem dentro dos critérios de inclusão.

Os voluntários aptos, cientes e interessados em participar do projeto assinaram um termo de consentimento, estando avisados de todos os procedimentos a serem tomados e executados antes, durante e após os testes. No dia anterior ao teste, os idosos não fizeram nenhum tipo de esforço físico e sua última refeição foi feita pelo menos duas horas antes do teste. Além disso, foram orientados a fazerem uma higienização completa da boca e que ingerissem bastante água no dia anterior e na véspera do teste. Nenhuma substância estimulante (café, guaraná, etc.), ou contendo corantes puderam ser ingeridas.

Protocolo do teste de esforço com cargas crescentes

O teste de esforço foi realizado na esteira (Ecafix®, Brasil). O protocolo utilizado foi o de Bruce original (BRUCE, 1971). A frequência cardíaca foi avaliada durante todo o

protocolo pelo eletrocardiograma de 12 derivações usando um software (Ergo PC 13 para Windows). As aferições das pressões arterial sistólica e pressão arterial diastólica foram realizadas pelo método auscultatório, com esfigmomanômetro (Tycos®, EUA). Foi permitindo que os idosos utilizassem apenas as barras frontais de apoio da esteira ergométrica. Todos os parâmetros fisiológicos mencionados foram avaliados no repouso (T0), durante o teste de esforço, no pico máximo do exercício (TF) e nos estantes 5 e 15 minutos após o encerramento do teste (T5 e T15). Todos os testes de esforço foram realizados no setor de Cardiologia do Hospital de Clínica da UFU (HC-UFU), sempre na presença de um médico. Todos os voluntários fizeram duas sessões de treino para se adaptar com o aparelho em dias diferente ao do teste. Para interromper teste por exaustão considerou-se como limites a elevação da pressão arterial diastólica (PAD) >120mm/Hg nos normotensos e >140mm/Hg nos hipertensos primários, elevação da pressão arterial sistólica (PAS) >260mm/Hg, queda sustentada da PAS, manifestação clínica de precordialgia típica intensa, infradesnívelamento do segmento ST >3mm, supradesnívelamento do segmento ST >2mm em derivação sem presença de onda q, arritmia ventricular complexa, aparecimento de taquicardia supraventricular sustentada, taquicardia atrial, fibrilação atrial, bloqueio átrio-ventricular de segundo e terceiro graus, sinais de insuficiência ventricular esquerda, falência dos sistemas de monitoração e/ou registro (KAWAMURA, 2001).

Coleta e análises da saliva

Logo antes da coleta da saliva, os voluntários enxaguaram a boca várias vezes com água destilada, para limpeza de debris celulares e outros. A saliva foi estimulada pela mastigação de um tablete da goma de mascar (Cadbury Adams Brasil Ind®) com peso de 1,5 g. A mastigação do tablete foi realizada de forma natural e pessoal, sem a preocupação

com a velocidade, força e frequência da mastigação, mas todos os idosos foram instruídos a mascar o tablete em ambos os lados da boca. Durante a realização do teste de esforço a coleta da saliva era realizada sempre um minuto antes de cada mudança de estágio, ou seja, antes do incremento de carga. Avisava-se o voluntário sempre no minuto dois antes de cada mudança de estágio, para que engolissem a saliva e começassem a mastigar o chiclete. A coleta da saliva iniciava imediatamente após a parada da esteira em 1 minuto. Após 1 minuto de coleta, a esteira era ligada novamente o voluntário iniciava-se no estágio seguinte do teste. A saliva era colocada em mini-tubos pré-resfriados (4°C). Em torno de no máximo três horas, a saliva era centrifugada a 12.000 g, o sedimento era descartado e o sobrenadante congelado a -20 °C até a data da análise.

A análise da proteína total da saliva total foi realizada no Laboratório de Análise Clínicas do HC-UFU. A proteína total foi mensurada pelo método de biureto de acordo com kit de rotina do Laboratório (UCFS DIASYS® cat. nº 1 0210 99 10 021 Alemanha), através de duas leituras espectrofotométrica, uma primária à 604nm e a outra à 700nm (Autoanalyser Architect c8000, Abbot®, IL, USA).

A análise da atividade da alfa-amilase foi pelo ensaio cinético utilizando o kit com CNPG (Pro Biotec, Ind. Com. Diagnóstico para Saúde, Uberlândia, MG, Brasil). Os ensaios foram feitos a temperatura ambiente (28°C) em microplacas com 10 microL da saliva diluída 100 vezes em salina e 300 microL do tampão com CNPG. As microplacas foram lidas a 405nm em leitora de microplaca (Amersham Biosciences, GE, Upsala. Suécia) programada para fornecer os resultados unidade de atividade de amilase salivar/mL de saliva (U/mL).

A análise do óxido nítrico foi de acordo com método de Granger et al. (1995). Utilizou-se método colorimétrico de Griess, uma solução composta de N-(1-Naphthyl) ethyl-ene Diamine a 0,1% e sulfanilamida a 1% em ácido fosfórico a 2,5%, mensurando o

subproduto nitrito. A dosagem de nitrito foi realizada em microplacas com 50 microL de saliva e utilizando uma curva padrão no limite de 0,1-400 microM de nitrito. As dosagens foram determinadas a 562 nm na leitora de microplacas (Amershan Biosciens da GE. Upsala. Suécia). Os resultados da leitura foram expresso em microM de nitrito de acordo com software Microplate Manager version 4.0 (Bio-Rad Laboratories, USA).

A análise da IgA total utilizou o teste de ELISA adaptado dos métodos de Silva et al. (2001) e, Mackinnon e Jenkins (1993). As placas de poliestireno (Maxi-Sorp, Nunc, Wohlen) foram sensibilizadas com anticorpo anti-IgA humano (Sigma Chemical, Buchs), diluído na concentração ideal em tampão carbonato, 0,06M (pH 9,6) por 12 horas a 4 °C. As placas foram lavadas e bloqueadas com tampão específico de dicloridrato de ortofenilenodiamina (OPD). As amostras de saliva foram diluídas a partir de 1:2 em 1% BSA-PBS-T e incubadas por 1 hora à temperatura ambiente. Após lavagem, foi acrescentado conjugado biotinilado anti-IgA marcado com peroxidase diluída na concentração a ser utilizada. O substrato enzimático H₂O₂ + OPD (tampão cromógeno) incubadas em temperatura ambiente por 1 hora. Para análise individual das placas, os resultados foram expressos em índices ELISA (IE). Os valores de densidade óptica (DO) foram determinados em leitor de ELISA (Titertek Multiskan Plus, Flow Laboratories, USA) à 405 nm. Após obter-se os resultados da IgA total dividiu o mesmo pelo valor da proteína total na saliva e encontrou-se o valor da IgA específica.

Coleta e análise do sangue

Realizou-se a coleta do sangue pelo no lobo esquerdo da orelha de cada voluntário. A primeira gota de sangue foi desprezada para evitar contaminação com lactato eliminado no suor produzido pelas glândulas sudoríparas, e a seguir 25 microL de sangue arterializado foram coletados, utilizando-se de capilares de vidro heparinizados e

calibrados. O sangue coletado foi depositado em microtubos contendo 50 microL de fluoreto de sódio 1%, que, por ser hipotônico, provoca a hemólise e também a inibição da enzima glicolítica enolase, interrompendo assim a atividade glicolítica, além de contribuir para evitar a coagulação sanguínea. O lactato sanguíneo foi analisado por método eletroenzimático no lactímetro YSI 2300 STAT plus (Yellow Springs, OHIO, EUA).

Análise estatística

Para estimar a intensidade relativa de esforço entre os grupos este estudo utilizou-se um modelo de regressão bi-segmentada, na qual o ponto de quebra (PQ) corresponde as duas intensidades propostas no estudo, que foi estimado juntamente com os demais parâmetros do modelo. O modelo de regressão linear bi-segmentado adotado foi: $y_i = \beta_0 + \beta_1 z_i x_i + \beta_2 (1 - z_i) x_i + e_i$, em que: y_i é as concentrações de lactato e proteína total na i -ésima potência; $z_i = 0$ se $X_i \leq pq$; e 1 se $X_i > PQ$; X_i é a i -ésima tempo em minutos; PQ é o ponto de quebra; e e_i é o erro aleatório associado a y_i , $e_i \sim N(0; \sigma^2)$. Utilizou-se como estimativa de mínimos quadrados para este parâmetro o valor de PQ que conduziu ao menor quadrado médio do resíduo para o modelo. Portanto, utilizando-se do modelo matemático descrito acima, determinou-se às intensidades de esforços das duas variáveis analisadas neste estudo.

Fez-se análise do coeficiente de correlação de Pearson para os valores médios de cada variável (lactato sanguíneo, proteína total salivar) obtidos em todos os estágios de exercício até exaustão para avaliar o grau de associação entre elas.

Utilizou-se também a análise de variância em esquema fatorial, com os fatores tempo (T0, TF, T5 e T15) e grupos, mulheres idosas (M), homens idosos (H) e idosos atletas homens (A). Para comparação das médias de lactato sanguíneo, proteína total

salivar, atividade da α -amilase na saliva e óxido nítrico salivar foi utilizado o teste de Tukey.

Para analisar as concentrações, total e específica de IgA entre os grupos, adotou-se o teste não paramétrico pareado de Friedman. Utilizou-se também o teste não paramétrico não pareado de Kruskal-Wallis precedido pelo teste de múltiplas comparações de Dunn's. O estudo admitiu-se para todas as análises estatísticas o nível de $p < 0,05$ para a significância estatística.

RESULTADOS

As medidas de intensidades de esforço através das concentrações do lactato sangüíneo e proteína total na saliva foram realizadas em todos os voluntários. Os valores médios dos pontos de quebra (PQ), que reflete o tempo em minutos onde se iniciou o aumento das concentrações de proteína total salivar e do lactato sangüíneo estão representados na Tabela 1. A curva das concentrações do lactato sangüíneo e da proteína total salivar para o grupo de mulheres idosas (M) mostrou $r=0.0152$ e $p<0.971$ (Figura 1A). O grupo de homens idosos (H) apresentou $r=0.1270$ e $p<0.679$ (Figura 1B) e o grupo de atletas idosos homens (A) mostrou $r=0.7282$ e $p<0.05$ (Figura 1C). Isto indica que entre os grupos, apenas os atletas idosos (grupo A) estavam aptos a mostrar uma correlação entre a determinação de proteína total salivar e lactato sangüíneo no teste agudo de exercício com carga crescente.

Os resultados da análise de variância seguido pelo teste de Tukey (Tabela 2) mostraram uma diferença significativa ($p < 0,05$) para as concentrações de lactato sangüíneo nos estágios inicial (T0), final (TF) e após 5 e 15 minutos (T5 e T15) do final do exercício para todos os grupos investigados. Analisando os dados entre os grupos observa-se uma

diferença do grupo A em relação aos outros dois grupos. Comparando os dados de lactato em função dos tempos observaram-se diferenças entre TF e T5 em relação a T0, mas não houve diferença entre T0 e T15 para os grupos M, H e A. Por outro lado, as concentrações da proteína total salivar embora mostrassem diferenças entre os grupos ($p<0,05$) não apresentaram diferenças em função do tempo T0, T5 e T15 (Tabela 3). Houve apenas diferenças entre T0 e TF para todos os grupos.

A atividade da alfa-amilase salivar aumentou no TF e revelou que existe diferença significativa ($p<0,01$) entre os demais tempos, não apresentando diferenças entre T0, T5 e T15. Em relação aos grupos, o grupo de atletas mostrou ser diferente ($p<0,02$) dos demais grupos, mulheres ativas e homens ativos. Entretanto, o grupo de homens ativos mostrou ter semelhanças com o grupo de atletas (Tabela 4).

Os dados de concentrações de NO salivar através da medida de nitrito mostraram não haver diferença significativa entre os tempos T0, TF, T5 e T15. Houve apenas diferença entre os grupos, sendo que os grupos M e H foram diferentes do grupo A. Onde o grupo de mulheres idosas mostrou-se ter maior liberação de NO salivar, seguido pelo grupo de homens idosos e por último pelo grupo de atletas (Tabela 5)

As análises estatísticas da IgA total entre os grupos revelaram que apenas o grupo H (Figura 2B) teve diferença significativa entre os tempos T0 e TF ($p<0,05$) e T0 e T5 ($p<0,01$). Através dos resultados da concentração específica da IgA os três grupos apresentaram diferenças significativas (Figura 3).

DISCUSSÃO

O exercício físico é capaz de induzir o organismo a mudanças que podem ser detectadas através de biomarcadores salivares e plasmáticos. Neste estudo, compararam-se

os efeitos do exercício em esteira sobre as concentrações de lactato sanguíneo e proteína total salivar para idosos separados em três grupos, mulheres ativas (M) e homens ativos (H) que participam de um programa de atividade física para terceira idade, e idosos atletas homens (A). A investigação do lactato sanguíneo é uma das formas mais clássicas de analisar a intensidade de esforço através da determinação do limiar de lactato (LL). Este parâmetro corresponde à intensidade máxima de exercício em que ocorre equilíbrio entre a produção e a remoção do lactato e representa um meio bioquímico de avaliação da capacidade aeróbia (HECK et al., 1985; HARNISH et al., 2001). Portanto, revelou-se aqui que tanto as concentrações de lactato sanguíneo e proteína total salivar são diferentes entre os grupos de idosos. Quando avaliaram-se as concentrações de lactato e proteína total através do modelo de regressão linear bi-segmentado dos três grupos desta pesquisa, os resultados revelaram existir uma correlação entre lactato sanguíneo e proteína total na saliva para o grupo de atletas idosos e não para os demais grupos. A correlação entre as duas variáveis no grupo de atletas idosos do grupo A sugere que a análise da proteína total na saliva em atletas idosos pode ser também um indicador de intensidade do esforço. O grupo de idosos atletas apresentou uma melhor adaptação ao protocolo utilizado, seguido pelo grupo de homens idosos. Por outro lado, o grupo de mulheres idosas apresentou uma menor adaptação neste teste de esforço com incremento de carga. Uma possível explicação para a diversidade dos resultados entre os três grupos analisados seria a escolha do protocolo de Bruce original como teste de esforço. Este protocolo é o teste ergométrico mais utilizado para fins diagnósticos e prognósticos de doença arterial coronariana além de apresentar uma boa relação custo-risco-benefício inclusive na população idosa (RONDON et al., 1998). Entretanto, o protocolo de esforço de Bruce adaptado que consiste no teste com aumentos leves de elevação da inclinação e velocidade constante. Poderia ser utilizado na pesquisa sobre exercício físico com grupos de voluntários como menor

adaptação ao protocolo original (VACANTI et al., 2004). Além disso, este protocolo adaptado talvez seria mais adequado para fins de diagnóstico clínico. Apesar das limitações de adaptação observou-se que os grupos de homens e mulheres idosos que participam de programa de atividade física (AFRID-UFU) responderam de forma segura e eficiente ao teste ergométrico que investigou o efeito do exercício agudo em esteira com carga crescente.

O aumento na concentração da proteína total da saliva observado neste estudo com exercício agudo incremental poderia estar relacionado com a ativação simpática e parasimpática sobre as glândulas salivares que afetam a secreção de proteínas e redução do fluxo salivar respectivamente (DENNISS e YOUNG, 1978; EMMELIN, 1987, NEDERFORS et al., 1994). Uma outra possibilidade poderia ser um efeito da desidratação como relatado em Walsh et al. (2004). Entretanto, considerando o protocolo de exercício utilizado e o tempo máximo do teste de 12, 15 e 28 minutos para os grupos de mulheres e homens ativos e o de atletas idosos respectivamente, o efeito de uma possível desidratação talvez não se aplica neste caso. Isto sugere que o alto conteúdo orgânico da saliva evocada pela estimulação adrenérgica inclui a elevação do nível de proteína total e da alfa-amilase (NEDERFORS et al., 1994, VAN STEGEREN et al., 2006). Além disso, estudos recentes mostram que o exercício agudo com incremento de carga aumenta a concentração de proteína total da saliva total (BORTOLINI et al 2006) e a atividade e a concentração da alfa-amilase salivar em relação as demais proteínas da saliva (OLIVEIRA et al., 2005 e 2006). Outros estudos também relatam o efeito de exercício incremental sobre o limiar de catecolaminas correlacionado com o limiar de lactato e com outros biomarcadores salivares como eletrólitos e amilase (GREEN et al., 1983; MAZZEO e MARSHALL, 1989; CHICHARRO et al., 1994; CHATTERTON et al., 1996).

A atividade da alfa-amilase salivar revelou para todos os grupos de idosos que sua atividade se elevou no final do exercício ou exaustão de cada voluntário. Isto está de acordo com dados que relatam que a atividade da alfa-amilase, via ativação adrenérgica está aumentada em diversas situações como ação de beta-bloqueadores adrenérgicos, estresse físico como o exercício, exposição a ambientes com pressão e temperaturas elevada e estresse psicológico que levam a fadiga mental (VAN STEGEREN et al., 2006, WALSH et al., 1999; CHATTERTON et al., 1996; STEERENBERG et al., 1997; GILMAN et al., 1979; OLIVEIRA et al., 2006; YAMAGUCHI et al., 2006a).

No grupo de idosos atletas a atividade da alfa-amilase salivar foi maior do que o grupo de mulheres e de homens, todavia todos os grupos tiveram a atividade da alfa-amilase reduzida após o exercício em T15. Isto também está de acordo com Bishop et al. (2000) e Oliveira et al. (2006) que mostraram que a atividade alfa-amilase salivar aumentava no decorrer do exercício e reduzia próximo aos níveis de atividade inicial no período pós-exercício.

A atividade da alfa-amilase salivar foi usada como base para limiar salivar definido como o ponto em que primeiro ocorre o aumento contínuo da atividade durante o exercício sendo comparado ao limiar de lactato (CHICHARRO et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2006). Entretanto, estes dados foram obtidos de jovens bem treinados realizando exercício em ciclo ergômetro com incremento de 25 watts até exaustão. Os dados aqui apresentados constituem-se no primeiro relato sobre o aumento da atividade da alfa-amilase salivar em idosos realizando exercício com incremento de carga. Mas para uma melhor comparação com outros estudos relatados na literatura deve-se considerar como a idade pode influenciar os níveis de atividade da alfa-amilase. Dados em modelo experimental (KIM, 1981) avaliaram os níveis de atividade da alfa-amilase salivar durante todo período de vida

em ratos machos, observando que os níveis da enzima diferem. Animais jovens exibiram alta atividade da alfa-amilase enquanto os ratos envelhecidos tinham pouca atividade.

Em relação às concentrações, total e específica de IgA, as informações aqui obtidas mostram que os dados de IgA específica reflete com mais exatidão as alterações sofridas durante o exercício físico nos três grupos de idosos. Os resultados sobre as diferenças encontradas no TF indicam que os grupos M e A estavam próximos da intensidade máxima ao final do exercício, já não acontecendo o mesmo comportamento com o grupo H. Entretanto, nas fases de recuperação pós-exercício T5 e T15, os grupos M e A, tiveram elevação na concentração de IgA salivar. O mesmo aconteceu com atletas jovens jogadores de futebol bem treinados realizando exercício agudo com máxima intensidade que tiveram as concentrações de proteína total salivar e atividade da alfa-amilase salivar aumentada em relação à intensidade do exercício embora não alterassem as concentrações de IgA salivar (WALSH et al., 1999). Porém durante o período de recuperação de duas a cinco horas os níveis de proteína total salivar e atividade da alfa-amilase retornaram próximos aos níveis pré-exercício, ao contrário da concentração de IgA que se elevou na mesma fase. Portanto os dados aqui apresentados indicam que uma única sessão de exercício é capaz de afetar de forma positiva a função imune na saliva nos grupos M, H e A, no período de recuperação. Ao contrário dos estudos Krzywkowski et al. (2001) e Steerenberg et al. (1997) revelaram alterações tanto na concentração de proteína total e IgA na saliva em atletas jovens após competição. Os níveis de proteína total salivar no decorrer da competição tiveram aumento significativo no final em comparação com os níveis iniciais enquanto, que a IgA na saliva foram reduzindo no decorrer da prova.

A influência da intensidade do exercício sobre as funções imunológicas baseia-se que nos exercícios mais intensos em que as funções imunológicas são diminuídas. Nos exercícios de baixa à moderada intensidade existe uma melhora não apenas aos níveis de

IgA, mas em todo sistema imune. Exercícios agudos realizados em sessão única de treinamento com intensidade moderada à intensa mostraram que os níveis de IgA se elevaram nesta circunstância (SAKAMOTO et al., 2005; MILETIC et al., 1996). Outros estudos, considerando a prescrição de exercício de baixa intensidade para pessoas idosas realizados de forma crônica ou com duração acima de doze semanas revelaram que os níveis de IgA foram maiores no grupo que se exercitou com intensidade leve (AKIMOTO et al., 2003; KLENTROU et al., 2002). Desta forma, a intensidade do exercício apropriada capaz de induzir um efeito benéfico na função imune, depende do grau de condicionamento físico, gênero e idade.

Com relação às análises das concentrações de NO salivar as mulheres apresentou uma maior concentração em comparação com os grupos de homens ativos e homens atletas. Dados que correlacionam a dosagem de metabólitos do NO salivar durante o exercício físico são escassos (PANOSSIAN et al., 1999). Análise da concentração de nitrito no plasma de mulheres idosas, submetidas a exercícios leve a moderados em esteira mostra que as concentrações permaneceram elevadas durante o exercício e após o protocolo de exercício e tem em contrapartida redução nos valores de pressão arterial (MAEDA et al., 2004). A modificação do estilo de vida de idosos de ambos os sexos foi proposta a partir de estudo sobre a prática regular de exercícios e modificação nos hábitos alimentares (OHTA et al., 2005). Após doze semanas as concentrações de óxido nítrico no sangue elevaram significativamente e houve uma redução nos valores de pressão arterial. Por outro lado, Maeda et al. (2001), mostraram que os níveis de nitrito e nitrato para jovens no final das oito semanas de treino se elevaram em relação ao início da sessão de treinamento. Entretanto, ao final do exercício eles começaram observar que os níveis se mantiveram elevados nas primeiras quatro semanas pós-treino, tendo uma redução significativa oito semanas depois da pesquisa sugerindo que a produção de NO sofre

influência não só pelo exercício, mas também pelo estilo de vida. Os resultados apresentados pelos dois grupos de pesquisa sugerem que o exercício físico exerce uma influência positiva nas concentrações do nitrito no sangue e a sua falta pode contribuir de forma negativa na saúde dos idosos. As diferenças nas concentrações de nitrito salivar no grupo de idosos ativos pode ser explicado tanto em mulheres quanto nos homens de nossa pesquisa pelo fato de ambos fazerem parte de um programa permanente de atividades física direcionadas para idosos. Entretanto, novos trabalhos devem ser realizados enfocando o monitoramento do NO salivar com idosos sedentários e comparar as concentrações do nitrito salivar nestas duas populações.

Os dados de concentrações de NO salivar através da medida de nitrito mostraram não haver diferença significativa entre os tempos (T0, TF, T5 e T15), havendo apenas diferenças significativas entre os grupos, o qual o grupo de atletas idosos foi diferente do grupo de homens idosos e mulheres idosas, encontrando assim a menor concentração do NO salivar no grupo dos atletas, uma possível explicação pode ser pelo intenso treinamento diário que estes atletas são submetidos. Toda esta carga de treinamento influenciaria na liberação da acetilcolina. Os exercícios aeróbios intensos provocam menor ação da acetilcolina que exerce função vasodilatadora no endotélio pela liberação do óxido nítrico, entretanto, estes mecanismos ainda não estão completamente compreendidos (GOTO et al., 2003). De acordo com Tadei et al. (2000), foi avaliado em atletas jovem e atletas idosos a vasodilatação induzida pela acetilcolina. Observaram que a vasodilatação foi menor no grupo de atletas idosos do que no grupo de atletas jovens. Não foi objeto de nossa pesquisa estudarmos a ação da acetilcolina nas glândulas salivares, porém é confirmado que a estimulação parassimpática deste neurotransmissor não causa um aumento de NO nas glândulas salivares (LOOMS et al., 2000). Desta forma, os exercícios físicos intensos interferem na liberação do óxido nítrico sangüíneo, podendo refletir as

mesmas ações na liberação de seu metabólico na saliva. Além disto, o próprio processo de envelhecimento está relacionado com a menor liberação do NO (ZEIHER et al., 1993; EGASHIRA et al., 1993; GERHARD et al., 1996; TADDEI et al., 2001).

CONCLUSÃO

Conclui-se que as análises de biomarcadores da saliva constituem numa importante abordagem para o monitoramento nos níveis de aptidão física em idosos. Através das análises da concentração de proteína total salivar e da atividade da alfa-amilase salivar observaram-se aumento destes dois biomarcadores durante o exercício agudo. A correlação entre a proteína total salivar e o lactato sanguíneo fornece informações tanto bioquímicas quanto fisiológicas mostrando o estado funcional dos idosos durante a sessão de exercício. As concentrações específicas de IgA na saliva permaneceram elevadas ao final da sessão aguda de treinamento, favorecendo todos os grupos de idosos provavelmente deixando-os mais protegidos contra infecções. A concentração de óxido nítrico está diretamente relacionada com a intensidade do exercício, sendo liberado em maior proporção nos idosos ativos do que no grupo de idosos atletas. A utilização dos biomarcadores salivares apresenta-se como uma abordagem apropriada para avaliar o efeito do exercício agudo com incremento de carga em diferentes grupos de população idosa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Akimoto T, Kumai Y, Akama T, Hayashi E, Murakami H, Soma R, Kuno S, Kono I (2003) Effects of 12 months of exercise training on salivary secretory IgA levels in aged subjects. **Br J Sports Med.** Feb;37(1):76-9.

Astaneie F, Afshari M, Mojtahedi A, Mostafalou S, Zamani MJ, Larijani B, Abdollahi M (2005) Total antioxidant capacity and levels of epidermal growth factor and nitric oxide in blood and saliva of insulin-dependent diabetic patients. **Arch Med Res.** Jul-Aug;36(4):376-81.

Bayindir YZ, Polat MF, Seven N (2005) Nitric oxide concentrations in saliva and dental plaque in relation to caries experience and oral hygiene. **Caries Res.** Mar-Apr;39(2):130-3.

Bishop NC, Blannin AK, Armstrong E, Rickman M, Gleeson M (2000) Carbohydrate and fluid intake affect the saliva flow rate and IgA response to cycling. **Med Sci Sports Exerc.** Dec;32(12):2046-51.

Bishop NC, Walker GJ, Scanlon GA, Richards S, Rogers E (2006) Salivary IgA responses to prolonged intensive exercise following caffeine ingestion. **Med Sci Sports Exerc.** Mar;38(3):513-9.

Bortolini Júnior MS, Agostini GG, Silva RPM, Espindola FS (2006) Total protein of whole saliva as biomarker of anerobic thershold. **Res Quart Exerc Sports.** Submitted in 2006.

Bruce RA (1971) Exercise testing of patients with coronary heart disease. Principles and normal standards for evaluation. **Ann Clin Res.** Dec;3(6):323-32.

Chatterton RT Jr, Vogelsong KM, Lu YC, Ellman AB, Hudgens GA (1996) Salivary alpha-amylase as a measure of endogenous adrenergic activity. **Clin Physiol.** Jul;16(4):433-48.

Chicharro JL, Calvo F, Alvarez J, Vaquero AF, Bandres F, Legido JC (1995) Anaerobic threshold in children: determination from saliva analysis in field tests. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol.** 70(6):541-4.

Chicharro JL, Legido JC, Alvarez J, Serratosa L, Bandres F, Gamella C (1994) Saliva electrolytes as a useful tool for anaerobic threshold determination. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol.** 68(3):214-8.

Chicharro JL, Perez M, Carvajal A, Bandres F, Lucia A (1999) The salivary amylase, lactate and electromyographic response to exercise. **Jpn J Physiol.** Dec;49(6):551-4.

Denniss AR, Young JA (1978) Modification of salivary duct electrolyte transport in rat and rabbit by physalaemin, VIP, GIP and other enterohormones. **Pflugers Arch.** Aug 25;376(1):73-80.

Egashira K, Inou T, Hirooka Y, Kai H, Sugimachi M, Suzuki S, Kuga T, Urabe Y, Takeshita A (1993) Effects of age on endothelium-dependent vasodilation of resistance coronary artery by acetylcholine in humans. **Circulation.** 1993 Jul;88(1):77-81.

Emmelin N (1987) Nerve interactions in salivary glands. **J Dent Res.** Feb;66(2):509-17.

Gerhard M, Roddy MA, Creager SJ, Creager MA (1996) Aging progressively impairs endothelium-dependent vasodilation in forearm resistance vessels of humans. **Hypertension.** Apr;27(4):849-53.

Gilman S, Thornton R, Miller D, Biersner R (1979) Effects of exercise stress on parotid gland secretion. **Horm Metab Res.** Jul;11(7):454.

Goto C, Higashi Y, Kimura M, Noma K, Hara K, Nakagawa K, Kawamura M, Chayama K, Yoshizumi M, Nara I (2003) Effect of different intensities of exercise on endothelium-dependent vasodilation in humans: role of endothelium-dependent nitric oxide and oxidative stress. **Circulation.** Aug 5;108(5):530-5.

Granger DL, Taintor RR, Boockvar KS, Hibbs JBJr (1995) Determination of nitrate and nitrite in biological samples using bacterial nitrate reductase coupled with the Griess reaction. **Methods: A Comp Meth Enz.** Feb;7: 78-83.

Green HJ, Hughson RL, Orr GW, Ranney DA (1983) Anaerobic threshold, blood lactate, and muscle metabolites in progressive exercise. **J Appl Physiol.** Apr;54(4):1032-8.

Gruenewald TL, Kemeny ME, Aziz N, Fahey JL (2004) Acute threat to the social self: shame, social self-esteem, and cortisol activity. **Psychosom Med.** Nov-Dec;66(6):915-24.

Harnish CR, Swensen TC, Pate RR (2001) Methods for estimating the maximal lactate steady state in trained cyclists. **Med Sci Sports Exerc.** Jun;33(6):1052-5.

Heck H, Mader A, Hess G, Mucke S, Muller R, Hollmann W (1985) Justification of the 4-mmol/l lactate threshold. **Int J Sports Med.** Jun;6(3):117-30.

Hiscock N, Pedersen BK (2002) Exercise-induced immunodepression- plasma glutamine is not the link. **J Appl Physiol.** Sep;93(3):813-22.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Censo 2000. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. 2006.

Kawamura T (2001) Avaliação da capacidade física e teste ergométrico. **Rev Socesp.** (11): 3: 659-669.

Kim SK (1981) Age-related changes in the cellular level of amylase and protein synthesis in the rat parotid gland. **J Dent Res.** Mar;60(3):738-47.

King AC, Pruitt LA, Phillips W, Oka R, Rodenburg A, Haskell WL (2000) Comparative effects of two physical activity programs on measured and perceived physical functioning and other health-related quality of life outcomes in older adults. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci.** Feb;55(2):M74-83.

Klentrou P, Cieslak T, MacNeil M, Vintinner A, Plyley M (2002) Effect of moderate exercise on salivary immunoglobulin A and infection risk in humans. **Eur J Appl Physiol.** Jun;87(2):153-8.

Krzywkowski K, Petersen EW, Ostrowski K, Link-Amster H, Boza J, Halkjaer-Kristensen J, Pedersen BK (2001) Effect of glutamine and protein supplementation on exercise-induced decreases in salivary IgA. **J Appl Physiol.** Aug;91(2):832-8.

Looms DK, Dissing S, Tritsaris K, Pedersen AM, Nauntofte B (2000) Adrenoceptor-activated nitric oxide synthesis in salivary acinar cells. **Adv Dent Res.** Dec;14:62-8.

Maeda S, Miyauchi T, Kakiyama T, Sugawara J, Iemitsu M, Irukayama-Tomobe Y, Murakami H, Kumagai Y, Kuno S, Matsuda M (2001) Effects of exercise training of 8 weeks and detraining on plasma levels of endothelium-derived factors, endothelin-1 and nitric oxide, in healthy young humans. **Life Sci.** Jul 20;69(9):1005-16.

Maeda S, Tanabe T, Otsuki T, Sugawara J, Iemitsu M, Miyauchi T, Kuno S, Ajisaka R, Matsuda M (2004) Moderate regular exercise increases basal production of nitric oxide in aged women. **Hypertens Res.** Dec;27(12):947-53.

Mazzeo RS, Marshall P (1989) Influence of plasma catecholamines on the lactate threshold during graded exercise. **J Appl Physiol.** Oct;67(4):1319-22.

McAllister RM, Laughlin MH (2006) Vascular nitric oxide: effects of physical activity, importance for health. **Essays Biochem.** 42:119-31.

Miletic ID, Schiffman SS, Miletic VD, Sattely-Miller EA (1996) Salivary IgA secretion rate in young and aged persons. **Physiol Behav.** Jul;60(1):243-8.

Nater UM, Rohleder N, Gaab J, Berger S, Jud A, Kirschbaum C, Ehlert U (2005) Human salivary alpha-amylase reactivity in a psychosocial stress paradigm. **Int J Psychophysiol.** Mar;55(3):333-42.

Nederfors T, Dahlöf C, Twetman S (1994) Effects of beta-adrenoreceptor antagonists atenolol and propranolol on human unstimulated whole saliva flow rate and protein composition. **Scand J Dent Res.** Aug;102(4):235-7.

Ohta M, Nanri H, Matsushima Y, Sato Y, Ikeda M (2005) Blood pressure-lowering effects of lifestyle modification: possible involvement of nitric oxide bioavailability. **Hypertens Res.** Oct;28(10):779-86.

Oliveira VN, Bortolini Júnior MS, Reis IT, Lamounier RPMS, Espindola FS (2005) Biomarcadores Salivares na Avaliação do Limiar Anaeróbio. **Fitness & Performance J.** Rio de Janeiro, v. 04, n. 2, p. 85-89.

Oliveira VN, Lamounier RPMS, Santana MG, Mello MT, Silva HDS, Espindola FS (2006) Salivary biomarkers and its relationship with lactate threshold and physical stress. **Arch Oral Biol.** Submitted in 2006.

Ourania M, Yvoni H, Christos K, Ionannis T (2003) Effects of a physical activity program. The study of selected physical abilities among aged women. **J Gerontol Nurs.** Jul;29(7):50-5.

Panossian AG, Oganessian AS, Ambartsumian M, Gabrielian ES, Wagner H, Wikman G (1999) Effects of heavy physical exercise and adaptogens on nitric oxide content in human saliva. **Phytomedicine.** Mar;6(1):17-26.

Perez M, Lucia A, Carvajal A, Pardo J, Chicharro JL (1999) Determination of the maximum steady state of lactate (MLSS) in saliva: an alternative to blood lactate determination. **Jpn J Physiol.** Aug;49(4):395-400.

Rondon MUPB, Forjaz CLM, Nunes N, Amaral SL, Barreto ACP, Negrão CE (1998) Comparação entre a prescrição de intensidades de treinamento físico baseada na avaliação ergométrica convencional e na ergoespirometria. **Arq Bras Cardiol.** 70:3:159-166.

Sakamoto Y, Ueki S, Shimanuki H, Kasai T, Takato J, Ozaki H, Kawakami Y, Haga H (2005) Effects of low intensity physical exercise on acute changes in resting saliva secretor IgA levels in the aged. **Geriatrics and Gerontology Internac.** 5:202-206.

Schneider DA, McLellan TM, Gass GC (2000) Plasma catecholamine and blood lactate responses to incremental arm and leg exercise. **Med Sci Sports Exerc.** Mar;32(3):608-13.

Segura R, Javierre C, Ventura JL, Lizarraga MA, Campos B, Garrido E (1996) A new approach to the assessment of anaerobic metabolism: measurement of lactate in saliva. **Br J Sports Med.** Dec;30(4):305-9.

Shephard RJ (2000) Overview of the epidemiology of exercise immunology. **Immun and Cell Biol.** 78: 485-495.

Steerenberg PA, Van Asperen IA, Van Nieuw Amerongen A, Biewenga A, Mol D, Medema GJ (1997) Salivary levels of immunoglobulin A in triathletes. **Eur J Oral Sci.** Aug;105(4):305-9.

Taddei S, Galetta F, Viridis A, Ghiadoni L, Salvetti G, Franzoni F, Giusti C, Salvetti A (2000) Physical activity prevents age-related impairment in nitric oxide availability in aged athletes. **Circulation.** Jun 27;101(25):2896-901.

Taddei S, Viridis A, Ghiadoni L, Salvetti G, Bernini G, Magagna A, Salvetti A (2001) Age-related reduction of NO availability and oxidative stress in humans. **Hypertension.** Aug;38(2):274-9.

Tavares FN, Goncalves PL, Porto SA, Pereira FE, Ribeiro-Rodrigues R (2005) Nitric oxide levels are not changed in saliva of patients infected with hepatitis C virus. **Rev Soc Bras Med Trop.** Nov-Dec;38(6):453-5.

Vacanti LJ, Sespedes LBH, Sarpi MO (2004) O teste ergométrico é útil, seguro e eficaz, mesmo em indivíduos muito idosos, com 75 anos ou mais. **Arq Bras Cardiol.** 82:2:147-50.

Van Stegeren A, Rohleder N, Everaerd W, Wolf OT (2006) Salivary alpha amylase as marker for adrenergic activity during stress: effect of betablockade. **Psychoneuroendocrinology.** Jan;31(1):137-41

Walsh NP, Blannin AK, Clark AM, Cook L, Robson PJ, Gleeson M (1999) The effects of high-intensity intermittent exercise on saliva IgA, total protein and alpha-amylase. **J Sports Sci.** Feb;17(2):129-34.

Walsh NP, Laing SJ, Oliver SJ, Montague JC, Walters R, Bilzon JL (2004) Saliva parameters as potential indices of hydration status during acute dehydration. **Med Sci Sports Exerc.** Sep;36(9):1535-42.

Yamaguchi M, Deguchi M, Miyazaki Y (2006b) The effects of exercise in forest and urban environments on sympathetic nervous activity of normal young adults. **J Int Med Res.** Mar-Apr;34(2):152-9.

Yamaguchi M, Deguchi M, Wakasugi J, Ono S, Takai N, Higashi T, Mizuno Y (2006a) Hand-held monitor of sympathetic nervous system using salivary amylase activity and its validation by driver fatigue assessment. **Biosens Bioelectron.** Jan 15;21(7):1007-14.

Zeier AM, Drexler H, Saurbier B, Just H (1993) Endothelium-mediated coronary blood flow modulation in humans. Effects of age, atherosclerosis, hypercholesterolemia, and hypertension. **J Clin Invest.** Aug;92(2):652-62.

TABELAS

TABELA 1: Análise descritiva da inflexão da reta (pontos de quebra) em seus respectivos tempos (minutos).

	M	H	A
Proteína Total da Saliva (mg/dL)	4 ±1,47	7 ±1,92	12 ±3,01
Lactato (mmol/L)	5 ±1,83	6 ±1,64	13± 2,83

Médias e Desvio Padrão das Concentrações de Proteína Total Salivar e Lactato Sanguíneo.

TABELA 2: Concentração de Lactato Sanguíneo dos Grupos em Relação aos Estágios do Exercício.

	M	H	A	Médias
T0	0,95 aA	0,73 aA	0,94 aA	0,89 a
TF	3,03 abAB	2,36 abAB	5,08 bB	3,57 b
T5	2,37 abAB	2,78 abAB	5,35 bB	3,51 b
T15	2,12 abA	1,89 abA	3,01 abA	2,37 ab
Médias entre os grupos	2,12 a	1,94 A	3,60 B	

O teste de Tukey para médias dos valores de lactato sanguíneo (mmol/L) para os três grupos de idosos, mulheres (M), homens (H) e atletas (A) e para os tempos inicial (T0), final (TF) e os tempos 5 e 15 minutos após o exercício (T5) e (T15), com significância de 5% (p-valor < 0,05). As letras minúsculas representam a comparação entre as colunas e as letras maiúsculas representam a comparação entre as linhas.

TABELA 3: Concentração da Proteína Total Salivar dos Grupos em Relação aos Estágios do Exercício.

	M	H	A	Médias
T0	40,04 aA	37,53 aA	34,98 aA	37,62 a
TF	76,06 aA	85,00 aA	188,22 cB	117,40 b
T5	46,01 aA	37,00 aA	109,35 bB	65,68 a
T15	47,00 aA	31,43 aA	51,42 abA	44,36 a
Médias entre os grupos	52,20 A	47,73 A	96,00 B	

O teste de Tukey para médias dos valores de proteína total na saliva (mg/dL) para os três grupos de idosos, atletas (A), homens (H) e mulheres (M) e para os tempos inicial (T0), tempo final (TF) e os tempos 5 e 15 minutos após o exercício (T5) e (T15), com significância de 5% (p-valor < 0,05). As letras minúsculas representam a comparação entre as colunas e as letras maiúsculas representam a comparação entre as linhas.

TABELA 4: Atividade da Alfa-Amilase Salivar dos Grupos em Relação aos Estágios do Exercício.

	M	H	A	Médias
T0	1242,10 Aa	1080,60 Aa	1621,33 Aa	1331,87 a
TF	2255,47 Aa	2482,57 Aa	2724,38 Aa	2477,82 b
T5	1128,72 Aa	1362,41 Aa	3245,98 Aa	1926,12 a
T15	1212,82 Aa	1108,57 Aa	1657,13 Aa	1340,17 a
Média entre os grupos	1459,78 A	1508,54 AB	2312,20 B	

O teste de Tukey para médias dos valores da atividade da alfa-amilase salivar (U/mL) para os três grupos de idosos, mulheres (M), homens (H) e atletas (A) e para os tempos inicial (T0), final (TF) e os tempos 5 e 15 minutos após o exercício (T5) e (T15), com significância de 5% (p-valor < 0,05). As letras minúsculas representam a comparação entre as colunas e as letras maiúsculas representam a comparação entre as linhas.

TABELA 5: Concentração de Nitrito Salivar dos Grupos de Idosos em Relação aos Estágios do Exercício.

	M	H	A	MÉDIAS
T0	54.33 Aa	61.80 Aa	34.00 Aa	48,05 a
TF	83.55 Aa	74.20 Aa	45.63 Aa	67,45 a
T5	98.67 Aa	60.00 Aa	59.50 Aa	75,39 a
T15	97.56 Aa	59.00 Aa	38.14 Aa	68,10 a
Média entre os grupos	83,03 A	63,90 AB	44,19 B	

O teste de Tukey para médias dos valores de nitrito (microM) para os três grupos de idosos mulheres (M), homens (H) e atletas (A) e para os tempos inicial (T0), final (TF) e os tempos 5 e 15 minutos após o exercício (T5) e (T15), com significância de 5% (p-valor < 0,05). As letras minúsculas representam a comparação entre as colunas e as letras maiúsculas representam a comparação entre as linhas.

LEGENDAS DAS FIGURAS

FIGURA 1: Análise da Proteína Total na Saliva e Lactato Sangüíneo durante o Protocolo de Bruce. Para as médias das concentrações de proteína total na saliva e lactato sangüíneo fez-se a correlação de Pearson. Esta análise mostra $r=0.0152$ e $p<0.971$ obtidos pelas mulheres idosas (A). Para os homens idosos $r=0.1270$ e $p<0.679$ (B) e para os homens atletas $r=0.7282$ e $p<0.05$ (C).

FIGURA 2: Concentração de IgA Total Salivar. Análise estatística das médias das concentrações de IgA total salivar. Estágios I (T0), II (TF), III (T5) e IV (T15) referentes ao exercício agudo de $p<0,05$ obtidos pelas mulheres idosas (A). Para os homens idosos $p<0.01$ (B) e para os idosos atletas $p<0,05$ (C).

FIGURA 3: Concentração de IgA Salivar Específica. Análise das concentrações específicas de IgA salivar. Estágios I (T0), II (TF), III (T5) e IV (T15) referentes ao exercício agudo de $p<0,05$ obtidos pelas mulheres idosas (A). Para os homens idosos $p<0.01$ (B) e para os idosos atletas $p<0,05$ (C).

ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1:

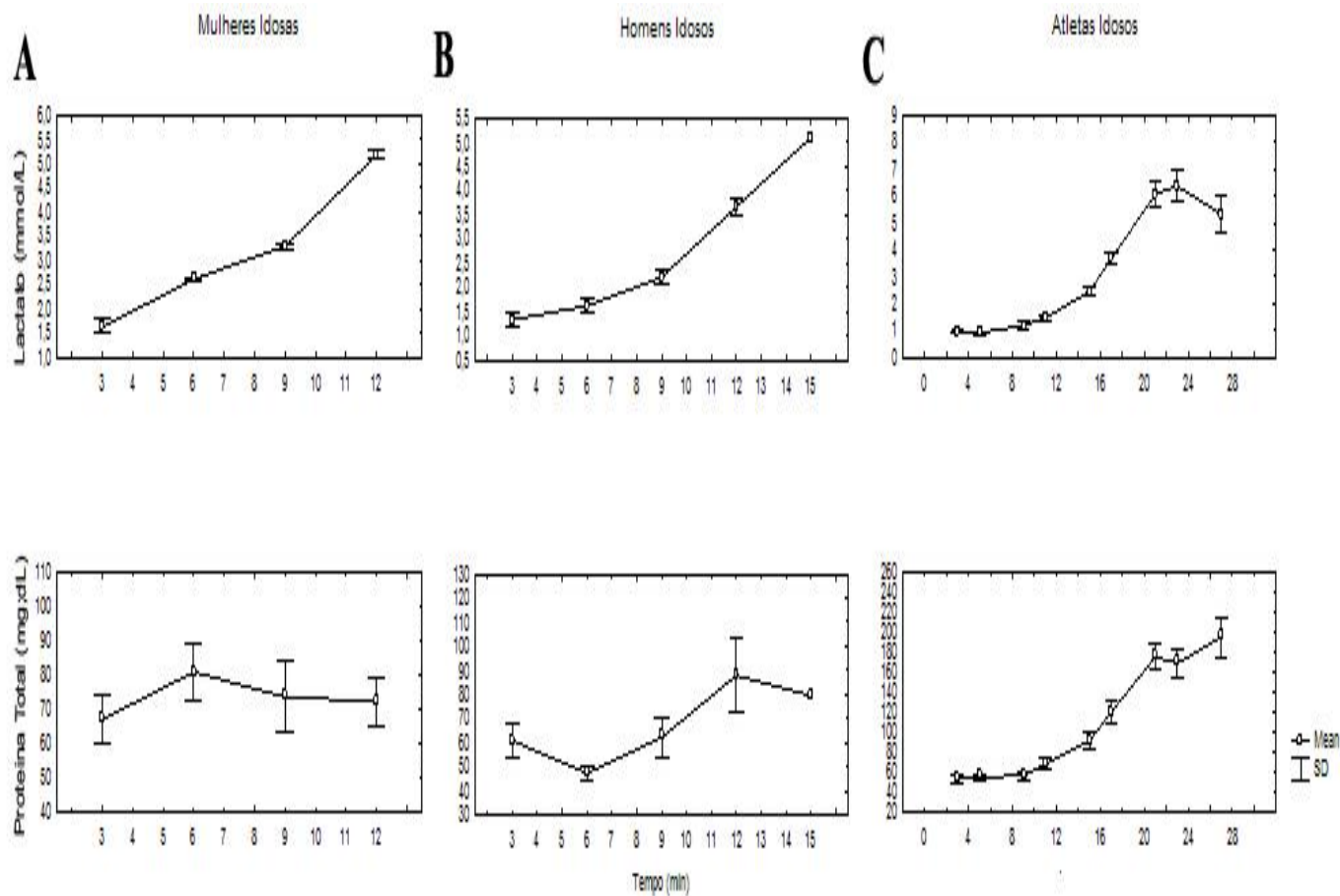


FIGURA 2:

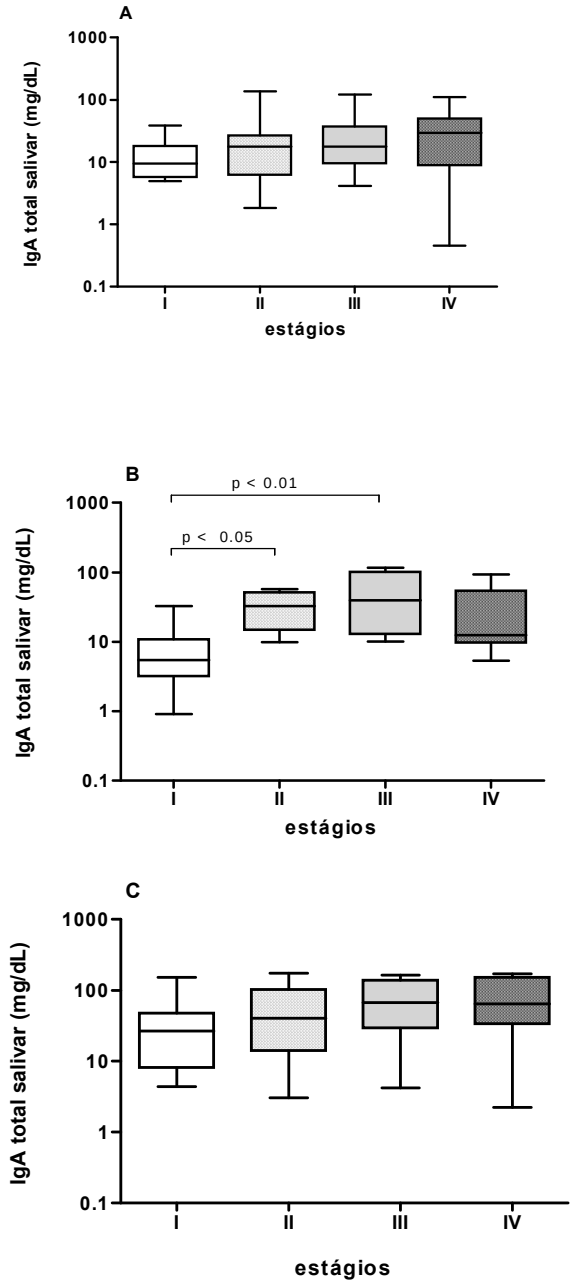
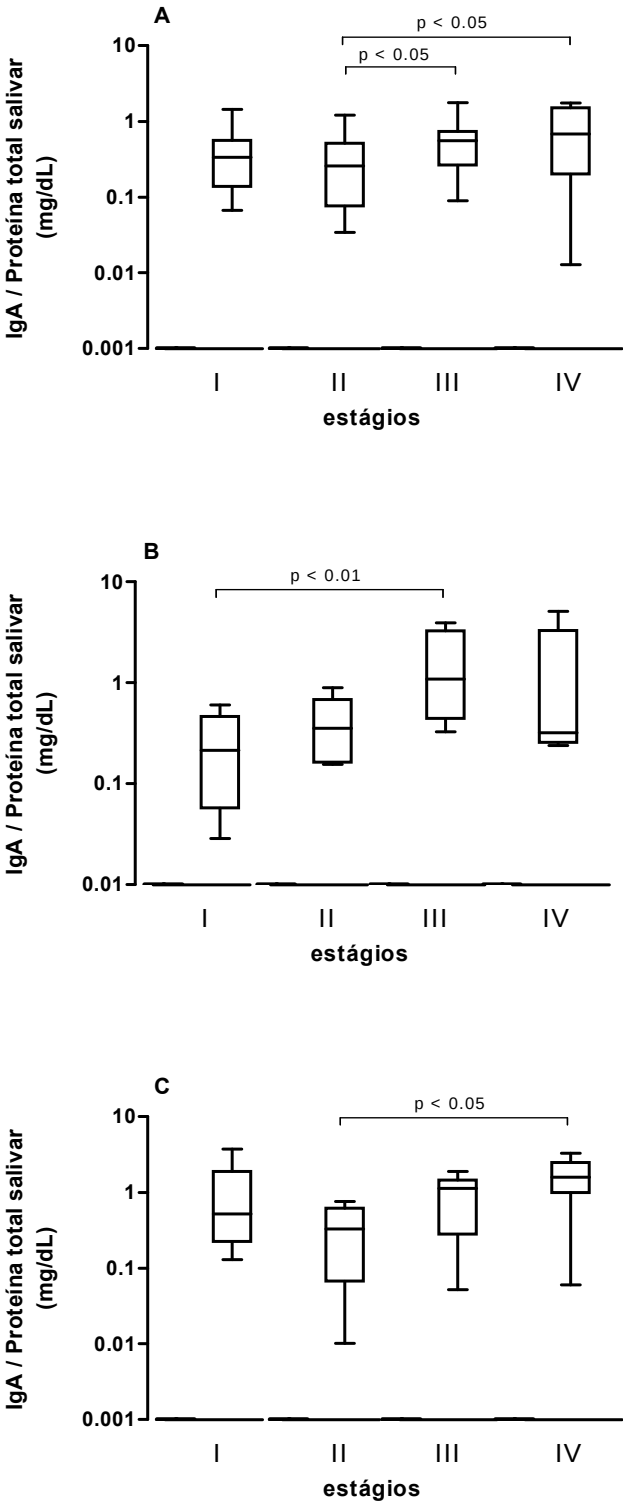


FIGURA 3:



CONCLUSÃO GERAL

Neste estudo, conclui-se que a saliva é uma importante ferramenta para o monitoramento nos níveis de aptidão física em idosos. Vimos que com o aumento da intensidade do exercício físico ocorre aumento dos biomarcadores salivares proteína total e atividade da alfa-amilase. A correlação entre a proteína total salivar e o lactato sanguíneo pode vir a fornecer informações do estado funcional dos idosos durante a sessão de exercício. Nas IgA salivares percebemos que ocorreu seu aumento no final das sessões agudas de exercício e permaneceram elevadas após o exercício agudo protegendo os idosos contra infecções futuras. A concentração de óxido nítrico salivar está diretamente relacionada com a intensidade do exercício, sendo liberado em maior proporção nos idosos ativos do que no grupo de idosos atletas, assim, a alta produção de NO salivar pode contribuir para prevenção de complicações cardiovasculares. Portanto, a utilização dos biomarcadores salivares apresenta-se como uma abordagem apropriada para avaliar o efeito do exercício agudo com incremento de carga em diferentes grupos de população idosa.

ANEXOS

ANEXO I – Termo de Consentimento do Voluntário

(Conselho Nacional de Saúde, Resolução 196/96)

Eu _____,
RG _____, nascido em ____/____/____ e domiciliado à _____ município de _____, usuário (ou responsável legal pelo usuário _____), declaro que consinto em participar como voluntário do Projeto de Pesquisa **“O ESTUDO DE BIOMARCADORES SALIVARES E PLASMÁTICOS EM INDIVÍDUOS IDOSOS EM CICLO ERGÔMETRO COM CARGAS CRESCENTES”** sob responsabilidade dos pesquisadores Prof. Ms. Anibal Monteiro de Magalhães Neto e Prof. Dr. Elmiro Santos Resende. Nós, os pesquisadores, gostaríamos de informá-lo que será realizada uma pesquisa que estudará alguns componentes encontrados na saliva e no sangue, durante o exercício físico. O objetivo desse trabalho é efetuar um estudo envolvendo o exercício físico, os idosos e substâncias encontradas na saliva e no sangue, relacionando-as, e que possam influenciar na qualidade de vida e atividades físicas programadas. O desenvolvimento do projeto ocorrerá em 10 etapas, as quais contarão com:

1 – **Escolha dos voluntários:** Serão aceitos como voluntários os idosos não fumantes, que não apresentem qualquer doença do coração, do pulmão, de rins, diabetes mellitus e/ou qualquer alteração mental ou neurológica. Os selecionados para o grupo 2 devem estar inscritos e participando do Programa Atividades Físicas e Recreativas para Idosos - Faculdade de Educação Física - Universidade Federal de Uberlândia (AFRID-FAEFI-UFU); além disso, que estejam com suas devidas faculdades físicas e mentais preservadas, conforme declaração do AFRID.

2 – **Análise de sangue:** Serão analisadas as seguintes variáveis (colesterol, creatina quinase, creatina quinase total, HDL, LDL, triglicérides, ácido úrico, uréia, glicose e proteína C reativa).

3 – **Análise do Ecocardiograma:** análise do funcionamento do coração.

4 – **Análise de Eletrocardiograma de Esforço:** análise do funcionamento do coração quando em exercício físico.

5 – Caso o idoso interessado apresente algum problema nos itens (2, 3, 4), o mesmo será automaticamente excluído da participação do projeto de pesquisa.

Obs: Todos os resultados serão entregues aos idosos excluídos, para que os mesmos tomem as devidas providências, eximindo os pesquisadores e a UFU de qualquer vínculo ou responsabilidade pelos resultados dos exames realizados e futuras consultas médicas e/ou tratamento. Permanecerão apenas os idosos saudáveis e aptos para o programa de exercício físico que irão participar do item (6).

6 – Caso o idoso se interesse em participar do projeto de pesquisa, o mesmo assinará um termo de consentimento e livre esclarecimento e, a partir desse momento, será voluntário para participar do projeto de pesquisa.

7 – O voluntário responderá questionários que avaliarão os níveis de estresse e depressão.

8 – O voluntário passará por um programa de avaliação antropométrica (gordura corporal) a cada três meses a partir do início do projeto.

9 – O voluntário executará o seguinte programa de exercício: (eletrocardiograma de esforço) em teste de esteira que consiste em: aumento da velocidade e elevação no grau de inclinação a cada (3) três minutos. O teste será interrompido sempre no segundo minuto de cada estágio para coleta de sangue pelo lóbulo da orelha e saliva, sendo a duração para coleta de (1) um minuto. Após a coleta a esteira é ligada novamente para execução do protocolo até que o voluntário alcance seu estágio máximo.

10 – A frequência cardíaca do voluntário será sempre monitorada durante o protocolo de exercício não deixando que o mesmo ultrapasse sua capacidade máxima.

O período previsto de duração deste projeto é de 24 meses (2 anos) com todo grupo de idosos. Serão avaliados 6 voluntários por semana, sob a responsabilidade geral do Prof. Dr. Elmiro Santos Resende, Prof. Ms. Anibal Monteiro de Magalhães Neto e pela parte médica pelo Prof. Dr. Rimmel Amador Guzman Heredia.

Desta forma, vimos através desta pedir-lhe que participe desta pesquisa como voluntário, pois é de suma importância que investiguemos as relações de substâncias encontradas na saliva e sangue durante atividade física. Em caso de dúvida ou alguma orientação necessária, entre em contato com o Prof. Ms. Anibal Monteiro de Magalhães Neto (0xx34) 3218-2477 em Uberlândia-MG.

Poderei consultar os pesquisadores em qualquer época, pessoalmente ou pelos telefones (0xx34) 3218-2477, (0xx34) 9121-8252, ou 3239-4131 Comitê de Ética e Pesquisa para esclarecimento de quaisquer dúvidas; estou livre para a qualquer momento deixar de participar da pesquisa sem apresentar justificativa e sem prejuízo a minha pessoa; todas as informações por mim fornecidas e os resultados individuais obtidos serão mantidos em sigilo. Sei que os resultados coletivos poderão ser divulgados em reuniões e revistas científicas. Este estudo será importante na investigação de biomarcadores salivares e plasmáticos; também ajudará na avaliação de metodologias clínica e bioquímica e na interpretação dos exames ergométricos para aplicação dos métodos de análise em futuros protocolos de investigação. Todos os procedimentos obedecerão rigorosamente às medidas de biossegurança (NBS2), conforme o manual MEDIDAS DE BIOSSEGURANÇA EM LABORATÓRIOS - UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA, ano 1997. Estou ciente dos procedimentos deste trabalho na forma de entrevista, análises bioquímicas, clínicas e avaliações físicas, para a qual é de suma importância minha contribuição.

Assim, consinto em participar do Projeto de Pesquisa em questão.

_____, ____ de _____ de _____.

Usuário/Responsável legal

Pesquisador Responsável

Obs: Este termo apresenta-se em duas vias, uma destinada ao usuário ou seu representante legal e a outra ao Pesquisador.

ANEXO II – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa nº 045/06



Universidade Federal de Uberlândia
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP
Av. João Naves de Ávila, nº 2160 - Bloco J - Campus Santa Mônica - Uberlândia-MG –
CEP 38400-089 - FONE/FAX (34) 3239-4131

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA Nº 045/06

Registro CEP: 126/05

Projeto Pesquisa: “O estudo de biomarcadores salivares e plasmáticos em indivíduos idosos em ciclo ergômetro com cargas crescentes”

Pesquisadores Responsáveis: Foued Salmen Espíndola e Elmiro Santos Resende

De acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/96, o CEP manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Situação: Projeto aprovado.

Data para entrega do Relatório Final: julho/07

O CEP/UFU lembra que:

- a- segundo a Resolução 196/96, o pesquisador deverá arquivar por 5 anos o relatório da pesquisa e os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido, assinados pelo sujeito de pesquisa.**
- b- poderá, por escolha aleatória, visitar o pesquisador para conferência do relatório e documentação pertinente ao projeto.**

Uberlândia, 07 de março de 2006.

Prof. Dra. Sandra Terezinha de Farias Furtado
Coordenadora do CEP/UFU

Orientações ao pesquisador:

(Para parecer Aprovado ou Aprovado com Recomendações)

- O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 - Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).
- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.3.z), aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa (Item V.3) que requeiram ação imediata.
- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.
- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, item III.2.e). O prazo para entrega de relatório é de 120 dias após o término da execução prevista no cronograma do projeto, conforme norma da Res. 196/96 CNS.



<http://www.springer.com/journal/10522>

Biogerontology

Editor-in-Chief: S.I.S. Rattan

ISSN: 1389-5729 (print version)

ISSN: 1573-6768 (electronic version)

Journal no. 10522

Springer Netherlands

ONLINE MANUSCRIPT SUBMISSION

Springer now offers authors, editors and reviewers of *Biogerontology* the option of using our fully webenabled online manuscript submission and review system. To keep the review time as short as possible (no postal delays!), we encourage authors to submit manuscripts online to the journal's editorial office. Our online manuscript submission and review system offers authors the option to track the progress of the review process of manuscripts in real time. Manuscripts should be submitted to: <http://bgen.edmgr.com>.

The online manuscript submission and review system for *Biogerontology* offers easy and straightforward log-in and submission procedures. This system supports a wide range of submission file formats: for manuscripts - Word, WordPerfect, RTF, TXT and LaTeX; for figures - TIFF, GIF, JPEG, EPS, PPT, and Postscript.

We prefer manuscripts submitted in word processing packages such as MS Word, Rich Text Format, WordPerfect, plain Text or LaTeX. The Springer LaTeX class file can be downloaded from: <http://www.springer.com/authors/jrnstylefiles>. If you are not familiar with TeX/LaTeX we ask that you submit your article in a common word processor format. PDF is not a recommended format.

NOTE: By using the online manuscript submission and review system, it is NOT necessary to submit the manuscript also in printout + disk. In case you encounter any difficulties while submitting your manuscript on line, please get in touch with the responsible Editorial Assistant by clicking on "CONTACT US" from the tool bar.

Electronic figures: Electronic versions of your figures must be supplied. For vector graphics, EPS is the preferred format. For bitmapped graphics, TIFF is the preferred format. The following resolutions are optimal: line figures - 600 - 1200 dpi; photographs - 300 dpi; screen dumps - leave as is. Colour figures can be submitted in the RGB colour system. Font-related problems can be avoided by using standard fonts such as Times Roman, Courier and Helvetica.

Language: We appreciate any efforts that you make to ensure that the language is corrected before submission. This will greatly improve the legibility of your paper if English is not your first language.

Manuscript Presentation: The journal's language is English. British English or American English spelling and terminology may be used, but either one should be followed consistently throughout the article. Manuscripts should be typewritten on A4 or US Letter bond paper, one side only, leaving adequate margins on all sides to allow reviewers' remarks. Please double-space all material, including notes and references. Quotations of more than 40 words should be set off clearly, either by indenting the left-hand margin or by using a smaller typeface. Use double quotation marks for direct quotations and single quotation marks for quotations within quotations and for words or phrases used in a special sense.

Number the pages consecutively with the first page containing: title, author(s), affiliation(s), full address for correspondence, including telephone and fax number and e-mail address.

Abstract: Please provide a short abstract of 100 to 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references.

Key Words: Please provide 5 to 10 key words or short phrases in alphabetical order.

Abbreviations: Abbreviations and their explanations should be collected in a list.

Section Headings: First-, second-, third-, and fourth-order headings should be clearly distinguishable but not numbered.

Appendices: Supplementary material should be collected in an Appendix and placed before the Notes and Reference sections.

Notes: Please use endnotes rather than footnotes. Notes should be indicated by consecutive superscript numbers in the text and listed at the end of

the article before the References. A source reference note should be indicated by means of an asterisk after the title. This note should be placed at the bottom of the first page.

Cross-Referencing: In the text, a reference identified by means of an author's name should be followed by the date of the reference in parentheses and page number(s) where appropriate. When there are more than two authors, only the first author's name should be mentioned, followed by 'et al.'. In the event that an author cited has had two or more works published during the same year, the reference, both in the text and in the reference list, should be identified by a lower case letter like 'a' and 'b' after the date to distinguish the works.

Examples: Winograd (1986, p. 204), (Winograd 1986a, b), (Winograd 1986; Flores et al. 1988) and (Bullen and Bennett 1990).

Acknowledgements: Acknowledgements of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section before the References.

References:

1. Journal article:

Smith J, Jones M Jr, Houghton L et al (1999) Future of health insurance. *N Engl J Med* 965:325–329

2. Inclusion of issue number (optional):

Saunders DS (1976) The biological clock of insects. *Sci Am* 234(2):114–121

3. Journal issue with issue editor:

Smith J (ed) (1998) Rodent genes. *Mod Genomics J* 14(6):126–233

4. Journal issue with no issue editor:

Mod Genomics J (1998) Rodent genes. *Mod Genomics J* 14(6):126–233

5. Book chapter:

Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) *The rise of modern genomics*, 3rd edn. Wiley, New York

6. Book, authored:

South J, Blass B (2001) *The future of modern genomics*. Blackwell, London

7. Book, edited:

Smith J, Brown B (eds) (2001) *The demise of modern genomics*. Blackwell, London

8. Chapter in a book in a series without volume titles:

Schmidt H (1989) Testing results. In: Hutzinger O (ed) Handbook of environmental chemistry, vol 2E. Springer, Berlin Heidelberg New York, p 111

9. Chapter in a book in a series with volume title:

Smith SE (1976) Neuromuscular blocking drugs in man. In: Zaimis E (ed) Neuromuscular junction. Handbook of experimental pharmacology, vol 42. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp593–660

10. Proceedings as a book (in a series and subseries):

Zowghi D et al (1996) A framework for reasoning about requirements in evolution. In: Foo N, Goebel R (eds) PRICAI'96: topics in artificial intelligence. 4th Pacific Rim conference on artificial intelligence, Cairns, August 1996. Lecture notes in computer science (Lecture notes in artificial intelligence), vol 1114. Springer, Berlin Heidelberg New York, p 157

11. Proceedings with an editor (without a publisher):

Aaron M (1999) The future of genomics. In: Williams H (ed) Proceedings of the genomic researchers, Boston, 1999

12. Proceedings without an editor (without a publisher):

Chung S-T, Morris RL (1978) Isolation and characterization of plasmid deoxyribonucleic acid from *Streptomyces fradiae*. In: Abstracts of the 3rd international symposium on the genetics of industrial microorganisms, University of Wisconsin, Madison, 4–9 June 1978

13. Paper presented at a conference:

Chung S-T, Morris RL (1978) Isolation and characterization of plasmid deoxyribonucleic acid from *Streptomyces fradiae*. Paper presented at the 3rd international symposium on the genetics of industrial microorganisms, University of Wisconsin, Madison, 4–9 June 1978

14. Patent:

Name and date of patent are optional.

Norman LO (1998) Lightning rods. US Patent 4,379,752, 9 Sept 1998

15. Dissertation:

Trent JW (1975) Experimental acute renal failure. Dissertation, University of California

16. Institutional author (book):

International Anatomical Nomenclature Committee (1966) *Nomina anatomica*. Excerpta Medica, Amsterdam

17. Non-English publication cited in an English publication:

Wolf GH, Lehman P-F (1976) *Atlas der Anatomie*, vol 4/3, 4th edn. Fischer, Berlin.
[NB: Use the language of the primary document, not that of the reference for "vol" etc.!]

18. Non-Latin alphabet publication:

The English translation is optional.

Marikhin VY, Myasnikova LP (1977) *Nadmolekulyarnaya struktura polimerov* (The supramolecular structure of polymers). Khimiya, Leningrad

19. Published and In press articles with or without DOI:

19.1 In press

Wilson M et al (2006) References. In: Wilson M (ed) *Style manual*. Springer, Berlin Heidelberg New York (in press)

19.2. Article by DOI (with page numbers)

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. *J Mol Med* 78:74–80. DOI 10.1007/s001090000086

19.3. Article by DOI (before issue publication with page numbers)

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. *J Mol Med* (in press). DOI 10.1007/s001090000086

19.4. Article in electronic journal by DOI (no paginated version)

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. *Dig J Mol Med*. DOI 10.1007/s801090000086

20. Internet publication/Online document

Doe J (1999) Title of subordinate document. In: *The dictionary of substances and their effects*. Royal Society of Chemistry. Available via DIALOG. [http://www.rsc.org/dose/title of subordinate document](http://www.rsc.org/dose/title%20of%20subordinate%20document). Cited 15 Jan 1999

20.1. Online database

Healthwise Knowledgebase (1998) *US Pharmacopeia*, Rockville. <http://www.healthwise.org>. Cited 21 Sept 1998

- Supplementary material/private homepage

Doe J (2000) Title of supplementary material. <http://www.privatehomepage.com>. Cited 22 Feb 2000

- University site

Doe J (1999) Title of preprint. <http://www.uni-heidelberg.de/mydata.html>. Cited 25 Dec 1999

- FTP site

Doe J (1999) Trivial HTTP, RFC2169. <ftp://ftp.isi.edu/in-notes/rfc2169.txt>. Cited 12 Nov 1999

- Organization site

ISSN International Centre (1999) Global ISSN database. <http://www.issn.org>. Cited 20 Feb 2000

Figures: All photographs, graphs and diagrams should be referred to as a 'Figure' and they should be numbered consecutively (1, 2, etc.). Multi-part figures ought to be labeled with lower case letters (a, b, etc.). Please insert keys and scale bars directly in the figures. Relatively small text and great variation in text sizes within figures should be avoided as figures are often reduced in size. Figures may be sized to fit approximately within the column(s) of the journal. Provide a detailed legend (without abbreviations) to each figure, refer to the figure in the text and note its approximate location in the margin. Please place the legends in the manuscript after the references.

Tables: Each table should be numbered consecutively (1, 2, etc.). In tables, footnotes are preferable to long explanatory material in either the heading or body of the table. Such explanatory footnotes, identified by superscript letters, should be placed immediately below the table. Please provide a caption (without abbreviations) to each table, refer to the table in the text and note its approximate location in the margin. Finally, please place the tables after the figure legends in the manuscript.

Proofs: Proofs will be sent to the corresponding author by e-mail (if no e-mail address is available or appears to be out of order, proofs will be sent by regular mail). Your response, with or without corrections, should be sent within 72 hours. Please do not make any corrections to the PDF file. Minor corrections (10) should be sent as an e-mail attachment to: proofscorrection@springer.com. Always quote the four-letter journal code and article number and the DO No. from your proof in the subject field of your e-mail. Extensive corrections must be clearly

marked on a printout of the PDF file and should be sent by firstclass mail (airmail overseas).

Offprints: Fifty offprints of each article will be provided free of charge. Additional offprints (both hard copies and PDF files) can be ordered by means of an offprint order form supplied with the proofs.

Page Charges and Colour Figures: No page charges are levied on authors or their institutions. Colour figures are published at the author's expense only. Up to two (2) colour pages (irrespective of the number of individual figures on them) will be published free of charge if the Editor and Referees consider this essential. Additional colour pages will be charged accordingly.

Copyright: Authors will be asked, upon acceptance of an article, to transfer copyright of the article to the Publisher. This will ensure the widest possible dissemination of information under copyright laws.

Permissions: It is the responsibility of the author to obtain written permission for a quotation from unpublished material, or for all quotations in excess of 250 words in one extract or 500 words in total from any work still in copyright, and for the reprinting of figures, tables or poems from unpublished or copyrighted material.

Springer Open Choice: In addition to the normal publication process (whereby an article is submitted to the journal and access to that article is granted to customers who have purchased a subscription), Springer now provides an alternative publishing option: Springer Open Choice. A Springer Open Choice article receives all the benefits of a regular subscription-based article, but in addition is made available publicly through Springer's online platform SpringerLink. To publish via Springer Open Choice, upon acceptance please visit <http://www.springer.com/openchoice> to complete the relevant order form and provide the required payment information. Payment must be received in full before publication or articles will publish as regular subscription-model articles. We regret that Springer Open Choice cannot be ordered for published articles.

Additional Information: Additional information can be obtained from:

Biogerontology - Springer

P.O. Box 17 / 3300 AA Dordrecht / The Netherlands

Fax: 78-6576254 / <http://www.springer.com>