

HINAIANA DOS SANTOS MACHADO

**CORRELAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DO LACTATO SALIVAR
COM O LACTATO SANGUÍNEO PARA MONITORAR AS
RESPOSTAS FISIOLÓGICAS NO EXERCÍCIO ANAERÓBIO EM
CRIANÇAS PRÉ-PÚBERES.**

Dissertação de Mestrado defendida
como pré-requisito para a obtenção do
título de Mestre em Educação Física,
no Departamento de Educação Física,
Setor de Ciências Biológicas da
Universidade Federal do Paraná.

HINAIANA DOS SANTOS MACHADO

**CORRELAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DO LACTATO SALIVAR
COM O LACTATO SANGUÍNEO PARA MONITORAR AS
RESPOSTAS FISIOLÓGICAS NO EXERCÍCIO ANAERÓBIO EM
CRIANÇAS PRÉ-PÚBERES.**

Dissertação de Mestrado defendida como pré-requisito para a obtenção do título de Mestre em Educação Física, no Departamento de Educação Física, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Wagner de Campos
Co-Orientador: Prof. Dr. Luiz Cláudio Fernandes

FOLHA DE APROVAÇÃO

Dedico este trabalho ao meu amado filho BRUNO e marido CLAUDINEI pela compreensão e paciência com minha vida acadêmica.

Ao meu orientador WAGNER DE CAMPOS pela confiança e disponibilidade nestes sete anos de orientação.

Aos meus pais, JOÃO E MARÍLIA por toda educação, dedicação e amor conferido a mim.

À minha querida avó MARGARIDA pelo apoio e incentivo durante toda minha vida.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, por iluminar meu caminho e me dar determinação e equilíbrio para eu alcançar os meus objetivos.

A toda família, pais, irmãos, marido e filho, por estarem sempre presente, apoiando minhas escolhas e compreendendo minhas ausências.

Aos verdadeiros amigos.

A todas as crianças que aceitaram participar do estudo e “deram o sangue” pela ciência.

Ao departamento de Educação Física e de Fisiologia da UFPR pelo suporte no uso dos laboratórios e materiais utilizados.

A Capes pela bolsa de mestrado concedida durante os dois anos de estudos.

A todos os professores do DEF, que contribuíram de alguma maneira para minha formação.

Às enfermeiras JOANA DARC e ELIANA por aceitarem o desafio de coletar sangue nas crianças durante o exercício.

Aos professores karatecas ANDRÉ MICHELIN e ÍTALO QUENI que convenceram os pais a deixarem seus filhos participarem do estudo.

Ao professor Dr. IVERSON LADEWIG que contribuiu muito para que o trabalho fosse aprovado pelo comitê de ética.

Ao professor co-orientador Dr. LUIZ CLÁUDIO FERNANDES e todos os seus orientandos que possibilitaram a realização deste estudo e deram uma lição de união e cooperação no laboratório.

Um agradecimento em especial, ao meu professor orientador Dr. WAGNER DE CAMPOS que sempre apoiou minhas idéias e esteve ao meu lado desde o primeiro ano da graduação com muita ética, experiência e dedicação ao trabalho.

"É melhor tentar e falhar,
que preocupar-se e ver a vida passar;
é melhor tentar, ainda que em vão,
que sentar-se fazendo nada até o final.
Eu prefiro na chuva caminhar,
que em dias tristes em casa me esconder.
Prefiro ser feliz, embora louco,
que em conformidade viver ..."

Martin Luther King

RESUMO

Objetivos: correlacionar as respostas das concentrações do lactato salivar com a do lactato sanguíneo no exercício anaeróbio máximo em crianças pré-púberes. **Metodologia:** compuseram a amostra 10 crianças pré-púberes, do sexo masculino, com idade de 9,34 (0,80) anos. Inicialmente foi avaliada a massa corporal, estatura e o índice de massa corporal (IMC). Para atingir o esforço máximo aplicou-se o teste anaeróbio de Wingate, com carga de 0,075 (kp.kg⁻¹). O sangue foi coletado através da punção na veia superficial do antebraço dos sujeitos, com agulha *butterfly* conectada a um tubo Vacutainer® 2 mL. A saliva foi obtida pelo tubo Salivette®. O sangue e a saliva foram coletados simultaneamente; em repouso e 3, 10, 20 e 30 minutos após o teste de Wingate. O método utilizado para análise do Lactato foi o de Engle e Jones (1978). Para verificar a relação entre as curvas de lactato foi aplicada a correlação de *Pearson*, com nível de significância de $p < 0,05$. **Resultados:** a massa corporal, estatura e IMC foram 31,39 (3,65), 1,36 (0,04) e 16,86 (1,76), respectivamente. Os valores médios do lactato salivar foram bastante inferiores aos valores sanguíneos, tanto na saliva quanto no sangue a concentração de lactato na primeira medida após o teste máximo foi aproximadamente o dobro da concentração em repouso. Na saliva, o lactato aumentou gradualmente até o 10º minuto (pico) em seguida declinou até o 30º minuto, em contrapartida o lactato no sangue obteve aumento máximo no 3º minuto (pico) e posteriormente declinou de forma gradual. O coeficiente de correlação de *Pearson* foi alto $r = 0,74$ ($p < 0,05$). **Conclusão:** Apesar das diferenças nos valores absolutos e no momento em que ocorreu a elevação máxima do lactato, a saliva é um método válido e com boa representatividade das alterações do lactato no sangue após o exercício máximo, sendo uma alternativa não invasiva para o monitoramento do lactato em crianças pré-púberes.

Palavras-chave: lactato salivar, lactato sanguíneo, criança.

ABSTRACT

Purpose: to correlate the salivary lactate concentrations with blood lactate concentrations after maximal anaerobic exercises in prepubescent children. **Methods:** the sample was composed by 10 prepubescent boys aged 9.34 (0.80) years old. First of all, it was evaluated the body mass, stature and body mass index (BMI). Then, the Wingate anaerobic test, with load of $0.075 \text{ (kp.kg}^{-1}\text{)}$ was applied and blood and saliva samples were collected simultaneously; at rest and after the test (3, 10, 20 and 30 minutes). Blood samples were collected through the puncture in the superficial vein of the forearm with a needle butterfly connected to Vacutainer® tube 2 mL. The saliva samples were obtained by the tube Salivette. The Engle and Jones (1978) method was used for lactate analysis. Pearson correlation was applied to verify the relationship between blood and salivary lactate curves, with an alpha level at $p < 0.05$. **Results:** body mass, stature and BMI were 31.39 (3.65), 1.36 (0.04) and 16.86 (1.76), respectively. The mean values of the salivary lactate were lower than the blood lactate values. In the first measure after the Wingate, the lactate concentration in both saliva and blood were two times higher than in the rest. In saliva samples, the lactate increased gradually up to the 10th minute (peak) and then decreased until the 30th minute. On the other hand, in blood samples the lactate reached their peak in the 3rd minute and decreased gradually. The Pearson's product showed high correlation between the two types of samples ($r = 0.74$, $p < 0.05$). **Conclusion:** the saliva sample can be used as a valid method to measure the lactate concentration in prepubescent children, even though the differences in the moment that maximal value occurred. Moreover, it well represent the blood lactate changes after maximal anaerobic exercise, being a noninvasive alternative for tracking the lactate curve in prepubescent boys.

Key words: salivary lactate, blood lactate, children.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Reações da glicólise anaeróbia.....	21
Figura 2: Sistema de agulha <i>butterfly</i> com o tubo Vacutainer®.....	41
Figura 3: Componentes do Salivette®.....	42
Figura 4: Esquema dos momentos da coleta sanguínea e salivar	44
Figura 5: Alterações da [Lactato] salivar e sanguíneo.....	51
Figura 6: Aumento percentual da [Lactato] após o teste de Wingate, a partir da concentração em repouso.....	53
Figura 7: Correlação entre a [Lactato] salivar e sanguíneo.....	54
Figura 8: Alterações das [Lactato] salivar e sanguíneo do sujeito 1.....	55
Figura 9: Alterações das [Lactato] salivar e sanguíneo do sujeito 2.....	55
Figura 10: Alterações das [Lactato] salivar e sanguíneo do sujeito 3.....	56
Figura 11: Alterações das [Lactato] salivar e sanguíneo do sujeito 4.....	56
Figura 12: Alterações das [Lactato] salivar e sanguíneo do sujeito 5.....	57
Figura 13: Alterações das [Lactato] salivar e sanguíneo do sujeito 6.....	57
Figura 14: Alterações das [Lactato] salivar e sanguíneo do sujeito 7.....	58
Figura 15: Alterações das [Lactato] salivar e sanguíneo do sujeito 8.....	58
Figura 16: Alterações das [Lactato] salivar e sanguíneo do sujeito 9.....	59
Figura 17: Alterações das [Lactato] salivar e sanguíneo do sujeito 10.....	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Componentes químicos da saliva	32
Tabela 2: Caracterização da amostra.....	47
Tabela 3: Descrição das alterações da [Lactato] salivar e sanguíneo em repouso e após o teste anaeróbio máximo.....	49
Tabela 4: Síntese dos estudos que apresentam as [Lactato] sanguíneo em repouso, em sujeitos do sexo masculino.....	50
Tabela 5: Médias do fluxo salivar, proteínas e pH em repouso, de indivíduos do sexo masculino.....	52
Tabela 6: Resumo dos estudos que compararam as respostas da [Lactato] salivar e sanguíneo durante ou após o exercício, em sujeitos do sexo masculino.....	61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATP - adenosina trifosfato
bpm – batimentos por minuto
cm – centímetro
CP – creatina fosfato
EDTA – ácido etileno diaminotetracético
et al – e colaboradores
H₂O – água
HCO₃ – bicarbonato
IMC – índice de massa corporal
KOH - hidróxido de potássio
kp.kg⁻¹ – kilopounds por kilogramas
La – lactato
LDh - desidrogenase láctica
mg – miligrama
mL – mililitro
mL/min – mililitro por minuto
MLSS – máxima fase estável do lactato
NAD⁺ - nicotinamida adenina dinucleotídeo oxidada
NADH - nicotinamida adenina-dinucleotídeo reduzida
nm – nanômetro (unidade de comprimento)
p – nível de confiabilidade estatística
PFK – fosfofrutoquinase
pH – potencial hidrogênio
rpm – rotações por minuto
TCA – ácido tricloroacético
TRIS - tris(hidroximetil)aminometano
VO₂ – consumo de oxigênio
VO₂máx – consumo máximo de oxigênio
W – watts
μL - microlitro
μmol - micromoles
% - porcentagem
[] – concentração
°C – graus Celsius

SUMÁRIO

RESUMO.....	6
ABSTRACT.....	7
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	8
LISTA DE TABELAS	9
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	10
1 INTRODUÇÃO.....	13
1.1 Apresentação do problema.....	13
1.2 Objetivos.....	16
1.3 Hipóteses.....	17
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2.1 Metabolismo anaeróbio	18
2.2 Capacidade anaeróbia na infância	22
2.3 Lactato e exercício	26
2.4 Lactato salivar	31
3 METODOLOGIA.....	37
3.1 População e Amostra.....	37
3.1.1 Delimitação da amostra.....	37
3.1.2 Limitações do estudo	38
3.1.3 Procedimentos para o recrutamento dos sujeitos.....	38
3.2 Instrumentos e Procedimentos.....	39
3.2.1 Maturação sexual.....	39
3.2.2 Índice de Massa Corporal (IMC).....	39
3.2.3 Teste máximo.....	40
3.2.4 Lactato.....	41
3.2.5 Procedimentos das avaliações e testes.....	45
3.2.6 Análise crítica de riscos e benefício.....	45
3.3 Planejamento do estudo e tratamento estatístico.....	46
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
4.1 Caracterização da amostra	47
4.2 Alterações da [Lactato]	49
4.3 Correlação entre [Lactato] salivar e sanguíneo	54

5 CONCLUSÃO.....	63
REFERÊNCIAS.....	64
APÊNDICES.....	74
ANEXOS.....	81

1 INTRODUÇÃO

1.1 Apresentação do problema

As crianças estão envolvidas em atividades esportivas intensas ou realizam brincadeiras e jogos de alta intensidade no seu dia-dia (DOTAN; FALK; RAZ, 2000). Este envolvimento, principalmente quanto às práticas esportivas sistemáticas, tem aumentado o interesse dos pesquisadores em investigar as alterações fisiológicas que ocorrem no metabolismo aeróbio e anaeróbio, durante o crescimento físico na infância e adolescência (CAMPOS; BRUM, 2004; MALINA; BOUCHARD, 2002; RATEL; DUCHE; HENNEGRAVE; VAN PHAAGH; BEDU, 2002; GALLAHUE; OZMUN, 2001; SPRIET, 1995; GREEN, 1995; COGGAN; WILLIAMS, 1995; CADEFAU; CASADEMONT; GRAU; FERNANDEZ; BALAGUER; VERNET; CUSSO; URBANO MARQUEZ, 1990; ROTSTEIN; DOTAN; BAR-OR; TENENBAUM, 1986; INBAR; BAR-OR, 1986; ERIKSSON, 1980; ERIKSSON; KARLSSON; SALTIN, 1971).

O metabolismo aeróbio predomina em atividades sub-máximas com tempo prolongado, que duram geralmente mais de 3 minutos e é caracterizado pela produção de energia com a utilização de oxigênio, através do ciclo de Krebs e da cadeia transportadora de elétrons (WILMORE; COSTILL, 2001). O metabolismo anaeróbio é caracterizado pela geração de adenosina trifosfato (ATP) com déficit ou sem a presença de oxigênio e pode ser dividido em duas vias metabólicas. A via de ATP/CP, na qual a degradação de creatina fosfato libera energia para a produção de ATP, predomina nos primeiros segundos de uma atividade muscular intensa e dura aproximadamente de 3 a 15 segundos em esforços máximos. Nesta via não há produção significativa de lactato, por isto, é denominado de sistema anaeróbio aláctico. A segunda via anaeróbia é a glicolítica, predominando quando o sistema ATP/CP tem suas reservas diminuídas e o exercício de alta intensidade tem que ser sustentado por um período maior, até cerca de 2-3 minutos de duração. Esta via produz energia através da degradação de glicose ou glicogênio, produzindo piruvato e lactato (COLÉGIO AMERICANO DE MEDICINA DESPORTIVA, 1996).

O lactato é o produto final da degradação anaeróbia de glicogênio ou glicose, formado a partir do piruvato. Quando a intensidade do exercício é baixa ou moderada, a frequência de formação de piruvato está em equilíbrio com sua oxidação. No entanto, quando a intensidade do exercício é incrementada acima do limiar anaeróbio, ou seja, quando a frequência de formação do piruvato ultrapassa a sua frequência máxima de oxidação, haverá acúmulo de ácido láctico que logo após sua formação se dissocia em íons de H^+ , e o lactato é gerado (VIRU; VIRU, 2001; McARDLE; KATCH; KATCH, 1998). O lactato formado a partir do ácido láctico difunde-se para fora da célula e é diluído nos líquidos corporais, que são transportados a outras áreas do organismo para serem metabolizados (WILMORE; COSTILL, 2001). Diversos pesquisadores (THOMAS; PERREY; LAMBERT; HUGON; MORNET; MERCIER, 2005; HARNISH; SWENSEN; PATE, 2001; BISHOP; JENKINS; MACKINNON, 1998; BOSQUET; LÉGER; LEGROS, 2002) têm utilizado os valores de lactato sangüíneo, durante ou logo após o exercício físico, para controle do estresse do treinamento e para monitorar as adaptações da aptidão anaeróbia dos indivíduos.

No exercício anaeróbio, a máxima quantidade de lactato alcançada e a velocidade de remoção logo após o esforço intenso, podem ser utilizadas para avaliar a adaptação do indivíduo à produção de energia pelo metabolismo glicolítico (THOMAS, *et al.*, 2005; TAOUTAOU; GRANIER; MERCIER; MERCIER; AHMAIDI; PREFAUT, 1996; DOTAN; FALK; RAZ, 2000; OHKUAWA; YAMAZAKI; SATO, 1995).

Em adultos, a determinação do lactato sangüíneo é um procedimento de rotina em estudos de desempenho físico, porém em crianças, as pesquisas que utilizam este método são escassas, mesmo na área clínica, não permitindo a compreensão plena das particularidades fisiológicas da criança em exercícios físicos máximos. Os estudos sobre as diferenças no metabolismo de crianças e adultos apontam que as primeiras possuem maior velocidade de remoção do lactato sangüíneo (DOTAN; FALK; RAZ, 2000; ROWLAND, 1990) e inferior quantidade máxima de lactato produzido, refletindo a menor eficiência do metabolismo anaeróbio das crianças, quando comparadas a adolescentes e adultos. Entretanto, ainda são necessárias maiores investigações para entender os mecanismos de como estas diferenças se processam (MARTIN; MALINA, 1998; ROWLAND, 1990; ERIKSSON; KARLSSON; SALTIN, 1971).

Além do lactato sangüíneo, recentemente o lactato salivar tem se mostrado relevante indicador para a determinação da alta produção de energia através das vias glicolíticas após o exercício anaeróbio, em atletas (OHKUAWA; YAMAZAKI; SATO, 1995), em pacientes com fibrose cística (BARDON; CEDER; KOLLBERG, 1983) e para determinação do limiar anaeróbio em adultos saudáveis (MENDES; BERTOLDI; FINHOLDT; AKASHI; BENEVIDES; BALDISSERA, 2002; SOUZA; SANTOS; MILENA; SOUZA; FERNANDO, 2002).

A saliva é uma substância aquosa, composta por aproximadamente 99,1% de água e 0,9% de componentes sólidos, destes incluem-se as substâncias inorgânicas como os íons de cloreto, sódio, potássio, bicarbonato, entre outros e substâncias orgânicas como albumina, ácido úrico, creatinina, lactato, aminoácidos e alguns hormônios (VILLELA; BACILA; TASTALDI, 1973). Em adição, a saliva também é um vantajoso instrumento para diagnóstico de doenças e monitoramento da saúde em geral, sendo suficientemente sensível para refletir com precisão, as concentrações de algumas substâncias presentes no sangue. Pode ser utilizada no diagnóstico de anticorpos, hormônios esteróides, toxinas do ambiente, tabaco e certas drogas (LAWRENCE, 2002). Durante o exercício com intensidade acima de 60% do VO_2 máx, a saliva sofre alterações específicas como o aumento nas concentrações de proteína total, do cortisol e variação na concentração dos eletrólitos (Na^+ , K^+ , Cl^-), principalmente no exercício com incremento de carga. O Na^+ e o Cl^- permanecem estáveis ou diminuem no início do exercício, onde, a partir de certo ponto eles iniciam aumento progressivo. Este ponto de inflexão está altamente correlacionado ($r=0,82$) com o limiar anaeróbio (CHICHARRO, 1998).

Além dos eletrólitos indicarem relação com a intensidade do exercício, recentemente, alguns autores demonstraram a validade da utilização do lactato salivar como instrumento para o diagnóstico das respostas metabólicas em exercícios máximos (OHKUAWA; YAMAZAKI; SATO, 1995; BEN-ARYEH; ROLL; LAHAV; DLIN; HANNE-PAPARO; SZARGEL, 1989) e em exercícios sub-máximos ou aeróbios, para a identificação do limiar anaeróbio (PÉREZ; LUCÍA; CARVAJAL; PARDO; CHICHARRO, 1999; SEGURA; JAVIERRE; VENTURA; LIZARRAGA; CAMPOS; GARRIDO, 1996). Entretanto, estes estudos foram realizados com adultos, não havendo representatividade da população infantil.

Pesquisas com adultos mostram que o lactato salivar tem se destacado como método alternativo, confiável e que reproduz o que acontece na circulação, com o

benefício de sobrepujar as restrições dos métodos tradicionais quanto à invasividade. Como a mensuração do lactato sanguíneo tem dificuldades éticas pela coleta de sangue, além de proporcionar estresse emocional e desconforto no momento da coleta, nós aceitamos a hipótese de que o lactato salivar pode ser um método alternativo, eficiente e não invasivo para diagnosticar e acompanhar as alterações no metabolismo durante o exercício máximo em crianças pré-púberes.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo geral

O propósito deste estudo foi mensurar e correlacionar as concentrações do lactato salivar com as do lactato sanguíneo no exercício anaeróbico máximo de curta duração em crianças pré-púberes.

1.2.2 Objetivos específicos

- Verificar o percentual de aumento da concentração do lactato na saliva e no sangue após o teste anaeróbico máximo, a partir dos valores de repouso;
- Verificar o momento em que ocorre o pico da concentração do lactato na saliva e no sangue após o teste anaeróbico;
- Verificar a velocidade de remoção do lactato na saliva e no sangue, no 3º, 10º, 20º e 30º minuto após o teste anaeróbico máximo;
- Correlacionar as curvas das concentrações de lactato salivar e sanguíneo.

1.3 Hipóteses

- As concentrações de lactato salivar e sanguíneo apresentarão correlação significativa em suas respostas após o teste anaeróbio máximo.
- A concentração pico do lactato salivar nas crianças ocorrerá após o pico no sangue, conforme evidências da literatura, em estudos realizados com adultos.
- Conseqüente à resposta tardia da concentração do lactato salivar, sua remoção também apresentará retardo em relação ao sangue.

2 REVISÃO LITERATURA

2.1 Metabolismo Anaeróbio

Em exercícios de alta intensidade, próximo ao consumo máximo de oxigênio, cerca de 80 a 90% da ATP (Adenosina Trifosfato) necessária provém do metabolismo anaeróbio. Neste metabolismo a ATP gerada é produto da degradação da creatina fosfato (CP) e das vias glicolíticas (SPRIET, 1995).

O sistema energético mais simples para a geração de ATP é o ATP/CP. Neste, a creatina fosfato, um composto de alta energia, fornece um grupo fosfato à ADP (Adenosina Difosfato) gerando ATP, esta reação é catalisada pela creatina quinase que separa o grupo fosfato da creatina. O sistema ATP/CP é requisitado nos segundos iniciais de um exercício intenso, fazendo com que a ATP seja mantida em nível relativamente constante, porém os estoques de creatina fosfato são limitados e a manutenção da ATP através deste sistema dura em média de 3 a 15 segundos, necessitando de outro sistema energético, como o glicolítico, para manter a produção de energia (WILMORE; COSTILL, 2001; CHAMPE; HARVEY, 1996).

A glicólise anaeróbia é o processo bioquímico destinado à geração de energia, é composto por várias reações, ocorre no interior do citoplasma e é estrito ao carboidrato, pois leva a glicose ou o glicogênio a ácido láctico com a formação de ATP (Figura 1).

As reações bioquímicas da glicólise são descritas abaixo (WILMORE; COSTILL, 2001; McARDLE; KATCH; KATCH, 1998; CHAMPE; HARVEY, 1996; VANDER; SHERMAN; LUCIANO, 1981):

1 – Fosforilação da glicose: é a transformação da glicose em glicose 6-fosfato. Para catalisar esta reação há participação de várias isoenzimas como a hexoquinase, fosfofrutoquinase, piruvato quinase e glicoquinase.

A hexoquinase atua na maioria dos tecidos e regula a glicólise, ela é inibida pelo aumento do produto da reação (glicose 6-fosfato) e ativada mesmo com baixas concentrações de glicose, porém não pode fosforilar grandes quantidades de glicose. Já a glicoquinase, isoenzima atuante no fígado requer elevada concentração

de glicose, esta enzima não é inibida pela glicose 6-fosfato e pode ser aumentada com dieta rica em carboidratos.

A glicose fosforilada não possui transportadores específicos e tem dificuldade de penetrar nas membranas celulares, desta forma o composto é metabolizado dentro da célula.

2 – Isomerase da glicose 6-fosfato: nesta fase a isomerase catalisa a glicose 6-fosfato em frutose 6-fosfato. É uma reação reversível e não regula ou limita a velocidade da glicólise.

3 – Fosforilação da frutose 6-fosfato: a fosforilação é catalisada pela fosfofrutoquinase 1 (PFK-1) que exerce um forte controle na glicólise, pois a PFK-1 pode ser um fator limitante da velocidade.

As concentrações de ATP, frutose 6-fosfato e alguns reguladores, controlam a ação da PFK-1. Altas concentrações de ATP ou citrato inibem a PFK-1, contrariamente altas concentrações de AMP (Adenosina Monofosfato), que indica baixa energia na célula, ativa a PFK-1. O mais potente ativador desta enzima é a frutose 2,6-difosfato, esta substância em concentrações elevadas ativa a PFK-1, aumentando a velocidade da glicólise.

4 – Clivagem da frutose 1,6-difosfato: nesta etapa a frutose 1,6-difosfato é clivada pela aldolase A, resultando em dihidroxiacetona fosfato e gliceraldeído 3-fosfato, esta reação é reversível e não é regulada.

5 – Isomerização da dihidroxiacetona fosfato: a enzima triose fosfato isomerase converte a dihidroxiacetona fosfato a gliceraldeído 3-fosfato. Esta isomerização resulta em 2 moléculas de gliceraldeído 3-fosfato a partir dos produtos da reação anterior.

6 – Oxidação do gliceraldeído 3-fosfato: esta é primeira reação de oxidação-redução da glicólise, convertendo o gliceraldeído 3-fosfato em 1,3-difosfoglicerato pela catalisação da gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase.

Para que a glicólise continue é necessário a presença de NAD⁺, à medida que este diminui o NADH é reoxidado em NAD⁺ e isto se concretiza através de dois mecanismos: oxidação via cadeia respiratória e o NADH do piruvato em lactato.

7 – Formação do ATP a partir do 1,3-difosfoglicerato e ADP: o grupo fosfato do 1,3-difosfoglicerato sintetiza ATP a partir do ADP, esta reação é catalisada pela fosfoglicerato quinase e é reversível. Nesta fase as duas moléculas de ATP consumidas nas reações anteriores para a formação de glicose 6-fosfato e frutose

1,6-difosfato são repostas, pois a partir de uma molécula de glicose, duas moléculas de 1,3-difosfoglicerato são formadas, resultando em duas ATPs.

8 – *Troca do grupo fosfato*: nesta reação, livremente reversível, o grupo fosfato do fosfoglicerato muda do carbono 3 para o carbono 2. A enzima atuante é a fosfoglicerato mutase.

9 – *Desidratação do 2-fosfoglicerato*: a perda de H₂O do 2-fosfoglicerato redistribui a energia da molécula e resulta na formação de fosfoenolpiruvato (PEP), produto de alta energia. A enolase é a catalisadora da reação.

10 – *Formação do piruvato*: o fosfoenolpiruvato é convertido em piruvato pela ação da piruvato quinase. Esta reação é irreversível e o seu equilíbrio favorece a formação da ATP. A piruvato quinase é ativada pela frutose 1,6-difosfato, proveniente da reação da fosfofrutoquinase.

11 – *Redução do piruvato em lactato*: a lactato desidrogenase é a enzima que degrada piruvato em lactato, que é o produto final das glicólise anaeróbia.

Durante o exercício a produção de NADH no músculo excede a capacidade que a cadeia respiratória tem de oxidá-los, fazendo com que a alta relação de NADH/NAD⁺ favoreça a redução de piruvato a lactato, elevando os níveis de lactato circulantes no sangue.

O consumo de lactato varia, dependendo do tipo de tecido e de acordo com as concentrações intracelulares de piruvato, lactato e da relação NADH/NAD⁺. O fígado e o músculo cardíaco possuem menor relação NADH/NAD⁺ comparado ao músculo esquelético em exercício, assim estes tecidos oxidam o lactato (obtido do sangue) em piruvato.

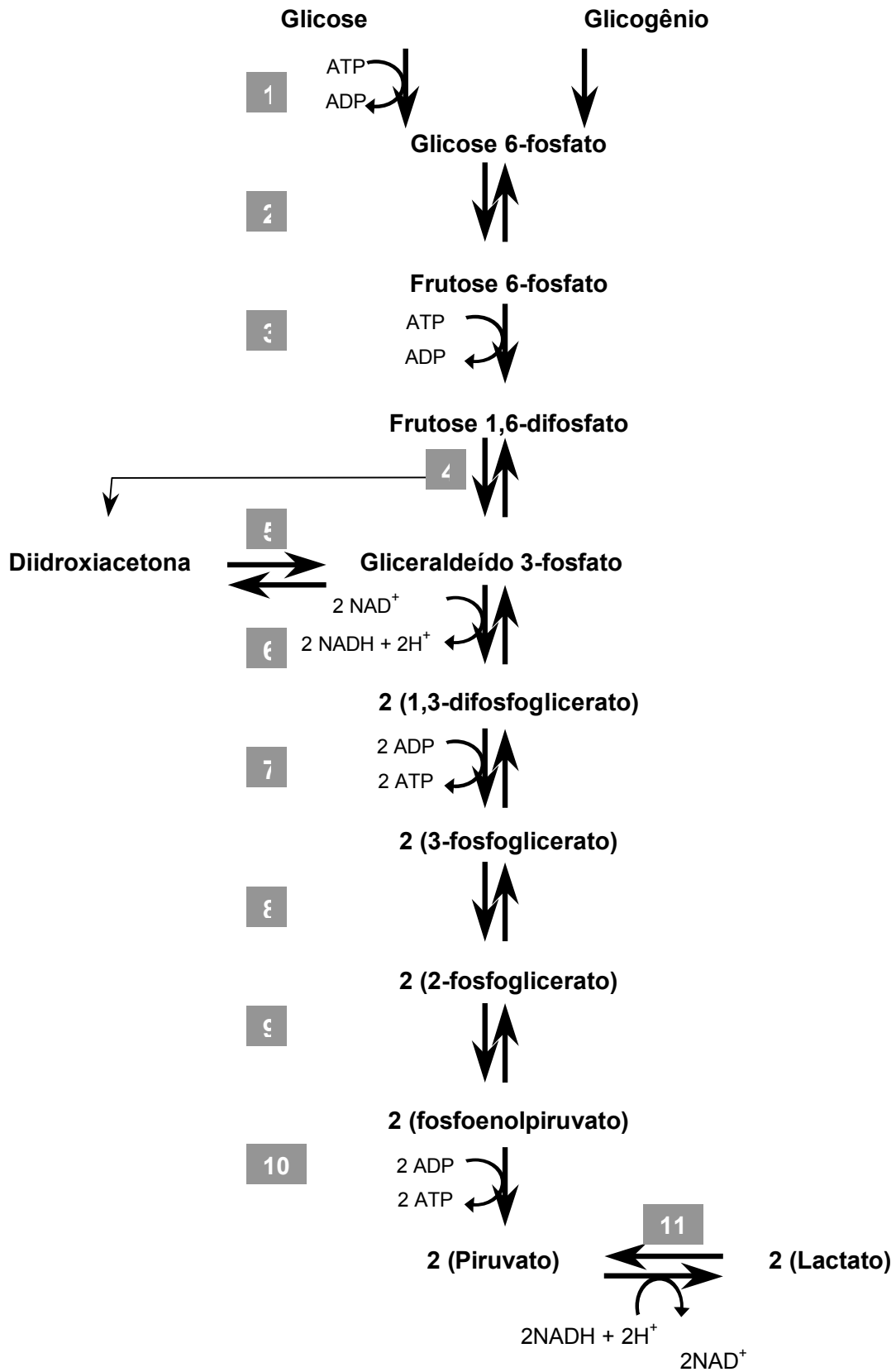


Figura 1: Reações da glicólise anaeróbica. Fonte: Adaptado de Champe e Harvey (1996).

Apesar de alguns autores (CHAMPE; HARVEY, 1996; VANDER; SHERMAN; LUCIANO, 1981) se referirem a glicólise como sendo composta por 11 reações bioquímicas, isto varia entre os autores. Um estudo de revisão apresentado por Robergs, Chiasvand e Parker (2004) colocam que de acordo com a convenção acadêmica, a glicólise constitui-se de nove reações, sendo a isomerase da glicose 6-fosfato a primeira reação e a formação do piruvato a última.

Com relação à produção de energia, se o substrato primário for glicose, duas moléculas de ATP são geradas para cada molécula de glicose convertida em lactato, pois para converter a glicose em glicose 6-fosfato é utilizado um mol de ATP. Quando o substrato utilizado for glicogênio, são produzidos três moles de ATP, visto que a conversão do glicogênio em glicose 6-fosfato é realizada a partir da glicose 1-fosfato, e não necessita da ATP (WILMORE; COSTILL, 2001; VANDER; SHERMAN; LUCIANO, 1981).

Além da produção da ATP, a liberação de próton também difere quando a glicólise é suprida por glicose ou glicogênio muscular. Para a formação de dois piruvatos é necessária a liberação de dois prótons quando a glicose for utilizada para gerar glicose 6-fosfato e um próton quando o glicogênio for utilizado, mostrando que o glicogênio é vantajoso na glicólise anaeróbia, acidificando menos o músculo no exercício intenso (ROBERGS; GHIASVAND; PARKER, 2004).

Durante as reações da glicólise há adição de grupos fosfatos ionizados à glicose, e os intermediários glicolíticos ficam retidos na célula, pois moléculas ionizadas não atravessam as membranas celulares com facilidade, já o ácido pirúvico e láctico formados no final da reação, não possuem grupos fosfato, podendo atravessar as membranas. Sendo assim, o aumento da concentração de lactato no sangue é um indicativo do aumento da glicólise anaeróbia (VANDER; SHERMAN; LUCIANO, 1981).

2.2 Capacidade anaeróbia na infância

Na criança, a aptidão anaeróbia é reduzida (MALINA; BOUCHARD, 2002; ROWLAND, 1990; INBAR; BAR-OR; SKINNER, 1986), pois ela não consegue atingir

as concentrações de ácido láctico (músculo) e de lactato (sangue) do adulto, durante o exercício máximo ou submáximo, refletindo a menor eficiência da glicólise.

Esta capacidade só assemelha-se à condição do adulto no início da puberdade (WEINECK, 2002) e apesar de ser menor, há estudos mostrando que ela pode ser aumentada com um treinamento anaeróbio específico, ocorrendo adaptações bioquímicas e fisiológicas significativas (CADEFAU, *et al.*, 1990).

Neste sentido, de verificar as alterações na capacidade anaeróbia provocadas pela atividade física espontânea ou pelo treinamento sistemático, a análise das respostas do lactato é proveitosa. Assim, este capítulo busca descrever os fatores determinantes do metabolismo anaeróbio, a treinabilidade desta capacidade na infância e as principais diferenças entre adultos e crianças, na tentativa de entender as particularidades desta população em relação à aptidão anaeróbia e ao lactato.

Ainda existe muita discussão sobre quais são os fatores determinantes do desempenho anaeróbio em crianças e adolescentes. Para Malina e Bouchard (2002), há determinantes morfológicos, fisiológicos e bioquímicos que se alteram durante o crescimento, fazendo da idade e do crescimento físico um fator altamente relacionado com a geração de potência anaeróbia, principalmente pela variação na quantidade de massa muscular, da infância à fase adulta.

O crescimento físico é um dos eventos principais para a melhora da capacidade anaeróbia devido ao aumento no comprimento dos ossos, das fibras musculares e da área de secção transversa dos músculos, por isto os adultos têm melhor desempenho em exercícios anaeróbios comparados as crianças. Por exemplo, um menino de 10 anos possui cerca de 80% da massa muscular da coxa por unidade de massa corporal de um adulto jovem, portanto estima-se que a potência pico por massa muscular aos 10 anos corresponde cerca de 80% da potência produzida por um adulto jovem (MARTIN; MALINA, 1998). Estudos com dissecação dos tecidos corporais sugerem que, ao nascer a massa muscular total corresponde a aproximadamente 23% da massa corporal e na fase adulta isto representa cerca de 40% (MALINA; BOUCHARD, 2002).

Outro fator que provoca efeitos no desempenho anaeróbio é a constituição genética, que determina o tipo de fibra muscular predominante, a área da fibra muscular, o perfil da atividade enzimática, capacidade glicolítica e oxidativa do músculo e o recrutamento de unidades motoras (SIMONEAU; BOUCHARD, 1998).

Martin e Malina (1998) citam fatores funcionais e estruturais do músculo que são intervenientes na produção de energia por vias anaeróbias:

- *Quantidade muscular*: a potência, produto da força e velocidade está relacionada à área de secção transversa dos músculos ativos e ao comprimento das fibras. Fibras longas que são compostas por vários sarcômeros podem gerar maior velocidade de contração do que fibras musculares curtas e quanto maior a quantidade de massa muscular maior a força gerada.
- *Arquitetura músculo-esquelética*: o torque gerado por um músculo para mover determinado objeto depende da força muscular e do braço de força da articulação, o braço de força é a distância perpendicular da linha de ação da força muscular até o centro de rotação da articulação. O músculo com braço de força mais longo sobre a articulação, tende a produzir mais torque, porém menor velocidade, ou vice-versa. Assim, há diferentes formas e combinações dos músculos e articulações para a produção de potência que são influenciados pelas características musculares e arquitetura músculo-esquelética;
- *Ativação neuromuscular e coordenação motora*: a contração muscular depende do impulso cerebral até o neurônio motor, implicando em diferentes tempos de recrutamento muscular e coordenação no recrutamento de determinada quantidade de fibras musculares e articulações envolvidas no movimento. Sendo a condução neural e o desenvolvimento da habilidade, variáveis fundamentais na potência anaeróbia;
- *Disponibilidade de substrato*: sabe-se que a ATP está disponível em pequena quantidade no tecido muscular, assim a manutenção da quantidade de ATP depende do fosfagênio e da quebra do glicogênio, em trabalhos mecânicos de predominância anaeróbia. Entretanto, não parece que a variação nas concentrações de fosfagênio e glicogênio está relacionada às diferenças individuais no desempenho anaeróbio (MALINA; BOUCHARD, 2002).

Além dos fatores citados anteriormente, a resistência muscular (enzimas glicolíticas, estoques de fosfocreatina), resistência à fadiga (capacidade de tamponamento) (SARGEANT, 1998), acúmulo de produtos provenientes de reações, eficiência das vias metabólicas e oferta de oxigênio (MALINA; BOUCHARD, 2002) também afetam o desempenho anaeróbio.

Com relação à influência das variáveis ambientais no desempenho anaeróbio, incluem-se o estado de treinamento, a estimulação a exercícios intensos de curta

duração, o padrão de atividade física habitual das crianças, altitude, temperatura, entre outros.

Um treinamento anaeróbio específico promove melhoras também em crianças, entretanto diversos fatores interferem na resposta ao treino, podendo variar demasiadamente entre os indivíduos (CADEFAU, *et al.*, 1990; ROTSTEIN, *et al.*, 1986). As alterações no desempenho anaeróbio incluem algumas adaptações no metabolismo, como: aumento nas reservas de ATP, fosfocreatina, glicogênio e atividades enzimáticas glicolíticas, com destaque para a fosfofrutoquinase.

Segundo Van Praagh (1998), cerca de 50 % da variação na resposta a um treinamento anaeróbio é determinada geneticamente, cerca de 30% deve-se ao exercício e variações do ambiente, 15% à interação do genótipo com o treinamento e 5% à variação de erro na medida. Além disto, a resposta ao treinamento varia com o estado de condicionamento inicial do indivíduo.

Estudo realizado por Rotstein, *et al.* (1986) mostraram que nove semanas de um treinamento intervalado com 28 meninos obteve melhoras significativas na capacidade anaeróbia, com um aumento de 10% na potência média, 14% na potência pico e um aumento do consumo máximo de oxigênio em 7% (absoluto – $L \cdot \text{min}^{-1}$) e 8% (relativo $\text{kg} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$). A potência pico e potência média são utilizadas como critério para avaliar a potência anaeróbia, e estas quando expressas de forma relativa à massa corporal, mostram valores menores em crianças, comparado aos adolescentes e adultos. De acordo com Bloomfield, Fricker e Fitch (1995), uma criança na faixa etária de 8 anos pode atingir cerca de 65% a 70% da potência que um adolescente de 14 anos atinge.

Sabe-se que a capacidade anaeróbia na infância é menor em crianças comparado a adultos, no qual uma das principais causas é a menor capacidade de gerar ou sustentar altos níveis de acidose, refletidos no pH e na concentração de lactato sanguíneo após um exercício de alta intensidade, porém os mecanismos de como estas diferenças ocorrem ainda não estão claros (MALINA; BOUCHARD, 2002; ERIKSSON; KARLSSON; SALTIN, 1971). Pois, acredita-se que as dificuldades metodológicas são um dos motivos pelo qual a capacidade anaeróbia é menos investigada na infância, comparado à capacidade aeróbia, principalmente se análises invasivas forem envolvidas.

2.3 Lactato e exercício

Para os profissionais e pesquisadores do exercício físico a mensuração de alguns parâmetros do metabolismo anaeróbio é necessária para o melhor entendimento, prescrição e monitoramento do exercício nas diferentes populações; atletas, não-atletas, portadores de doenças, crianças, idosos, entre outros.

As mais precisas informações histoquímicas e bioquímicas (reservas energéticas, processos metabólicos, atividade enzimática muscular, regulação de proteínas, capacidade de tamponamento, sistema antioxidante) são obtidas através de biópsia muscular, considerada o padrão ouro para estas investigações, todavia, seu uso é limitado, pois envolve procedimento cirúrgico e possui dificuldades éticas (VIRU; VIRU, 2001). Para estes mesmos autores, os métodos para estudar o metabolismo muscular, perdem valor à medida que se distanciam da biópsia:

Biópsia muscular → diferença arteriovenosa → sangue venoso → sangue capilarizado → saliva e urina → suor

Entretanto, à medida que se distanciam da biópsia e perdem precisão, os métodos diminuem sua complexidade. Assim, um procedimento simples e freqüentemente utilizado para mensurar a contribuição da glicogenólise anaeróbia na produção de energia durante o exercício é a análise da concentração do lactato no sangue capilarizado.

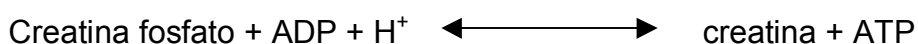
O lactato é o produto final da glicólise e tem seu valor modificado na circulação sanguínea à medida que a intensidade do exercício é alterada. Quando a intensidade é baixa ou moderada, a freqüência de formação do piruvato está em equilíbrio com sua oxidação, se a intensidade do exercício é elevada, a formação do piruvato ultrapassa sua oxidação, aumentando a quantidade de piruvato transformado em lactato. Nestas condições de exercício, a quantidade de lactato oxidado não é compatível com sua produção, aumentando a concentração no sangue (VIRU; VIRU, 2001; WELTMAN, 1995).

Desta forma, o lactato é um indicador qualitativo do grau de estresse do metabolismo anaeróbio após o exercício, entretanto não mensura precisamente a geração de energia glicolítica (WELSMAN; ARMSTRONG, 1998).

2.3.1 Produção e remoção do lactato

Robergs, Ghiasvand e Parker (2004) em um estudo de revisão, fazem importante discussão sobre os fatores relacionados à produção e remoção de lactato, visto que, alguns autores ainda apresentam-no como causador da acidose metabólica, o que não é verdade, apesar de seu aumento ter uma forte relação com a diminuição do pH, não há causa e efeito nestas alterações (GLADDEN, 2004; WESTERBLAD; ALLEN; LANNERGREN, 2002). Acreditar que a produção de lactato libera um próton e causa acidose (acidose láctica) é um construto e não uma verdade baseada na bioquímica fundamental (ROBERGS; GHIASVAND; PARKER, 2004).

Sabe-se que o sistema ATP/CP é alcalinizante para célula, pois na reação da creatina quinase um próton é consumido:



E no sistema glicolítico, a formação de próton depende do substrato utilizado, conforme citado anteriormente, a glicose libera dois prótons e o glicogênio apenas um próton. Desta forma, fundamentado em evidências bioquímicas Robergs, Ghiasvand e Parker (2004) apresentam os benefícios da produção do lactato:

- 1) A reação da Lactato desidrogenase (LDh) produz NAD⁺ citosólico, suprimindo a demanda da reação do gliceraldeído 3-fosfato e ajudando a regeneração contínua da ATP da glicólise. Para cada molécula de piruvato catalisada em lactato e NAD⁺, um próton é consumido, tendo esta reação a função de tamponamento para o acúmulo de próton (acidose). Isto demonstra que a reação da LDH é alcalinizante para a célula;
- 2) O lactato produzido é removido da célula pelo transportador monocarboxilato, que entra na circulação e move-se para outras células, onde pode ser usado como substrato no metabolismo de outros tecidos (células musculares esqueléticas e cardíacas, fígado e rim).

A química orgânica revela claramente que a produção de lactato consome próton, retardando o desenvolvimento da acidose metabólica. As reações que podem originar os prótons na glicólise são: a hidrólise da ATP, que tem como produtos a ADP, o fosfato e o H⁺ e a reação da gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase, que produz NADH e H⁺.

O que ainda não está claro na literatura são os fatores que regulam o consumo de lactato pelos músculos. Gladden (2000), em uma revisão, apresenta os mais importantes fatores discutidos na comunidade científica:

Taxa metabólica: o exercício causa pouco aumento no transporte do lactato e a produção, utilização e fluxo do lactato são maiores, comparados ao seu transporte. Assim, o aumento no transporte da concentração de lactato, não parece ser uma resposta regulatória importante durante a contração muscular.

Fluxo sanguíneo: este influencia na manutenção do ótimo gradiente da concentração de lactato e H^+ dentro e fora da célula muscular, além de ser importante para o transporte do lactato, todavia, não está claro se o aumento do fluxo sanguíneo otimiza significativamente o transporte do lactato.

Concentração de lactato ($[La]$): o fluxo da $[La]$ através da membrana celular depende do gradiente de concentração (quantidade de lactato dentro e fora da célula), mas não é sabido se o metabolismo ou transporte do lactato através da membrana celular são os fatores determinantes na regulação do consumo de lactato.

Concentração de íon de Hidrogênio ($[H^+]$): o aumento da $[H^+]$ inibe a produção endógena sem limitar o transporte do lactato no sarcolema. O transportador do lactato (monocarboxilato) aumenta em direção ao maior gradiente de $[H^+]$, devido à rápida ligação do H^+ com o monocarboxilato. O treinamento está associado ao aumento deste transportador no músculo esquelético (BONEN; MCCULLAGH; PUTMAN; HULTMAN; JONES; HEIGENHAUSER, 1998).

Tipo de fibra muscular: as fibras musculares atuam de diferentes formas no lactato, fibras oxidativas (tipo I) tendem a oxidá-lo mais, enquanto as fibras glicolíticas (tipo II) convertem-no em piruvato. O transporte de lactato é significativamente mais rápido nas fibras oxidativas comparado as glicolíticas, pois as primeiras possuem maior capacidade de transportá-lo através do sarcolema (PILEGAARD; DOMINO; NOLAND; JUEL; HELLSTEN; HALESTRAP; BANGSBO, 1990).

Treinamento físico: o treinamento de resistência é eficiente para aumentar a capacidade do músculo em utilizar lactato, pois a atividade muscular tem impacto positivo no seu transporte através da membrana, principalmente em treinamento com alto volume e intensidade.

2.3.2 Métodos de análise de lactato

Como mostrado anteriormente o lactato é um indicador da produção de energia pelo sistema anaeróbio glicolítico e tem sido extensivamente utilizado em laboratórios de fisiologia do exercício para estabelecer parâmetros de desempenho (DAVISON; COLEMAN; BALMER; NUNN; THEAKSTON; URROWS; BIRD, 2000; PYNE; BOSTON; MARTIN; LOGAN, 2000). Entretanto, para avaliação do lactato no sangue, vários locais de coleta, tratamento da amostra e protocolos para análise são propostos.

Com relação aos locais de coleta, a amostra pode ser obtida através do sangue arterial, sangue venoso arterializado, sangue capilarizado e sangue venoso. O sangue arterial é considerado de grande interesse aos cientistas do esporte, porém não é o mais usual porque a punção na artéria é um procedimento invasivo e complexo. Já o sangue venoso arterializado é coletado na veia superficial da parte dorsal da mão e fornece uma representatividade adequada do sangue arterial. O sangue capilarizado aplica-se aos protocolos de análise que necessitam de pequena quantidade de sangue, cerca de 20 – 25µl, para a coleta geralmente perfura-se a ponta do dedo ou lóbulo da orelha com uma lanceta, esta técnica é bastante usual na medicina desportiva pela facilidade e rapidez, podendo ser coletada durante o exercício. Por fim o sangue venoso, que geralmente tem sua punção executada na veia superficial do antebraço, também é um método bastante rotineiro pela simplicidade e pouca dor, a desvantagem deste é a influência que o fluxo sanguíneo exerce na pele, e esta sofre alterações da temperatura ambiental e da tensão imposta ao sistema termoregulatório do indivíduo (MAUGHAN; LEIPER; GREAVES, 2001).

Após a coleta, o método de análise adotado determinará o tipo de tratamento processado ao sangue, podendo ser utilizado: sangue não fracionado, soro, plasma e proteína livre (MAUGHAN; LEIPER; GREAVES, 2001; WELSMAN; ARMSTRONG, 1998).

Na área desportiva, para análise da concentração do lactato, os métodos mais usuais são os analisadores enzimáticos automáticos e os analisadores portáteis, que utilizam o sangue completo (não fracionado) e fazem a leitura do lactato em poucos segundos, com uma pequena quantidade de sangue, cerca de 25µl. Desta forma, inúmeros trabalhos na área esportiva e da saúde têm utilizado os

analisadores automáticos, principalmente os portáteis que oferecem acessibilidade para realizar as medidas em situações de campo, tanto na população adulta (PRIEUR; BENOIT; BUSSO; CASTELLS; DENIS, 2005; JUDELSON; RUNDELL; BECK; KING; LACLAIR, 2004; SEGURA *et al.*, 1996), de atletas (ZAGATTO; PAPOTI; CAPUTO; MENDES; DENADAI; BALDISSERA; GOBATTO, 2004; FRANCHINI; TAKITO; NAKAMURA; MATSUSHIGUE; KISS, 2003; ALMARWAEY; JONES; TOLFREY, 2003; SANTOS; UCHIDA; CAPERUTO; MARTINS, 2001), como na população infantil (FAWKNER; ARMSTRONG, 2004; DOTAN; FALK; RAZ, 2000).

Outro método que também é utilizado com frequência nas pesquisas científicas são as tradicionais técnicas bioquímicas, que executam a leitura em espectrofotômetro para obter o valor da concentração de lactato, estas possuem alta precisão e servem de base ou validação para outros métodos (WELSMAN; ARMSTRONG, 1998). Além disto, é um método sensível, ideal quando a substância a ser analisada encontra-se em baixas concentrações, como o lactato salivar, por exemplo. A desvantagem destes procedimentos é a maior quantidade de sangue necessária para análise, o tempo e o trabalho despendido.

Independente do método deve-se dar atenção ao tipo de anticoagulante utilizado na amostra sanguínea. Wiese, Didwania, Kerzner e Chernow (1997) compararam quatro diferentes anticoagulantes (Heparina Sódica, EDTA - ácido etilenodiamino tetra-acético, Heparina de Lítio e Citrato de Sódio) para determinação da concentração do lactato e verificou que o Citrato de Sódio diminuiu significativamente as concentrações do lactato comparado com os demais, sendo mais recomendada a heparina sódica como anticoagulante.

Além dos métodos aplicados, outro fator interveniente na concentração de lactato é o tipo de teste aplicado (corrida, pedalada, caminhada) que dependendo da quantidade de músculos envolvidos podem se distanciar dos reais valores. A estimativa da produção de energia através da liberação de lactato pode variar de 5% a 38% do total da produção energética anaeróbia, subestimando o verdadeiro resultado devido à metabolização do lactato nos diferentes tecidos corporais (MEDBØ; TABATA, 1993), principalmente em exercícios que não solicitam todos os membros do corpo simultaneamente. Pois, na comparação de alguns estudos, Bangsbo (1998) coloca que a diferença arterio-venosa no ciclismo, por exemplo, subestima o lactato uma vez que só os membros inferiores estão ativos, fazendo com que ele se dissemine aos músculos inativos.

2.4 Lactato salivar

A utilização da saliva como um fluido diagnóstico de doenças, evolução de tratamentos e indicativo de saúde tem crescido substancialmente nos últimos 10 anos. Isto decorre do fato da saliva ser um complexo fluido aquoso composto não somente pelas secreções dos três pares de glândulas exócrinas (parótida, submaxilar e sublingual), das glândulas menores e do fluido gengival, mas também por conter outras substâncias como: bactérias, células epiteliais e fragmentos de comida (STRECKFUS; BIGLER, 2002).

A formação da saliva é um fenômeno complexo, o processo ocorre no salivon, a unidade morfo-funcional da glândula salivar, esta unidade é composta por ácinos que possuem rica irrigação sanguínea e é o local onde se inicia a formação da saliva, com a produção de mucinas, enzimas, carboidratos e substâncias provenientes do líquido intersticial (Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{++} , HCO_3^- , uréia e H_2O). Após serem liberadas pelos ácinos, estas substâncias seguem por um sistema tubular que secretará ou reabsorverá algumas delas e em seguida a saliva é secretada pelo ducto excretor (DOUGLAS, 2002; BELL, 1997).

Villela, Bacila e Tastaldi (1973) apresentam a composição química (Tabela1) da saliva mista encontrada na boca, produto da secreção de todas as glândulas salivares.

Tabela 1: Componentes químicos da saliva.

COMPONENTES		g%
1. Água		99,1 a 99,6
2. Sólidos		0,4 a 0,9
<i>Substâncias orgânicas:</i>		
Mucina		0,2 a 0,4
SCN ⁻		0,1 a 0,3
Uréia		0 a 0,1
Glicose		0,01 a 0,02
Amilase		0,001
<i>Substâncias minerais:</i>		
Ânions	Cl ⁻	0,03 a 0,08
	H ₂ PO ₄ ⁻	0,022 a 0,055
	HPO ₄ ⁻	0,014
	HCO ₃ ⁻	0,004 a 0,009
	SO ₄ ⁻	0,01 a 0,03
	F ⁻	0,00001 a 0,00002
Cátions	Na ⁺	0,06 a 0,16
	K ⁺	0,07 a 0,18
	NH ₄ ⁺	0,002 a 0,010
	Ca ₂ ⁺	0,004 a 0,010
	Mg ₂ ⁺	0,001 a 0,002
Total		0,067

Fonte: Villela, Bacila e Tastaldi (1973).

Com toda esta quantidade de substâncias em sua composição, as funções da saliva não poderiam ser menos complexas: função digestiva, através de algumas enzimas como a ptialina e a lipase que ajudam na degradação de polissacarídeos, amido e glicogênio; função protetora, pela formação de uma película nos dentes e controle das microbactérias, auxiliando no sistema imunitário (lisozima, haptoglobina, imunoglobinas); função excretora, em casos de intoxicações, metais pesados e vírus; função esôfago-protetora, lubrificando e umidecendo os alimentos, além da ação solvente e higiênica (SPADARO; CALDEIRA; ROCHA; POLIZELLO; MESTRINER, 1998; DOUGLAS, 2002).

A concentração da saliva depende de sua frequência de secreção, que sofre influências do sistema autônomo (simpático e parassimpático). O nível basal de secreção salivar, em vigília, é de aproximadamente 0,5 mL/min, o alimento na boca aumenta este fluxo, principalmente quando se refere a alimentos ácidos, podendo aumentar o fluxo para 4 mL/min (VANDER; SHERMAN; LUCIANO, 1981). Porém, o exercício aumenta a atividade nervosa simpática e a concentração de epinefrina, inibindo a secreção salivar, o que pode dificultar a coleta nestas condições (VIRU; VIRU, 2001).

A grande vantagem da utilização da saliva para diferentes diagnósticos na área médica e atualmente na área esportiva também, é devido ao seu fácil acesso, simplicidade na coleta da amostra, que pode ser realizada por qualquer indivíduo, coleta em tempo real e principalmente devido à técnica não invasiva, evitando inserção de cateteres (SCHABMUELLER; LOPPOW; PIECHOTTA; SCHÜTZE; ALBERS; HINTSCHE, 2005; STRECKFUS; BIGLER, 2002; YODA; SHIMAZAKI; UEDA, 1997).

Recentemente, vem sendo desenvolvidos microbiosensores para análise do lactato e da glicose salivar em tempo real, fornecendo informações relevantes da glicólise em resposta ao exercício e em indivíduos com patologias, como a diabetes (YODA; SHIMAZAKI; UEDA, 1997; SCHABMUELLER, *et al.*, 2005). Yoda, Shimazaki e Ueda (1997) desenvolveram um microbiosensor e compararam as respostas das concentrações do lactato sanguíneo com o salivar após o exercício com duração de 20 minutos, em um sujeito treinado e outro não treinado. Encontraram boa associação entre as curvas, porém o lactato salivar apresentou o pico de 10 a 20 minutos após o exercício e sua concentração foi cerca de um terço a um meio das concentrações do lactato sanguíneo, concluindo que este é um excelente método alternativo ao sangue. Schabmueller, *et al.* (2005) também obtiveram bons resultados comparando as concentrações de lactato sanguíneo com o salivar através de um microsensor de silicone, indicando bom desempenho do novo equipamento.

A similaridade de algumas substâncias com as respostas sanguíneas é um dos fatores que fazem da saliva um método aceito na comunidade científica. Apesar de ainda apresentar barreiras como a análise em grande quantidade, a falta de padronização para coleta, o alto custo de algumas análises e a resistência de

médicos em aceitar a alta precisão e o bom custo/benefício deste recente método (SCHABMULLER, *et al.*, 2005).

Diagnósticos clínicos eficazes das mais variadas substâncias podem ser realizados através da saliva, entre eles: desordens auto-imune, incluindo análises do fluxo, pH, capacidade de tamponamento e lactobacilos (BENEDETTO, 2002; SPADARO, *et al.*, 1998; GLEESON; PYNE, 2000), doenças cardiovascular, endócrina, viral, bacteriana, renal, câncer, farmacologia (monitoramento de drogas) (LAWRENCE, 2002) e respostas terapêuticas aos tratamentos psiquiátricos (STRECKFUS; BIGLER, 2002).

Na área desportiva, a utilização da saliva para o diagnóstico de metabólitos ainda é recente, o estado da arte nesta temática (diagnóstico salivar e exercício) ainda está em fase de validação do método. Geralmente os estudos objetivam identificar a relação entre a secreção de determinada substância na saliva (sódio, potássio, cloro, lactato) e a intensidade do exercício ou treinabilidade do sujeito (ZAGATTO, *et al.*, 2004; PÉREZ, *et al.*, 1999; SEGURA, *et al.*, 1996; OHKUWA, YAMAZAKI; SATO, 1995).

A análise da concentração de lactato tem se destacado entre os estudos que buscam a saliva como meio diagnóstico, pois têm demonstrado a eficiência deste método para monitorar as respostas do metabolismo no exercício prolongado (ZAGATTO, *et al.*, 2004; PÉREZ *et al.*, 1999; YODA; SHIMAZAKI; UEDA, 1997; SEGURA *et al.*, 1996) e no exercício anaeróbio ou máximo (OHKUWA; YAMAZAKI; SATO, 1995; BEN-ARYEH, *et al.*, 1989).

Segura, *et al.* (1996) buscaram identificar se as concentrações de lactato na saliva refletem as concentrações de lactato no sangue. Avaliaram nove sujeitos fisicamente ativos, do sexo masculino, que realizaram exercício com incremento de carga no cicloergômetro. Os resultados mostraram correlação de $r=0,81$ ($p<0,05$) entre sangue e saliva, e os valores de concentração do lactato salivar foram cerca de 20% menores comparados aos valores sanguíneos, mostrando que em ambos os fluidos as respostas do lactato durante o exercício incremental é semelhante.

Outro estudo (PÉREZ *et al.*, 1999) realizado com atletas amadores de ciclismo e triatlon no exercício com carga constante, também encontrou resultados favoráveis à saliva. Foi investigado se a máxima fase estável de lactato (MLSS) também ocorre na saliva e se há concordância com os valores sanguíneos. Verificou-se que não há diferenças significativas nos valores de VO_2 e potência em

watts (W) correspondente a MLSS avaliadas no sangue e na saliva, além disso, os resultados apresentaram boa concordância (92%) da MLSS entre os métodos, e correlação de $r=0,89$ quando a MLSS foi expressa em VO_2 e $r=0,92$ quando expressa em W.

Estes altos valores de correlação entre as concentrações de lactato salivar e sanguíneo se repetiram quando foram avaliados 15 corredores de longa distância, antes e após a corrida de 25 km, os resultados da pesquisa apresentaram correlação positiva de $r=0,77$ entre os métodos (SANTOS, *et al.*, 2001).

Quanto aos estudos que realizaram a comparação entre lactato salivar e sanguíneo para análise metabólica no exercício anaeróbio máximo ou de curta duração, estes também apontaram boa correlação entre os métodos. Ohkuwa, Yamazaki e Sato (1995) através da análise de regressão do pico de lactato após corrida de 400m, com atletas de *endurance* e velocistas, encontraram resultado significativo ($r= 0,70$) concluindo que a concentração de lactato salivar após o exercício anaeróbio máximo é um relevante indicador para determinar quais atletas possuem elevada produção de lactato.

Para Saldana (2005), o lactato analisado através da saliva reflete as alterações do mesmo no sangue, em análise numérica, visual e de aparecimento na saliva. Ajudando a concretizar sua validade, o lactato salivar, desde os anos 80 já é utilizado em estudos de populações com necessidades especiais de saúde, como os indivíduos com fibrose cística, diagnosticando a depleção energética, o metabolismo e comparando-os com indivíduos saudáveis (BARDON; CEDER; KOLLBERG, 1983).

Apesar dos estudos citados acima indicarem boa correlação das respostas do lactato salivar com as respostas no sangue em adultos, a facilidade dos analisadores automáticos, que necessitam de apenas uma gota de sangue, fazem com que os pesquisadores que trabalham com esta população não necessitem de técnicas alternativas. Entretanto, quando se refere às crianças, técnicas invasivas podem representar uma barreira, fazendo com que a análise salivar receba maior atenção, pois soluciona problemas éticos e de aceitação das próprias crianças.

Infelizmente, não foram encontrados estudos investigando as respostas das [La] salivar na infância, e não podemos aplicar a elas os resultados encontrados com adultos, visto as inúmeras diferenças metabólicas, físicas e maturacionais existentes entre estas populações. Assim, faz-se necessário investigar se as respostas das

[Lactato] salivar e sanguíneo após o exercício anaeróbio, também são similares na população infantil.

3 METODOLOGIA

3.1 População e Amostra

A amostra foi intencional, constituída por 10 crianças pré-púberes, do sexo masculino, com faixa etária entre 8 e 10 anos, praticantes de atividades esportivas com frequência mínima de duas vezes semanais.

3.1.1 Delimitação da amostra

a) Critérios de inclusão

Participaram da amostra meninos saudáveis, sem nenhuma patologia previamente diagnosticada e que se enquadravam nos seguintes critérios:

- Apresentar índice de massa corporal (IMC) entre os percentis 25 e 85, para que os sujeitos não apresentem estado de subnutrição, sobrepeso ou obesidade, de acordo com as curvas percentílicas publicadas pelo CDC (McDOWELL, *et al.*, 2005);
- Estar praticando alguma atividade esportiva pelo menos duas vezes semanais e por um tempo mínimo de seis meses;
- Ter idade entre 8 e 10 anos;
- Ser pré-púbere, ou seja, não ter iniciado o desenvolvimento das características sexuais secundárias que marcam o início da puberdade e acarretam em inúmeras alterações biológicas;
- Possuir o termo de consentimento livre e esclarecido assinado pelos pais ou responsáveis legais (Apêndice A);
- Concordar em participar da pesquisa por livre e espontânea vontade com o conhecimento prévio de todos os procedimentos pelos quais iriam se submeter.

b) Critérios de exclusão

- Sujeitos que utilizaram algum medicamento duas semanas antes dos testes ou que ainda estavam utilizando;

- Sujeitos que não aceitaram ou desistiram antes ou durante o andamento dos testes, mesmo sem declarar o motivo.

3.1.2 Limitações do estudo

- A amostra foi composta apenas por crianças do sexo masculino com faixa etária entre 8 e 10 anos;
 - Número reduzido de indivíduos na amostra;
 - Longo intervalo entre as coletas de sangue e saliva após o teste anaeróbio, sendo quatro coletas de cada fluido com intervalo de 8 a 10 minutos;
- Estes fatores limitantes dificultam a generalização dos resultados para outras populações com características diferentes da apresentada neste estudo.

3.1.3 Procedimentos para o recrutamento dos sujeitos

Foram selecionadas crianças que participavam de diferentes modalidades de iniciação esportiva e/ou atividades recreativas como tênis, natação, futebol, Karatê, entre outros, de Clubes de Curitiba e região metropolitana. Inicialmente foi realizado o contato com o clube, através de carta que explica brevemente os principais objetivos da pesquisa e solicitando a autorização para o recrutamento dos sujeitos (Apêndice B). Após o aceite, foi enviada aos pais a ficha de identificação dos sujeitos, contendo perguntas sobre o estado de saúde do filho, a utilização de medicamentos, a massa corpórea, estatura aproximada e se havia interesse em participar da pesquisa.

Com as fichas dos sujeitos em mãos foram sorteadas 20 crianças das diferentes modalidades esportivas, na faixa etária de 8 a 10 anos que se enquadravam nos critérios de inclusão, com exceção da maturação sexual que foi realizada posteriormente à assinatura do termo de consentimento.

Todos os procedimentos do estudo foram explicados às crianças e aos pais, verbalmente e através do termo de consentimento livre e esclarecido assinado pelos responsáveis legais dos sujeitos.

3.2 Instrumentos e procedimentos

3.2.1 Maturação sexual

Com o intuito de garantir que as crianças se encontravam no estágio maturacional pré-púbere, foi aplicado o teste de auto-avaliação de Tanner *apud* Docherty (1996). Esse é um procedimento simples e realizado pela própria criança que identifica o seu desenvolvimento através dos pêlos pubianos, de acordo com cinco classificações propostas por Tanner e adaptadas em figuras (SOCIEDAD ARGENTINA DE PEDIATRÍA, 2001).

Na aplicação do teste o avaliador responsável explicou aos sujeitos, isoladamente, como proceder. Sozinha, a criança analisou a quantidade de pêlos pubianos das cinco figuras fixadas na parte interna da porta de um banheiro e marcou em um papel o número da figura correspondente ao qual ela se parecia mais. Somente o avaliador responsável teve acesso ao resultado que posteriormente foi tabulado com as demais informações do sujeito. O teste classificou como pré-púbere ou pertencente ao estágio maturacional um, os sujeitos que não apresentaram pêlos característicos da região pubiana. As figuras encontram-se no Anexo A.

3.2.2 Índice de Massa Corporal (IMC)

Para quantificar a massa corporal utilizou-se uma balança digital da marca FILIZOLA, com precisão de 100 gramas. Executou-se a pesagem com a criança descalça, em sala reservada. Na quantificação da estatura foi usada uma fita métrica com escala de medida de 0,1cm. Esta foi fixada verticalmente à parede e a criança descalça encostou a parte posterior do corpo sobre a fita, marcando o valor de sua estatura. De posse desses valores foi calculado o IMC, dividindo a massa corporal pela estatura (metros) elevada ao quadrado. Os procedimentos para avaliar a massa corporal e a estatura foram realizados de acordo com as recomendações de Marins e Giannichi (2003).

3.2.3 Teste máximo

Para alcançar o esforço máximo, foi utilizado o teste anaeróbio de Wingate, que consiste em 30 segundos de exercício em máxima intensidade (INBAR; BAR-OR; SKINNER, 1996). Este é efetuado em um cicloergômetro que possui resistência de atrito contra um pêndulo com carga de $0,075 \text{ (kp}\cdot\text{kg}^{-1})$. Durante o teste foram mensurados:

- Freqüência cardíaca máxima - a maior valor de freqüência obtido ao final do teste;
- Potência máxima ou pico (watts) - definida como o mais alto valor de potência mecânica gerada em um curto espaço de tempo, geralmente é atingida nos cinco primeiros segundos do teste;

Este conceito de potência pico é utilizado com freqüência em testes que visam mensurar a potência anaeróbia, na tentativa de inferir a capacidade anaeróbia aláctica ou láctica do indivíduo (VAN PRAAGH, 1998).

A carga de $0,075 \text{ (kp}\cdot\text{kg}^{-1})$ neste teste vem sendo vastamente utilizada em inúmeras pesquisas com crianças, inclusive em casos patológicos como a fibrose cística e asma (ARMSTRONG; WELSMAN; CHIA, 2001; DE STE CROIX; ARMSTRONG; CHIA; WELSMAN; PARSONS; SHARPE, 2001; BOAS; DANDURAN; McCOLLEY, 1999; COUNIL; VARRY; KARILA; HAYOT; VOISIN; PREFAUT, 1997; KLIJN; OUDSHOORN; VAN DER ENT; VAN DER NET; KIMPEN; HELDERS, 2004) Além disso, este teste apresenta confiabilidade de 0,95 a 0,97 em crianças e validade amplamente testada em diferentes populações infantis (INBAR; BAR-OR; SKINNER, 1996).

Inicialmente foi realizado um aquecimento contínuo de 3 minutos no próprio cicloergômetro, com freqüência cardíaca entre 150 e 160 bpm e com a execução de dois *sprints* ou piques em máxima velocidade para melhor adaptação ao teste. Depois de ajustada a distância e altura do banco, o avaliador deu o comando para iniciar o teste. Ao sinal, o avaliado pedalou o mais rápido possível até atingir sua velocidade máxima, com o intuito de quebrar a inércia quando aplicada a carga. Assim que esta velocidade foi atingida, no terceiro segundo, aplicou-se a carga no cicloergômetro e o avaliador incentivou o avaliado a manter-se em máxima velocidade durante os 30 segundos. Logo após o teste, os sujeitos saíram do

equipamento e realizaram recuperação passiva de 30 minutos, sentados em cadeira com apoio do braço, para a coleta de sangue e saliva.

3.2.4 Lactato

Lactato sangüíneo

Os procedimentos da coleta de sangue foram supervisionados pela médica Dra. Neiva Leite e executados por uma enfermeira experiente. A coleta foi realizada através da punção na veia superficial do antebraço dos sujeitos, com agulha *butterfly* – n.23, específica para a população pediátrica. Conecta a parte distal da agulha, há uma cânula na qual foi introduzido o tubo Vacutainer® 2 mL (Figura 2) ou agulha, dependendo do momento da coleta. Após cada coleta aplicou-se heparina na cânula, como anticoagulante, conforme recomendado por Wiese, *et al.* (1997). Esta permaneceu até a próxima medida para que a cânula não fosse obstruída pelo sangue coagulado. Antes da coleta sanguínea a heparina foi desprezada para não contaminar a amostra. Cada sujeito se submeteu a 5 coletas de 2 mL, totalizando 10 mL de sangue de cada sujeito.

O tubo com sangue foi imediatamente colocado no gelo e posteriormente armazenado em freezer à temperatura de 4°C até à análise, a amostra foi processada no mesmo dia, no Laboratório de Metabolismo Celular - Departamento de Fisiologia do Setor de Ciências Biológicas.

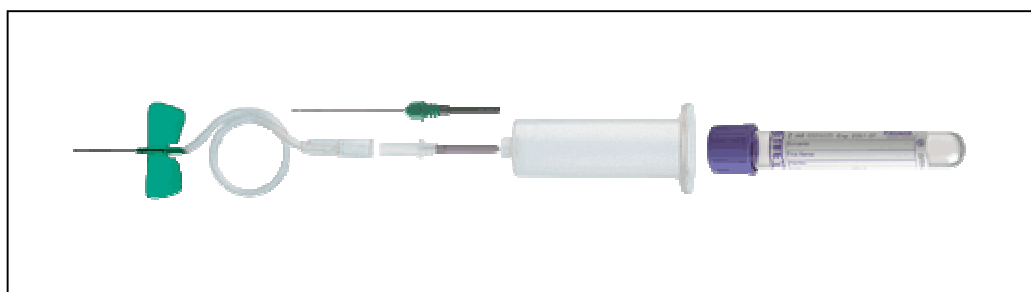


Figura 2: Sistema de agulha *butterfly* com o tubo Vacutainer®.

Este instrumento de coleta sanguínea tem como principais vantagens:

- Evitar o risco de contaminação dos sujeitos e pesquisadores, eliminando o contato direto com o sangue;
- Aspirar automaticamente o sangue coletado para dentro do tubo, produzindo a coleta de sangue na medida pré estabelecida;
- A agulha do sistema permite extração de várias amostras com apenas uma punção;
- O sistema Vacutainer® possui linha Pediátrica, na qual foi desenhada especialmente para coleta em crianças, com diâmetro menor e proporcionando maior conforto aos sujeitos.

Lactato salivar

A obtenção da saliva foi realizada pelo Salivette® (Figura 3), constituído por um tubo plástico que contém um rolo de algodão de alta absorção. Este instrumento é específico para a coleta de tal material. Trinta minutos antes do início dos testes, os sujeitos beberam 200mL de água para uma adequada hidratação e antes de colocar o rolo de algodão na cavidade oral, a enxaguaram com água destilada para limpeza (CHICHARRO; LEGIDO; ALVAREZ; SERRATOSA; BANDRES; GAMELLA, 1994). O rolo de algodão foi mantido na cavidade oral por 1 minuto, depois colocado no suporte dentro do tubo plástico e imediatamente armazenado em gelo, para posterior análise. No laboratório, o tubo foi centrifugado por 10 minutos a 1500 rpm e posteriormente analisado o lactato pelo mesmo método utilizado no sangue.

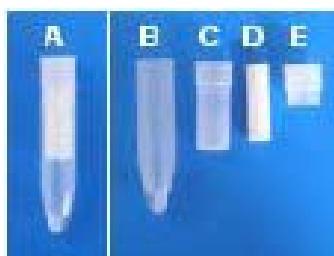
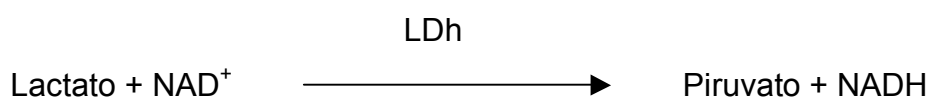


Figura 3: Componentes do Salivette®.

Determinação da concentração do lactato sanguíneo e salivar

A determinação da concentração do lactato sérico foi realizada pelo método enzimático proposto por Engle e Jones (1978).

Inicialmente foi realizada a desproteïnização de 500 μL de soro, pela adição de 50 μL de ácido tricloroacético (TCA a 25%). A mistura foi agitada em vórtex e centrifugada por 1 minuto a 13.000 rpm. Em seguida, pipetou-se 200 μL do sobrenadante e adicionou-se 4 μL de indicador universal, para permitir a visualização da neutralização do soro, adicionou-se KOH / TRIS (0,5 M / 2 M), sinalizando para a coloração verde, indicando pH 7,0. Após acertado o pH, foi pipetado 100 μL do soro neutralizado em tubos de ensaio contendo 1 mL do tampão do ensaio (descrito abaixo) e, após 45 minutos em temperatura ambiente, foi efetuada a leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 340 nm. O princípio dessa mensuração consiste na conversão do lactato a piruvato pela ação da Lactato desidrogenase (LDh), ocorrendo consumo de NAD^+ com formação estequiométrica de NADH, o qual pode ser monitorado espectrofotometricamente, fornecendo as concentrações de lactato existente na amostra. Segundo a reação:



A partir da medida de absorvância para o lactato sérico, foi calculada a concentração em $\mu\text{mol/mL}$, pela fórmula:

$$[\text{Lactato}] = \frac{\text{ABS}}{6,22} \times \frac{V_1}{V} \times \frac{V_2}{V_3} \times \frac{V_4}{V_5}$$

Onde: [Lactato] = concentração de lactato produzido

ABS = absorvância

6,22 = constante

V = volume da amostra

V1 = volume da amostra + tampão de ensaio

V2 = volume do soro com proteínas + TCA

V3 = volume do soro com proteínas

V4 = volume do soro desproteïnizado + volume de neutralização

V5 = volume do soro desproteïnizado

Tampão de Ensaio para 100mL de água destilada:

EDTA	0,28 g
Glicina	2,8 g
Hidrato de Hidrazina	1,5 mL
LDh	0,4 mL
NAD ⁺	60 mg
pH	8,85

Métodos similares foram utilizados por Taoutaou, *et al.* (1996) e Ohkuwa, Yamazaki e Sato (1995) para análise salivar.

Procedimentos para as coletas de lactato sangüíneo e salivar

Os momentos de coleta do sangue e da saliva no teste anaeróbio máximo ocorreram:

- No repouso, antes de iniciar o aquecimento, o sujeito sentou em uma cadeira, permanecendo por 10 minutos, em seguida foram feitas as coletas.
- Após o teste, o sangue e a saliva foram coletados no 3º, 10º, 20º e 30º minutos, com o objetivo de verificar o pico de lactato, considerado o maior valor obtido após o teste, e a remoção do lactato após o esforço (Figura 4). A taxa de remoção foi calculada pela diminuição percentual do valor pico para o menor valor obtido após o teste.

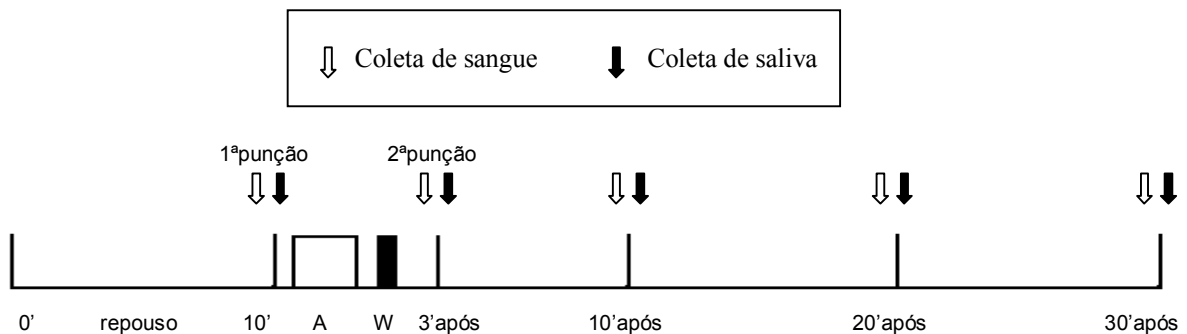


Figura 4: Esquema dos momentos da coleta sanguínea e salivar.

Onde:

A – Aquecimento

W – Teste de Wingate

1ª punção: colocação do cateter, coleta sanguínea e retirada do cateter

2ª punção: colocação do cateter, coleta sanguínea e manutenção do cateter heparinizado para as próximas coletas.

3.2.5 Procedimentos das avaliações e testes

A realização dos testes ocorreu por agendamento conforme a disponibilidade dos sujeitos, porém todas aconteceram no período da manhã, entre 9:00 e 12:00 horas para diminuir a influência do ritmo circadiano nas respostas salivares (CAMARGO; PUPO; BUSSOLOTI FILHO, 2005).

Durante o agendamento os pais receberam as seguintes instruções:

- Exercícios físicos: os sujeitos não deverão praticar exercícios intensos 24 horas antes dos testes laboratoriais;
- Vestimenta: usar roupas e calçados adequados para a prática de atividade física (camiseta, calção, meia e tênis);
- Alimentação: tomar café da manhã 2 horas antes dos testes, sugerindo aos sujeitos que ingiram um pão francês e a bebida matinal de costume da criança, com exceção de bebidas cafeïnadas;
- Higiene oral: escovar os dentes normalmente, logo após o café da manhã;
- Repouso: dormir adequadamente (mínimo de 8h) na noite anterior ao teste.

As crianças devem comparecer com os pais ou responsáveis que poderão acompanhar os procedimentos.

Primeiramente avaliou-se a massa corporal, a estatura e posteriormente realizou-se o teste de esforço máximo.

3.2.6 Análise crítica de riscos e benefícios

Segundo o Working Party on Research in Children - 1991, citado por Van Praagh (1998), procedimentos que envolvam avaliação física, monitoramento fisiológico não invasivo, mudanças e obtenção de sangue apresentam risco insignificante. Apesar do pequeno desconforto na retirada de sangue, este

procedimento é utilizado em crianças com ou sem patologias e justifica-se por acreditarmos que o método a ser analisado (lactato na saliva) é viável para substituir a utilização do método de lactato sanguíneo em crianças, por pesquisadores e profissionais de diversas áreas.

Com relação ao teste máximo, não há relatos na literatura sobre eventuais problemas físicos ou psíquicos, durante ou após os testes, em crianças. Cabe ressaltar que, neste estudo os indivíduos não foram colocados em situação de risco ou de constrangimento.

Outros detalhes referentes aos procedimentos metodológicos da pesquisa como: duração temporal, local e infra-estrutura disponível, orçamento financeiro, fonte dos materiais utilizados, propriedade das informações, confidencialidade e as medidas de proteção ou minimização dos riscos, encontram-se no Apêndice D.

3.3 Planejamento do estudo e tratamento estatístico

O estudo é de caráter descritivo correlacional. Os valores da média, desvio padrão, mínimo, máximo e frequência são apresentados para descrever as respostas do lactato salivar e sanguíneo antes e após o exercício. Depois de confirmada a normalidade dos dados, através do teste de *Kolmogorov-Smirnov*, foi aplicada a correlação produto-momento de *Pearson* para verificar a relação entre as curvas de lactato salivar e sanguíneo. Em todas as análises o nível de significância adotado foi de $p < 0,05$ (THOMAS; NELSON, 2002).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização da Amostra

O grupo de crianças que compôs a amostra foram meninos fisicamente ativos, praticantes de atividade física sistematizada como Karatê, futebol e natação, com frequência mínima de duas vezes semanais. Todos foram classificados como pré-púberes (estágio 1) conforme a classificação dos estágios maturacionais propostas por Tanner *apud* Docherty (1996). Na Tabela 2 são apresentados os dados médios e desvios padrão da idade, massa corporal, estatura, Índice de Massa Corporal e os resultados da potência pico, obtidos através do teste anaeróbio máximo (Wingate).

Tabela 2: Caracterização da amostra.

	N	Média	Desvio		
			Padrão	Mínimo	Máximo
Idade (anos)	10	9,34	0,80	8,1	10,82
Massa Corporal (kg)	10	31,39	3,65	25,60	36,95
Estatura (m)	10	1,36	0,04	1,31	1,45
IMC (kg·m ⁻¹)	10	16,86	1,76	13,97	18,94
Potência pico (W·kg ⁻¹)	10	8,88	0,96	7,91	10,93

A faixa etária da amostra variou de 8 a 10 anos (8 anos: n=2, 9 anos: n=7, 10 anos: n=1), sendo crianças pré-púberes, considera-se um grupo bem homogêneo e com pouca influência da idade, IMC e desenvolvimento fisiológico nos resultados da concentração de lactato. As bruscas modificações destes fatores ocorrem na puberdade e a maioria dos meninos com idade até 10 anos é infantil (MALINA; BOUCHARD, 2002). No estudo de Doré, Bedu, França, Diallo, Duché, Van Praagh (2000) comparando o desempenho de 520 meninos de 8 a 20 anos, no cicloergômetro, verificaram um platô na massa corporal e no volume muscular da coxa dos sujeitos somente entre 8 - 10 anos e após os 17 anos. Gonçalves (1995), contrastando as faixas etárias de meninos e meninas de 7 a 14 anos, também

encontrou maiores diferenças entre as idades a partir dos 10 anos, tanto nos testes motores como nas características antropométricas.

Os fatores que podem influenciar a produção de lactato possuem maior desenvolvimento durante a puberdade, ou, a partir do estágio 2 de Tanner *apud* Docherty (1996). Pois, na adolescência a produção hormonal aumenta significativamente, com destaque para a testosterona que se eleva cerca de 10 vezes nesta fase da vida e essas alterações auxiliam no pico da taxa de desenvolvimento muscular e pico do aumento da estatura dos jovens (WILMORE; COSTIL, 2001). É claro que a melhora do sistema glicolítico e conseqüentemente da potência anaeróbia, não podem ser explicados simplesmente pelo tamanho ou quantidade muscular, uma vez que os resultados de potência de adultos diferem das crianças, mesmo quando corrigidos pela massa muscular. As características bioquímicas dos tecidos também auxiliam na melhora do sistema glicolítico, em repouso ou durante o exercício intenso, a concentração muscular de fosfocreatina e glicogênio são menores em meninos comparados a homens mais velhos (INBAR; BAR-OR, 1986).

Estas informações indicam que o tamanho dos sujeitos e a quantidade de massa magra podem influenciar a produção de lactato, porém com maior magnitude durante a puberdade, na infância o efeito destes componentes é pequeno.

Com relação à potência pico obtida no teste anaeróbio, as crianças apresentaram excelentes resultados conforme a classificação proposta por Inbar, Bar-Or e Skinner (1996) e valores superiores aos encontrados por Martin, Dore, Twisk, Van Praagh, Hautier e Bedu (2004) que compararam as diferenças no desempenho de 109 meninos de 7 a 17 anos. No entanto, a potência foi inferior à obtida na investigação de Welsman, Armstrong, Kirby, Winsley, Parsons e Sharpe (1997) com garotos da mesma faixa etária.

O teste anaeróbio foi aplicado com alto grau motivacional às crianças e o ótimo desempenho no teste demonstra que o mesmo serviu para levar os indivíduos ao esforço máximo ou, o mais próximo possível desta condição, estimulando assim o sistema glicolítico e conseqüentemente levando à elevação na concentração de lactato, para cumprir os objetivos do estudo.

4.2 Alterações da [Lactato]

A Tabela 3 apresenta os resultados descritivos das alterações da concentração de lactato na saliva e no sangue dos meninos pré-púberes. Os momentos avaliados foram: em repouso (após 10 minutos sentados e sem atividade física) e 3, 10, 20 e 30 minutos após o teste anaeróbio máximo (Wingate). É importante ressaltar que durante a coleta foram perdidas duas amostras de sangue em sujeitos diferentes; a segunda medida do sujeito número 8 e a última medida do sujeito 10.

Tabela 3: Descrição das alterações da [Lactato] salivar e sanguíneo, em repouso e após o teste anaeróbio máximo.

		N	Média	Desvio		
				Padrão	Mínimo	Máximo
[Lactato] Salivar (mmol/L)	Repouso	10	0,34	0,12	0,16	0,51
	3 min	10	0,64	0,24	0,33	0,99
	10 min	10	0,77	0,16	0,52	1,12
	20 min	10	0,65	0,26	0,35	1,14
	30 min	10	0,54	0,28	0,20	1,11
[Lactato] Sanguíneo (mmol/L)	Repouso	10	1,41	0,38	1,02	2,17
	3 min	9	3,67	0,73	2,53	4,54
	10 min	10	3,46	0,76	2,34	4,91
	20 min	10	2,94	0,72	2,02	4,46
	30 min	9	2,23	0,34	1,69	2,78

Os valores médios da [Lactato] salivar foram bastante inferiores aos valores sanguíneos. Em repouso, a concentração no sangue representa cerca de 4 vezes mais do que na saliva e a concentração pico após o exercício, foi 4,7 vezes maior no sangue. Estes valores diferem dos apresentados por Karatosun, Cetin e Baydar (2005) os quais verificaram diferença de 29 vezes da [Lactato] pico entre o sangue e a saliva, entretanto ambas as medidas foram realizadas até o 15º minuto após o teste de Wingate e em adultos, o pico na saliva pode ocorrer do 10º ao 20º minuto após o exercício máximo, há possibilidade do pico não ter sido atingido dentro do

tempo avaliado, ampliando assim as diferenças da [Lactato] entre os fluídos. É importante destacar que, apesar da magnitude na diferença entre sangue e saliva ser diferente do adulto, na presente amostra, houve estabilidade do menor (repouso) ao maior valor de lactato (pico).

Tanto na saliva quanto no sangue, a [Lactato] na primeira medida após o teste máximo é aproximadamente o dobro da concentração em repouso. Na saliva, a [Lactato] aumenta gradualmente até o 10º minuto e em seguida declina até o 30º minuto, em contrapartida a [Lactato] no sangue possui aumento máximo no 3º minuto e posteriormente declina de forma gradual.

No sangue, a [Lactato] em repouso foi similar às encontradas na literatura, tanto em crianças e adolescentes (ZAFEIRIDIS; DALAMITROS; DIPLA; MANOU; GALANIS; KELLIS, 2005; BENEKE; HÜTLER; JUNG; LEITHAÜSER, 2005) quanto em adultos (FRANCHINI, *et al.*, 2003; SMITH; YATES; COLE; PARSONS, 2001; TAOUTAOU, *et al.*, 1996; BEN ARYEH, *et al.*, 1989). Na Tabela 4 são apresentados sinteticamente os resultados destes estudos.

Tabela 4: Síntese dos estudos que apresentam as [Lactato] sanguíneo no repouso, em sujeitos do sexo masculino.

Estudo	Amostra (sexo masculino)	[Lactato] em Repouso
Zafeiridis, <i>et al.</i> (2005)	19 meninos (11,4 anos) Estágio 2 de Tanner e 17 adolescentes (14,7 anos) Estágio 4 de Tanner	Antes do exercício máximo: ~ 1,2 mmol/L.
Beneke, <i>et al.</i> (2005)	15 pré-púberes (12 anos) e 12 adolescentes (16,3 anos)	Antes do exercício máximo de curta duração: ~1,1 mmol/L.
Franchini, <i>et al.</i> (2003)	17 atletas de Judô (~ 21 anos)	Antes da luta de Judô: ~ 2,0 mmol/L.
Smith, <i>et al.</i> (2001)	Adultos	Repouso: 1,5 mmol/L.
Taoutaou, <i>et al.</i> (1996)	7 atletas de velocidade (20,4 anos) e 7 atletas de resistência (23,7 anos)	Antes do exercício máximo incremental: 1,2 – 1,4 mmol/L.
Ben Aryeh, <i>et al.</i> (1989)	27 jovens (22 anos)	Antes teste sub-máximo: 1,62 mmol/L.

Na saliva, a [Lactato] em repouso foi similar às encontradas nos estudos de Smith, *et al.* (2001); Segura, *et al.* (1996) e Kelsay, Behall e Clark (1974) com adultos e esportistas amadores, entretanto foi levemente superior aos resultados apresentados por Karatosun, Cetin e Baydar (2005) e Ohkuawa, Yamazaki e Sato (1995), que mostram valores de lactato salivar (em repouso) próximos a 0,2 mmol/L em indivíduos atletas. Neste último, a máxima concentração de lactato sanguíneo e salivar obtido após o teste máximo com adultos foi, 17 mmol/L e 1,58 mmol/L, respectivamente (OHKUAWA; YAMAZAKI; SATO, 1995), valores bastante superiores aos apresentados pelos meninos do presente estudo. Possivelmente, isto decorre das maiores concentrações de lactato atingidas no sangue, por serem adultos e atletas, havendo assim maior difusão do lactato para as glândulas salivares.

A Figura 5 ilustra as alterações das concentrações de Lactato salivar e sanguíneo, no repouso e após o teste anaeróbio máximo.

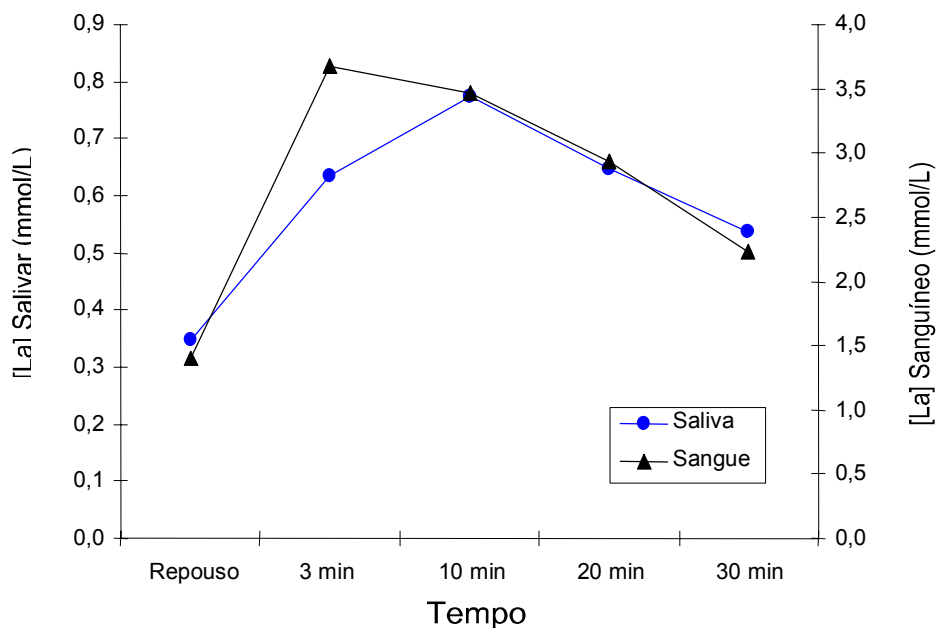


Figura 5: Alterações da [Lactato] salivar e sanguíneo.

A partir da Figura 5 é possível visualizar o atraso no pico do lactato salivar em comparação ao sangue, pois a concentração máxima atingida no sangue ocorreu no 3º minuto após o teste e na saliva no 10º minuto após o teste. Estes resultados

confirmam a segunda hipótese do estudo, a qual cita o provável atraso na resposta do lactato salivar, baseada em estudos prévios com adultos. Yoda, Shimazaki e Ueda (1997) apontam que, em adultos, a elevação máxima na saliva é atingida do 10º ao 20º minuto após o exercício, já Ohkuawa, Yamazaki e Sato (1995) verificaram que em corredores de elite, a ocorrência do pico foi do 10º ao 15º minuto após o exercício máximo.

Apesar do tempo em que ocorre o pico de lactato no sangue e saliva serem diferentes, a recuperação foi similar, ambos diminuíram as concentrações concomitantemente após o 10º minuto. Contudo, pouco se sabe sobre os mecanismos que elevam e reduzem a concentração de lactato na saliva. Especula-se que, em adultos, o lactato sofre difusão passiva do sangue para a glândula salivar, e uma vez elevado no sangue, também ocorre sua ascensão na saliva (SCHABMUELLER, *et al.*, 2005).

Além disso, a composição química, pH, volume e fluxo salivar são alterados pelo sistema autonômico (simpático e parassimpático). Durante o exercício a ativação do sistema simpático pode diminuir o fluxo salivar enquanto durar a estimulação, reduzindo o fluxo sanguíneo na glândula salivar e gerando vasoconstrição simpática adrenérgica, levando à xerostomia (boca seca) (DOUGLAS, 2002; CHICHARRO; PÉREZ; CARVAJAL; BANDRÉS; LUCÍA, 1999). Adicionado a xerostomia, durante o exercício intenso a criança possui o fluxo salivar em repouso bastante inferior ao adulto. Logo abaixo (Tabela 5) são apresentados os valores médios do fluxo (com estimulação mecânica), da quantidade de proteínas e do pH salivar de crianças, adolescentes e adultos do sexo masculino, do estudo de Siqueira Junior (2005).

Tabela 5: Médias do fluxo salivar, proteínas e pH em repouso, de indivíduos do sexo masculino.

Idade	Fluxo salivar (ml/min)	Proteína (mg/ml)	pH
6 - 10 anos	0,93	1,15	7,90
11-15 anos	1,58	1,39	7,67
16-20 anos	2,08	1,02	7,37
21-25 anos	1,80	1,06	7,22

Fonte: Siqueira Junior (2005).

O fluxo salivar sofre alterações ao longo da vida e é um fator que pode influenciar a secreção de substâncias neste fluido. Conforme melhora a coordenação oro-motora com a idade, as glândulas salivares se desenvolvem, o fluxo salivar aumenta e a quantidade total de proteínas e pH diminui (SIQUEIRA JUNIOR, 2005).

O aumento percentual das concentrações de lactato a partir dos valores de repouso foi calculado e apresenta-se na Figura 6.

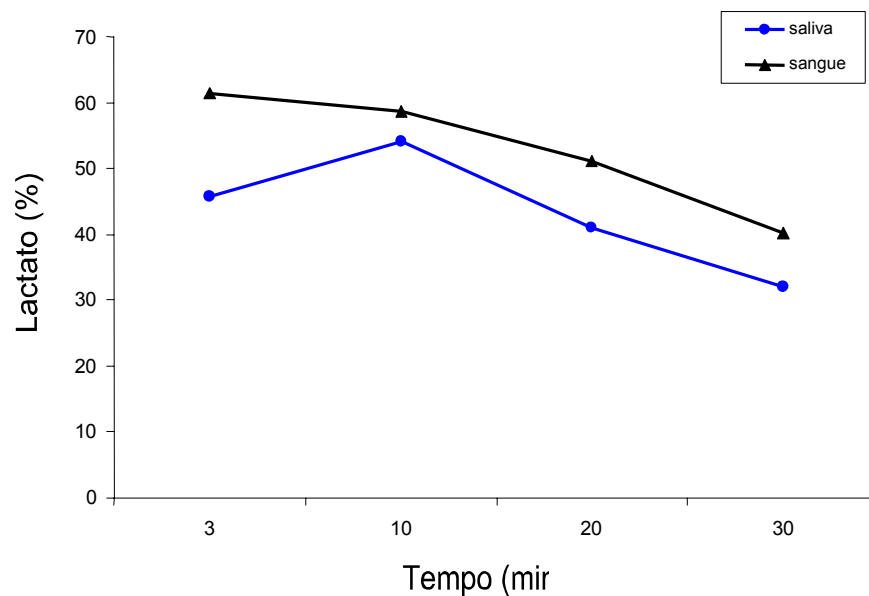


Figura 6: Aumento percentual da [Lactato] após o teste de Wingate, a partir da concentração em repouso.

A magnitude do aumento da [Lactato] salivar e sanguíneo é similar quando apresentado em valores percentuais, diferentemente dos valores absolutos que mostraram grande discrepância. Nota-se que o valor pico no sangue eleva-se cerca de 60% em relação ao repouso e na saliva a elevação é de 54%. Com relação à remoção do lactato, as respostas são similares, ambas reduziram cerca de 22% até o 30º minuto após o teste máximo, estes resultados contradizem a terceira hipótese do estudo, acreditava-se que, como o valor pico na saliva possui retardo, este atraso seria refletido também em toda a recuperação. Uma possível explicação é a retomada na velocidade do fluxo salivar após 20 ou 30 minutos de exercício vigoroso, fazendo com que o lactato seja removido com maior velocidade comparado aos momentos anteriores, nos quais o fluxo salivar estava reduzido pela

secreção de catecolaminas e o fluxo sanguíneo para as glândulas salivares encontrava-se diminuído.

A investigação de Ben-Aryeh, *et al.* (1989) com homens adultos, revela volume salivar de 5,47 mL/10min momentos antes do exercício e um volume de 2,96 mL/10min imediatamente após o teste de Wingate, diminuição bastante significativa ($p < 0,001$) do volume salivar. Além disso, a desidratação e a respiração ofegante e via oral, causada pelo exercício intenso, podem ter contribuído para a alteração no volume deste fluido.

4.3 Correlação entre [Lactato] salivar e sanguíneo

Após a constatação de normalidade dos dados, pela aplicação do teste não paramétrico *Kolmogorov-Smirnov*, a correlação de *Pearson* foi calculada. Considerando a amostra total, o coeficiente de correlação foi $r = 0,74$ ($p < 0,05$), a representação gráfica está contida na Figura 7.

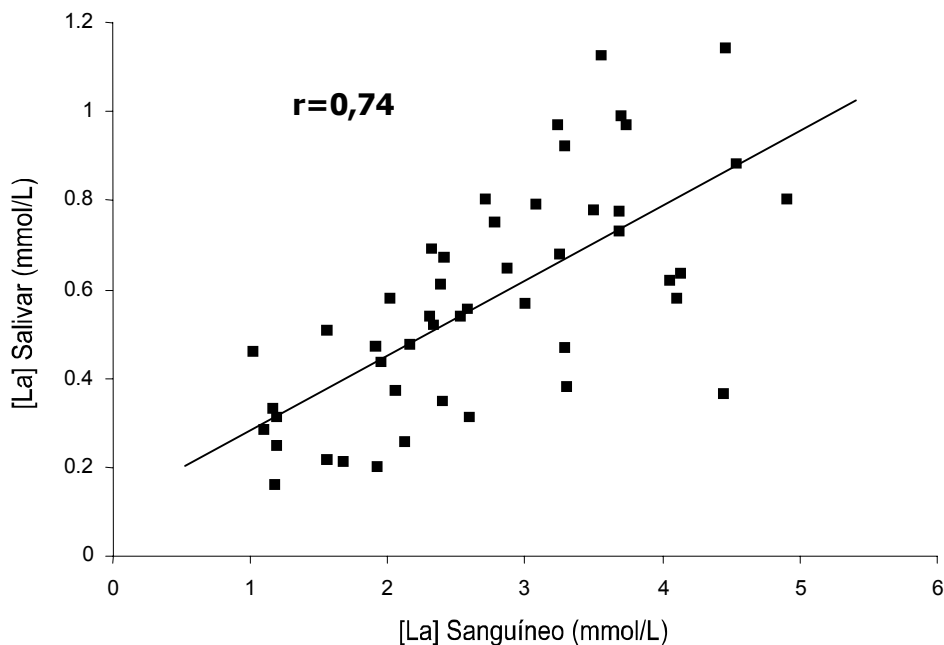


Figura 7: Correlação entre a [Lactato] salivar e sanguíneo.

As Figuras 8 – 17 expõem as respostas da [Lactato] salivar e sanguíneo de cada sujeito da amostra.

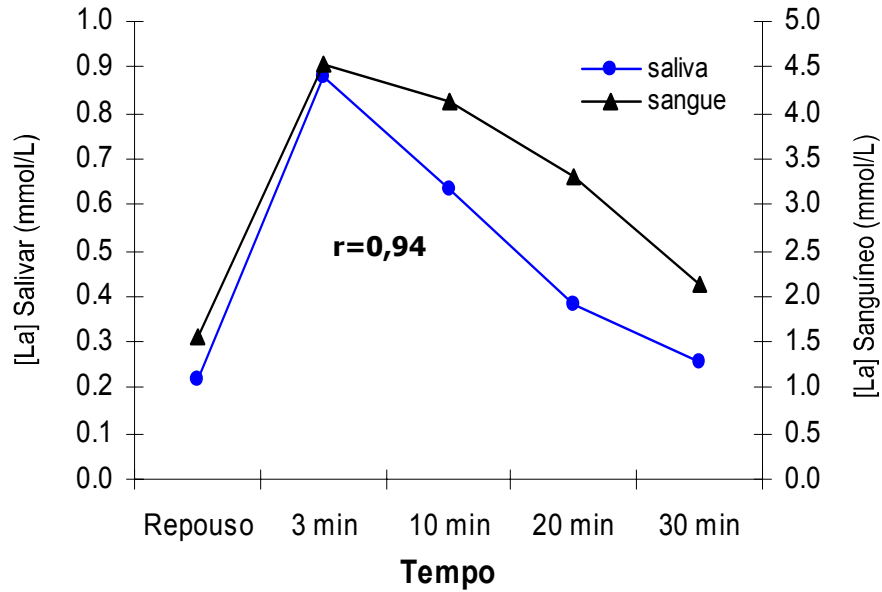


Figura 8: Alterações das [Lactato] salivar e sanguíneo do sujeito 1.

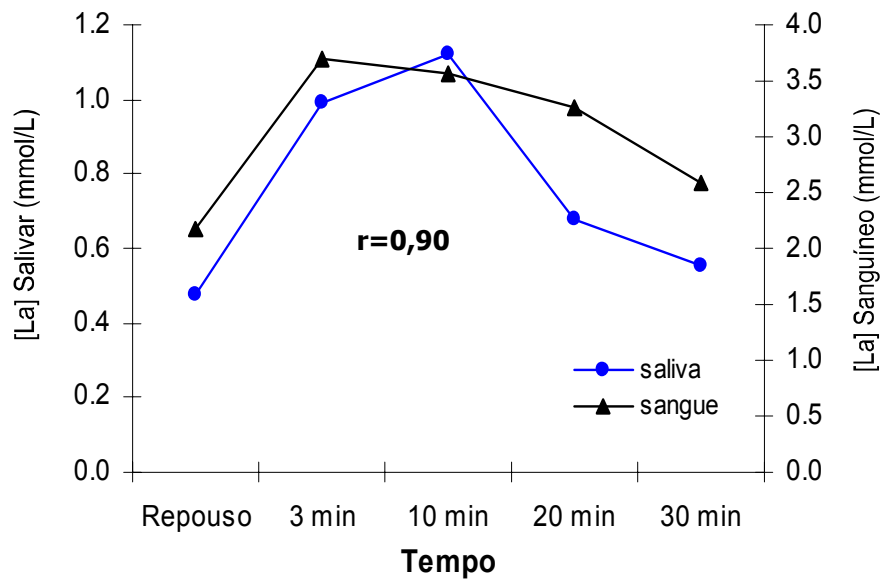


Figura 9: Alterações das [Lactato] salivar e sanguíneo do sujeito 2.

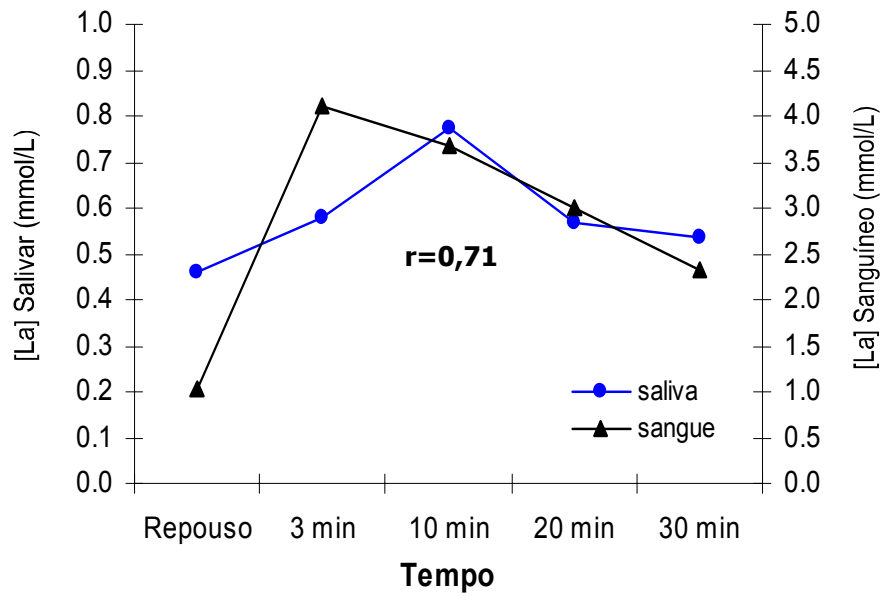


Figura 10: Alterações das [Lactato] salivar e sanguíneo do sujeito 3.

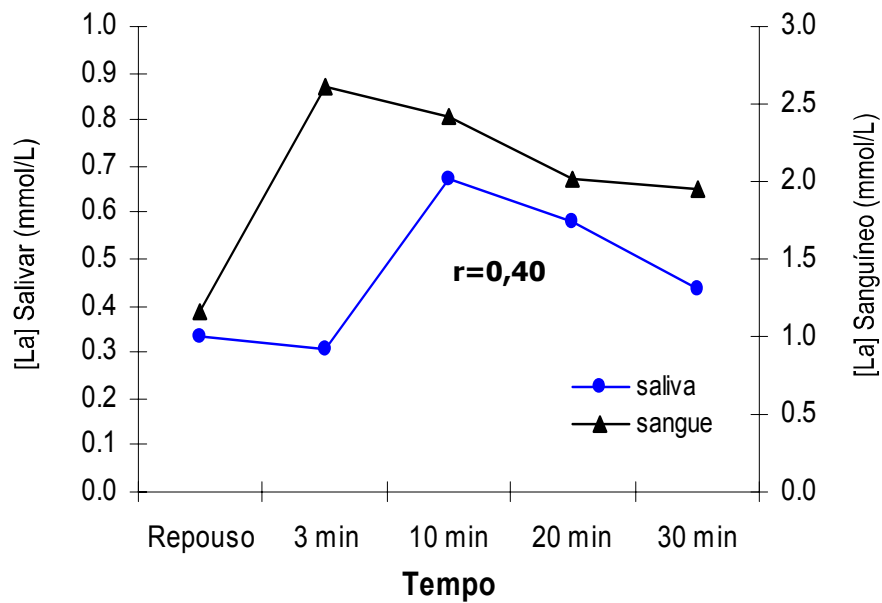


Figura 11: Alterações das [Lactato] salivar e sanguíneo do sujeito 4.

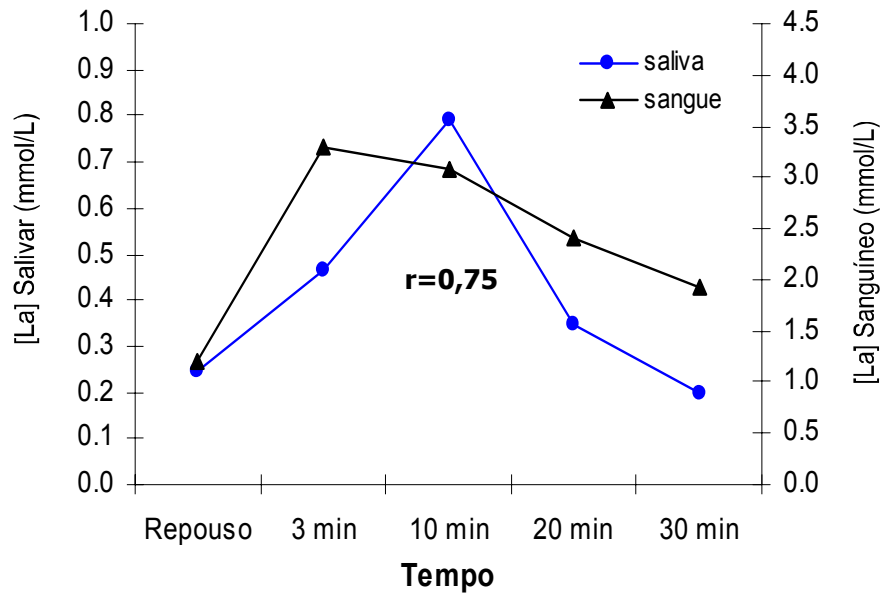


Figura 12: Alterações das [Lactato] salivar e sanguíneo do sujeito 5.

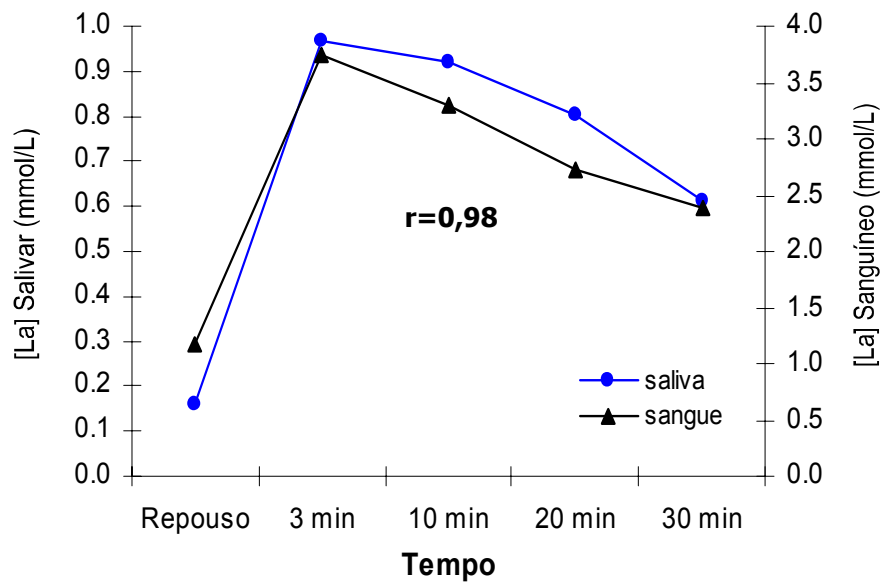


Figura 13: Alterações das [Lactato] salivar e sanguíneo do sujeito 6.

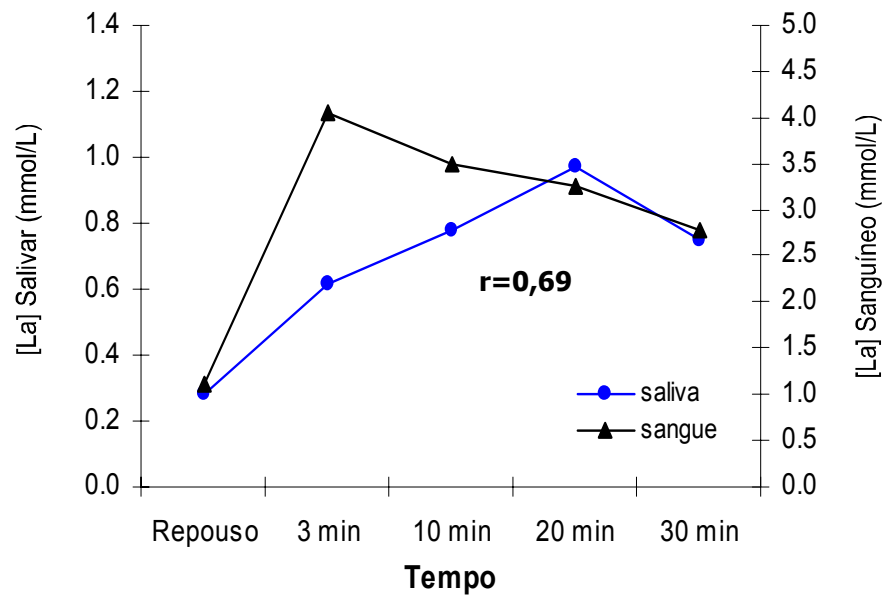


Figura 14: Alterações das [Lactato] salivar e sanguíneo do sujeito 7.

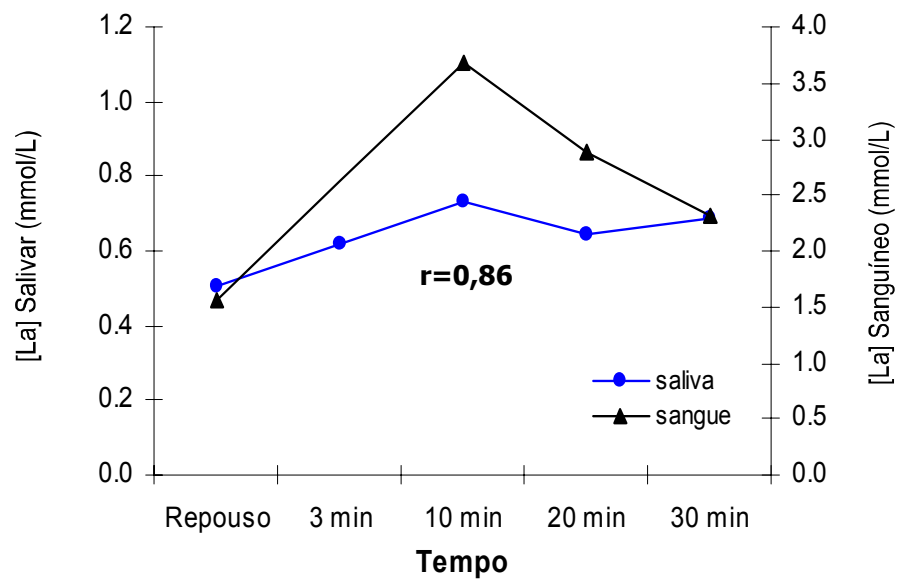


Figura 15: Alterações das [Lactato] salivar e sanguíneo do sujeito 8.

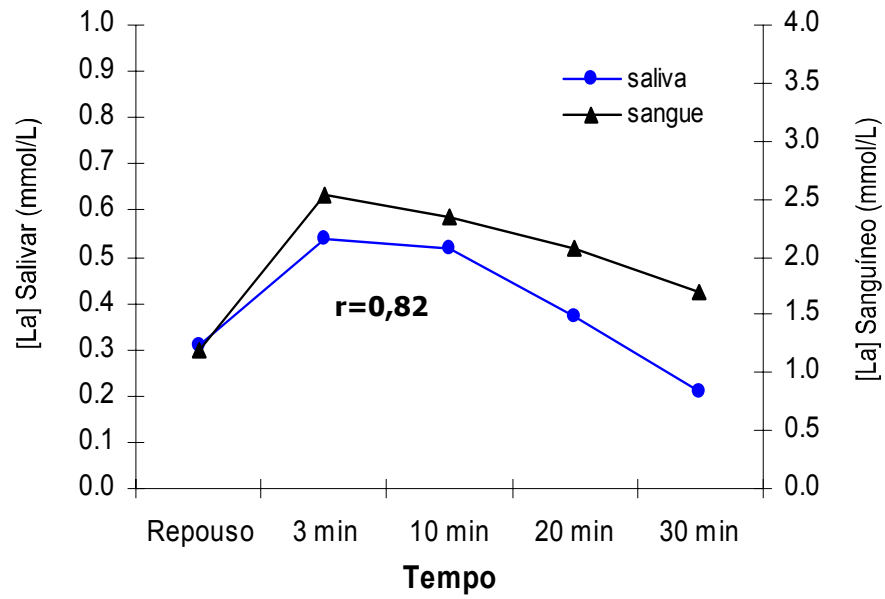


Figura 16: Alterações das [Lactato] salivar e sanguíneo do sujeito 9.

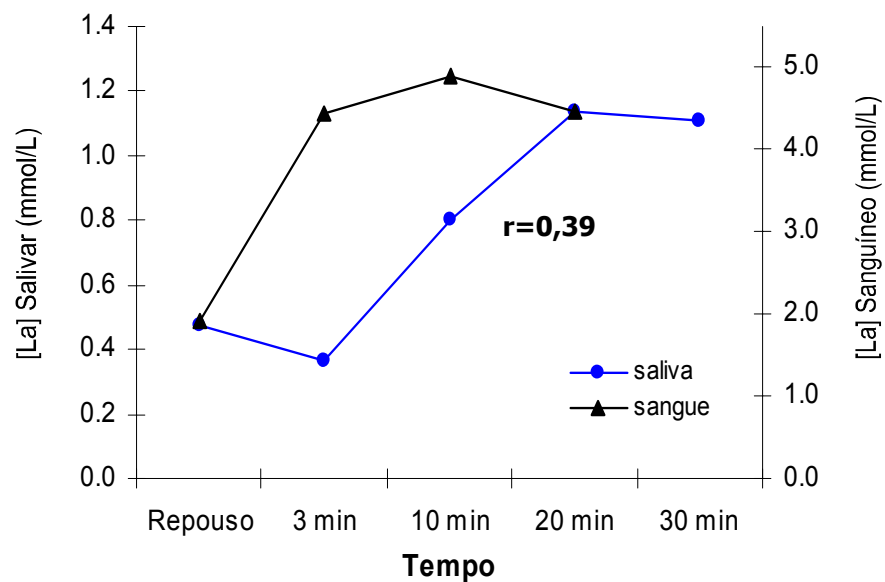


Figura 17: Alterações das [Lactato] salivar e sanguíneo do sujeito 10.

Mesmo considerando a amostra total, a correlação entre a concentração de lactato no sangue e na saliva é alta. Conforme sugerem Pestana e Gageiro, (2000, p. 146) um r de *Pearson* menor que 0,2, é considerada uma associação muito baixa; entre 0,2 e 0,3, baixa; entre 0,4 e 0,69, moderada; entre 0,7 e 0,89, alta e um coeficiente entre 0,9 e 1,0, uma associação muito alta. Isto significa que, apesar da diferença no momento em que ocorre a elevação máxima do lactato, a saliva é um método válido e com boa representatividade das alterações do lactato no sangue, após o exercício máximo em crianças pré-púberes.

Estes resultados confirmam a primeira e principal hipótese do estudo, na qual indica correlação significativa entre os fluídos e também vai de encontro com alguns estudos prévios, que aceitam o lactato salivar como um método alternativo ao sangue (YODA; SHIMAZAKI; UEDA, 1997; OHKUWA; YAMAZAKI; SATO, 1995; SANTOS, *et al.*, 2006; SCHABMUELLER, *et al.*, 2005; SANTOS, *et al.*, 2001; SALDANA, 2005; SEGURA *et al.*, 1996; PÉREZ, *et al.*, 1999), entretanto é importante ressaltar que estes foram realizados com adultos. Ainda, as dificuldades nas comparações com a literatura decorrem da maioria das pesquisas realizadas com esta temática, analisar as respostas do lactato no exercício submáximo com incremento de carga, ou seja, buscam diagnosticar se o limiar de lactato ocorre simultaneamente entre o sangue e a saliva e não a identificação do valor pico e recuperação após o esforço vigoroso de curta duração, importante para o controle de treinamento de muitas modalidades esportivas, e que foi o propósito do presente estudo. No quadro abaixo (Tabela 6) são apresentados diferentes estudos que diagnosticaram as alterações das [Lactato] em diferentes situações de exercício.

Tabela 6: Resumo dos estudos que compararam as respostas da [Lactato] salivar e sanguíneo durante ou após o exercício, em sujeitos do sexo masculino.

Estudo	Amostra	Teste	Resultados
Santos, <i>et al.</i> (2006)	n=15 Maratonistas	Corrida 30 km	r= 0,77 valores absolutos r= 0,71 relativo à proteína
Saldana (2005)	n=9 Adultos	Incremental (cicloergômetro)	Descritivo: respostas similares, visualmente e numericamente.
Karatosun, <i>et al.</i> (2005)	n= 10 Atletas	Wingate	Correlação não significativa
Schabmueller, <i>et al.</i> (2005)	n= 4 Adultos saudáveis	Incremental – máximo	Descritivo: respostas similares
Zagatto <i>et al.</i> (2004)	n=8 Atletas	Incremental (cicloergômetro) e (ergômetro braço)	Correlação não significativa
Santos, <i>et al.</i> (2001)	n=15 Maratonistas	Corrida 25 km	r= 0,77 (durante teste)
Pérez, <i>et al.</i> (1999)	n=12 Atletas	Máximo, carga constante (cicloergômetro)	r= 0,89 expresso por VO ₂ r= 0,92 expresso por W
Yoda, <i>et al.</i> (1997)	n=2 Adultos saudáveis	20 min (cicloergômetro)	Descritivo: respostas similares
Segura <i>et al.</i> (1996)	n= 9 Esportistas amadores	Incremental máx. (cicloergômetro)	r=0,81 (durante teste)
Ohkuwa, <i>et al.</i> (1995)	n=12 Atletas	Corrida de 400m e Corrida de 3000m	r=0,70 (após 400m)

Nota-se que dos 10 estudos apresentados apenas três não encontraram significância na correlação ou similaridades nas respostas do lactato no sangue e na saliva, devido aos distintos protocolos de exercício, métodos de análise ou tempos de coleta. No entanto, mesmo com diferentes amostras (atletas, adultos saudáveis, esportistas amadores) o método salivar mostra-se válido e reproduzível.

Cabe ressaltar que apesar da correlação significativa da [Lactato] entre os fluídos e dos resultados de adultos na literatura serem favoráveis, não pode ser

desconsiderada a diferença de tempo em que ocorreu a elevação pico após o teste anaeróbio, com média de 8 minutos de atraso no aparecimento do pico na saliva, esta situação é confirmada pela literatura, entretanto com adultos ela é maior, cerca de 10 a 15 minutos (KARATOSUM; CETIN; BAYDAR, 2005; YODA; SHIMAZAKI; UEDA, 1997; OHKUWA; YAMAZAKI; SATO, 1995). Esta diferença não invalida o método, todavia deve ser relevada na elaboração do protocolo de análise, discriminando o tempo do pico do lactato entre adultos e crianças.

5 CONCLUSÃO

A partir dos resultados discutidos no presente estudo, conclui-se que o método salivar proposto para análise das alterações da concentração de lactato após o exercício anaeróbio máximo, pode ser uma alternativa não invasiva para o monitoramento do lactato em crianças pré-púberes.

A alteração do lactato na saliva e no sangue estão altamente correlacionadas, no entanto, a concentração de lactato salivar possui algumas características diferentes do sangue e que devem ser consideradas em seu uso:

- Menor valor absoluto, em repouso, e após o esforço vigoroso;
- Retardo médio de 8 minutos no aparecimento da concentração pico em relação ao sangue.

Este estudo possui algumas limitações como: o número reduzido de indivíduos; o tipo de exercício aplicado (curta duração), a falta de controle do fluxo e concentração salivar, e o intervalo de tempo entre as medidas, pois se o mesmo fosse menor, haveria maior exatidão do momento em que ocorre o pico na saliva. Assim, sugere-se que novos estudos sejam realizados com crianças, no intuito de verificar a influência do fluxo e da concentração de substâncias na saliva e se existe correlação da [Lactato] entre os fluídos (sangue e saliva) no limiar anaeróbio, durante o exercício de longa duração.

REFERÊNCIAS

ALMARWAEY, O. A.; JONES, A. M.; TOLFREY, K. Physiological correlates with endurance running performance in trained adolescents. **Medicine and science in sports and exercise**. v. 35, n. 3, p. 480-487, 2003.

ARMSTRONG, N.; WELSMAN, J. R.; CHIA, M. Y. H. Short term power output in relation to growth and maturation. **British journal of sports medicine**. v. 35, p. 118-124, 2001.

BANGSBO, J. Quantification of anaerobic energy production during intense exercise. **Medicine and science in sports and exercise**. v. 30, p. 47-52, Jan. 1998.

BARDON, A.; CEDER, O.; KOLLBERG, H. Cystic fibrosis-like changes in saliva of healthy persons subjected to anaerobic exercise. **Clinica Chimica Acta**. v. 133, n. 3, p. 311-316, 1983. (abstract)

BELL, D. R. **Salivary Secretion**. In: Core concepts in physiology. New York: Lippincott-Raven, 1997.

BEN-ARYEH, H.; ROLL, N.; LAHAV, M.; DLIN, R.; HANNE-PAPARO, N.; SZARGEL, R.; SHEIN-ORR; LAUFER, D. Effect of exercise on salivary composition and cortisol in serum and saliva in man. **Journal dental research**. v. 68, n.11, p. 1495-1497, Nov. 1989.

BENEDETTO, M. S. **Proposta de um método prático para avaliação do poder de neutralização existente na cavidade oral**. Dissertação de mestrado do curso de Pós-graduação em Odontologia, da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, 2002.

BENEKE, R.; HÜTLER, M.; JUNG, M.; LEITHAÜSER, R. M. Modeling the blood lactate kinetics at maximal shortterm exercise conditions in children, adolescents, and adults. **Journal of applied physiology**. 99: 499–504, 2005;

BISHOP, D.; JENKINS, D. G.; MACKINNON, L. The relationship between plasma lactate parameters, W_{peak} and 1-h cycling performance in women. **Medicine and science in sports and exercise**. v. 30, n. 8, p. 1270-1275, 1998. (abstract)

BLOOMFIELD, J.; FRICKER, P. A.; FITCH, K. D. (Ed.) **Science and medicine in sport**. 2. ed. Cambridge: Blackwell, 1995.

BOAS, S. R.; DANDURAN, M. J.; McCOLLEY, S. A. Energy metabolism during anaerobic exercise in children with cystic fibrosis and asthma. **Medicine and science in sports and exercise**. v. 31, n. 9, p. 1242-1249, Sep. 1999.

BONEN, A.; MCCULLAGH, K. J. A.; PUTMAN, C. T.; HULTMAN, E.; JONES, N. L.; HEIGENHAUSER, G. J. F. Short-term training increases human muscle MCT1 and femoral venous lactate in relation to muscle lactate. **The american journal of physiology - endocrinology and metabolism**. v. 274, p.102-107, 1998.

BOSQUET, L.; LÉGER, L.; LEGROS, P. Methods to Determine Aerobic Endurance. **Sports medicine**. v. 32, n. 11, p. 675-700, 2002.

CADEFAU, J.; CASADEMONT, J.; GRAU, J. M.; FERNANDEZ, J.; BALAGUER, A.; VERNET, M.; CUSSO, R.; URBANO-MARQUEZ, A. Biochemical and histochemical adaptation to sprint training in young athletes. **Acta physiologica scandinavica**. v. 140, n. 3, p. 341-351, 1990.

CAMARGO, A. C. K.; PUPO, D.; BUSSOLOTI FILHO, I. Sialometria. **Acta ORL/Técnicas em Otorrinolaringologia**. v. 23, n. 3, p. 14-18, 2005.

CAMPOS, W.; BRUM, V. P. C. **Criança no Esporte**. Curitiba, 2004.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A. **Bioquímica Ilustrada**. Porto Alegre: Artes Médicas, 1996.

CHICHARRO, J. L. Saliva Composition and Exercise – Review. **Sports Medicine**. v. 26, n. 1, p.17-27, 1998.

CHICHARRO, J. L.; LEGIDO, J.C.; ALVAREZ, J.; SERRATOSA, L.; BANDRES, F.; GAMELLA, C. Saliva electrolytes as a useful tool for anaerobic threshold determination. **European journal of applied physiology**. v. 68, p. 214-218, 1994.

CHICHARRO, J. L.; PÉREZ, M.; CARVAJAL, A.; BANDRÉS, F.; LUCÍA, A. The salivary amylase, lactate and electromyographic response to exercise. **Japanese Journal of Physiology**. v.49, p. 551-554, 1999.

COGGAN, A. R.; WILLIAMS, B. D. Metabolic adaptations to endurance training: substrate metabolism during exercise. In: **Exercise Metabolism**. HARGREAVES, M. (Ed.) Human Kinetics, 1995.

COLÉGIO AMERICANO DE MEDICINA DESPORTIVA. **Manual para teste de esforço e prescrição de exercício**. 4. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 1996.

COUNIL, F.; VARRY, A.; KARILA, C.; HAYOT, M.; VOISIN, M.; PREFAUT, C. Wingate test performance in children with asthma: aerobic or anaerobic limitation? **Medicine and science in sports and exercise**. v. 29, n. 4, p. 430-435, Apr. 1997.

DAVISON, R. C. R.; COLEMAN, D.; BALMER, J.; NUNN, M.; THEAKSTON, S.; URROWS, M.; BIRD, S. Assessment of blood lactate: practical evaluation of the Biosen 5030 lactate analyzer. **Medicine and science in sports and exercise**. v. 32, n. 1, p. 243– 247, 2000.

DE STE CROIX, M. B. A.; ARMSTRONG, N.; CHIA, M. Y. H.; WELSMAN, J. R.; PARSONS, G.; SHARPE, P. Changes in short-term power output in 10-to12-year olds. **Journal of sports sciences**. v. 19, p. 141-148, 2001.

DOCHERTY, D. (Ed.). **Measurement in pediatric exercise science**. Champaign: Human Kinetics, 1996.

DORÉ, E.; BEDU, M.; FRANÇA, N. M.; DIALLO, O.; DUCHÉ, P.; VAN PHAAGH, E. Testing peak cycling performance: effects of braking force during growth. **Medicine and science in sports and exercise**. v. 32, n. 2, p. 493-498, 2000.

DOTAN, R.; FALK, B.; RAZ, A. Intensity effect of active recovery from glycolytic exercise on decreasing blood lactate concentration in prepubertal children. **Medicine and science in sports and exercise**. v. 32, n. 3, p. 564-570, 2000.

DOUGLAS, C. R. **Fisiologia da Secreção Salivar – Tratado de Fisiologia Aplicado à Nutrição**. TECMEDD, 2002.

ENGLE, P. C.; JONES, J. B. Causes and elimination of erratic blanks in enzymatic metabolite assays involving the use of NAD in alkaline hydrazine buffers, improved conditions for the assay of L-glutamate, L-lactate and other metabolites. **Analytical Biochemistry**. v. 88, p. 475–484, 1978.

ERIKSSON, B. O. Muscle metabolism in children – a review. **Acta paediatrica scandinavica**. v. 283 (supplement), p. 20-27, 1980.

ERIKSSON, B. O.; KARLSSON, J.; SALTIN, B. Muscle metabolites during exercise in pubertal boys. **Acta paediatrica scandinavica**. v. 217 (supplement), p. 154-157, 1971.

FAWKNER, S. G.; ARMSTRONG, N. Longitudinal changes in the kinetic response to heavy-intensity exercise in children. **Journal of applied physiology**. v. 97, p.460–466, 2004.

FRANCHINI, E.; TAKITO, M. Y.; NAKAMURA, F. Y.; MATSUSHIGUE, K. A.; M.; KISS, M. A. P. D. Effects of recovery type after a judô combat on blood lactate removal and on performance in an intermittent anaerobic task. **Journal of sports medicine and physical fitness**. v. 43, n. 4, p. 424-431, 2003.

GALLAHUE, D. L.; OZMUN, J. C. **Compreendendo o desenvolvimento motor: bebês, crianças, adolescentes e adultos**. São Paulo: Phorte, 2001.

GLADDEN, L. B. Muscle as a consumer of lactate. **Medicine and science in sports and exercise**. v. 32, n. 4, p. 764–771, 2000.

GLADDEN, L. B. Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. **The Journal of Physiology**. v. 558, n. 1, p.5-30, 2004.

GLEESON, M.; PYNE, V. Exercise effects on mucosal immunity. **Immunology and Cell Biology**. v. 78, p. 536–544, 2000.

GONÇALVES, H. R. Aspectos antropométricos e motores em escolares de 7 a 14 anos de alto nível sócio econômico. **Revista da Associação dos Professores de Educação Física de Londrina**. v. 10, n. 17, p. 71-80, 1995.

GREEN, H. J. Metabolic determinants of activity induced muscular fatigue. In: **Exercise Metabolism**. HARGREAVES, M. (Ed.), Human Kinetics, 1995.

HARNISH, C. R.; SWENSEN, T. C.; PATE, R. R. Methods for estimating the maximal lactate steady state in trained cyclists. **Medicine and science in sports and exercise**. v. 33, n. 6, p. 1052–1055, 2001.

INBAR, O.; BAR-OR, O. Anaerobic characteristics in male children and adolescents. **Medicine and science in sports and exercise**. v.18, n.3, p. 264-269, 1986.

INBAR, O; BAR-OR, O; SKINNER, J. S. **The Wingate Test**. Champaign: Human Kinetics, 1996.

JUDELSON, D. A.; RUNDELL, K. W.; BECK, K. C.; KING, T. M.; LACLAIR, K. L. Effect of high-intensity submaximal work, with or without rest, on subsequent VO_2 max. **Medicine and science in sports and exercise**. v. 36, n. 2, p. 292-296, 2004.

KARATOSUN, H.; CETIN, C.; BAYDAR, M. L. Blood and saliva lactate levels during recovery from supramaximal exercise. **Saudi Medical Journal**. v. 26, n. 11, p. 1831-1833, 2005.

KELSAY, J. L.; BEHALL, K. M.; CLARK, W. M. Glucose, fructose, lactate and pyruvate in blood and lactate and pyruvate in parotid saliva in response to sugars with and without other food. **The American journal of clinical nutrition**. v. 27, p. 819-825, 1974.

KLIJN, P.; OUDSHOORN, A.; VAN DER ENT, K.; VAN DER NET, J.; KIMPEN, J.; HELDERS, P. Effects of anaerobic training in children with cystic fibrosis: a randomized controlled study. **Chest**. v. 125, p. 1299-1305, 2004.

LAWRENCE, H. Salivary Markers of Systemic Disease: Noninvasive Diagnosis of Disease and Monitoring of General Health. **Journal of Canadian Dental Association**. v. 68, n. 3, p. 170-174, 2002.

MALINA, R. M.; BOUCHARD, C. **Atividade física do atleta jovem: do crescimento à maturação**. São Paulo: Roca, 2002.

MARINS, J. C. B.; GIANNICHI, R. S. **Avaliação e Prescrição de Atividade Física: guia prático**. 3 ed. Rio de Janeiro: Shape, 2003.

MARTÍN, J. C.; MALINA, R. M. Development variations on anaerobic performance associated with age and sex. In: VAN PRAAGH, E. **Pediatric anaerobic performance**. Champaign: Human Kinetics, 1998.

MARTIN, R. J. F.; DORE, E.; TWISK, J.; VAN PRAAGH, E.; HAUTIER, C. A.; BEDU, M. Longitudinal Changes of Maximal Short-Term Peak Power in Girls and Boys during Growth. **Medicine and science in sports and exercise**. v. 36, n. 3, p. 498-503, 2004.

MAUGHAN, R.; LEIPER, J.; GREAVES, M. **Haematology**. In: Kinanthropometry and exercise physiology laboratory manual - Exercise Physiology. ESTON, R.; REILLY T. (Ed) 2ª ed. New York: Routledge, 2001.

McARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. **Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano**. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

McDOWELL, M. A.; FRYAR, C. D.; HIRSCH, R.; OGDEN, C. L. Anthropometric reference data for children and adults: U.S. population, 1999–2002. Advance data from vital and health statistics, n. 361. Hyattsville, MD: National Center for Health Statistics, 2005.

MEDBØ, J. I.; TABATA, I. Anaerobic energy release in working muscle during 30 s to 3 min of exhausting bicycling. **Journal of applied physiology**, v. 75, p. 1654-1660, 1993. (abstract)

MENDES, O. C.; BERTOLDI, V.; FINHOLDT, M.; AKASHI, A. P.; BENEVIDES, V. M.; BALDISSERA, V. Determinação do limiar anaeróbio através do lactato, sódio e potássio na saliva em teste cicloergométrico. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**. v. 10 (Suplemento), p. 96, 2002.

OHKUAWA, T.; YAMAZAKI, Y.; SATO, Y. Salivary and blood lactate after supramaximal exercise in sprinters and long-distance runners. **Scandinavian journal of medicine & science in sports**. v. 5, p. 285-290, 1995

PÉREZ, M.; LUCÍA, A.; CARVAJAL, A.; PARDO, J.; CHICARRO, J. L. Determination of the maximum steady state of lactate (MLSS) in saliva: an alternative to blood lactate determination. **Japanese journal of physiology**. v. 49, p. 395-400, 1999.

PESTANA, M. H.; GAGEIRO, J. N. Análise de dados para ciências sociais. 2ª Ed. Lisboa, 2000.

PILEGAARD, H.; DOMINO, K.; NOLAND, T.; JUEL, C.; HELLSTEN, Y.; HALESTRAP, A. P.; BANGSBO, J. Effect of high-intensity exercise training on lactate/H⁺ transport capacity in human skeletal muscle. **American journal physiology (Endocrinol. Metab.** 39), v. 276, p. 255– 261, 1999.

PRIEUR, F.; BENOIT, H.; BUSSO, T.; CASTELLS, J.; DENIS, C. Effect of endurance training on the Vo₂-work rate relationship in normoxia and hypoxia. **Medicine and science in sports and exercise**. v. 37, n. 4, p. 664 – 669, 2005.

PYNE, D. B.; BOSTON, T.; MARTIN, D. T.; LOGAN, A. Evaluation of the Lactate Pro blood lactate analyzer. **European journal of applied physiology**. v. 82, p. 112-116, 2000.

RATEL, S.; DUCHE, P.; HENNEGRAVE, A.; VAN PRAAGH, E.; BEDU, M. Acid-base during repeated cycling sprints in boys and men. **Journal of applied physiology**. v. 92, p. 479-485, 2002.

ROBERGS, R. A.; GHIASVAND, F.; PARKER, D. Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. **American journal of physiology regulatory, integrative and comparative physiology**. v. 287, p. 502–516, 2004

ROTSTEIN, A.; DOTAN, R.; BAR-OR, O.; TENENBAUM, G. Effect of training on anaerobic threshold, maximal aerobic power and anaerobic performance of preadolescent boys. **International journal of sport medicine**. v.07, n.5, p. 281-286, 1986.

ROWLAND, T. W. **Exercise and children's health**. Champaign: Human Kinetics, 1990.

SALDANA, N. E. Determination Of Blood Lactate Turn Points By Saliva Lactate And Saliva Alpha-amylase During Incremental Cycle Ergometry. **Medicine and science in sports and exercise**. v. 37 (supplement), n. 5, p.S26, 2005.

SANTOS, R. V. T.; UCHIDA, M. C.; CAPERUTO, E. C.; MARTINS, J. R. Salivary lactate levels in endurance athletes after 25 km running. **Medicine and science in sports and exercise**. v. 33 (supplement), n. 5, p. S30, 2001.

SANTOS, R. V. T.; ALMEIDA, A. L. R.; CAPERUTO, E. C.; MARTINS, J. R.; COSTA ROSA, L. F. B. P. Effects of a 30-km race upon salivary lactate correlation with blood lactate. **Comparative biochemistry and physiology part B: biochemistry and molecular biology**. v. 145, n. 1, p. 114-117, Sep. 2006.

SARGEANT, A. The determinants of anaerobic muscle function during growth. In: VAN PRAAGH, E. **Pediatric anaerobic performance**. Champaign: Human Kinetics, 1998.

SCHABMUELLER, C. G. J.; LOPPOW, D.; PIECHOTTA, G.; SCHÜTZE, B.; ALBERS, J.; HINTSCHE, R. Micromachined sensor for lactate monitoring in saliva. **Biosensors and Bioelectronics**, 2005.

SEGURA, R.; JAVIERRE, C.; VENTURA, J. L. L.; LIZARRAGA, M. A.; CAMPOS, B.; GARRIDO, E. A new approach to the assessment of anaerobic metabolism: measurement of lactate in saliva. **British journal of sports medicine**. v. 30, p. 305-309, 1996.

SIMONEAU, J. A.; BOUCHARD, C. The effects of genetic variation on anaerobic performance. In: VAN PRAAGH, E. **Pediatric anaerobic performance**. Champaign: Human Kinetics, 1998.

SIQUEIRA JUNIOR, W. L. **Estudo de alguns parâmetros salivares em indivíduos com Síndrome de Down**. Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, 2005.

SMITH, H.; YATES, E. A.; COLE, J. A.; PARSONS, N. J. Lactate stimulation of gonococcal metabolism in media containing glucose: mechanism, impact on pathogenicity, and wider implications for other pathogens. **Infection and immunity**. v. 69, n. 11, p. 6565–6572, Nov. 2001.

SOCIEDAD ARGENTINA DE PEDIATRÍA. Guías para la evaluación del crecimiento 2ª edição. Argentina: Buenos Aires, 2001.

SOUZA, H. A. C.; SANTOS, R. V. T.; MILENA, P. M.; SOUZA, E. J. C.; FERNANDO, L. Utilização das concentrações de lactato sangüíneo, lactato salivar e glicemia para determinar o limiar anaeróbico individual. **Revista brasileira de ciência e movimento**. v. 10, n.97, 2002.

SPADARO, A. C. C.; CALDEIRA, T. H.; ROCHA, C. B.; POLIZELLO, A. C. M.; MESTRINER JUNIOR, W. Método para avaliação clínica da capacidade tamponante salivar. **Revista de odontologia da Universidade de São Paulo**, v. 12, n. 3, p. 247-251, 1998.

SPRIET, L. Anaerobic metabolism during high-intensity exercise. In: HARGREAVES, M. (Ed). **Exercise metabolism**. Champaign: Human Kinetics, 1995.

STRECKFUS, C. F.; BIGLER, L. R. Saliva as a diagnostic fluid. **Oral diseases**. v. 8, p. 69 – 76, 2002.

TAOUTAOU, Z.; GRANIER, P.; MERCIER, B.; MERCIER, J.; AHMAIDI, S.; PREFAUT, C. Lactate kinetics during passive and partially active recovery in endurance and sprint athletes. **European journal of applied physiology**. v. 73, p. 465-470, 1996.

THOMAS, J. R.; NELSON, J. K. **Métodos de pesquisa em atividade física**. Porto Alegre: Artmed, 2002.

THOMAS, C.; PERREY, S.; LAMBERT, K.; HUGON, G.; MORNET, D.; MERCIER, J. Monocarboxylate transporters, blood lactate removal after supramaximal exercise, and fatigue indexes in humans. **Journal of applied physiology**. v. 98, p. 804–809, 2005.

VAN PRAAGH, E. **Pediatric anaerobic performance**. Champaign: Human Kinetics, 1998.

VANDER, A. J.; SHERMAN, J. H.; LUCIANO, D. S. **Fisiologia Humana: os mecanismos da função de órgãos e sistemas**. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1981.

VILLELA, G. G.; BACILA, M.; TASTALDI, H. **Técnicas e experimentos de bioquímica**. Guanabara Koogan, 1973.

VIRU, A.; VIRU, M. **Biochemical monitoring of sport training**. Champaign: Human Kinetics, 2001.

WEINECK, J. **Biologia do esporte**. São Paulo: Manole, 2002.

WELSMAN, J. R.; ARMSTRONG, N. Assessing postexercise lactates in children and adolescents. In: VAN PRAAGH, E. **Pediatric anaerobic performance**. Champaign: Human Kinetics, 1998.

WELSMAN, J.R.; ARMSTRONG, N.; KIRBY, B. J.; WINSLEY, R. J.; PARSONS, G.; SHARPE, P. Exercise performance and magnetic resonance imaging-determined thigh muscle volume in children. **European journal of applied physiology**. v. 76, p. 92-97, 1997.

WELTMAN, A. **The blood lactate response to exercise**. Champaign: Human Kinetics, 1995.

WESTERBLAD, H.; ALLEN, D. G.; LANNERGREN, J. Muscle fatigue: lactic acid or inorganic phosphate the major cause? **News physiology science**. n. 17, p. 17–21, 2002.

WIESE, J.; DIDWANIA, A.; KERZNER, R.; CHERNOW, B. Use of different anticoagulants in test tubes for analysis of blood lactate concentrations: Part 2. Implications for the proper handling of blood specimens obtained from critically ill patients. **Critical Care Medicine**. v. 25, n.11, p. 1847-1850, 1997.

WILMORE, J. H.; COSTILL, D. L. **Fisiologia do Esporte e Exercício**. São Paulo: Manole, 2001.

YODA, K.; SHIMAZAKI, K.; UEDA, Y. Analysis of Glycolysis Relevant Compounds in Saliva by Microbiosensors. **Fourteenth International Enzyme Engineering Conference**. Beijing, China, 1997.

ZAFEIRIDIS, Z.; DALAMITROS, A.; DIPLA, K.; MANOU, V.; GALANIS, N.; KELLIS, S. Recovery during High-Intensity Intermittent Anaerobic Exercise in Boys, Teens, and Men. **Medicine and science in sports and exercise**. v. 37, n. 3, p. 505–512, 2005.

ZAGATTO, A. M.; PAPOTI, M.; CAPUTO, F.; MENDES, O. C.; DENADAI, B. S.; BALDISSERA, V.; GOBATTO, C. A. Comparação entre a utilização de saliva e sangue para determinação do lactato mínimo em cicloergômetro e ergômetro de braço em mesa tenistas. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**. v. 10, n. 6, p. 475-480, 2004.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido

- a) Faz-se o convite para que seu filho participe do projeto de pesquisa intitulado: **"Validação da concentração do lactato salivar para monitorar as respostas fisiológicas no exercício máximo em crianças pré-púberes"**. Sua participação é de fundamental importância para que este estudo se realize.
- b) Esse projeto tem o objetivo de validar um método fácil para o diagnóstico do lactato na saliva. Isto pode ajudar a entender mais sobre a criança e o funcionamento de seu corpo durante o exercício, monitorando e prescrevendo exercícios com maior segurança.
- c) Permitindo que seu filho participe do projeto, mediremos seu peso, altura e calcularemos o IMC, que fornece informações se ele está dentro do peso ideal, considerando parâmetros de saúde. Além disso, ele fará uma auto-avaliação para sabermos seu desenvolvimento maturacional, nesta avaliação seu filho analisará 5 figuras (em anexo), com os desenhos dos pêlos pubianos e anotará o número do desenho no qual ele se encontra.
- d) Seu filho fará um teste de alta intensidade na bicicleta. Este tem duração de 30 segundos em máxima velocidade, com uma carga relativa ao peso corporal do seu filho.
- e) Durante o teste na bicicleta, será necessário coletar sangue. O procedimento é similar ao exame sangue, é colocada uma agulha na veia superficial do antebraço, retirando 2 mL de sangue em cada coleta, serão 5 coletas no total. A primeira retirada de sangue será em repouso, antes do início do teste e as outras quatro serão coletadas após o término do teste, com intervalo de 10 minutos para cada coleta.
- f) As avaliações não trarão riscos a criança. Mas pode ocorrer desconforto durante a coleta de sangue pela picada da agulha e há chance de um eventual hematoma ou marca da agulha no braço. Após o teste na bicicleta talvez o seu filho sinta dores musculares devido ao exercício, principalmente nas pernas.
- g) Contudo, os benefícios esperados são; verificar a eficiência de uma técnica fácil e que não necessita retirar sangue, usando apenas a saliva para avaliar o lactato, que é um parâmetro para saber como está o nível de aptidão física do seu filho e se há melhoras com o treinamento. Pois, ainda pouco se sabe sobre as alterações fisiológicas que ocorre nas crianças, com o exercício físico.
- h) Os pesquisadores Wagner de Campos e Luiz Cláudio Fernandes e a mestrande Hinaiana S. Machado são responsáveis por acompanhar todos os testes e esclarecer as dúvidas sobre os procedimentos a qualquer momento, pelos telefones: 8402-1611, 3361-1784 ou no Centro de Pesquisa em Exercício e Esporte no Depto. de Educação Física da UFPR, Rua Coração de Maria, 92 - BR 116, Km 99, Jardim Botânico, Curitiba-Pr. Durante os testes também haverá a supervisão da médica pediatra Dra. Neiva Leite.
- i) Estão garantidas todas as informações que você queira, antes, durante e depois do estudo.
- j) A participação do seu filho no estudo é voluntária e não será remunerada, ou seja, você ou seu filho não receberão nenhum valor em dinheiro.
- k) Você tem a liberdade para recusar ou aceitar participar do estudo, podendo retirar o seu consentimento a qualquer momento, sem prejuízos ou pagamento de ônus.

- l) Mesmo que você (responsável) aprove a participação de seu filho, ele tem total liberdade para se recusar a participar do estudo, ou desistir a qualquer momento.
- m) Os dados da pesquisa serão publicados em revistas científicas. Entretanto, não será divulgado o nome do seu filho, os dados serão em forma de códigos para que a confidencialidade seja mantida.
- n) Todas as despesas necessárias para a realização da pesquisa não são da responsabilidade dos pais ou dos filhos participantes.
- o) Durante o estudo, seu filho não deverá ingerir medicamentos sem informar antecipadamente a responsável pelo estudo.

Eu, _____ li o texto acima e compreendi a natureza e objetivo do estudo no qual meu filho _____ foi convidado a participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios do estudo. Eu entendi que sou livre para interromper a sua participação no estudo a qualquer momento sem justificar minha decisão. Eu entendi o que não posso fazer durante o estudo e sei que qualquer problema decorrente dos testes será tratado sem custos para mim ou para o meu filho.

Eu concordo voluntariamente que meu filho participe deste estudo.

Assinatura do responsável legal

Data ____/____/____

Assinatura do filho (a) participante

Data ____/____/____

Hinaiana S. Machado

Data ____/____/____

APÊNDICE B – Carta convite à instituição

Curitiba, 10 de Julho de 2006.

Ao Clube

Direção/Coordenação

Venho através desta, solicitar a permissão desta instituição, para o desenvolvimento do projeto de pesquisa: “Validação da concentração do lactato salivar para monitorar as respostas fisiológicas no exercício máximo em crianças pré-púberes”. O projeto será realizado pelo Departamento de Educação Física do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná e tem como objetivo validar um método não invasivo para diagnosticar o lactato na saliva. O projeto será desenvolvido com crianças de 8 a 10 anos praticantes de atividades esportivas e/ou recreativas do presente clube. Terá como responsável a mestranda Hinaiana dos Santos Machado e os professores Doutores Wagner de Campos e Luiz Cláudio Fernandes.

Faz-se ressaltar que este projeto não colocará a criança em situação de risco ou de constrangimento, a participação será voluntária, sem a cobrança de qualquer taxa e com a obrigatoriedade do consentimento dos pais ou responsáveis legais para a participação na pesquisa.

Todos os procedimentos podem ser previamente esclarecidos a qualquer interessado. Telefones (41) 3262-7574 ou 8402-1611 - Hinaiana.

Agradeço a colaboração

APÊNDICE C – Declaração de destino dos materiais biológicos e descartáveis utilizados no projeto

Curitiba, 01 de Agosto de 2005.

Ao Comitê Setorial de Ética em Pesquisa, do Setor de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná.

DECLARAÇÃO

Declaro, a quem possa interessar, que após a análise o material coletado no projeto de pesquisa: “Validação da concentração do lactato salivar para monitorar as respostas fisiológicas no exercício máximo em crianças pré-púberes”, será processado e descartado em lixo hospitalar.

Os dados referentes ao presente estudo ficarão em posse do Laboratório de Metabolismo Celular, Departamento de Fisiologia do Setor de Ciências Biológicas da UFPR, serão avaliados, processados estatisticamente e transformados em manuscrito para publicação em revista Qualis A.

Atenciosamente,

Wagner de Campos, PhD
Pesquisador responsável

APÊNDICE D

Duração temporal da pesquisa

Após a aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa, iniciou-se a coleta de dados no segundo semestre de 2006, com duração média de dois meses para esta etapa. A análise dos resultados e escrituração do projeto foi processada em seguida, com a conclusão prevista para março de 2007.

Local da pesquisa e infra-estrutura disponível

A realização dos testes ocorreu no Laboratório de Exercício e Esporte do Departamento de Educação Física da Universidade Federal do Paraná, situado à Rua Coração de Maria, 92 no Jardim Botânico, Curitiba-Pr. As análises bioquímicas se processaram no Laboratório de Metabolismo Celular, do departamento de Fisiologia do Setor de Ciências Biológicas da UFPR, por dois mestrandos em Educação Física deste mesmo Setor, sob supervisão do professor Dr. Luiz Cláudio Fernandes.

Orçamento financeiro e a fonte dos materiais utilizados

O cicloergômetro para o teste máximo, a balança e a fita métrica estão disponíveis no Departamento de Educação Física da UFPR e não implicaram custos para sua utilização. Nas análises laboratoriais houve necessidade de aquisição de alguns reagentes e materiais de consumo que foram custeados pelo próprio executante do projeto. Os produtos químicos foram adquiridos na empresa SIGMA-ALDRICH, situada na rua Spruce St., 3050 em St. Louis, EUA. A enfermeira que realizou a coleta de sangue foi paga pelo Programa de Mestrado em Exercício e Esporte – UFPR.

Orçamento dos custos da pesquisa:

Procedimento	Custo unitário (por indivíduo)	Custo total
Análises bioquímicas (lactato)	R\$ 40,00	R\$ 400,00
Material de consumo (seringas, tubos Vacutainer, etc.)	R\$ 15,00	R\$ 150,00
Salivette®	R\$ 5,00	R\$ 50,00
Enfermeira	-	R\$ 300,00
TOTAL	-	R\$ 900,00

Propriedade das informações e confidencialidade

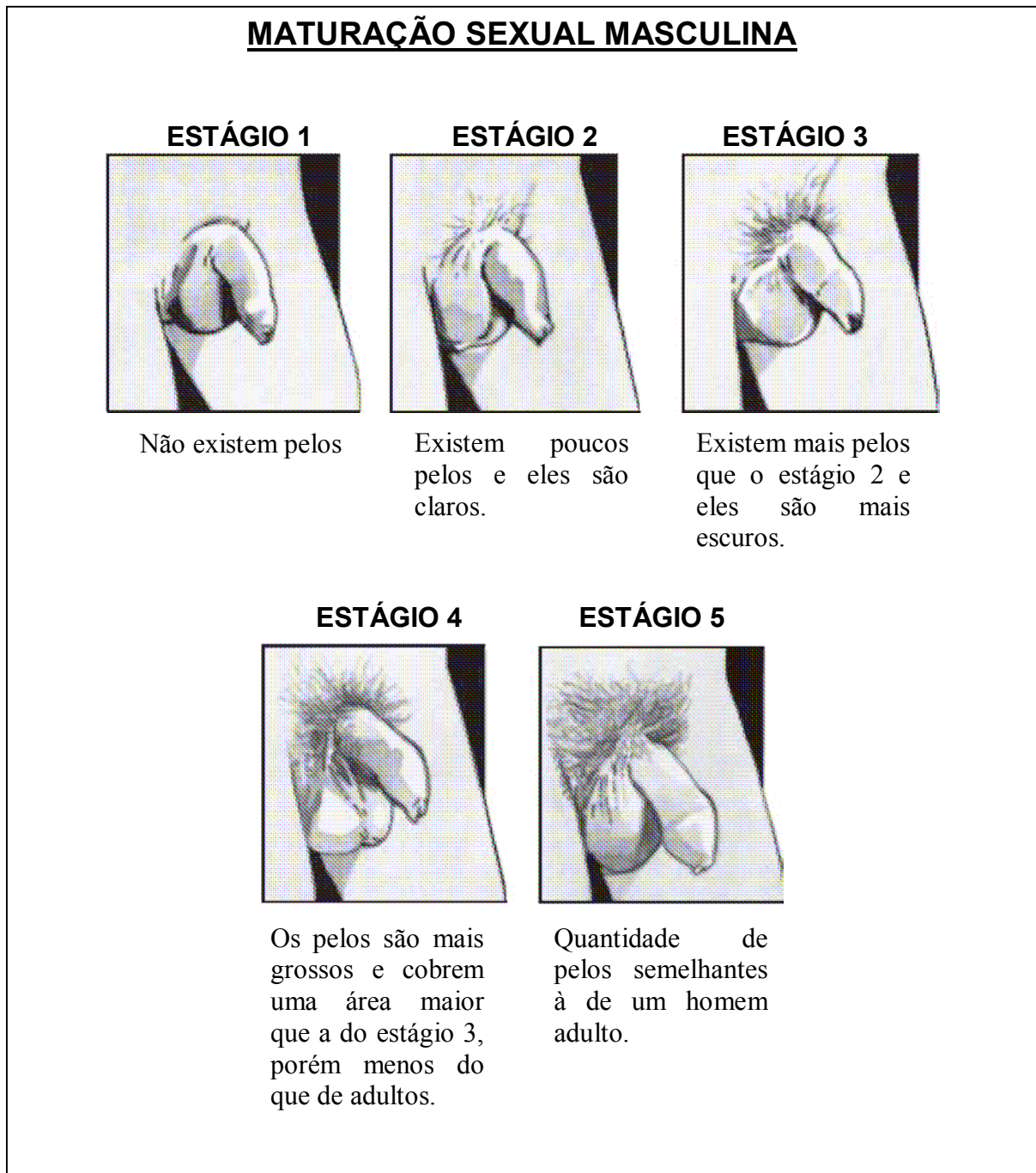
Os dados referentes ao presente estudo pertencem ao Laboratório de Metabolismo Celular, Departamento de Fisiologia e ao Centro de Pesquisa em Exercício e Esporte do Setor de Ciências Biológicas da UFPR e serão publicados em revistas e periódicos científicos Qualis A. Entretanto, não será divulgado em qualquer instância o nome dos participantes, bem como seus dados de identificação.

Medidas de proteção ou minimização dos riscos

Para minimização de qualquer eventual risco, durante os testes laboratoriais houve a supervisão da médica pediatra, Dra Neiva Leite. Os materiais utilizados na obtenção do sangue e da saliva são próprios para estes fins, descartáveis e esterilizados, sem nenhuma possibilidade de contaminação aos sujeitos ou pesquisadores.

ANEXOS

ANEXO A – Desenhos do desenvolvimento genital do sexo masculino, conforme classificação de Tanner.



Fonte: SOCIEDAD ARGENTINA DE PEDIATRÍA. Guías para la evaluación del crecimiento 2ª edição. Argentina: Buenos Aires, 2001.

