

WEDERLEY ALEXANDRE JANUÁRIO

**O CORTISOL SALIVAR COMO BIOMARCADOR DE
ESTRESSE NO ESPORTE**

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de São Paulo, Campus
Baixada Santista, para obtenção do
Título de Mestre em Ciências

WEDERLEY ALEXANDRE JANUÁRIO

**O CORTISOL SALIVAR COMO BIOMARCADOR DE
ESTRESSE NO ESPORTE**

Santos - 2012

WEDERLEY ALEXANDRE JANUÁRIO

**O CORTISOL SALIVAR COMO BIOMARCADOR DE
ESTRESSE NO ESPORTE**

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de São Paulo, Campus
Baixada Santista para obtenção do
Título de Mestre em Ciências

Orientadora: **Profa. Dra. Regina Célia Spadari**

Co-orientadora: **Profa. Dra. Márcia Carvalho Garcia**

Santos – 2012

Januário, Wederley Alexandre

O Cortisol Salivar como biomarcador de estresse no esporte./ Wederley Alexandre Januário. - Santos, 2012.
xii, 71f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Paulo. Programa de Pós-graduação Interdisciplinar em Ciências da Saúde.

Título em inglês: Salivary Cortisol as a biomarker of stress in sport.

1.Cortisol Salivar. 2. Esportes. 3. Nutrição. 4. Estresse. 5. Resposta do Cortisol ao Acordar.

WEDERLEY ALEXANDRE JANUÁRIO

**O CORTISOL SALIVAR COMO BIOMARCADOR DE
ESTRESSE NO ESPORTE**

Presidente da banca:

Profa. Dra. Regina Célia Spadari (orientadora)

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Cláudio Heitor Balthazar

Prof. Dr. Ronaldo Vagner Thomatieli dos Santos

Profa. Dra. Cláudia Ridel Juzwiak

Prof. Dr. Alexandre Moreira

DEDICATÓRIA

Aos meus saudosos pais e irmão Benedito Penha Januário, Geralda Aparecida Alexandre Januário (*in memoriam*) e Welington Alexandre Januário, exemplos de luta, honestidade, justiça e amor, modeladores de minha formação cultural, profissional, ética e humana. Simbolizando a presença perene deles em minha vida, gostaria de dedicar inicialmente a eles, pessoas que me ensinaram valores, me deram base, incentivo nas decisões que tomei em minha vida.

AGRADECIMENTOS

Indubitavelmente, em nossas vidas todas as nossas conquistas são dependentes de pessoas e/ou instituições que nos auxiliam, direta ou indiretamente. Desta maneira, gostaria de agradecer:

- A Deus, por me conceder a oportunidade de aprofundar meus estudos. Por me fortalecer e estar ao meu lado, iluminando meu caminho, mesmo nos momentos mais difíceis.

- À Professora Dr^a. Regina Celia Spadari, por quem possuo imensa admiração e gratidão pelos incentivos desde os primórdios da minha graduação, inestimáveis ensinamentos, serenidade com que me conduziu nestes trabalhos, pela compreensão das minhas dificuldades, pela oportunidade de amadurecimento profissional e pessoal.

- À Professora Dr^a. Marcia Carvalho Garcia, pelo apoio, ensinamentos e incentivo, desde o início de minhas atividades.

- A todos os amigos/irmãos que Deus colocou em minha vida para me dar apoio, sugestões, confiança, força e companheirismo (Alyson Roberto, André Minari, André Moura, Bruna Januário, Camila Januário, Cassiano Januário, Celso Januário, Claudio H. Januário, Cleber Januário, Cleib Cruz, Cristiano Januário, Débora Alexandre, Daniele Alexandre, Diany Alexandre, Espedito Pereira, Gustavo Arruda, Jean Silveste, João Éverton, João Henrique, Marcus Vinícius, Rafael Chagas, Ricardo Moura, Rodolfo Marinho, Rodrigo Dias, Samuel Borin, Tháila Cruz, Wesley Cruz)

- A todos meus colegas do Laboratório de Estresse pela ajuda nos experimentos, companheirismo, amizade, e ensinamentos.

- Aos professores (Sylvia Helena, Isabel Céspedes, Odair Aguiar) que ajudaram a enfrentar as dificuldades e a encontrar o meu caminho.

- À nutricionista Alessandra Paula Nunes que ajudou no recrutamento dos voluntários deste projeto.

- A todos os voluntários deste projeto, que não mediram esforços para a realização do mesmo.

- Ao CNPq e Reuni pelo apoio financeiro.

- A todas as pessoas que me ajudaram, direta ou indiretamente, no desenvolvimento e conclusão deste trabalho.

A todos vocês, meu MUITO OBRIGADO!

“O que hoje está provado, ontem era apenas um sonho” (William Blake)

RESUMO

A prática de exercício físico desencadeia reações semelhantes à resposta de estresse e, por isso, seus biomarcadores podem ser utilizados para avaliar o efeito do treinamento e de competições sobre o organismo do atleta. Os objetivos deste trabalho foram: (1) verificar se a ingestão de alimentos durante a primeira hora após acordar e a composição desta refeição alteram a Resposta do Cortisol ao Acordar (RCA); e (2) determinar a concentração salivar de cortisol como indicador dos índices de estresse em atletas de biribol. No primeiro estudo a RCA foi avaliada em 16 jogadores de basquete que se mantiveram em jejum ou ingeriram, nos primeiros 30 min após acordar, uma refeição com composição equilibrada de macronutrientes ou com predominância de carboidratos, de proteínas, ou de lipídios. Foram feitas coletas de saliva ao acordar, 30 e 60 min após. Os resultados mostraram que a ingestão de refeição equilibrada, com predominância de carboidratos ou de proteínas não altera a RCA, mas que a refeição rica em lipídios resulta em aumento significativo da RCA. No segundo estudo foi avaliada a concentração salivar de cortisol de 24 praticantes de biribol, antes e após o jogo final de um campeonato. Os resultados mostraram que, mesmo sendo o biribol um esporte com característica recreativa, nos atletas da série A o aumento da concentração salivar de cortisol após jogo foi maior do que aquele apresentado pelos jogadores da série B. Concluimos que o cortisol salivar pode ser usado como parâmetro indicativo de desempenho esportivo, desde que seguidas as orientações para coleta das amostras. Por ser um método não invasivo, tende a se firmar como um teste padrão ouro no esporte e pode ser usado como biomarcador para monitoramento de alterações fisiológicas durante prática esportiva e em repouso. Concluimos também que a ingestão de alimentos no período de coleta das amostras para determinação

da RCA pode ser permitida desde que seja controlada a quantidade de lipídios na refeição.

ABSTRACT

The practice of physical exercise triggers reactions that are similar to the stress response and therefore their biomarkers may be used to evaluate the effect of training and competition on the athlete's organism. The objectives of this work were: (1) to verify whether the food intake during the first hour after awakening and this meal composition would interfere with the cortisol awakening response (CAR); and (2) to determine the salivary concentration of cortisol (SCC) in biribol athletes during the final game of a championship. In the first study the CAR was evaluated in 16 basketball players who remained fasted or took breakfast in the first 30 min after awakening in which the composition of macronutrients was balanced or there was a predominance of carbohydrates, proteins, or lipids. Saliva samples were collected immediately upon awakening, 30 and 60 min after. The results showed that intake of a balanced meal or a meal with predominance of carbohydrates or protein does not alter the CAR, but that the high-fat meal caused a significant increase in the CAR. In the second study, the SCC was determined in 24 biribol practitioners before and after the final game of a championship. The results showed that, even though this sport is for recreational purpose, the SCC after the game was higher in the practitioners of A series than those in the B series. It is concluded that SCC can be used as a parameter in the evaluation of athletes' performance, since the guidelines for sample collection were strictly followed. Because it is a noninvasive method, it tends to be established as a gold standard test. It is also concluded that food intake in the period of sample collection for determination of the CAR may be allowed since the lipid content was reduced.

SUMÁRIO

Introdução.....	13
O conceito de estresse.....	13
O eixo hipotálamo-hipófise-adrenal.....	15
Estresse e exercício físico.....	16
Biomarcadores da resposta de estresse.....	18
Objetivos	22
Primeiro Manuscrito: Influência do jejum sobre a Resposta do Cortisol ao Acordar.....	23
Segundo Manuscrito: Concentração salivar de cortisol em praticantes de biribol.....	45
Conclusões.....	64
Referências.....	65
Anexo 1- Comitê de Ética.....	70
Anexo 2 - Colaborações.....	71

INTRODUÇÃO

O conceito de estresse

A manutenção do equilíbrio do meio interno, o qual Claude Bernard (1878) chamou de “milieu interieur”, mediante interação com a variabilidade do meio externo, exige processos corporais coordenados ⁽¹⁾. Walter B. Cannon, em 1935, definiu este conceito como “homeostase”⁽²⁾. A homeostase pode sofrer variações diante do efeito de fatores do ambiente interno e/ou externo, denominados agentes estressores. Ao longo da evolução, os animais adquiriram a capacidade de responder a estes agentes. Esta resposta é chamada de “resposta de estresse”. A função da resposta de estresse é manter o equilíbrio orgânico, por meio de alterações fisiológicas compensatórias, que permitam, inicialmente, resistir ao agente estressor e, posteriormente, adaptar-se à sua presença, quando esta é mantida ou repetida.

A palavra estresse foi primeiramente usada por Hans Selye quando, em 1936, publicou sua teoria, na qual propôs que estresse é a resposta não específica do organismo frente a agentes ameaçadores de sua integridade. Nesta síndrome do estresse ocorreria a tríade patológica, representada pela hipertrofia da adrenal, ulceração gastrointestinal e involução do timo. Selye introduziu e popularizou o termo “estresse” na literatura científica e médica, embora, ele mesmo tinha declarado, posteriormente, a interpretação errônea que fez do termo físico “stress”, que significa pressão. Revelou que, se fosse possível, mudaria o nome deste fenômeno para “reação de esforço”. Entretanto, devido à popularização do termo “stress”, decidiu por não redefini-lo. E, assim, introduziu o termo estressor para designar o agente causador do estresse. Estressor seria qualquer estímulo reconhecido como aversivo ou perigoso para a integridade do organismo,

desencadeando a resposta de estresse ^(3, 4). Selye teve sua atenção voltada para o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), como principal efetor da resposta ao estressor. Este autor enfatizou o córtex da glândula adrenal como sendo o órgão responsável pela integração fisiológica e pelo desenvolvimento de patologias, em praticamente todos os tecidos do corpo.

Em 1946 foi introduzido o termo “Síndrome Geral de Adaptação”, que é descrito como sendo composta por três fases: alarme, resistência e exaustão ⁽³⁾.

Na primeira fase, o organismo tem contato com o estressor, reconhecendo-o como uma ameaça à sua integridade. Mediante esta situação, mecanismos orgânicos de defesa são acionados, tais como ativação do sistema nervoso simpático (SNS) e da medula da glândula adrenal, bem como do eixo HPA. Esta fase se caracteriza por aumento da capacidade orgânica em responder ao estressor, com resposta fisiológica dos órgãos e sistemas à elevação da concentração plasmática das catecolaminas e dos glicocorticóides, além de outros hormônios e mediadores. Esta mesma fase foi anteriormente denominada por Walter Cannon em 1935, como “reação de luta-ou-fuga” ⁽²⁾.

A fase seguinte caracteriza-se pela volta à homeostase, durante a qual, a reação inicial de alarme é substituída por mecanismos adaptativos se o estressor for mantido ou repetido. Entretanto esta fase é crítica, pois o organismo está debilitado em sua capacidade de reação a outros estressores.

Caso a adaptação não seja possível, instala-se a “fase de exaustão”, que se caracteriza pela depleção das reservas energéticas e o desenvolvimento de doenças, podendo sobrevir até a morte ^(3, 5-9). No entanto, o estresse não é uma doença, representa, ao contrário, um recurso utilizado pelos organismos para sobreviver frente às ameaças do cotidiano, sejam elas de natureza física ou

psicológica. Após a fase de adaptação, o organismo atinge um novo equilíbrio orgânico, em outro patamar. Neste sentido, recentemente, foi discutido com propriedade estes novos conceitos, sugerindo a retomada da definição original de estresse, e propõem a seguinte redação: “estresse é a resposta do organismo, envolvendo vários sistemas orgânicos frente às ameaças ou aos desafios que ultrapassam ou que pareçam ultrapassar os mecanismos seletivos”.⁽¹⁰⁾

O eixo hipotálamo-hipófise-adrenal

A atividade basal do eixo HPA segue um ritmo diário de episódios secretórios de curta duração e grande amplitude. Sob condições normais, a produção mais alta de cortisol ocorre na segunda metade da noite, atingindo um pico de concentração plasmática nas primeiras horas da manhã. Em seguida, a concentração plasmática de cortisol declina durante o dia e a primeira metade da noite, quando atinge os valores mais baixos⁽¹¹⁾.

Além deste ritmo, há um breve aumento da concentração de cortisol 20 a 30 minutos após o acordar^(12, 13). Este fenômeno, conhecido como resposta do cortisol ao acordar (RCA), é distinto do ciclo circadiano e se superpõem a ele, de modo a provocar um efeito adicional à tendência linear de aumento do cortisol nas primeiras horas da manhã⁽¹⁴⁾. A RCA é considerada menos variável que as concentrações deste hormônio em outros momentos do ciclo sono-vigília^(13, 15, 16).

Nos primeiros 30 minutos após acordar, a concentração salivar de cortisol aumenta rapidamente entre 50% e 160%, correspondendo a 9 (3.9 – 14.9) nmol/L⁽¹²⁻¹⁴⁾. Alguns autores classificam como “responsivos” os sujeitos que apresentam um aumento maior ou igual a 2.4 nmol/L e sugerem que cerca de 10% das pessoas não apresentam tal resposta, classificando-as como não responsivas^(12, 17). Foi

proposto que a atenuação da RCA juntamente com o achatamento do ritmo de cortisol corresponde a um perfil fisiológico de secreção de cortisol secreção típico de algumas pessoas, e não como resultado de falha no método ou relacionado à falta de adesão ao protocolo de coleta das amostras ⁽¹⁸⁾.

No entanto, a maioria dos autores sugere que a ausência de RCA não tem relação com a hora de acordar ⁽¹⁹⁾, mas com a adesão ao protocolo de coleta ^(14, 17, 20-22), principalmente com o atraso na primeira coleta ^(21, 23), o que causa uma queda artificial no pico da resposta ⁽²⁴⁾. Aumentos maiores da RCA em dias úteis do que em finais de semana foram relacionados a índices mais altos de estresse nestes dias em trabalhadores ^(21, 25) e em executivos brasileiros ⁽²⁶⁾. A magnitude da RCA foi positivamente relacionada a estresse crônico ^(13, 27), estresse do trabalho e depressão ⁽¹⁶⁾. Alguns autores sugerem que pessoas que acordam mais cedo apresentam maior RCA e maior experiência de estresse ^(15, 20, 28). Outros propõem que a RCA seja associada com a antecipação do dia que se inicia ⁽²⁹⁾.

A influência de uma variedade de fatores sobre a RCA foi investigada, mas os resultados são inconsistentes. Os principais são: idade e gênero, fatores ligados a reprodução no gênero feminino tais como fases do ciclo menstrual e uso de contraceptivos, condições de saúde física e mental, tabagismo; qualidade e duração do sono, bem como a hora de acordar ⁽²⁹⁾.

Estresse e exercício físico

O exercício físico pode ser considerado como um agente causador de estresse que, quando repetido e programado, como ocorre nos programas de treinamento físico, pode levar à adaptação e melhora do desempenho. As respostas

a este estímulo variam de acordo com a constituição física, o estado de treinamento e a idade, além de outros fatores.

Neste contexto, propõe-se que é possível relacionar as fases da Síndrome Geral de Adaptação com as fases de programas de treinamento físico, de forma que, a reação de alarme corresponderia à fase inicial do exercício, quando ocorre a disponibilização geral dos mecanismos de defesa e dos substratos orgânicos que fornecem energia para atender a demanda. Sua intensidade e duração dependem da sincronia entre a magnitude e a duração do exercício e a resposta adaptativa do organismo que este estímulo irá desencadear; na fase de resistência, que se segue à fase de alarme, o organismo “resiste” ao estímulo estressor provocado pela quantidade e qualidade de carga oriunda do exercício físico, adaptando os sistemas biológicos ao esforço dele exigido e melhorando seu desempenho ⁽³⁰⁾. Nesta fase ocorre o reencontro com a homeostasia, não mais se observando os sintomas característicos da fase de alarme. Alguns autores preferem chamar este processo de alostasia, levando em conta que o equilíbrio atingido não é mais o anteriormente instalado, mas situa-se em um novo patamar ^(31, 32) que resulta no condicionamento físico do atleta.

O treinamento físico tem por crucial objetivo obter o melhor desempenho possível sem gerar graves distúrbios homeostáticos que sejam irreparáveis ou que resultem em mal adaptação, provocando doenças. Entretanto, quando estratégias de treinamento fracassam, sobrevém a fase de exaustão, em que o organismo, depletado de suas reservas energéticas em prol da adaptação, não resiste nem se adapta. Esta fase é observada quando estratégias de treinamento físico fracassam em sincronização com as condições de mobilização dos sistemas orgânicos. Essa “exaustão” temporária, induzida pelo excesso de treinamento foi denominada

overreaching. Este quadro caracteriza-se pelo desequilíbrio entre a carga de treino e a resistência do atleta ⁽³³⁾. Se este se prolonga por mais tempo, é chamado de *overtraining* ⁽³⁴⁾, com diminuição da performance quando a carga de treino é aumentada, levando ao estado de exaustão e fadiga persistentes ⁽³³⁾.

Biomarcadores da resposta de estresse

Os hormônios sintetizados e liberados pelo córtex adrenal, bem como as catecolaminas, sintetizadas e liberadas pelos neurônios simpáticos e pela medula adrenal são considerados biomarcadores da resposta de estresse. Determinar suas concentrações plasmáticas exige o emprego de técnica invasiva de punção venosa, o que pode, em alguns protocolos experimentais, comprometer os resultados. A quantificação das concentrações das catecolaminas é feita por cromatografia líquida de alto desempenho, que apresenta considerável dificuldade técnica e alto custo. Por outro lado, os hormônios esteróides do córtex adrenal podem ser detectados por meio de técnicas mais simples.

Assim sendo, a determinação dos biomarcadores de estresse na saliva é um método alternativo que apresenta vantagens, pois não é invasivo, não causa estresse adicional e pode ser feito pelo próprio voluntário do estudo e em qualquer lugar. Por ser inócua e indolor, favorece a colaboração dos voluntários e permite a coleta de material em diversas situações do cotidiano. A concentração salivar é diretamente proporcional à concentração da fração livre, biologicamente ativa, do hormônio no sangue ⁽³⁵⁾, e é independente do fluxo salivar ^(36, 37). Somado a isso, podem ser feitas coletas seriadas de amostras que permitem determinar, além da concentração instantânea, o ritmo de secreção do hormônio ao longo de períodos (dia, noite, ou outros), bem como sua variação durante fases distintas e/ou críticas

da vida de qualquer população a ser estudada ⁽³⁶⁾. O cortisol é estável à temperatura ambiente, o que diminui as exigências quanto à temperatura de conservação e transporte das amostras ⁽³⁶⁾.

O grupo de pesquisa do qual fazemos parte tem uma vasta experiência nos estudos dos mecanismos biológicos do estresse e na determinação da concentração sanguínea ou salivar dos hormônios esteróides como biomarcadores do estresse e da recuperação, principalmente o cortisol e a testosterona. A concentração salivar de cortisol foi utilizada como indicadora de estresse em estudantes durante o ano de preparo para o exame vestibular ⁽³⁸⁾, em indivíduos de diferentes *status* socioeconômico ⁽²⁶⁾, em mulheres portadoras de endometriose ⁽³⁹⁾, e em mães cuidadoras de crianças com paralisia cerebral ⁽⁴⁰⁾. Em atletas, a concentração salivar de cortisol e de testosterona foi associada aos índices de estresse e de recuperação durante fases de treinamento e de competições em jogadores de futebol (Garcia, M.C – Dados não publicados), nadadores (Garcia, M.C – Dados não publicados) e triatletas ⁽⁴¹⁾.

Nossos estudos com estresse em atletas foram iniciados com jogadores da categoria sub-20 de uma equipe de Campinas (SP), durante duas temporadas esportivas consecutivas que ocorreram de março a janeiro. Foram determinadas as concentrações séricas de cortisol e de testosterona, correlacionando-as com o condicionamento físico e com os resultados obtidos nos jogos ⁽²⁶⁾. Esse estudo encontrou diversas dificuldades para ser executado, uma vez que, partindo do pressuposto de que, sendo o Brasil considerado “o país do futebol” favoreceria o recrutamento de voluntários, não se mostrou verdadeiro. Outros problemas enfrentados foram relacionados às frequentes alterações na equipe técnica, que dificultavam o cumprimento do protocolo de pesquisa e a implantação da

metodologia, resistência das equipes técnicas em avaliar regularmente o desempenho físico dos atletas, além do conturbado calendário futebolístico brasileiro. Tais problemas dificultaram a realização da pesquisa científica e, a nosso ver, contribuem para o empirismo do trabalho nesta modalidade esportiva ⁽⁴²⁾.

Outro fator limitante foi a coleta de sangue, que per se é um agente estressor para a maioria das pessoas, especialmente para atletas em momentos de competições. Para superar esta dificuldade foi implantada a técnica de dosagem da concentração de cortisol e testosterona na saliva. Esta técnica permitiu avaliar momentos que seriam difíceis de serem analisados por meio da tradicional coleta de sangue, tais como obtenção de sequências seriadas de amostras para determinar o ritmo circadiano de cortisol, área sob a curva diurna de cortisol, bem como a resposta do cortisol ao acordar. Permitiu também realizar coletas em dias de competição, como também minutos antes e após cada prova ou jogo.

Assim sendo, a utilização de salivette® facilita a coleta, sendo a alternativa com o melhor grau de viabilidade e eficácia. A disponibilidade de *kits* específicos para saliva com características de boa especificidade e sensibilidade foi outro fator positivo.

No entanto, este método caracteriza-se por dificuldade na adesão aos horários do protocolo de coletas, uma vez que estas são feitas pelo próprio voluntário, sem supervisão do pesquisador. Tal problema é também apontado na literatura ^(17, 18, 20).

A avaliação da concentração salivar de cortisol e testosterona em triatletas foi realizada levando-se em conta os cuidados relatados acima ⁽⁴¹⁾. Os resultados mostraram que as concentrações de cortisol foram maiores no dia da competição comparados com as do dia de repouso no início da manhã, imediatamente ao

acordar, 30 minutos depois, imediatamente antes do início da competição, e mais tarde na noite. As concentrações de testosterona foram maiores no dia da competição pela manhã e pela noite. Os ritmos diurnos de cortisol e de testosterona foram mantidos em ambos os dias e a relação testosterona/cortisol foi semelhante entre os dias. Os dados obtidos em atletas masculinos de basquetebol mostraram que estes apresentam ritmo circadiano de cortisol normal, e respondem ao estímulo de estresse representado pelo jogo. Entretanto, não há uma resposta antecipatória do cortisol e da testosterona. Além disso, a abordagem metodológica utilizada permitiu o cálculo da área sob a curva que evidenciou a diminuição gradativa da resposta de estresse ao longo do campeonato. A concentração de testosterona não é diferente do momento antes e depois dos jogos.

Outro aspecto que se mostrou relevante durante o trabalho com atletas foi a manutenção de jejum na primeira hora após acordar exigida na determinação da resposta do cortisol ao acordar ⁽⁴³⁾. Observa-se que os atletas, em geral, têm urgência em fazer o desjejum para em seguida dirigirem-se aos treinos ou competições que, na maioria das vezes, ocorrem no período da manhã. Assim, surgiu a necessidade de verificar se a ingestão de alimentos durante este período, ou se a composição desta refeição afetaria a resposta do cortisol ao acordar. Responder a esta pergunta foi o objetivo do primeiro manuscrito aqui apresentado.

No segundo manuscrito, investigamos se um esporte desenvolvido com finalidade recreativa, como é o caso do biribol, desencadearia nos praticantes respostas semelhantes às observadas em modalidades esportivas mais competitivas.

OBJETIVOS:

→ Verificar se a ingestão de alimentos durante a primeira hora após acordar altera a Resposta do Cortisol ao Acordar.

→ Verificar se a composição desta refeição matinal altera a Resposta do Cortisol ao Acordar.

→ Determinar a concentração salivar de cortisol como indicador dos índices de estresse em atletas de biribol.

PRIMEIRO MANUSCRITO

**Influência do desjejum sobre a Resposta do Cortisol ao Acordar de Jogadores
de Basquete**

Influência do jejum sobre a Resposta do Cortisol ao Acordar de Jogadores de Basquete

Wederley Alexandre Januário; Marcia Carvalho Garcia; Gustavo Arruda; Regina Célia Spadari.

Departamento de Biociências, Campus Baixada Santista, Universidade Federal de São Paulo, Santos SP.

Profa. Dra. Regina Célia Spadari

Departamento de Biociências,

Avenida Ana Costa no. 95 Vila Matias, Santos, SP, CEP 11060-001

E-mail: regina.spadari@unifesp.br

Telefone: +55 13 3878 3794

Suporte financeiro: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); Projeto de Reestruturação e Expansão das Universidades Federais (REUNI).

Resumo

O aumento acentuado da concentração plasmática e salivar de cortisol que ocorre após acordar é chamado de resposta do cortisol ao acordar (RCA). Alterações da RCA são propostas como indicadoras do estado de estresse. No entanto, uma limitação que se impõem a esta medida é a necessidade de que os indivíduos permaneçam em jejum durante a primeira hora após acordar, período em que as coletas de saliva são realizadas. Em atletas, este é um fator que contribui para a falta de adesão ao protocolo de coleta das amostras, comprometendo os resultados. O objetivo deste trabalho é verificar se a ingestão de alimentos durante o período de coleta das amostras ou a composição desta refeição altera a RCA. Participaram 16 jogadores de basquete, com $17,31 \pm 0,27$ anos. Foram definidas composições do desjejum de modo que em cada dia predominasse um tipo de macronutriente, e em um dia a composição fosse equilibrada. Amostras de saliva foram coletadas imediatamente, 30 e 60 min após acordar, mantendo-se o indivíduo em jejum durante todo o período ou permitindo a ingestão de uma das refeições após a primeira coleta. Os dados foram comparados por ANOVA de duas vias, seguida de teste de Bonferroni e pelo teste t de *Student*. Diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. A RCA foi maior após ingestão de refeição rica em lipídios do que quando os atletas permaneceram em jejum ou ingeriram dietas com outras composições ($p = 0,0001$). Conclui-se que um desjejum rico em lipídios altera a RCA, mas que refeições com composição equilibrada, ou ricas em carboidratos ou proteínas não alteram esta resposta e, portanto, estas podem ser ingeridas no período entre as coletas de saliva para determinação da RCA.

Palavras chave: resposta do cortisol ao acordar, macronutrientes, basquetebol

Abstract

The sharp increase of salivary and plasmatic cortisol that follows waking is called cortisol awakening response (CAR). CAR alterations are proposed as indicators of stress. However, a limitation that is required to undertake this measure is the need for individuals to remain fasted during the first hour after awakening, period in which the collection of saliva are made. In athletes, this is one factor that contributes to the lack of adherence to the protocol of sample collection, compromising the results. The aim of this study is to verify if food intake during the collection of samples or the composition of this meal changes the CAR. Sixteen male (17.31 ± 0.27 year-old) basketball players participated in this study. Breakfast compositions have been defined so that on each day one type of macronutrient prevailed, and in one day the meal composition was balanced. Saliva samples were collected immediately, 30 and 60 min after waking up, maintaining the individual fasted during the entire period or allowing the intake of a meal after the first sample collection. Data were compared by two-way ANOVA followed by Bonferroni test and the Student's t test. Differences were considered significant when $p < 0.05$. The CAR was higher after ingestion of the meal with predominance of lipids than when subjects fasted or took breakfast with other compositions ($p = 0.0001$). It is concluded that a breakfast rich in lipids alters the CAR, but meals with balanced composition or rich in carbohydrates or proteins do not alter this response, and therefore they can be taken in the period of saliva collection for CAR determination.

Keywords: cortisol awakening response, stress, food, macronutrients, basketball.

Introdução

O eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) desempenha papel importante para adaptação do organismo frente aos desafios ambientais e corporais por meio da indução de alterações comportamentais e fisiológicas, assim, melhorando a capacidade do organismo de regular a homeostase (Tsigos and Chrousos, 2002).

O glicocorticoide cortisol, é o principal hormônio secretado pelo córtex da glândula adrenal em resposta à ativação do eixo HPA. Sua secreção basal segue um ritmo diário caracterizado por vários episódios de secreção de curta duração e alta amplitude. Em condições normais, a maior produção de cortisol ocorre na segunda metade da noite resultando em um pico da concentração plasmática no início da manhã. Posteriormente, as concentrações de cortisol constantemente declinam ao longo do dia atingindo os valores mais baixos durante a primeira metade da noite (Dallman et al., 2000; Tsigos and Chrousos, 2002).

Além deste ciclo diário bem descrito, há um aumento rápido das concentrações de cortisol dentro de 20 - 30 min após acordar. A diferença entre a concentração salivar de cortisol 30 minutos após acordar e a concentração do hormônio imediatamente após acordar é denominada resposta do cortisol ao acordar (RCA). Este parece ser um fenômeno distinto que se sobrepõem ao ritmo circadiano do cortisol (Fries et al., 2009), e é considerado uma medida confiável da responsividade aguda do eixo HPA (Schmidt-Reinwald et al., 1999). A RCA tem sido estudada extensivamente nas últimas duas décadas, não apenas em populações saudáveis, mas também em pessoas acometidas de doenças cardiovasculares, autoimunes, psiquiátricas, entre outras. Alterações da RCA são propostas como indicadores do estado de estresse (Garcia et al., 2008; Hellhammer et al., 2009). Entretanto, vários fatores podem influenciar a concentração de cortisol após

acordar, como: horário de acordar, duração e qualidade do sono, exposição à luz e atividade física (Minetto et al., 2008; Schlotz et al., 2004). Uma limitação adicional que se impõem a esta medida é a necessidade de que os indivíduos permaneçam em jejum durante a primeira hora após acordar, período em que as coletas de saliva são realizadas. Esta exigência se baseia na premissa de que a composição da refeição poderia influenciar a concentração salivar de cortisol, embora os dados da literatura ainda sejam controversos (Kudielka et al., 2009).

Em atletas, este é um fator que contribui para a falta de adesão ao protocolo de coleta das amostras, comprometendo os resultados. Em geral, os atletas relatam que precisam se alimentar para iniciar os treinos ou as provas que costumam ocorrer no período da manhã. Por este motivo, fazem a segunda coleta de saliva antes do tempo determinado, o que resulta no achatamento da RCA ou até mesmo em valores negativos (Garcia, M.C.and Spadari, R.C.; comunicação pessoal). Assim sendo, o objetivo deste trabalho é verificar se a ingestão de alimentos durante o período de coleta das amostras ou a composição desta refeição altera a RCA.

Métodos:

Sujeitos: participaram deste projeto 16 jogadores masculinos de basquete de um clube paulista, na faixa etária de 16 a 19 anos.

Os critérios para inclusão foram os seguintes: ser componente do time, independente de posição e escala para titular ou reserva, e assinar o termo de consentimento para realização da pesquisa. Os critérios de exclusão foram: ausência no dia da coleta e estar fazendo uso de fármacos que poderiam interferir nas concentrações salivares dos compostos a serem analisados.

Avaliação Antropométrica: a medida de estatura foi realizada em um estadiômetro portátil (Sanny®, São Paulo, Brasil), com precisão de milímetros. A massa corporal foi obtida empregando-se o uso de balança digital (Tanita®, São Paulo, Brasil) com capacidade de 150 Kg e precisão de 100 g, estando o atleta em posição ortostática, descalço e vestindo apenas o calção do uniforme. O índice de massa corporal (IMC) foi obtido dividindo-se a massa corporal (em Kg) pelo quadrado da altura (em metros) e os atletas foram classificados pela idade (WHO et al., 2007).

Para determinação das dobras cutâneas foi utilizado um adipômetro (Cescorf®, Porto Alegre, Brasil) com sensibilidade de 0,1 mm, sendo realizadas medidas em duplicata em cada local e por apenas um avaliador. Quando os valores obtidos variaram em 1 mm, fez-se uma terceira medida. O valor médio das duas medidas que melhor representaram a espessura da dobra cutânea foi utilizado como escore final. A densidade corporal dos atletas foi calculada de acordo com o protocolo de três dobras (tríceps, subescapular e axilar média) (Thorland et al.,

1984), utilizando-se a fórmula de Siri (1961) para a estimativa da porcentagem de gordura, como se segue: $\{\% G = [(4.95 / \text{Densidade Corporal}) - 4.50] \times 100\}$

Avaliação da Maturação Sexual: foi realizada levando-se em conta os estágios de maturação sexual conforme proposto por Tanner (1962) para pilosidade pubiana e desenvolvimento dos genitais, definindo-se cinco estágios para cada característica (Tanner, 1962). O estágio I indica um estado de pré-adolescência; II indica o início do período pubertário; III e IV indicam a continuidade do desenvolvimento, ou uma fase intermediária; V indica a fase final do desenvolvimento, muito parecida com o estado adulto (Malina, 1988).

A avaliação do estágio de maturação sexual foi realizada pelo próprio adolescente ao qual foram apresentadas pranchas com figuras correspondentes aos estágios de maturação segundo critério descrito acima, envolvendo genitália externa e pêlos pubianos, pedindo-se que eles apontassem qual delas correspondia ao seu estágio de maturação sexual. Este método de auto-avaliação foi validado por (Matsudo and Matsudo, 1991).

Composição da Refeição Matinal: A composição da refeição matinal foi definida pelo pesquisador, randomicamente, de modo que em cada dia um tipo de macronutriente foi predominante, sendo no dia 1 a predominância de carboidratos, no dia 2 a predominância de proteínas, no dia 3 a predominância de lipídios e, no dia 4 uma refeição mista (Tabela 1). O intervalo entre as refeições foi de uma semana.

O valor calórico total de cada refeição foi calculado com referência nas recomendações nutricionais propostas pelo *Institute of Medicine* (IOM, 2005) para

indivíduos ativos com idade entre 14-18 anos, obtendo-se o valor de 3152 Kcal/dia. Considerando que o jejum deve fornecer de 15 a 25% das necessidades diárias totais, este deveria corresponder a 472 - 788 Kcal (Franco and Chaloub, 1992).

Os pacotes contendo os alimentos para o jejum dos jogadores (Tabela 1) foram preparados no laboratório de técnica dietética do Campus Baixada Santista da Universidade Federal de São Paulo. Cada pacote foi entregue, para cada jogador, no dia anterior ao da coleta das amostras de saliva, quando também foram dadas explicações a respeito dos procedimentos de armazenagem dos alimentos, da coleta das amostras de saliva, de seu acondicionamento e transporte ao laboratório.

Coleta e Análise das Amostras: os voluntários foram orientados verbalmente e por escrito, por uma pessoa treinada, sobre como coletar as amostras de saliva. Eles também foram orientados a não praticarem atividades extenuantes neste período e não escovarem os dentes, enxaguando a boca apenas com água neste período. Em um dos dias de coleta os jogadores foram orientados a permanecerem em jejum durante todo o período, enquanto que nos outros dias estes deveriam ingerir uma das refeições após a primeira coleta que era realizada imediatamente após acordar.

Amostras de saliva foram coletadas imediatamente após acordar (tempo 0), 30 min (tempo 30) e 60 min (tempo 60) após acordar, utilizando salivette® (Sarstedt, Numbrecht, Alemanha). Após a coleta, as amostras foram mantidas em congelador doméstico até serem transportadas ao laboratório em caixas térmicas (Adarve®, São Paulo, Brasil), a 0° C. Estas foram centrifugadas a 3000 rpm, 4°C, por 20 min e então acondicionadas em freezer (-20° C).

No dia da análise, as amostras foram descongeladas, e as análises foram realizadas por método imunoenzimático, específico para cortisol salivar, utilizando *kits* comerciais (Salimetrics LLC, StateCollege, USA).

A RCA foi determinada pela diferença entre a concentração salivar de cortisol 30 min após acordar e imediatamente após acordar.

Análise Estatística: Os resultados são apresentados como médias seguidas do erro padrão da média. Para as comparações entre as médias utilizou-se a análise de variância (ANOVA) de duas vias seguida do teste de Bonferroni ou teste t de *Student*. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. Os resultados foram analisados utilizando-se o programa estatístico GraphPad Prism (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

Resultados

Na tabela 2 apresentamos a média de idade dos atletas avaliados e as medidas antropométricas representativas da composição corporal (altura, peso, índice de massa corporal, dobras cutâneas das regiões tríceps, subescapular e axilar média, e porcentagem de gordura corporal). Estes dados indicam que os adolescentes atletas são eutróficos (WHO et al., 2007). Todos os atletas indicaram que se encontram no estágio V, que corresponde à fase final de maturação sexual.

A concentração salivar de cortisol nas amostras coletadas ao acordar foi similar nos diferentes dias ($p > 0,05$; ANOVA, Tabela 3), com valor médio de $9,31 \pm 0,77$ nmol/L ($n = 50$ amostras). Houve influencia significativa do fator horário ($F_{[2; 132]} = 12,0$; $p = 0,0001$) e do fator dieta ($F_{[4; 132]} = 7,93$; $p = 0,0006$) sobre a concentração salivar de cortisol, mas a interação entre os fatores não atingiu níveis significativos ($F_{[8; 132]} = 1,74$; $p = 0,09$). No dia em que os atletas se mantiveram em jejum no período das coletas, a concentração salivar de cortisol ao acordar foi igual a $8,48 \pm 2,09$ nmol/L; aumentou para $16,01 \pm 3,18$ nmol/L aos 30 min após acordar; e $12,05 \pm 3,30$ aos 60 min (Tabela 3). Resultados similares foram observados quando os atletas ingeriram refeições ricas em carboidratos ou em proteínas, ou ainda quando ingeriram uma refeição equilibrada entre os três macronutrientes. A média da concentração salivar de cortisol aos 30 minutos após acordar tendo ingerido refeições com as composições acima mencionadas foi de $13,24 \pm 1,10$ nmol/L, significativamente maior que a concentração obtida imediatamente após acordar ($p = 0,003$, graus de liberdade = 83, teste t de *Student*).

A ingestão de refeição rica em lipídios resultou em aumento significativo da concentração salivar de cortisol aos 30 ($29,22 \pm 4,66$ nmol/L), e aos 60 min após acordar ($29,36 \pm 4,34$ nmol/L).

A diferença entre a concentração salivar de cortisol nas amostras coletadas aos 30 minutos e imediatamente após acordar, corresponde à RCA, representada na Figura 1. A RCA foi mais alta após ingestão de uma refeição rica em lipídeos do que quando os atletas permaneceram em jejum ou ingeriram dietas com outras composições nas quais os lipídios não eram predominantes ($p = 0,0001$, graus de liberdade = 48, teste t de *Student*).

Discussão

Os resultados aqui apresentados demonstraram que a RCA não difere quando os atletas permanecem em jejum ou ingerem refeições com predominância de carboidratos, de proteínas ou de composição equilibrada de macronutrientes. No entanto, a ingestão de uma refeição onde predominam lipídios resultou em aumento da RCA.

Outro estudo que analisou a concentração de cortisol por até 2 horas após a ingestão de uma refeição com predominância de diferentes macronutrientes mostrou que esta permaneceu inalterada após a ingestão de carboidratos, diferentemente do que ocorreu após ingestão de lipídios, de proteínas, ou de água, que resultou em redução da concentração de cortisol (Martens et al., 2010). Em ratos, a ingestão de dieta rica em proteína resultou em redução da concentração plasmática de corticosterona (Lacroix et al., 2004). Já em mulheres com obesidade visceral, alimentação rica em carboidrato aumentou significativamente a atividade do eixo HPA (Vicennati et al., 2002). As controvérsias entre os diferentes autores podem ser causadas pela diferença de horário em que as amostras foram coletadas, sofrendo influência do ritmo circadiano de cortisol.

A resposta do cortisol ao acordar parece ser independente de diversos fatores: qualidade e duração de sono, IMC, consumo de bebidas alcoólicas, terapia de reposição hormonal (Kunz-Ebrecht et al., 2004). No entanto, esta resposta sofre influência da idade, tabagismo, exposição à luz, e a prática de atividade física após acordar (Clow et al., 2004). Assim, os voluntários deste estudo foram orientados a seguir estritamente o protocolo de coletas e as diretrizes estabelecidas. Mas, a adesão ao protocolo depende sempre do voluntário, uma vez que as coletas em geral são feitas no domicílio, sem a presença do pesquisador. A ausência de

diferenças significativas dos valores de concentração salivar de cortisol imediatamente após acordar nos cinco dias em que esta concentração foi determinada sugere que houve adesão ao protocolo.

Há grande variação dos valores absolutos do pico de concentração de cortisol, que ocorre 30 minutos após acordar (Clow et al., 2004). Entretanto, apesar da ampla variação em valores absolutos obtidos por diversos autores, a alteração observada na concentração de cortisol até 30 minutos após acordar em adultos saudáveis é relativamente consistente entre os diferentes estudos e, segundo compilação feita por Clow et al., (2004), corresponde a $9,3 \pm 3,1$ nmol/L. Este aumento pode representar o efeito cumulativo de até três episódios de secreção durante este período, onde um episódio secretório corresponde a uma concentração de cortisol livre de 2.5 nmol/L (Wust et al., 2000). Estes valores correspondem a um aumento de 50 a 160% na concentração salivar de cortisol nos 30 min que se seguem ao despertar (Clow et al., 2004). Os resultados aqui apresentados mostram que os atletas apresentaram uma RCA em torno de 42%, bastante próximos dos resultados relatados por outros autores para adultos saudáveis (Edwards et al., 2001; Hucklebridge et al., 2002; Hucklebridge et al., 1999). Wust et al., (2000) propõem que os indivíduos sejam classificados como “responsivos” e “não-responsivos”, com base no critério que um aumento de pelo menos 2,5 nmol/L constitui uma resposta. De acordo com este critério, os atletas avaliados neste trabalho podem ser classificados como “responsivos”.

O papel fisiológico da RCA não está claramente definido. Foi originalmente sugerido que esta resposta poderia desempenhar um papel metabólico importante na mobilização de reservas de energia na transição do sono para a atividade física de vigília (Pruessner et al., 1997). Mais recentemente, porém, foi demonstrado que

a RCA não está relacionada às concentrações de glicose sanguínea (Hucklebridge et al., 1999). Portanto, ainda não está claro qual seria a metodologia de coleta padrão ouro para esta variável, como se dá sua regulação e qual é o significado funcional da RCA. Somente após isto, será possível entender os impactos de sua desregulação em relação à saúde e desempenho físico e mental. Os dados aqui apresentados adicionam mais um passo na compreensão desta resposta e permitem concluir que a ingestão de alimentos ricos em lipídios no intervalo entre a primeira e a segunda coletas resulta em aumento significativo da RCA, mas que a ingestão de uma refeição de composição equilibrada ou rica em carboidratos ou proteínas não interfere com a RCA.

Considerando que a concentração salivar de cortisol pode estar correlacionada ao desempenho em competições e que a concentração salivar de cortisol ao acordar foi positivamente correlacionada com o desempenho em triatletas (Balthazar et al., 2011), os dados aqui apresentados permitem sugerir que a ingestão de alimentos ricos em lipídios poderia favorecer o desempenho destes atletas. Esta hipótese precisa ser testada.

Agradecimentos: os autores agradecem ao CNPq e ao REUNI pelo suporte financeiro.

Nota de rodapé: este trabalho é parte da dissertação de mestrado de Wederley Alexandre Januário, do Programa de Pós-Graduação Interdisciplinar em Ciências da Saúde da Universidade Federal de São Paulo.

Tabela 1. Composição e valor calórico das refeições matinais oferecidas aos atletas de basquete.

CAFÉ DA MANHÃ – CARBOIDRATO			CAFÉ DA MANHÃ – PROTEÍNAS		
Medida Caseira	Alimento	Kcal	Medida Caseira	Alimento	Kcal
4 fatias de 25 g	Pão francês	294,3	2 copos de 200 ml	Leite desnatado	140,04
2 unidades de 70 g	Banana nanica	142,38	1 unidade de 50 g	Ovo de galinha cozido	70,55
3 e ¼ colheres de sopa niveladas de 12 g	Aveia em flocos	175,34	6 porções de 20 g	Proteína texturizada de soja	336
1 copo usual de 200 ml	Suco de Laranja	68,2	4 e ¼ fatias de 15 g	Queijo prato light	158,66
2 unidades de 10 g	Biscoito cream cracker	88,96			
			Macronutrientes	% dieta	kcal dieta
Macronutrientes	% dieta	kcal dieta	Carboidratos	24,72	174,32
Carboidratos	78,09	600,66	Proteínas	56,45	398,08
Proteínas	10,14	77,98	Gorduras totais	18,84	132,85
Gorduras totais	11,77	90,54	Calorias: 705,24 kcal		
Calorias Totais: 769,18 kcal			CAFÉ DA MANHÃ – MISTA		
Medida Caseira	Alimento	Kcal	Medida Caseira	Alimento	Kcal
5 unidades de 6,50 g	Biscoito cream cracker	144,56	2 Fatias	Pão Integral	113
4 colheres de chá de 5 ml	Azeite de oliva	180	2 Colheres de chá	Margarina Light	52
3 e ½ colheres de sopa de 12 g	Maionese tradicional	129,57	1 Copo Grande	Leite Integral	170
1 colher de sobremesa de 10 g	Achocolatado em pó	40,14	1 Colher de Sopa	Achocoltado	58
1 copo de 140 ml	Leite de vaca integral	90,12	1 Unidade Pequena	Ameixa	20
			1 Fatia Média	Queijo Minas Frescal	62
			Macronutrientes	% dieta	kcal dieta.
Macronutrientes	% dieta	kcal dieta.	Carboidratos	49,68	236
Carboidratos	28,28	165,27	Proteínas	14,32	68
Proteínas	5,77	33,74	Gorduras totais	36	171
Gorduras totais	65,95	385,38	Calorias: 475 kcal		
Calorias: 584,39 kcal					

Tabela 2. Média \pm (epm) dos dados antropométricos dos atletas avaliados (n= 16)

Idade (anos)	17,31 \pm 0,27
Altura (m)	1,87 \pm 0,02
Peso (Kg)	81,84 \pm 2,68
Índice de Massa Corpórea (Kg/m ²)	23,39 \pm 0,48
Tríceps (mm)	8,69 \pm 0,64
Sub-Escapular (mm)	10,62 \pm 0,77
Axilar Média (mm)	8,11 \pm 0,92
% Gordura Corporal (mm)	10,27 \pm 1,05

Tabela 3. Valores médios (\pm erro padrão da média) da concentração de cortisol (nmol/L) em amostras de saliva coletadas em jogadores de basquete imediatamente (aa), 30 minutos (30) e 60 minutos após acordar (60)

	Jejum (n = 9)	Carboidrato (n = 10)	Proteína (n = 10)	Lipídio (n = 11)	Mista (n = 10)
aa	8,48 \pm 2,09	10,41 \pm 1,24	7,94 \pm 1,44	12,44 \pm 2,38	7,67 \pm 1,23
30	16,01 \pm 3,18	13,44 \pm 1,58	10,78 \pm 2,04	29,22 \pm 4,66*	12,99 \pm 1,89
60	12,05 \pm 3,30	10,13 \pm 1,47	8,54 \pm 2,10	29,36 \pm 4,35*	16,71 \pm 4,94

*p<0,05 comparados a todos os demais grupos (ANOVA de duas vias seguida do teste de Bonferroni).

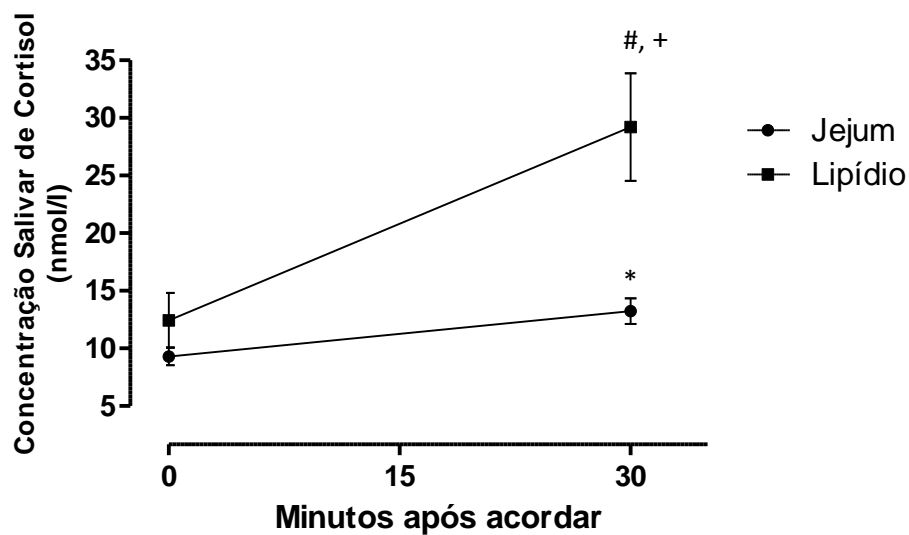


Figura 1. Média dos valores da RCA em jogadores de basquete. * comparação no mesmo dia ($p = 0.003$, graus de liberdade = 83, teste t de *Student*). # comparação no mesmo dia ($p = 0.009$, graus de liberdade = 19, teste t de *Student*).+ comparação no mesmo momento ($p = 0,0001$, graus de liberdade = 48, teste t de *Student*).

Referências

Balthazar, C. H., Garcia, M. C., and Spadari-Bratfisch, R. C. (2011). Could salivary concentrations of cortisol and testosterone be predictors of performance in a professional triathlon competition? *Stress*.

Clow, A., Thorn, L., Evans, P., and Hucklebridge, F. (2004). The awakening cortisol response: methodological issues and significance. *Stress* 7, 29-37.

Dallman, M. F., Bhatnagar, S., and Viau, V. (2000). Hypothalamo–pituitary–adrenal axis. In: Fink, G. (Ed.), *Encyclopedia of Stress*. Academic Press, San Diego.

Edwards, S., Evans, P., Hucklebridge, F., and Clow, A. (2001). Association between time of awakening and diurnal cortisol secretory activity. *Psychoneuroendocrinology* 26, 613-622.

Franco, G., and Chaloub, S. R. (1992). *Dietas e receitas: valores calóricos e propriedades gerais dos alimentos*. 3. ed. Rio de Janeiro. Atheneu.

Fries, E., Dettenborn, L., and Kirschbaum, C. (2009). The cortisol awakening response (CAR): facts and future directions. *International journal of psychophysiology : official journal of the International Organization of Psychophysiology* 72, 67-73.

Garcia, M. C., Souza, A. L., Bella, G. P., Grassi-Kassisse, D. M., Tacla, A. P., and Spadari-Bratfisch, R. C. (2008). Salivary cortisol levels in Brazilian citizens of distinct socioeconomic and cultural levels. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1148, 504-508.

Hellhammer, D. H., Wust, S., and Kudielka, B. M. (2009). Salivary cortisol as a biomarker in stress research. *Psychoneuroendocrinology* 34, 163-171.

Hucklebridge, F., Mellins, J., Evans, P., and Clow, A. (2002). The awakening cortisol response: no evidence for an influence of body posture. *Life sciences* 71, 639-646.

Hucklebridge, F. H., Clow, A., Abeyguneratne, T., Huezio-Diaz, P., and Evans, P. (1999). The awakening cortisol response and blood glucose levels. *Life sciences* 64, 931-937.

IOM, I. O. M. (2005). Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients). Washington, DC: National Academy Press.

Kudielka, B. M., Hellhammer, D. H., and Wust, S. (2009). Why do we respond so differently? Reviewing determinants of human salivary cortisol responses to challenge. *Psychoneuroendocrinology* 34, 2-18.

Kunz-Ebrecht, S. R., Kirschbaum, C., and Steptoe, A. (2004). Work stress, socioeconomic status and neuroendocrine activation over the working day. *Soc Sci Med* 58, 1523-1530.

Lacroix, M., Gaudichon, C., Martin, A., Morens, C., Mathe, V., Tome, D., and Huneau, J. F. (2004). A long-term high-protein diet markedly reduces adipose tissue without major side effects in Wistar male rats. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology* 287, R934-942.

Malina, R. M. (1988). Biological maturity status of young athletes. In: *Young athletes: biological, psychological, and educational perspectives* Champaign: Human Kinetics, 121-140.

Martens, M. J., Rutters, F., Lemmens, S. G., Born, J. M., and Westerterp-Plantenga, M. S. (2010). Effects of single macronutrients on serum cortisol concentrations in normal weight men. *Physiology & Behavior* 101, 563-567.

Matsudo, V. K. R., and Matsudo, S. M. (1991). Validade da auto-avalição na determinação da maturação sexual. *Rev Bras Ciência e Movimento* 5, 18-35.

Minetto, M. A., Lanfranco, F., Tibaudi, A., Baldi, M., Termine, A., and Ghigo, E. (2008). Changes in awakening cortisol response and midnight salivary cortisol are sensitive markers of strenuous training-induced fatigue. *Journal of endocrinological investigation* 31, 16-24.

Pruessner, J. C., Wolf, O. T., Hellhammer, D. H., Buske-Kirschbaum, A., von Auer, K., Jobst, S., Kaspers, F., and Kirschbaum, C. (1997). Free cortisol levels after awakening: a reliable biological marker for the assessment of adrenocortical activity. *Life sciences* 61, 2539-2549.

Schlotz, W., Hellhammer, J., Schulz, P., and Stone, A. A. (2004). Perceived work overload and chronic worrying predict weekend-weekday differences in the cortisol awakening response. *Psychosomatic medicine* 66, 207-214.

Schmidt-Reinwald, A., Pruessner, J. C., Hellhammer, D. H., Federenko, I., Rohleder, N., Schurmeyer, T. H., and Kirschbaum, C. (1999). The cortisol response to awakening in relation to different challenge tests and a 12-hour cortisol rhythm. *Life sciences* 64, 1653-1660.

Tanner, J. M. (1962). *Growth at Adolescence*. 2nd ed Oxford, Blackwell.

Thorland, W. G., Johnson, G. O., Tharp, G. D., Fagot, T. G., and Hammer, R. W. (1984). Validity of anthropometric equations for the estimation of body density in adolescent athletes. *Medicine and science in sports and exercise* 16, 77-81.

Tsigos, C., and Chrousos, G. P. (2002). Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *Journal of psychosomatic research* 53, 865-871.

Vicennati, V., Ceroni, L., Gagliardi, L., Gambineri, A., and Pasquali, R. (2002). Comment: response of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis to high-protein/fat and high-carbohydrate meals in women with different obesity phenotypes. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 87, 3984-3988.

WHO, de Onis, M., Onyango, A. W., Borghi, E., Siyam, A., Nishida, C., and Siekmann, J. (2007). Development of a growth reference for school-aged children and adolescents. *Bulletin of the World Health Organization* 85, 660-667.

Wust, S., Wolf, J., Hellhammer, D. H., Federenko, I., Schommer, N., and Kirschbaum, C. (2000). The cortisol awakening response - normal values and confounds. *Noise & health* 2, 79-88.

SEGUNDO MANUSCRITO

Concentração salivar de cortisol em praticantes de biribol

Concentração salivar de cortisol em praticantes de biribol

Wederley Alexandre Januário¹; Marcia Carvalho Garcia¹; Ramon Perez Garcia²;
Ricardo Luís Fernandes Guerra² Regina Célia Spadari¹

¹Departamento de Biociências; ²Departamento de Ciências do Movimento Humano,
Campus Baixada Santista, Universidade Federal de São Paulo, Santos SP.

Autor para correspondência

Profa. Dra. Regina Célia Spadari

Departamento de Biociências,

Avenida Ana Costa no. 95 Vila Matias, Santos, SP, CEP 11060-001

E-mail: regina.spadari@unifesp.br

Telefone: +55 13 3878 3794

Suporte financeiro: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); Projeto de Reestruturação e Expansão das Universidades Federais (REUNI)

Resumo

Introdução: Esporte brasileiro, o biribol foi criado para fins recreativos e educativos, mas, atualmente, está organizado em uma liga que promove campeonatos. Em competições esportivas, vários mecanismos são acionados para garantir o suporte fisiológico para o desempenho do atleta, uma reação que pode ser comparada à resposta de estresse. O cortisol vem sendo estudado como modulador desta resposta, uma vez que estimula a mobilização de substratos energéticos e o estado de alerta, além de iniciar e finalizar a reação de estresse. O objetivo deste estudo foi avaliar a concentração salivar de cortisol antes e após jogos das finais da liga nacional de biribol. Métodos: Participaram 24 praticantes com idade média de $32,9 \pm 1,3$ anos, cujas equipes fazem parte das séries A e B da liga. A massa corporal e estatura foram determinadas e amostras de saliva foram coletadas imediatamente antes e após o jogo final do campeonato. Os dados foram comparados utilizando análise de variância (ANOVA) de uma via seguida do teste de Tukey. Valores de $p < 0,05$ indicaram diferença significativa entre os grupos. Resultados: Nos praticantes da série A, a concentração salivar de cortisol estava mais alta após o jogo comparada às concentrações obtidas antes do jogo ($12,00 \pm 2,10$ vs. $6,30 \pm 0,82$ nmol/L; respectivamente; $p < 0,05$). Na série B, não houve diferença significativa entre as concentrações salivares de cortisol medidas antes e após o jogo ($9,20 \pm 2,10$ vs. $7,70 \pm 0,81$ nmol/L; respectivamente, $p > 0,05$). Os dados sugerem que o aumento na concentração salivar de cortisol após o jogo final de um campeonato pode estar associado à disputa pelo resultado, sendo necessários outros estudos para comprovar esta hipótese.

Palavras-chave: esportes, estresse, atletas.

Abstract

Introduction: biribol was created in Brazil for recreational and educational purposes as an adaptation of volleyball to the aquatic environment. It's played in a swimming pool of 4 x 8 m, 1.30 m deep, divided by a net. Each team has four players. Currently biribol teams are organized into a league that promotes championships. In sports competitions, several mechanisms are activated to ensure physiological support for the athlete performance, a reaction that can be compared to the stress response. Cortisol has been studied as a modulator of this response, since it stimulates the mobilization of energy substrates and alertness, as well as starts and finalizes the stress response. The **objective** of this study was to evaluate salivary cortisol concentrations before and after final games of the Biribol National League. **Methods:** 24 male (32.9 ± 1.3 year-old) biribol players, whose teams are part of A and B series participated in this study. Body mass and height were measured and saliva samples were collected immediately before and after the game. Data were compared using one-way analysis of variance (ANOVA) and the Tukey test. Values of p lower than 0.05 indicated significant difference between groups. **Results:** In the players of the series A team, the salivary cortisol concentration was higher after the game than before the game (12.00 ± 2.10 vs. 6.30 ± 0.82 nmol / L, respectively, $p < 0.05$), whereas in series B team, there was no significant difference in the salivary cortisol concentrations measured before and after the game (9.20 ± 2.10 vs. 7.70 ± 0.81 nmol / L, respectively, $p > 0.05$). The data suggest that the increase in salivary cortisol concentration after the final game of a championship can be associated with the fight for the game outcome. However; further studies are needed to confirm this hypothesis.

Keywords: sports, stress, athletes.

Introdução

Idealizado na década de 1960, o biribol foi criado com finalidade recreativa e educativa, a partir da adaptação do voleibol ao meio aquático⁽¹⁾. Esporte genuinamente brasileiro, o biribol é praticado em uma piscina de 4 x 8 m tendo 1,30 m de profundidade, dividida por uma rede, apoiada em postes de sustentação. Cada time é composto por quatro jogadores. Em jogos oficiais as partidas são compostas de três ou cinco *sets*, de até vinte e um pontos cada, apresentando grande variação na duração dos jogos⁽¹⁾.

Em competições esportivas a homeostase do atleta é desafiada, desencadeando assim a reação de estresse, ou seja, ocorre a ativação tanto do eixo hipotálamo-hipófise-córtex suprarrenal (HPA) quanto do sistema nervoso simpático-medula da suprarrenal. Estes mecanismos provocam aumento das concentrações plasmáticas de glicocorticóides, bem como das catecolaminas: noradrenalina e adrenalina. Os efeitos combinados desses hormônios do estresse incluem ativação do sistema cardiovascular e mobilização de substratos energéticos garantindo assim o suporte fisiológico para uma melhor performance física e psicológica⁽²⁾.

Entre estes hormônios, o cortisol vem sendo estudado como principal componente da resposta de estresse. É o hormônio responsável pelo início e fim da reação de estresse. Na percepção do agente estressor, com aumento da ativação do eixo HPA, há aumento da concentração de cortisol, que, em altas concentrações promove *feedback* negativo ao eixo HPA, finalizando a resposta⁽³⁾. O cortisol tende a aumentar com a intensidade e duração do exercício, bem como o nível de preparo dos atletas^(4, 5). O cortisol também aumenta no plasma em situações de ameaça ou

desafio ⁽⁶⁾. Este hormônio mobiliza estoques de energia e aumenta o alerta, a cognição e a atividade motora, o que contribui para o desempenho do atleta⁽⁷⁾.

Dentre os métodos de análise do cortisol, a saliva oferece uma alternativa não invasiva e livre de estresse em relação ao sangue, de modo que nos últimos anos, a análise da concentração salivar de cortisol em atletas tem sido o método de eleição ^(8, 9).

Apesar de o biribol ser uma modalidade idealizada, praticada e aperfeiçoada no Brasil há vários anos, não há na literatura científica brasileira e internacional referências específicas que possam auxiliar seus praticantes ou profissionais envolvidos com este esporte a obterem informações sobre a resposta de estresse durante as competições de biribol.

O objetivo deste estudo foi avaliar a concentração salivar de cortisol em praticantes de biribol antes e após os jogos finais da liga nacional de biribol das séries A e B.

Métodos:

Sujeitos: Participaram deste estudo 24 praticantes, com idade de $32,9 \pm 1,3$ anos, os quais faziam parte de equipes de biribol participando de campeonatos das séries A e B. O critério de inclusão dos voluntários foi estarem devidamente registrados como atletas da Liga Nacional de Biribol, assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e, não estarem fazendo uso de fármacos que poderiam interferir nas concentrações salivares dos compostos a serem analisados.

Avaliações antropométricas: As medidas de massa corporal (MC) e estatura (E) foram realizadas em balança antropométrica (Filizola®, São Paulo, Brasil), com precisão de 100 g e 0,1cm, respectivamente⁽¹⁰⁾.

Coleta e análise das amostras: Os voluntários foram orientados verbalmente e por escrito, por uma pessoa treinada, sobre como coletar as amostras de saliva. Estas foram coletadas imediatamente antes e após o jogo, que teve início a partir das 14 horas de um domingo. As coletas foram feitas utilizando-se salivettes® (Sarstedt, Numbrecht, Alemanha). Após a coleta, as amostras foram acondicionadas em caixas térmicas (Adarve®, São Paulo, Brasil), a 0°C, até serem transportadas ao laboratório. Os salivettes® contendo as amostras foram centrifugados a 3000 rpm, 4°C, por 20 min, e as amostras de saliva foram aliqüotadas em microtubos e acondicionadas em *freezer* (- 20°C) até o momento das análises.

No dia da análise, as amostras foram descongeladas, e analisadas por método imunoenzimático específico para cortisol salivar, utilizando *kits* comerciais (Salimetrics LLC, StateCollege, USA).

Análise estatística: Os resultados são apresentados como médias seguidas do erro padrão da média (epm) ou como resultados individuais. Para as comparações entre as médias utilizou-se a análise de variância (ANOVA) de uma via seguida do teste de Tukey ou teste t de *Student*. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. A existência de correlação entre concentração salivar de cortisol após os jogos e o resultado do jogo (ganhar X perder) foi avaliada por meio da análise de correlação de Pearson. Os resultados foram analisados utilizando-se o programa estatístico GraphPad Prism (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA).

Resultados:

As características antropométricas e físicas dos jogadores de biribol são apresentadas na Tabela 1. Ambos os grupos apresentaram idade, altura, massa corporal e índice de massa corpórea similares. A média do IMC dos praticantes de biribol da série A foi de 29.34 ± 1.25 e da série B 28.12 ± 1.19 , a qual os classifica em sobrepeso.

As concentrações salivares de cortisol medidas antes dos jogos, que tiveram início as 14 horas, não foram diferentes entre os praticantes das séries A ($6,30 \pm 0,82$ nmol/l) e B ($7,70 \pm 0,81$ nmol/l). Os jogos de biribol tem duração de aproximadamente 60 min. Nos praticantes da série A, as concentrações salivares de cortisol foram mais altas após o jogo do que antes do jogo ($12,00 \pm 2,10$ vs. $6,30 \pm 0,82$ nmol/l; respectivamente; $p < 0,05$). No entanto, nos praticantes da série B não houve diferença significativa entre as concentrações salivares de cortisol obtidas após e antes do jogo ($9,20 \pm 2,10$ vs. $7,70 \pm 0,81$ nmol/l; respectivamente) (Figura 1).

-local de inserção da tabela e figura.

Discussão:

Modalidades esportivas tais como o biribol, a capoeira, o futebol de salão e a peteca são práticas recentes e genuinamente brasileiras. Entretanto, a prática destes esportes ainda é pouco difundida no Brasil, contribuindo para a escassez de dados de avaliação clínica e física de seus atletas praticantes.

Os dados coletados neste trabalho pioneiro revelaram que os praticantes de biribol apresentaram índice de massa corpórea (IMC) que os classificam como sobrepeso ⁽¹¹⁾, enquanto que praticantes de outros esportes, como voleibol e futebol de salão, em geral, apresentam IMC que os classifica como eutrófico ⁽¹²⁻¹⁴⁾. Deve-se levar em conta, no entanto, que o biribol é um esporte praticado em meio aquático, o que amenizaria os efeitos do sobrepeso sobre a performance. Note-se também que a idade média destes praticantes ($32,9 \pm 1,3$ anos) é mais elevada, quando comparada à média de idade de atletas de outros esportes, tais como o voleibol ($25,0 \pm 4,0$ anos) ⁽¹³⁾ e o futsal ($24,7 \pm 6,4$ anos) ⁽¹⁴⁾.

O cortisol, hormônio do estresse, desempenha um papel central na resposta fisiológica e comportamental a desafios físicos ⁽¹⁵⁾ ou psicológicos e ambientais ⁽¹⁶⁾, com o aumento da ativação do eixo HPA, que estimula a síntese e liberação deste hormônio pelo córtex da glândula suprarrenal ⁽¹⁷⁾. Sua concentração plasmática apresenta variação diária, de acordo com um ritmo circadiano, que se caracteriza por maiores concentrações pela manhã, diminuindo ao longo do dia, e atingindo as mais baixas concentrações por volta de meia-noite. Este ritmo pode ser influenciado por eventos comuns a vida diária e por eventos que ameacem a integridade física ou psicológica ⁽¹⁵⁾, ou até mesmo pela condição socioeconômica do indivíduo ⁽¹⁸⁾.

A prática de esportes, competitiva ou não, desencadeia a resposta de estresse. O cortisol promove a mobilização de substratos energéticos que dão suporte à atividade física relacionada a esta prática. Além disso, durante competições, soma-se à demanda física, o estresse psicológico, de modo que, em geral, a concentração plasmática ou salivar de cortisol encontra-se mais alta ao final do evento ⁽¹⁹⁾. Acredita-se que este aumento contribui para o desempenho dos atletas ⁽⁴⁾. No entanto, não há, na literatura, registros da resposta do cortisol em praticantes de biribol.

Os resultados aqui apresentados mostram que houve aumento das concentrações salivares de cortisol dos praticantes de biribol que disputaram a final da série A, com concentrações pós-jogo maiores em relação aos valores pré-jogo. Estes resultados estão de acordo com os relatados em atletas de shogi⁽²⁰⁾, espécie de xadrez muito praticado no Japão. Foi demonstrado também maior concentração de cortisol em atletas de rugby após competição ⁽¹⁹⁾. A magnitude da resposta do cortisol pode depender da intensidade e duração do jogo, bem como o nível de treinamento dos atletas, sua capacidade para mobilizar reservas energéticas e sua condição psicológica ^(5, 21).

Não houve correlação entre o resultado do jogo e as concentrações salivares de cortisol (coeficiente de correlação de Pearson = 0,084, $p = 0,689$, $n = 24$). Estes dados estão de acordo com alguns estudos que relataram resultados semelhantes em atletas de luta livre⁽²²⁾, tênis⁽²³⁾, lutadores de judô⁽²⁴⁾, jogadores de basquete⁽²⁵⁾, embora outros tenham demonstrado que as concentrações foram maiores em vencedores em comparação com os perdedores em competições de luta livre⁽²⁶⁾ e de judô⁽²⁷⁾. A razão para esta discrepância pode estar relacionada ao

estresse físico causado pela participação em eventos esportivos e pelo estresse psicológico induzido pela competição ⁽²⁰⁾.

As equipes que disputaram a final de série B apresentaram concentrações salivares de cortisol similares entre o pré e pós-jogo. Entretanto, há um fato que merece ser ressaltado, as duas equipes que disputaram a final desta série subiram para a série A, independente do resultado do jogo, o que provavelmente reduziu o componente psicológico, atenuando a resposta de estresse. Uma limitação deste trabalho é que não foram avaliados o tempo de jogo, a motivação ou ansiedade dos jogadores.

Se a resposta do cortisol aumenta antes do evento, comparada a um dia de repouso, esta é denominada resposta antecipatória do cortisol, que também pode estar relacionada ao resultado final do evento esportivo ⁽²⁷⁻³⁰⁾. A concentração salivar de cortisol em dia de repouso não foi avaliada nos atletas de biribol, mas, as concentrações obtidas antes do jogo foram similares à concentração salivar de cortisol em um dia de repouso em atletas de triatlón avaliados no mesmo horário ⁽⁴⁾, sugerindo que não houve resposta antecipatória ao jogo nestes atletas. Estes dados estão de acordo com um estudo que demonstrou que não houve resposta antecipatória em jogadores de basquete ⁽²⁵⁾.

Os dados aqui apresentados permitem sugerir que o aumento na concentração salivar de cortisol após o jogo final de um campeonato pode estar associado à disputa pelo resultado, sendo necessários outros estudos para comprovar esta hipótese.

Agradecimentos: os autores agradecem ao CNPq e ao REUNI pelo suporte financeiro, e aos jogadores de biribol que aceitaram participar deste estudo, bem como à Liga Nacional de Biribol, que permitiu o acesso aos jogadores.

Nota de rodapé: este trabalho é parte da dissertação de mestrado de Wederley Alexandre Januário, do Programa de Pós-Graduação Interdisciplinar em Ciências da Saúde, da Universidade Federal de São Paulo.

Tabela 1. Média \pm epm das características antropométricas de jogadores de biribol das séries A e B da Liga Nacional de Biribol.

N	série	idade (anos)	altura (m)	MC (Kg)	IMC (Kg/m ²)
13	A	34.0 \pm 2.4	1.90 \pm 0.02	105.5 \pm 4.2	29.34 \pm 1.25
11	B	31.7 \pm 0.8	1.87 \pm 0.02	98.4 \pm 4.3	28.12 \pm 1.19

MC - massa corporal; IMC - índice de massa corporal; n – número de jogadores

Figura 1.

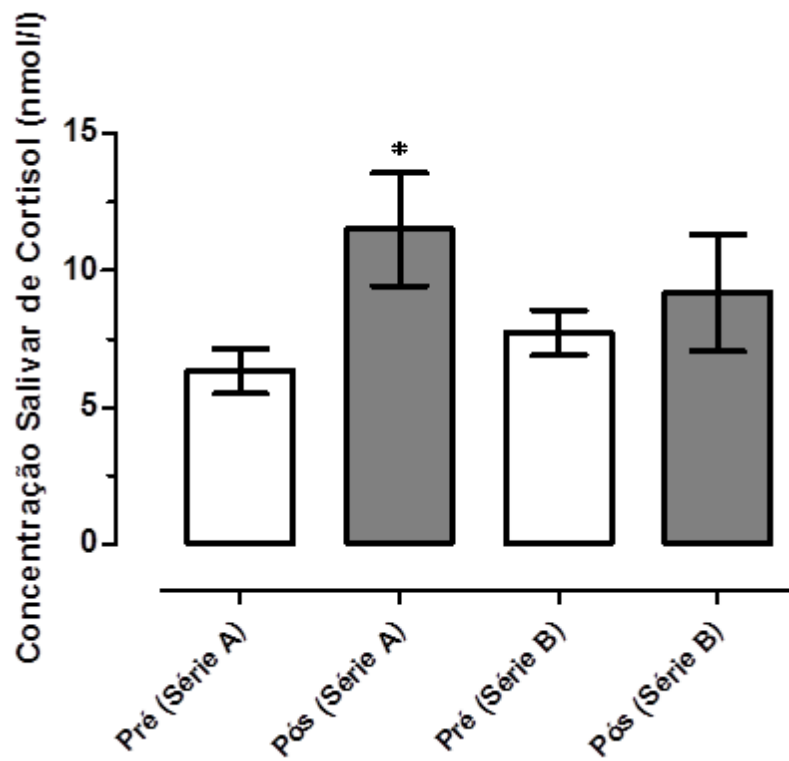


Figura 1. Média \pm epm das concentrações salivares de cortisol de atletas de biribol pré (\pm 14h) e pós (\pm 15h) jogos finais da série A (n = 13) e série B (n = 12).

Referências:

1. Montoro P. História do Biribol. 2005; Available from: http://www.educarede.org.br/educa/index.cfm?pg=galeria_de_arte.detalhe_texto&id_galeria=32&id_arte=1635&id_comunidade=1.
2. Stuempfle KJ, Nindl BC, Kamimori GH. Stress hormone responses to an ultraendurance race in the cold. *Wilderness & environmental medicine*. 2010;21(1):22-7. Epub 2010/07/02.
3. Sapolsky RM, Romero LM, Munck AU. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine reviews*. 2000;21(1):55-89. Epub 2000/03/04.
4. Balthazar CH, Garcia MC, Spadari-Bratfisch RC. Could salivary concentrations of cortisol and testosterone be predictors of performance in a professional triathlon competition? *Stress*. 2011.
5. Snegovskaya V, Viru A. Steroid and pituitary hormone responses to rowing: relative significance of exercise intensity and duration and performance level. *European journal of applied physiology and occupational physiology*. 1993;67(1):59-65. Epub 1993/01/01.
6. Selye H. A syndrome produced by diverse noxious agents. *Nature*. 1936;138(1):32.
7. Osterberg K, Karlson B, Hansen AM. Cognitive performance in patients with burnout, in relation to diurnal salivary cortisol. *Stress*. 2009;12(1):70-81. Epub 2008/10/28.
8. Kirschbaum C, Hellhammer DH. Salivary cortisol in psychoneuroendocrine research: recent developments and applications. *Psychoneuroendocrinology*. 1994;19(4):313-33. Epub 1994/01/01.
9. Gatti R, De Palo EF. An update: salivary hormones and physical exercise. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 2011;21(2):157-69. Epub 2010/12/07.

10. Lohman TG, Roche AF, Martorell R. Anthropometric standardization reference manual. Human Kinetics Books. 1998.
11. WHO, de Onis M, Onyango AW, Borghi E, Siyam A, Nishida C, et al. Development of a growth reference for school-aged children and adolescents. Bulletin of the World Health Organization. 2007;85:660-7.
12. do Nascimento OV, Alencar FH. Perfil do estado nutricional do atleta adulto. Fitness Performance Journal. 2007;6(4):241-6.
13. Nunes N, Kalozdi R, Amaral SL, Proença JE, Braga AMW, Alves MJNN, et al. Efeito do treinamento físico, baseado em avaliação ergoespiométrica, na capacidade aeróbica de atletas de voleibol - treinamento físico em voleibolistas. Revista de Educação Física/UEM. 2000;11(1):27-32.
14. Avelar A, Santos KM, Cyrino ES, Carvalho FO, Dias RMR, Altimari LR, et al. Perfil antropométrico e desempenho motor de atletas paranaenses de futsal de elite. Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano. 2008;10(1):76-80.
15. McEwen BS. Protective and damaging effects of stress mediators. The New England journal of medicine. 1998;338(3):171-9. Epub 1998/01/15.
16. Steptoe A, Kunz-Ebrecht S, Owen N, Feldman PJ, Willemsen G, Kirschbaum C, et al. Socioeconomic status and stress-related biological responses over the working day. Psychosomatic medicine. 2003;65(3):461-70. Epub 2003/05/24.
17. Tsai ML, Ko MH, Chang CK, Chou KM, Fang SH. Impact of intense training and rapid weight changes on salivary parameters in elite female Taekwondo athletes. Scandinavian journal of medicine & science in sports. 2010. Epub 2010/05/12.
18. Garcia MC, de Souza A, Bella GP, Grassi-Kassisse DM, Tacla AP, Spadari-Bratfisch RC. Salivary cortisol levels in Brazilian citizens of distinct socioeconomic and cultural levels. Annals of the New York Academy of Sciences. 2008;1148:504-8. Epub 2009/01/06.

19. Elloumi M, Ben Ounis O, Tabka Z, Van Praagh E, Michaux O, Lac G. Psychoendocrine and physical performance responses in male Tunisian rugby players during an international competitive season. *Aggressive behavior*. 2008;34(6):623-32. Epub 2008/07/16.
20. Hasegawa M, Toda M, Morimoto K. Changes in salivary physiological stress markers associated with winning and losing. *Biomed Res*. 2008;29(1):43-6. Epub 2008/03/18.
21. Keizer H, Janssen GM, Menheere P, Kranenburg G. Changes in basal plasma testosterone, cortisol, and dehydroepiandrosterone sulfate in previously untrained males and females preparing for a marathon. *International journal of sports medicine*. 1989;10 Suppl 3:S139-45. Epub 1989/10/01.
22. Salvador A, Simón V, Suay F, Llorens L. Testosterone and cortisol responses to competitive fighting in human males: A pilot study. *Aggressive behavior*. 1987;13:9-13.
23. Booth A, Shelley G, Mazur A, Tharp G, Kittok R. Testosterone, and winning and losing in human competition. *Hormones and behavior*. 1989;23(4):556-71. Epub 1989/12/01.
24. Salvador A, Suay F, Cantón E. Efectos del resultado de una competición y de la categoría deportiva sobre los cambios en la testosterona y el cortisol séricos. *Actas del II congreso nacional del colegio oficial de psicólogos*. 1990:49-54.
25. Gonzalez-Bono E, Salvador A, Serrano MA, Ricarte J. Testosterone, cortisol, and mood in a sports team competition. *Hormones and behavior*. 1999;35(1):55-62. Epub 1999/03/02.
26. Elias M. Serum cortisol, testosterone and testosterone-binding globulin responses to competitive fighting in human males. *Aggressive behavior*. 1981;7:215-24.
27. Suay F, Salvador A, Gonzalez-Bono E, Sanchis C, Martinez M, Martinez-Sanchis S, et al. Effects of competition and its outcome on serum testosterone,

cortisol and prolactin. *Psychoneuroendocrinology*. 1999;24(5):551-66. Epub 1999/06/23.

28. Filaire E, Bernain X, Sagnol M, Lac G. Preliminary results on mood state, salivary testosterone:cortisol ratio and team performance in a professional soccer team. *European journal of applied physiology*. 2001;86(2):179-84. Epub 2002/02/02.

29. Passelergue P, Lac G. Saliva cortisol, testosterone and T/C ratio variations during a wrestling competition and during the post-competitive recovery period. *International journal of sports medicine*. 1999;20(2):109-13. Epub 1999/04/06.

30. Salvador A, Suay F, Gonzalez-Bono E, Serrano MA. Anticipatory cortisol, testosterone and psychological responses to judo competition in young men. *Psychoneuroendocrinology*. 2003;28(3):364-75. Epub 2003/02/08.

CONCLUSÕES

Os resultados aqui apresentados permitem concluir que:

- (1) A resposta do cortisol ao acordar não é alterada por refeições mistas, ricas em proteínas ou carboidratos, mas é aumentada pela ingestão de desjejum rico em lipídios.
- (2) No biribol, o aumento na concentração salivar de cortisol após o jogo final de um campeonato pode estar associado à disputa pelo resultado.
- (3) A concentração salivar de cortisol pode ser utilizada como parâmetro indicativo de desempenho esportivo, desde que seguidas as orientações para coleta das amostras. Por ser um método não invasivo, tende a se firmar como um teste de excelência no esporte.

Referências

1. Bernard C. Lês phenomenes de la vie. Paris: Libraire JB Lailliere et Fils. 1878;1:879-93.
2. Cannon WB. Stress and strains of homeostasis. The American Journal of the Medical Sciences. 1935;189:1-12.
3. Selye H. The general adaptive syndrome and disease of adaptation. J Clin Endocrinol. 1946;6:117-230.
4. Selye H. The stress of life 1956. 324 p.
5. Selye H. A syndrome produced by diverse nocuous agents. Nature. 1936;138(1):32.
6. Meerson FZ. Adaptation, stress and prophylaxis. In: Berlim S-V, editor. 1984.
7. Griffin JF. Stress and immunity: a unifying concept. Veterinary immunology and immunopathology. 1989;20(3):263-312. Epub 1989/02/01.
8. Van de Kar LD, Richardson-Morton KD, Rittenhouse PA. Stress: neuroendocrine and pharmacological mechanisms. Methods and achievements in experimental pathology. 1991;14:133-73. Epub 1991/01/01.
9. Franks BD. What is stress? Quest. 1994;46:1-7.
10. Day TA. Defining stress as a prelude to mapping its neurocircuitry: no help from allostasis. Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry. 2005;29(8):1195-200. Epub 2005/10/11.
11. Tsigos C, Chrousos GP. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. Journal of psychosomatic research. 2002;53(4):865-71. Epub 2002/10/16.
12. Pruessner JC, Wolf OT, Hellhammer DH, Buske-Kirschbaum A, von Auer K, Jobst S, et al. Free cortisol levels after awakening: a reliable biological marker for the assessment of adrenocortical activity. Life sciences. 1997;61(26):2539-49. Epub 1997/01/01.

13. Wust S, Wolf J, Hellhammer DH, Federenko I, Schommer N, Kirschbaum C. The cortisol awakening response - normal values and confounds. *Noise & health*. 2000;2(7):79-88. Epub 2003/04/12.
14. Clow A, Thorn L, Evans P, Hucklebridge F. The awakening cortisol response: methodological issues and significance. *Stress*. 2004;7(1):29-37. Epub 2004/06/19.
15. Edwards S, Evans P, Hucklebridge F, Clow A. Association between time of awakening and diurnal cortisol secretory activity. *Psychoneuroendocrinology*. 2001;26(6):613-22. Epub 2001/06/19.
16. Williams E, Magid K, Steptoe A. The impact of time of waking and concurrent subjective stress on the cortisol response to awakening. *Psychoneuroendocrinology*. 2005;30(2):139-48. Epub 2004/10/09.
17. Thorn L, Hucklebridge F, Evans P, Clow A. Suspected non-adherence and weekend versus week day differences in the awakening cortisol response. *Psychoneuroendocrinology*. 2006;31(8):1009-18. Epub 2006/08/01.
18. Lasikiewicz N, Hendrickx H, Talbot D, Dye L. Exploration of basal diurnal salivary cortisol profiles in middle-aged adults: associations with sleep quality and metabolic parameters. *Psychoneuroendocrinology*. 2008;33(2):143-51. Epub 2007/12/25.
19. Steptoe A, Kunz-Ebrecht SR, Brydon L, Wardle J. Central adiposity and cortisol responses to waking in middle-aged men and women. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2004;28(9):1168-73. Epub 2004/06/24.
20. Kudielka BM, Broderick JE, Kirschbaum C. Compliance with saliva sampling protocols: electronic monitoring reveals invalid cortisol daytime profiles in noncompliant subjects. *Psychosomatic medicine*. 2003;65(2):313-9. Epub 2003/03/26.
21. Kunz-Ebrecht SR, Kirschbaum C, Steptoe A. Work stress, socioeconomic status and neuroendocrine activation over the working day. *Soc Sci Med*. 2004;58(8):1523-30. Epub 2004/02/05.

22. Wright CE, Steptoe A. Subjective socioeconomic position, gender and cortisol responses to waking in an elderly population. *Psychoneuroendocrinology*. 2005;30(6):582-90. Epub 2005/04/06.
23. Dockray S, Bhattacharyya MR, Molloy GJ, Steptoe A. The cortisol awakening response in relation to objective and subjective measures of waking in the morning. *Psychoneuroendocrinology*. 2008;33(1):77-82. Epub 2007/11/13.
24. Dettenborn L, Rosenloecher F, Kirschbaum C. No effects of repeated forced wakings during three consecutive nights on morning cortisol awakening responses (CAR): a preliminary study. *Psychoneuroendocrinology*. 2007;32(8-10):915-21. Epub 2007/08/08.
25. Schlotz W, Hellhammer J, Schulz P, Stone AA. Perceived work overload and chronic worrying predict weekend-weekday differences in the cortisol awakening response. *Psychosomatic medicine*. 2004;66(2):207-14. Epub 2004/03/25.
26. Garcia MC, Souza AL, Bella GP, Grassi-Kassisse DM, Tacla AP, Spadari-Bratfisch RC. Salivary cortisol levels in Brazilian citizens of distinct socioeconomic and cultural levels. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2008;1148:504-8.
27. Schulz P, Kirschbaum C, Pruessner JC, Hellhammer D. Increased free cortisol secretion after awakening in chronically stressed individuals due to work overload. *Stress Medicine*. 1998;14:91-7.
28. Federenko I, Wust S, Hellhammer DH, Dechoux R, Kumsta R, Kirschbaum C. Free cortisol awakening responses are influenced by awakening time. *Psychoneuroendocrinology*. 2004;29(2):174-84. Epub 2003/11/08.
29. Fries E, Dettenborn L, Kirschbaum C. The cortisol awakening response (CAR): facts and future directions. *International journal of psychophysiology : official journal of the International Organization of Psychophysiology*. 2009;72(1):67-73. Epub 2008/10/16.
30. Puche PP. El sistema deportista y sus capacidades. *STADIUM*. 1993;27(159):13-6.

31. McEwen BS, Stellar E. Stress and the individual. Mechanisms leading to disease. Archives of internal medicine. 1993;153(18):2093-101. Epub 1993/09/27.
32. Goldstein DS. Catecholamines and stress. Endocrine regulations. 2003;37(2):69-80. Epub 2003/08/23.
33. Hug M, Mullis PE, Vogt M, Ventura N, Hoppeler H. Training modalities: over-reaching and over-training in athletes, including a study of the role of hormones. Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism. 2003;17(2):191-209. Epub 2003/06/06.
34. Jakerman P. Base fisiológica de la puesta a punto. STADIUM. 1994;28(163):19.
35. Vining RF, McGinley RA. The measurement of hormones in saliva: possibilities and pitfalls. Journal of steroid biochemistry. 1987;27(1-3):81-94. Epub 1987/01/01.
36. Kirschbaum C, Hellhammer DH. Salivary cortisol in psychoneuroendocrine research: recent developments and applications. Psychoneuroendocrinology. 1994;19(4):313-33. Epub 1994/01/01.
37. Duclos M, Corcuff JB, Arsac L, Moreau-Gaudry F, Rashedi M, Roger P, et al. Corticotroph axis sensitivity after exercise in endurance-trained athletes. Clinical endocrinology. 1998;48(4):493-501. Epub 1998/06/26.
38. Ferreira HA. Intervenção fisioterapêutica reduz o índice de estresse em vestibulandos. Dissertação de Mestrado, Unicamp. 2009.
39. Petrelluzzi KF, Garcia MC, Petta CA, Grassi-Kassisse DM, Spadari-Bratfisch RC. Salivary cortisol concentrations, stress and quality of life in women with endometriosis and chronic pelvic pain. Stress. 2008;11(5):390-7. Epub 2008/09/19.
40. Bella GP, Garcia MC, Vasconcelos DC, Grassi-Kassisse DM, Spadari-Bratfisch RC. Influência da assistência requerida por crianças com paralisia cerebral nos índices de estresse dos cuidadores. XXIII Reunião Anual da Federação de

Sociedades de Biologia Experimental (FeSBE), 20 a 23 de agosto, Águas de Lindóia, São Paulo. 2008.

41. Balthazar CH, Garcia MC, Spadari-Bratfisch RC. Could salivary concentrations of cortisol and testosterone be predictors of performance in a professional triathlon competition? *Stress*. 2011.

42. Garcia MC. Concentração Plasmática de Hormônios Indicadores de Overttraining em Jogadores de Futebol. Dissertação de Mestrado, Unicamp. 2004.

43. Hansen AM, Garde AH, Persson R. Sources of biological and methodological variation in salivary cortisol and their impact on measurement among healthy adults: a review. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. 2008;68(6):448-58. Epub 2008/07/09.

Anexo 1 – Comitê de Ética



Universidade Federal de São Paulo
Escola Paulista de Medicina

Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital São Paulo

São Paulo, 10 de julho de 2012

CEP Nº: 0020/12HE

Ilmo(a) Sr(a)

Pesquisador(a): Waderley Alexandre Januário

Departamento: Biociências

Pesquisadores associados: Regina Célia Spadari; Marcia Carvalho Garcia

Parêcer Consultativo do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo

TÍTULO DO ESTUDO: O Cortisol Salivar como Biomarcador de Estresse no Esporte

Fundamentação e racional: O aumento acentuado da concentração plasmática e salivar de cortisol que ocorre após acordar é chamado de resposta do cortisol ao acordar (RCA). Alterações da RCA são propostas como indicadores do estado de estresse.

Metodologia: Participaram 16 jogadores de basquete, com $17,31 \pm 0,27$ anos. Foram definidas composições de jejum de modo que em cada dia predominasse um tipo de macronutriente, e em um dia a composição fosse equilibrada. Amostras de saliva foram coletadas imediatamente, 30 e 60 min após acordar, mantendo-se o indivíduo em jejum durante todo o período ou permitindo a ingestão de uma das refeições após a primeira coleta. Os dados foram comparados por ANOVA de duas vias, seguida de teste de Bonferroni e pelo teste t de Student. Diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. A RCA foi maior após ingestão de refeição rica em lipídios do que quando os atletas permaneceram em jejum ou ingeriram dietas com outras composições ($p = 0,0001$, grau de liberdade = 48, teste t de Student). Conclui-se que um jejum rico em lipídios altera a RCA em jogadores de basquete, mas que refeições com composição equilibrada ou ricas em carboidratos ou proteínas não alteram esta resposta e, portanto, estas podem ser ingeridas no período entre as coletas de saliva para determinação da

Objetivo do estudo: Verificar se a ingestão de alimentos durante a primeira hora após acordar altera a Resposta do Cortisol ao Acordar. Verificar se a composição desta refeição matinal altera a Resposta do Cortisol ao Acordar.

Risco e Benefícios: Estudo não envolve risco, leve desconforto ocasionado pela coleta de saliva

Comentários: Dissertação já defendida, porém, não apresenta impedimento ético para o protocolo apresentado.
APROVADO

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo ANALISOU e APROVOU o projeto de pesquisa referenciado.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Atenciosamente,

Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo

Anexo 2 – Colaborações



24 a 27 de agosto de 2011
Rio de Janeiro - RJ

CERTIFICADO

Certificamos que o resumo 02.134 – NITRIC OXIDE SCAVENGE PROPERTY OF RUTHENIUM COMPOUNDS IN RAT AORTIC RINGS., autoria de MOURA, A. L.; CONRADO, R. M.; JANUÁRIO, W. A.; FRANCO, D. W.; TFOUNI, E.; SPADARI, R. C., foi apresentado na XXVI Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental - FeSBE, realizado de 24 a 27 de agosto de 2011 no Rio de Janeiro, RJ.



Para verificar a autenticidade deste certificado, acesse www.fesbe.org.br/certificados