

Volume salivar em resposta ao exercício físico progressivo

Salivary volume in response to graded exercise

Leonardo dos Santos Oliveira¹; Carlos Eduardo Lins e Silva²; Saulo Fernandes de Oliveira³; Fabíola Lima de Albuquerque⁴; Manoel da Cunha Costa⁵

¹Mestre em Educação Física pelo Programa Associado de Pós-graduação UPE/UFPB, João Pessoa, Paraíba, Brasil.

²Graduando em Educação Física e Bolsista de Iniciação Científica do CNPq na Universidade de Pernambuco, Laboratório de Performance Humana/ESEF/UPE, Recife, Pernambuco, Brasil.

³Graduado em Educação Física, Aluno do Programa Associado de Pós-graduação UPE/UFPB, Laboratório de Performance Humana/ESEF/UPE, Recife, Pernambuco, Brasil.

⁴Aluna de Pós-Graduação em Avaliação da Performance Humana da Universidade de Pernambuco, Laboratório de Performance Humana/ESEF/UPE, Recife, Pernambuco, Brasil.

⁵Professor Adjunto da Universidade de Pernambuco, Laboratório de Performance Humana/ESEF/UPE, Recife, Pernambuco, Brasil.

Endereço para correspondência

Leonardo dos Santos Oliveira
R. Rejane Freire Correia, 237. Jardim Cidade Universitária
58052-197 – João Pessoa – PB
leosoliveira@uol.com.br

Local da pesquisa:

Laboratório de Performance Humana, Escola Superior de Educação Física da Universidade de Pernambuco. Recife, PE – Brasil.

Resumo

Introdução: Neste estudo, objetivou-se analisar o volume salivar em resposta ao exercício físico progressivo, a partir do método de coleta com Salivette. **Métodos:** Cinco universitários (22±2 anos; 70,4±7,8 kg; 178,4±6,5 cm) foram submetidos a um exercício progressivo em cicloergômetro até a exaustão voluntária. Amostras de saliva foram coletadas com kits Salivette® após o aquecimento (basal), ao final dos estágios e no quinto e décimo minutos após o exercício. O volume de saliva foi determinado por uma pesagem dupla. Utilizou-se a ANOVA de Friedman para comparação do volume basal em relação aos estágios e a recuperação (p<0,05). **Resultados:** O peso médio de saliva não se alterou durante o exercício ou na recuperação ($\chi^2_{(7)}=11,467$; p>0,05). **Conclusão:** Supõe-se que alterações nas concentrações dos componentes salivares podem ser consideradas volume-independente. Esses achados acrescentam qualidade nas questões metodológicas para o uso da saliva como alternativa não invasiva em experimentos na área do exercício físico.

Descritores: Saliva; Marcadores biológicos; Xerostomia; Teste de esforço.

Abstract

Introduction: The aim in this study was to analyze the saliva volume in response to progressive physical exercise using the Salivette method of saliva collection. **Methods:** Five college students (22±2 years; 70.4±7.8 kg; 178.4±6.5 cm) underwent a graded cycle ergometer exercise up to volitional exhaustion. Saliva samples were collected with Salivette kits after the warm-up (baseline), at the end of each stage and at the fifth and tenth minutes after the exercise. Saliva volume was indirectly determined by double weighing. Friedman ANOVA was used to compare the baseline volume in relation to stages and recovery (p<0.05). **Results:** The mean weight of the saliva did not change during the exercise or recovery ($\chi^2_{(7)}=11.467$; p>0.05). **Conclusion:** It is assumed that changes in the concentrations of salivary components do not depend on salivary volume. This finding adds quality in the methodological questions for the use of saliva as a noninvasive alternative to experiments in the field of physical exercise.

Key words: Saliva; Biological markers; Xerostomia; Exercise test.

Introdução

Estudos sobre a saliva e o exercício físico têm recebido grande atenção nas duas últimas décadas^{1, 2}. Parte desse interesse se deu pela relativa simplicidade, rapidez e baixo custo para a obtenção das amostras desse fluido³, pouca necessidade de aplicação de técnicas sofisticadas de coleta⁴ e sua utilização em ambientes laboratoriais/clínicos e de campo^{5, 6}. Além disso, evidências apontam uma estreita relação entre componentes salivares e o sistema nervoso, por serem utilizados como um marcador da atividade adrenérgica durante o estresse, inclusive por exercício^{7, 8}, suscitando uma gama de possibilidades para a pesquisa⁹.

É possível destacar o emprego da saliva na análise dos níveis de hidratação corporal total¹⁰, bem como em propostas minimamente invasivas para a determinação da intensidade do exercício físico², do metabolismo anaeróbio^{4, 5} e da máxima fase estável de lactato¹¹. Entretanto, ainda que haja um rol de aplicações com a saliva, algumas divergências podem ser notadas quanto aos métodos de coleta^{3, 9} e expressão dos resultados¹², variações na composição por fatores circadianos¹³ e aos mecanismos de secreção das glândulas salivares em resposta ao exercício¹.

Evidências demonstram que tanto o sistema simpático (adrenérgico), quanto o parasimpático (colinérgico) induzem à estimulação das glândulas, controlando a secreção de água¹⁴. Sabe-se que o sistema nervoso autônomo (SNA) pode influenciar na regulação da secreção salivar¹ e que o exercício físico leva a alterações do equilíbrio autônomo, por conseguinte, observa-se que o volume e a composição salivar também se alteram em decorrência desse fenômeno. Entretanto, o método de coleta para a obtenção da amostra de saliva pode estar relacionado ao resultado das alterações do fluxo, dado pelo volume salivar³.

O método da expectoração (ou de “cuspe”) tem sido muito aplicado para a análise de hormônios, lactato e proteínas em resposta ao exercício físico^{2, 5, 6, 11}. Contudo, estudos recentes^{15, 16}

se ativeram ao emprego de técnicas para a coleta de saliva com o auxílio de algodões de alta absorção, conhecido como método Salivette¹⁷. Do ponto de vista metodológico, é importante destacar que a amostra coletada precisa ser adequada para que a análise dos componentes salivares se faça com maior qualidade e precisão.

Partindo da premissa de que o exercício induz ao efeito de xerostomia (boca seca) e que a quantidade de saliva coletada para análise dos componentes salivares pode ser inadequada, sobretudo em altas intensidades, a proposta neste estudo é analisar o volume salivar em resposta ao exercício físico progressivo por meio do método de coleta Salivette.

Materiais e métodos

Aspectos éticos, características do estudo e amostra

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Pernambuco (no. 061/09), de acordo com os termos da Resolução 196/96 e 251/97 do Conselho Nacional de Saúde. Os sujeitos foram informados com detalhes dos objetivos, procedimentos, possíveis riscos e benefícios do estudo, além da confidencialidade dos dados em um momento prévio à assinatura de um termo de consentimento esclarecido. Os autores declaram não haver qualquer conflito de interesse para este trabalho. Trata-se de um estudo comparativo, com abordagem transversal, a partir de dados primários. A amostra foi constituída por cinco universitários (22±2 anos; 70,4±7,8 kg; 178,4±6,5 cm), identificados como aparentemente saudáveis por meio do PAR-Q¹⁸. Foram incluídos sujeitos familiarizados ao ciclismo, acumulando de 4 a 5 horas semanais nesse tipo de atividade.

Procedimentos experimentais

Os indivíduos compareceram ao Laboratório de Performance Humana (LAPH), da Escola Superior de Educação Física da Universidade de

Pernambuco, em Recife, PE, orientados a estar bem hidratados (2 L ao dia); alimentados de 2 a 3 horas após boa escovação dental, sem fazer o uso de enxaguantes bucais no dia da coleta de dados; absterem-se de álcool, cafeína e exercício físico moderado ou vigoroso 24 horas antes da sessão, além de vestirem trajas leves e calçado apropriado para a prática de exercícios físicos. As sessões ocorreram no mesmo período do dia para evitar variações circadianas⁹.

Após aquecimento de três minutos em cicloergômetro (Cateye, Japão), os sujeitos foram submetidos a um exercício progressivo iniciado a 50W com incremento de 25W a cada três minutos, até a exaustão ou não manutenção da carga, em um ambiente normotérmico (24-26°C) com umidade relativa de 40 a 55%. Os voluntários ingeriram 400±50mL de água 30 minutos antes do esforço para assegurar uma adequada hidratação, não sendo permitido se hidratar durante o exercício ou na recuperação. Amostras de saliva foram coletadas após aquecimento (basal), ao final de cada estágio e no quinto e décimo minutos após o exercício com o indivíduo sentado. A Figura 1 ilustra o protocolo experimental.



Figura 1: Protocolo experimental. Hidratação (H). As setas representam o momento de coleta da saliva após aquecimento (AQ), durante o exercício progressivo (EP), no quinto (R5') e décimo (R10') minutos de recuperação

Antes de cada coleta de saliva, a boca foi lavada previamente com água deionizada para evitar contaminação de debris celulares e outros mate-

riais, descartando-a em recipiente apropriado conforme os métodos descritos por Pilardeau et al.¹⁹. A saliva foi coletada com *kits* Salivettes® (Sarstedt, Alemanha), em que o algodão foi mastigado como forma de estimulação mecânica 30 segundos antes do final de cada estágio. O volume de saliva foi determinado indiretamente por uma pesagem dupla (BG440 Quimis, Brasil), considerando-se apenas o tubo e tubo+saliva em gramas (g)^{20,21}.

Análise estatística

Os dados foram expressos por mediana e amplitude interquartil (AIQ), valores mínimos e máximos. Em razão do número de casos, utilizou-se a ANOVA de Friedman para comparação do volume basal em relação aos estágios e a recuperação. A análise foi realizada no pacote SPSS 16.0 *for Windows*, considerando-se significativo $p < 0,05$.

Resultados

O peso médio de saliva coletada não se alterou durante o exercício ou na recuperação em relação aos valores basais, tomados após o aquecimento, $\chi^2_{(7)} = 11,467$; $p > 0,05$ (Tabela 1).

Discussão

O principal achado deste estudo foi que, a partir do método utilizado, a quantidade de saliva coletada em universitários aparentemente saudáveis se manteve estável durante o exercício físico progressivo, bem como na recuperação. Nesse contexto, há indícios de que as concen-

Tabela 1: Peso salivar de universitários aparentemente saudáveis em diferentes estágios de exercício e na recuperação (n=5)

Peso (g)	Estágios						Recuperação (min)	
	Basal	50W	75W	100W	125W	150W	5	10
Mediana (AIQ)*	0,76 (0,51)	0,90 (0,72)	0,72 (0,47)	0,77 (0,54)	0,81 (0,40)	0,59 (0,44)	0,67 (0,64)	0,73 (0,48)
Min-Max**	0,25-0,96	0,45-1,46	0,50-1,23	0,55-1,44	0,65-1,09	0,40-0,95	0,51-1,37	0,53-1,25

*Amplitude interquartil; **Valores mínimos e máximos.

trações de proteína, lactato e outros eletrólitos presentes na saliva podem ser consideradas volume-independente. Esse fato acrescenta qualidade nas questões metodológicas do uso da saliva como alternativa não invasiva em experimentos na área do exercício físico.

Em parte, o fato de o algodão do coletor utilizado ser de alta absorção e estimular o fluxo salivar³, possíveis diferenças no volume entre os valores basais e de exercício e recuperação puderam ser minimizadas, o que vem a permitir boas condições para a análise dos componentes nesse fluido em ensaios dessa natureza. O método de coleta por expectoração tem sido o mais frequentemente utilizado nos estudos das respostas do lactato^{6, 11, 22, 23}, proteínas^{2, 5} e outros constituintes²⁴ da saliva em razão do exercício. Este estudo se destaca pelo uso do algodão de alta absorção como método alternativo para verificar o efeito de hipossalivação em diferentes intensidades de exercício e na recuperação.

Do ponto de vista fisiológico, sabe-se que o SNA pode influenciar a regulação da secreção salivar e que o exercício físico, sobretudo nas altas intensidades, leva a alterações do equilíbrio autonômico, verifica-se que o volume e a composição salivar também se alteram em decorrência desse fenômeno¹. Suddick, Hyde e Feller²⁵ demonstraram que a estimulação simpática dos vasos sanguíneos para as glândulas salivares podem produzir uma significativa vasoconstricção. Esse fato, por sua vez, pode limitar o suprimento de sangue nas glândulas de forma que a taxa de secreção salivar pode também ser reduzida.

Tanto a estimulação simpática, quanto a parassimpática das glândulas salivares conduzem à secreção de água, embora exista uma diferença qualitativa na resposta a diferentes tipos de agentes autonômicos^{26, 27}. Em geral, a secreção de água é principalmente liberada por estimulação parassimpática via receptores muscarínicos. Quando a atividade simpática é predominante, o fluxo salivar deve diminuir, enquanto que quando a atividade parassimpática é predominante, observa-se um aumento

da salivação¹⁴. Em adição, Bishop et al.²⁸ evidenciaram que uma suplementação líquida de carboidratos antes do exercício aumentou o fluxo salivar comparada a uma intervenção restrita consumo de fluidos ou com placebo uma hora após o exercício .

Ben-Aryeh et al.²⁹ verificaram uma redução significativa do volume salivar de jovens saudáveis em resposta ao exercício físico, cujo método de coleta foi o de expectoração. Esse fato ocorreu tanto para o exercício submáximo progressivo (pré: 5,7±3,2mL/10min e pós: 4,5±2,0mL/10min; p<0,05), quanto para o teste de Wingate (pré: 5,4±3,9mL/10min e pós: 2,9±2,7mL/10min; p<0,001). Utilizando o mesmo método de coleta, mas em um estudo de campo, Ohkuwa et al.²¹ observaram uma ligeira redução no volume (peso) salivar de atletas após um turno de 400m rasos, quando comparado aos valores basais (p<0,01). No entanto, essa diferença não foi detectada entre corredores velocistas e fundistas durante a recuperação.

Ainda que essas evidências indiquem uma redução significativa no volume salivar em decorrência de exercício, a quantidade de saliva pode ter implicações diretas em virtude da técnica de coleta⁹. Em termos metodológicos, quantidades limitadas de saliva podem exigir técnicas de diluição para amostras em série ou análise de diversos componentes³⁰, uso de dispositivos coletores absorventes⁹ ou de meios de estimulação (ácido cítrico, parafilme, goma de mascar)^{3, 9}, bem como a utilização de equipamentos para microanálise.

Sob outra ótica, como o protocolo aplicado foi progressivo, é provável que o curto período de tempo por estágio, totalizando em média 18 minutos de exercício, não foi suficiente para promover alterações significativas na quantidade de saliva produzida. Nesse caso, houve um aumento muito mais expressivo da intensidade, do que propriamente do volume de trabalho.

Este estudo foi limitado ao número de casos considerados na análise de dados, portanto, sugerem-se novos estudos com os cuidados metodológicos já discutidos. Outra limitação de-

corre de que dois voluntários alcançaram mais estágios (>150W) que os demais e, portanto, permaneceram mais tempo realizando exercício. Possivelmente, esses sujeitos tiveram maior indução de hipossalivação, contudo, considerando que o critério de exaustão se deu para todos os participantes, essas diferenças devem ser analisadas com cautela.

Conclusão

A quantidade de saliva coletada, por meio do método Salivette, manteve-se estável durante o exercício e recuperação, em relação aos valores após o aquecimento (basal). Dessa forma, supõe-se que alterações nas concentrações dos componentes salivares podem ser consideradas volume-independente. Esse achado acrescenta qualidade nas questões metodológicas do uso da saliva como alternativa minimamente invasiva em experimentos na área do exercício físico.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Programa de Fortalecimento Acadêmico da Universidade de Pernambuco (PFA/UPE, processo no. 088/09) ao apoio financeiro e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo incentivo por meio de bolsa de estudo.

Referências

- Chicharro JL, Lucia A, Perez M, Vaquero AF, Urena R. Saliva composition and exercise. *Sports Med.* 1998;26(1):17-27.
- Oliveira VN de, Bessa A, Lamounier RP, de Santana MG, de Mello MT, Espindola FS. Changes in the salivary biomarkers induced by an effort test. *Int J Sports Med.* 2010;31(6):377-81.
- Navazesh M. Methods for collecting saliva. *Ann N Y Acad Sci.* 1993 Sep 20;694:72-7.
- Segura R, Javierre C, Ventura JL, Lizarraga MA, Campos B, Garrido E. A new approach to the assessment of anaerobic metabolism: measurement of lactate in saliva. *Br J Sports Med.* 1996;30(4):305-9.
- Bortolini MJ, De Agostini GG, Reis IT, Lamounier RP, Blumberg JB, Espindola FS. Total protein of whole saliva as a biomarker of anaerobic threshold. *Res Q Exerc Sport.* 2009;80(3):604-10.
- Santos RVT, Almeida ALR, Caperuto EC, Martins Jr E, Costa Rosa LF. Effects of a 30-km race upon salivary lactate correlation with blood lactate. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 2006;145(1):114-7.
- Kivlighan KT, Granger DA. Salivary alpha-amylase response to competition: relation to gender, previous experience, and attitudes. *Psychoneuroendocrinology.* 2006;31(6):703-14.
- Van Stegeren A, Rohleder N, Everaerd W, Wolf OT. Salivary alpha amylase as marker for adrenergic activity during stress: effect of betablockade. *Psychoneuroendocrinology.* 2006;31(1):137-41.
- Rohleder N, Nater UM. Determinants of salivary alpha-amylase in humans and methodological considerations. *Psychoneuroendocrinology.* 2009;34(4):469-85.
- Walsh NP, Montague JC, Callow N, Rowlands AV. Saliva flow rate, total protein concentration and osmolality as potential markers of whole body hydration status during progressive acute dehydration in humans. *Arch Oral Biol.* 2004;49(2):149-54.
- Perez M, Lucia A, Carvajal A, Pardo J, Chicharro JL. Determination of the maximum steady state of lactate (MLSS) in saliva: an alternative to blood lactate determination. *Jpn J Physiol.* 1999;49(4):395-400.
- Shirtcliff EA, Granger DA, Schwartz E, Curran MJ. Use of salivary biomarkers in biobehavioral research: cotton-based sample collection methods can interfere with salivary immunoassay results. *Psychoneuroendocrinology.* 2001;26(2):165-73.
- Harmon AG, Towe-Goodman NR, Fortunato CK, Granger DA. Differences in saliva collection location and disparities in baseline and diurnal rhythms of alpha-amylase: a preliminary note of caution. *Horm Behav.* 2008;54(5):592-6.
- Yoshino Y, Yamane A, Suzuki M, Nakagawa Y. Availability of saliva for the assessment of alterations in the autonomic nervous system caused by physical exercise training. *Arch Oral Biol.* 2009;54(11):977-85.



15. Schabmueller CG, Loppow D, Piechotta G, Schutze B, Albers J, Hintsche R. Micromachined sensor for lactate monitoring in saliva. *Biosens Bioelectron.* 2006;21(9):1770-6.
16. Budde H, Windisch C, Kudielka BM, Voelcker-Rehage C. Saliva cortisol in school children after acute physical exercise. *Neurosci Lett.* 2010;483(1):16-9.
17. Santos P, Iglesias D, Souza E, Freitas R, Galvão H. Saliva: métodos atuais para coleta e obtenção da amostra. *Rev Fac Odontol, Porto Alegre.* 2009;48(1-3).
18. Carvalho T de, Nóbrega A da, Lazzoli J, Magni J, Rezende L, Drummond F, et al. Posição oficial da Sociedade Brasileira de Medicina do Esporte: atividade física e saúde. *Rev Bras Med Esporte.* 1996;2(4):79-81.
19. Pilardeau P, Richalet JP, Bouissou P, Vaysse J, Larmignat P, Boom A. Saliva flow and composition in humans exposed to acute altitude hypoxia. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1990;59(6):450-3.
20. Navazesh M, Christensen CM. A comparison of whole mouth resting and stimulated salivary measurement procedures. *J Dent Res.* 1982;61(10):1158-62.
21. Ohkuwa T, Itoh H, Yamazaki Y, Sato Y. Salivary and blood lactate after supramaximal exercise in sprinters and long-distance runners. *Scand J Med Sci Sports.* 1995;5(5):285-90.
22. Karatosun H, Cetin C, Baydar ML. Blood and saliva lactate levels during recovery from supramaximal exercise. *Saudi Med J.* 2005;26(11):1831-2.
23. Zagatto A, Papoti M, Caputo F, Mendes O, Denadai B, Baldissera V, et al. Comparação entre a utilização de saliva e sangue para determinação do lactato mínimo em cicloergômetro e ergômetro de braço em mesa-tenistas. *Rev Bras Med Esporte.* 2004;10:475-80.
24. Chicharro JL, Serrano V, Urena R, Gutierrez AM, Carvajal A, Fernandez-Hernando P, et al. Trace elements and electrolytes in human resting mixed saliva after exercise. *Br J Sports Med.* 1999;33(3):204-7.
25. Suddick RP, Hyde RJ, Feller RP. Cáries dentárias: bases biológicas. In: Menaker L, Morhart RE, Navia JM, editors. *Saúde bucal, água e eletrólitos salivares.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1984. p.118-31.
26. Garrett JR. The proper role of nerves in salivary secretion: a review. *J Dent Res.* 1987;66(2):387-97.
27. Baum BJ. Neurotransmitter control of secretion. *J Dent Res.* 1987;66 Spec No:628-32.
28. Bishop NC, Blannin AK, Armstrong E, Rickman M, Gleeson M. Carbohydrate and fluid intake affect the saliva flow rate and IgA response to cycling. *Med Sci Sports Exerc.* 2000;32(12):2046-51.
29. Ben-Aryeh H, Roll N, Lahav M, Dlin R, Hanne-Paparo N, Szargel R, et al. Effect of exercise on salivary composition and cortisol in serum and saliva in man. *J Dent Res.* 1989;68(11):1495-7.
30. Chicharro JL, Legido JC, Alvarez J, Serratoso 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.