



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

CAROLINA PERES DA SILVA

**EFEITO DA ATIVIDADE ESPORTIVA SOBRE
MARCADORES IMUNOLÓGICOS EM SALIVA DE
CRIANÇAS E ADOLESCENTES**

Londrina
2017

CAROLINA PERES DA SILVA

**EFEITO DA ATIVIDADE ESPORTIVA SOBRE
MARCADORES IMUNOLÓGICOS EM SALIVA DE
CRIANÇAS E ADOLESCENTES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Estadual de Londrina em nível de Mestrado, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Solange de Paula Ramos.

Londrina
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Silva, Carolina Peres.

Efeito da atividade esportiva sobre marcadores imunológicos em saliva de crianças e adolescentes / Carolina Peres Silva. - Londrina, 2017.
55f.

Orientador: Solange de Paula Ramos.

Coorientador: Cassia Cilene Dezan Garbelini.

Dissertação (Mestrado Profissional em Odontologia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, 2017.

Inclui bibliografia.

1. Interleucina- 6 - Tese. 2. Fator de necrose tumoral- alfa - Tese. 3. Criança - Tese. 4. Adolescente - Tese. I. Ramos, Solange de Paula. II. Garbelini, Cassia Cilene Dezan. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. IV. Título.

CAROLINA PERES DA SILVA

**EFEITO DA ATIVIDADE ESPORTIVA SOBRE MARCADORES
IMUNOLÓGICOS EM SALIVA DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Estadual de Londrina em nível de Mestrado, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Solange de Paula
Ramos
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^a. Dr^a. Cássia Cilene Dezan Garbelini
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^a. Dr^a. Carla Cristiane da Silva
Universidade Estadual do Norte do Paraná -
UENP

Londrina, 17 de março de 2017.

*Dedico este trabalho ao meu irmão Danilo
Peres da Silva, que com sua garra, inteligência
e determinação me inspira,
“TAMO JUNTO!”*

(in memoriam)

AGRADECIMENTOS

À Deus, que pela sua graça e misericórdia, faz de mim filha amada e cuidada. Que me apoia, me põe no colo, me ensina, me ouve e me guarda, que me estende a mão todas as vezes que caio.

Aos meus pais, Nicacio e Lilian, e irmãos, Lucas, Danilo e Paulo Eduardo por todos os ensinamentos, incentivos, carinhos e conselhos, cada um de sua maneira.

Ao meu noivo e futuro esposo Rodrigo, pelo companheirismo, cuidado e dedicação. Seu apoio e incentivo foram fundamentais para mais essa realização.

A minha orientadora e coordenadora Prof^ª. Dr^ª. Solange de Paula Ramos, por ser alguém tão humana, competente, querida e respeitável. Minha sincera admiração e agradecimento por me transmitir seus conhecimentos, agradeço à Deus por colocar você no meu caminho.

A minha coorientadora Prof^ª. Dr^ª. Cássia Cilene Dezan Garbelini por aceitar a participação deste projeto.

Aos professores da banca examinadora de qualificação e defesa, Carla Cristiane da Silva, Eduardo Vignoto Fernandes, Cássia Cilene Dezan Garbelini, Lúcio Flávio Soares Caldeira e Fábio Yuzo Nakamura por cederem do seu tempo para leitura do meu trabalho e colaborarem com o meu crescimento profissional.

A Secretaria de Esportes e da Educação de Cambé e aos professores das escolinhas de voleibol de Cambé, Reginaldo Mazzola e Eduardo Fiel, por serem tão receptivos e disponibilizarem seu tempo e sua equipe para que todas as coletas fossem realizadas. Por me permitirem conhecer o projeto maravilhoso que fazem.

A todos os colegas de Mestrado em Odontologia, Mestrado em Educação Física e graduandos por colaborarem com todas as coletas e análises necessárias, em especial aos colegas, Roberta Gava Pratti, Natália Miya Yoshida,

Igor Renan Zen, Lúcio Flávio Soares Caldeira, Júlio César Molina Côrrea, Raíssa Fernandes, Lorena Beatriz Scudeller e Flávia Campos.

A amiga que tive a oportunidade de fazer durante esta jornada, Roberta Gava Pratti que me ajudou em todas as etapas deste trabalho e com certeza, vou levar comigo esta amizade,

Ao Centro de Educação Física e Esporte (CEFE) e ao Centro de Ciências Biológicas (CCB), em especial o departamento de Histologia da Universidade Estadual de Londrina por disponibilizar todos os aparelhos e materiais necessários para a realização deste trabalho,

A todos os professores, alunos de graduação, funcionários e aqueles que a seu modo, contribuíram para a realização deste trabalho,

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos e ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq) e Fundação Araucária pelo financiamento da pesquisa.

MUITO OBRIGADA!

**" O coração do homem planeja o seu caminho, mas o Senhor lhe dirige os passos".
(Pv 16:9)**

SILVA, Carolina Peres. **Efeito da atividade esportiva sobre marcadores imunológicos em saliva de crianças e adolescentes**. 2017. 55 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

RESUMO

Níveis séricos elevados de IL-6 e TNF α apresentam relação com o baixo nível de aptidão física, excesso de peso e risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares. A prática de atividade física regular possui efeito anti-inflamatório, no qual níveis séricos de TNF α e IL-6 apresentam correlação negativa com a aptidão física. Sabendo que a utilização do método de coleta salivar representa uma boa ferramenta para a coleta em crianças, o objetivo deste estudo foi avaliar a concentração salivar de IL-6 e TNF α e correlacionar com o IMC, aptidão cardiorrespiratória e potência de membros inferiores, risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares e saúde bucal, em meninas praticantes de voleibol. O segundo objetivo foi avaliar o efeito da prática de atividade esportiva sobre os níveis salivares destas citocinas. Dois cortes foram realizados: 1) transversal (n=120) relacionado com a associação entre os níveis de mediadores inflamatórios, medidas antropométricas, testes físicos e saúde bucal; 2) longitudinal (n=63) sobre o efeito do treinamento de voleibol sobre os mediadores inflamatórios salivares. No estudo longitudinal, as meninas completaram as oito semanas de treino e foram submetidas a testes de aptidão física e coletas de saliva no início e após oito semanas de treino. A associação entre a concentração salivar de IL-6, TNF α , a altura de salto e o VO₂máx., com as demais variáveis de estudo foram determinadas por meio de análise de regressão linear multivariada. A correlação entre as variáveis que permaneceram significantes no ajuste *stepwise* e as variáveis preditoras foram determinados pelo teste de correlação de Spearman. As variáveis de estudo foram consideradas significantes se $p < 0,05$. Vinte e oito meninas (23,4%) apresentaram excesso de peso. Os níveis medianos de IL-6 e TNF α não se alteraram nas diferentes faixas de IMC, tempo de treino e tempo de prática, risco cardiovascular e índice de CPOD. Os níveis de IL-6 e TNF α não foram significativamente diferentes nas crianças sob risco de desenvolvimento de doença cardiovascular. Foi observada correlação moderada entre a concentração de IL-6 e TNF α salivares ($r=0,34$; $p<0,001$), correlação negativa fraca entre IL-6 e altura de salto vertical ($r=-0,28$, $p<0,005$) e correlação moderada entre a concentração de TNF α salivar e idade ($r=0,33$; $p<0,001$). O VO₂máx. apresentou associação com a altura de salto, idade e tempo de treino semanal. O salto vertical foi influenciado pela idade, IMC, tempo de treino semanal, VO₂máx. e tempo de prática da escolinha de voleibol. Os resultados demonstram que níveis salivares de IL-6 e TNF α apresentam correlação, que a IL-6 está relacionada com a aptidão física e que o treinamento promove o aumento da concentração de TNF α salivar, mas isto não está associado ao desempenho físico.

Palavras-chave: Interleucina-6. Fator de necrose tumoral - alfa. Criança. Adolescente.

SILVA, Carolina Peres. **Effect of sports activity on immunological markers on saliva in children and adolescents**. 2017. 55 p. Dissertation (Master's Degree in Dentistry) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

ABSTRACT

Elevated serum levels of IL-6 and TNF α are related to low physical fitness, overweight and obesity, and risk of developing cardiovascular diseases. The practice of regular physical activity has anti-inflammatory effects, in which serum levels of TNF α and IL-6 present a negative correlation with physical fitness. Knowing that the use of the salivary collection method represents a good tool for the collection in children, the aim of this study was to evaluate the salivary concentration of IL-6 and TNF α and to correlate with BMI, cardiorespiratory fitness and potency of lower limbs, risk of development of cardiovascular diseases and oral health in girls practicing volleyball. The second objective was to evaluate the effect of sports activity on the salivary levels of these cytokines. Two cuts were made: 1) transversal (n = 120) of the association between levels of inflammatory mediators, anthropometric measures, physical tests and oral health; 2) longitudinal (n = 63) of the effect of volleyball training on salivary inflammatory mediators. In the longitudinal study, the girls completed the eight weeks of training and underwent physical fitness tests and saliva collections at baseline and after eight weeks of training. The association between the salivary concentration of IL-6, TNF α , jump height and VO₂max., with the other study variables were determined by multivariate linear regression analysis. The correlation between the variables that remained significant in the stepwise adjustment and the predictor variables were determined by the Spearman correlation test. Study variables were considered significant if $p < 0.05$. Twenty eight athletes (23.4%) were overweight. The median levels of IL-6 and TNF α did not change in the different BMI ranges, training time and practice time, cardiovascular risk, and DMFT index. Levels of IL-6 and TNF α were not significantly different in children at risk of developing cardiovascular disease. A moderate correlation was observed between IL-6 and salivary TNF α concentration ($r = 0.34$, $p < 0.001$), weak negative correlation between IL-6 and vertical jump height ($r = -0.28$, $p < 0.005$), and moderate correlation between salivary TNF α concentration and age ($r = 0.33$, $p < 0.001$). The VO₂max. presented association with jump height, age and weekly training time. The vertical jump was influenced by age, BMI, weekly training time, VO₂max. and practice time of the volleyball school. The results demonstrate that salivary levels of IL-6 and TNF α correlate, that IL-6 is related to physical fitness and that the training promotes an increase in the concentration of salivary TNF α , but this is not associated with physical performance.

Keywords: Interleukin-6. Tumor necrosis factor - alpha. Child. Adolescent.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características da amostra em relação ao tempo de participação no programa de treinamento (n=120).....	27
Tabela 2. Análise de regressão linear multivariada da concentração de IL -6 salivar e variáveis de estudo (n=120).....	28
Tabela 3. Análise de regressão linear multivariada da concentração de TNF α salivar e variáveis de estudo	29
Tabela 4. Análise multivariada de VO ₂ máx. e altura de salto em relação às demais variáveis de estudo	30
Tabela 5. Características das meninas que completaram as oito semanas de treinamento e concentrações salivares de IL-6 e TNF α	31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IL-6	Interleucina – 6
TNF α	Da sigla em inglês, <i>Tumor necrosis factor - alpha</i>
IMC	Índice de massa corporal
VO _{2MÁX}	Consumo máximo de oxigênio
Kg	Quilograma
m	Metro
CPO-D	Dentes permanentes cariados, perdidos e obturados
ceo-d	Dentes decíduos cariados, extraídos e obturados
OMS	Organização Mundial da Saúde
ml	Mililitro
pg	Picograma
min	Minuto
g	Giros
°C	Graus Celsius

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	15
2.1	Objetivos específicos	15
3	ARTIGO	16
	Resumo	18
	Introdução.....	19
	Material e métodos	21
	Resultados	26
	Discussão	31
	Referências bibliográficas	36
4	CONCLUSÃO	40
	REFERÊNCIAS	41
	APÊNDICES	43
	APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	44
	APÊNDICE B - Questionário.....	48
	ANEXOS	50
	ANEXO A - Normas de apresentação à revista Pediatric Exercise Science	51
	ANEXO B - Aprovação do Comitê de Ética em pesquisa envolvendo seres humanos.....	54

1 INTRODUÇÃO

O comportamento sedentário, comum no mundo moderno, potencializa o risco de desenvolver a obesidade. A obesidade é uma doença crônica complexa de etiologia multifatorial que envolve aspectos genéticos, hormonais, alimentares e ambientais (da Cunha Nascimento *et al.* 2015). Crianças e adolescentes podem passar mais de cinco horas por dia com o uso de aparelhos eletrônicos, colaborando para um estilo de vida inativo (Kenney e Gortmarker 2016). Por outro lado, o estímulo a prática de atividade física habitual pode reduzir a prevalência de obesidade em crianças e adolescentes e reduzir o risco de desenvolvimento de doenças crônicas (ABESO 2016).

A obesidade infantil é um grande desafio para a saúde pública do século XXI. Os índices aumentaram radicalmente nas últimas décadas, acometendo não só países de alta renda, como também países de baixa e média renda. Segundo a Organização Mundial da Saúde, em 2013, cerca de 42 milhões de crianças em idade pré-escolar estavam com sobrepeso (WHO 2014).

O grande impacto desta situação é a maior probabilidade destas crianças se tornarem adultos obesos, além de estarem mais predispostos a desenvolver outros problemas de saúde, como diabetes tipo II, doenças cardiovasculares, doença pulmonar obstrutiva crônica, síndrome da apnéia obstrutiva do sono, síndrome metabólica e alguns tipos de câncer. O excesso de peso possui forte associação com a morte prematura (Hotamisligil 2006; Ouchi *et al.* 2011; Rook e Dalglish 2011; Gleeson *et al.* 2011; Jackson *et al.* 2017). Em 2012, 3,6% dos casos de câncer diagnosticados em todo o mundo foram atribuíveis ao sobrepeso e obesidade (Arnold *et al.* 2015).

Um estado inflamatório crônico de baixo grau é o fator chave relacionado a obesidade, que envolve níveis elevados de marcadores inflamatórios circulantes, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF α) e a interleucina-6 (IL-6) (Gleeson *et al.* 2011; Lee, Lee e Choue 2013). Sabe-se que o tecido adiposo não apenas armazena a energia, mas também funciona como um órgão endócrino-metabólico que secreta citocinas e adipocinas, que atuam no processo inflamatório (Galic, Oakhill e Steinberg 2010; Lee, Lee e Choue 2013; Cinkajzlova, Mraz e Haluzik 2017). O acúmulo de gordura visceral libera maior quantidade de marcadores inflamatórios

por grama de peso do que o tecido adiposo abdominal (Camitini, Armeno e Mazza 2016).

O aumento de adipócitos ou pré-adipócitos produzem sinais quimiotáticos que levam ao recrutamento de células do sistema imune, principalmente de macrófagos classicamente ativados e linfócitos. Estas células por sua vez, liberam adipocinas pró-inflamatórias que contribuirão para o desenvolvimento de comorbidades relacionadas a obesidade (Canello *et al.* 2005; Wellen e Hotamisligil 2005; da Cunha Nascimento *et al.* 2015).

A IL-6 e o TNF α são citocinas pró-inflamatórias sintetizadas principalmente por macrófagos e tem como função a indução da inflamação sistêmica (Ouchi *et al.* 2011; Cinkajzlova, Mraz e Haluzik 2017). Níveis séricos elevados de IL-6 apresentam relação com a baixa aptidão física, sobrepeso e obesidade, risco de desenvolvimento de hipertensão, doenças cardiovasculares e resistência à insulina, em crianças e adolescentes (Falaschetti, Hingorani *et al.* 2010, Hosick, McMurray *et al.* 2013, De Filippo, Rendina *et al.* 2015, Nielsen, Quist *et al.* 2016). Em adultos, a IL-6 e o TNF α possuem correlação positiva com o índice de massa corpórea, sendo que a perda de peso pode contribuir para a redução dos níveis destas citocinas (Khaodhiar *et al.* 2004; Nicklas *et al.* 2004; Canello *et al.*, 2005; Aron-Wisnewsky *et al.* 2009; Camitini, Armeno e Mazza 2016).

Desta forma, a prática de atividade física regular possui efeitos anti-inflamatórios, o que corrobora para a diminuição da obesidade com consequente diminuição da liberação de citocinas (Gleeson *et al.* 2011; Lopes *et al.* 2016). Índices de TNF α e IL-6 apresentam-se menores quando há um nível de aptidão aeróbio elevado (Hosick *et al.* 2013). Um programa de 12 semanas de treino resistido foi capaz de reduzir marcadores inflamatórios em meninas obesas (Lopes *et al.* 2016), possivelmente através da redução da gordura visceral e a inibição da infiltração de macrófagos no tecido adiposo (Kawanishi *et al.* 2010).

Atualmente, a avaliação dos níveis salivares destas citocinas inflamatórias pode representar uma nova ferramenta diagnóstica, uma vez que representa um método de coleta fácil, o que não exige profissionais qualificados, indolor, não invasivo, passível de ser realizado múltiplas vezes e, por essas vantagens, torna-se um método bastante adequado para grupos pediátricos (Klein Kremer *et al.* 2014). No entanto, o ambiente oral e a imunidade local podem influenciar o nível de citocinas salivares (Desai e Mathews 2014). Considerando ausência de informações

a respeito da relação entre IMC, aptidão cardiorrespiratória e potência de membros inferiores, risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares e saúde bucal, com a concentração salivar de IL-6 e TNF α , o objetivo deste estudo foi avaliar a correlação entre estas variáveis em crianças e adolescentes do sexo feminino matriculadas em um programa de atividade esportiva de voleibol. O segundo objetivo é avaliar o efeito da prática esportiva sobre os níveis salivares destas citocinas.

2 OBJETIVOS

Verificar a correlação entre IMC, aptidão física, risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares e saúde bucal com IL-6 e TNF α salivares em crianças e adolescentes do sexo feminino praticantes de voleibol. O segundo objetivo é avaliar o efeito da prática de atividades físicas sobre os níveis salivares destas citocinas.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os níveis de citocinas inflamatórias em saliva de crianças e adolescentes;
- Correlacionar os níveis de citocinas salivares com história prévia de cárie dentária;
- Correlacionar os níveis de citocinas com a altura de salto vertical;
- Correlacionar os níveis de citocinas com VO₂máx. estimado pelo teste de Léger;
- Correlacionar os níveis de citocinas com o risco de doença cardiovascular estimado pelo VO₂máx.;
- Avaliar o efeito de oito semanas de treinamento sobre os níveis salivares de citocinas.

3 ARTIGO

Artigo formatado para Pediatric Exercise Science

Níveis salivares de IL-6 e TNF α em meninas de 7 a 17 anos praticantes de voleibol

Peres da Silva, Carolina¹

Pratti, Roberta Gava¹

Zen, Igor Renan¹

Scudeller, Lorena Beatriz²

Côrrea, Júlio César Molina³

Fernandes, Raíssa Isabele da Silva⁴

Seixas, Gabriela Fleury⁵

Silva, Carla Cristiane⁶

Dezan Garbelini, Cássia Cilene⁷

Ramos, Solange de Paula⁸

¹ Mestrando em Odontologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina.

² Graduanda em Odontologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina.

³ Mestrando em Educação Física, Centro de Educação Física e Esportes, Universidade Estadual de Londrina.

⁴ Graduanda em Educação Física, Universidade Norte do Paraná.

⁵ Departamento de Odontologia, Universidade Norte do Paraná.

⁶ Departamento de Educação Física, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual do Norte do Paraná.

⁷ Departamento de Medicina Oral e Odontologia Infantil, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina.

⁸ Departamento de Histologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina.

Autor de correspondência:

Solange de Paula Ramos

Rodovia Celso Garcia Cid PR 445 km 380

Campus Universitário – Jardim Portal de Versalhes I

CEP: 86055-900 Londrina – Paraná – Brasil

e-mail: ramossolange@uel.br

Telefone: 55 43 3371-4327

Resumo

Objetivo: avaliar a concentração salivar de IL-6 e TNF α e correlacionar com o IMC, aptidão cardiorrespiratória e potência de membros inferiores, risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares e saúde bucal, em meninas praticantes de voleibol. **Método:** 1) estudo transversal (n=120) da associação entre os níveis de mediadores inflamatórios, medidas antropométricas, testes físicos e saúde bucal; 2) estudo longitudinal (n=63) do efeito de oito semanas de treinamento sobre os mediadores inflamatórios salivares. **Resultados:** Os níveis medianos de IL-6 e TNF α não apresentaram correlação com IMC, volume de treino e experiência prévia no esporte, risco cardiovascular e CPOD. Foi observada correlação moderada entre a concentração de IL-6 e TNF α salivares ($r=0,34$; $p<0,001$), correlação negativa fraca entre IL-6 e altura de salto vertical ($r=-0,28$, $p<0,005$) e correlação moderada entre a concentração de TNF α salivar e idade ($r=0,33$; $p<0,001$). Após oito semanas, os níveis de TNF α aumentaram, enquanto apenas o grupo ≤ 12 meses apresentou redução da concentração de IL-6. **Conclusão:** Os resultados demonstram que níveis salivares de IL-6 e TNF α apresentam correlação, que a IL-6 está relacionada com a altura de salto e que o treinamento promove o aumento da concentração de TNF α salivar, mas isto não está associado ao desempenho físico.

Palavras-chave: Interleucina- 6, Fator de necrose tumoral- alfa, voleibol, criança, adolescente.

Introdução

Níveis séricos elevados das citocinas inflamatórias Interleucina-6 (IL-6) e Fator de Necrose Tumoral-alfa (TNF α), em crianças e adolescentes, estão associados ao índice de massa corporal (IMC) elevado, baixo nível de atividade física habitual, baixa aptidão cardiorrespiratória e baixa potência muscular (Tam, Garnett et al. 2010, Steene-Johannessen, Kolle et al. 2013, Zabaleta, Velasco-Gonzalez et al. 2014, De Filippo, Rendina et al. 2015, Gaines, Vgontzas et al. 2016, Nielsen, Quist et al. 2016). A concentração sérica elevada destes mediadores inflamatórios é também considerada um fator de risco futuro para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, diabetes tipo II e síndrome metabólica em crianças e adolescentes (De Filippo, Rendina et al. 2015, Valle, Martos et al. 2015). Por outro lado, a prática de atividades esportivas pode reduzir a concentração sérica destes mediadores (Eliakim, Portal et al. 2013, Nemet, Oren et al. 2013, Roberts, Izadpanah et al. 2013, Steene-Johannessen, Kolle et al. 2013, Nielsen, Quist et al. 2016), sugerindo que a melhora da aptidão física contribua para redução do risco de desenvolvimento de doenças inflamatórias crônicas em crianças e adolescentes.

Estudos avaliando níveis séricos de IL-6 e TNF α , em crianças e adolescentes, correlacionaram negativamente a presença destes mediadores com índices de aptidão física aeróbia e anaeróbia e o IMC (Thomas and Williams 2008, Hosick, McMurray et al. 2013, Sobieska, Gajewska et al. 2013, Mendes, Andaki et al. 2016). Níveis elevados de IL-6 e TNF α foram observados em indivíduos com baixa aptidão física ou que apresentaram baixo nível de atividade física habitual (Thomas and Williams 2008, Sobieska, Gajewska et al. 2013, Mendes, Andaki et al. 2016). Em crianças e adolescentes, a força muscular (apreensão manual, saltos verticais e *sit-up test*) apresentou correlação negativa fraca com os níveis de IL-6 e TNF α (Steene-Johannessen, Kolle et al. 2013). Níveis elevados de IL-6 também estão associados a baixos índices de desempenho físico na bateria de testes Eurofit, aplicada em crianças e adolescentes (Sobieska, Gajewska et al. 2013). Por outro lado, um estudo avaliando crianças obesas e não obesas, com alto e baixo consumo máximo de oxigênio (VO $_2$ máx.– aptidão cardiorrespiratória) demonstrou que ambos os grupos de crianças com alto VO $_2$ máx. apresentaram menores níveis de IL-6 circulante (Hosick, McMurray et al. 2013). Estes estudos sugerem que níveis elevados de citocinas inflamatórias circulantes estão correlacionados a baixa aptidão física, mas

não está estabelecido se estes índices podem ser avaliados também em amostras de saliva.

Um estudo em crianças e adolescentes de cinco a 13 anos, envolvendo treinamento físico (esportes coletivos e jogos de corrida) com duração de uma hora, duas vezes por semana, durante três meses, demonstrou uma redução significativa dos níveis séricos de mediadores inflamatórios, exceto IL-6 (Nemet, Oren et al. 2013). Outro estudo, envolvendo crianças com sobrepeso e obesas, submetidas a treinos aeróbios e de resistência muscular, durante oito meses, também demonstrou uma redução significativa dos níveis de TNF α , sem efeito em IL-6 (Nascimento, Alves et al. 2016). Porém, outro estudo em meninas de 13 a 17 anos, com sobrepeso e obesas, submetidas a um protocolo de 12 semanas de treinamento aeróbico e resistido, não demonstrou alterações nos níveis séricos de IL-6 e TNF α (Lopes, Leite et al. 2016). No entanto, um estudo realizado em adolescentes praticantes de voleibol demonstrou que sete semanas de treino foram capazes de reduzir os níveis séricos de IL-6 (Eliakim, Portal et al. 2013). Considerando a variedade de protocolos de exercício e os resultados em relação ao nível de citocinas, ainda não está esclarecido se a prática de atividade esportiva em contra turno escolar pode modular ambas as citocinas.

Embora seja observada uma associação entre mediadores inflamatórios sanguíneos e aptidão física, a correlação destes mediadores em saliva ainda não está esclarecida. Também não estão esclarecidos se estes mediadores, presentes em saliva, são modulados pela prática de atividade física. O uso de amostras de saliva para monitoramento de fatores de risco para doenças inflamatórias em crianças e adolescentes pode ser um método que apresenta praticidade, baixo custo e aceitabilidade devido a coleta ser não invasiva (Desai e Mathews 2014, Prasad, Tyagi et al. 2016). Os exames complementares utilizando amostras de saliva podem ter aplicabilidade no diagnóstico e monitoramento de indivíduos, como alternativa a coletas sanguíneas, especialmente quando muitas coletas consecutivas são requeridas, em especial em pacientes pediátricos (Rathnayake, Akerman et al. 2013, Klein Kremer, Kuzminsky et al. 2014). No entanto, a concentração de IL-6 e TNF α salivar são menores em relação a concentração sérica, e podem não apresentar uma correlação direta, dependendo do método de coleta e análise utilizado (Williamson, Munro et al. 2012, Rathnayake, Akerman et al. 2013, Hanneman, McCue et al. 2016, Prasad, Tyagi et al. 2016). A coleta de amostras de saliva ainda

é limitada pela presença de lesões bucais e dentárias. Níveis elevados de IL-6 podem ser observados na saliva de crianças portadoras de cárie dentária ativa (Riis, Granger et al. 2015, Menon, Balagopal et al. 2016).

Considerando ausência de informações a respeito da relação entre IMC, aptidão cardiorrespiratória e potência de membros inferiores, risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares e saúde bucal com concentração salivar de IL-6 e TNF α , o objetivo deste estudo é avaliar a correlação entre estas variáveis em crianças e adolescentes do sexo feminino matriculadas em um programa de atividade esportiva de voleibol. O segundo objetivo é avaliar o efeito da prática de atividades esportiva sobre os níveis salivares destas citocinas.

Material e métodos

Delineamento de estudo e sujeitos

Este estudo foi dividido em duas fases:

- 1) Estudo transversal da associação dos níveis salivares de mediadores inflamatórios com medidas antropométricas, aptidão cardiorrespiratória e potência de membros inferiores e saúde bucal;
- 2) Estudo longitudinal do efeito do treinamento de voleibol sobre os mediadores inflamatórios salivares.

Os procedimentos de estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina (parecer favorável nº 821.804) (ANEXO B).

Para o cálculo do tamanho da amostra do estudo transversal, foi considerada a concentração média de IL-6 em saliva de crianças e adolescentes descrita por Riis e Granger (2015) e variação de IL-6 de aproximadamente 80% em crianças com experiência de cárie ativa e crianças tratadas (Menon, Balagopal et al. 2016). Foi inicialmente calculado o número mínimo de 35 crianças por grupo de análise, considerando 20% de perdas no estudo longitudinal, para obtenção de um erro tipo α máximo de 5% e 80% de poder estatístico.

No estudo transversal, foram incluídas 148 meninas, com idade variando de 7 a 17 anos, matriculadas em um programa de treinamento de voleibol em horário de contra turno escolar. As meninas foram treinadas no Projeto de Escolinhas

Esportivas da Secretaria de Esportes do Município de Cambé – Paraná, Brasil. O programa atende crianças matriculadas na rede pública de ensino do Município de Cambé e é realizado durante o período letivo. As meninas foram avaliadas no primeiro mês de apresentação aos treinos, após o período de férias letivas. Foram incluídas na avaliação inicial (estudo transversal) todas as meninas que apresentaram termo de consentimento livre e esclarecido assinado pelos pais. Foram excluídas as meninas que apresentaram doenças inflamatórias crônicas, lesões de mucosa, faziam uso contínuo de medicação, diabéticas e que não pudessem realizar os testes físicos. No estudo longitudinal, as meninas foram reavaliadas após oito semanas de treinamento. Na última avaliação, foram incluídas apenas as meninas que estavam frequentando regularmente as sessões de treinamento, com até duas faltas permitidas durante a participação no programa de treino.

Avaliação antropométrica

A estatura, em centímetros, foi mensurada com auxílio de um estômetro e o peso foi avaliado com uma balança digital (Omhron HBF 514C, Omhron Health Care do Brasil, São Paulo, Brasil). O índice de massa corporal foi calculado com a fórmula $IMC = \text{massa (Kg)} / \text{altura}^2 \text{ (m)}$.

As meninas foram classificadas conforme o IMC em: muito abaixo do peso, abaixo do peso, normal, sobrepeso e obesidade conforme os critérios adotados pela Organização Mundial de Saúde para meninas entre 0 e 19 anos de idade (de Onis and Lobstein 2010).

Avaliação de saúde bucal

O índice de dentes cariados, perdidos e obturados para dentes permanentes (CPOD) foi determinado conforme os critérios descritos pela OMS (1987) (WHO, 2013). O exame bucal foi realizado com auxílio de iluminação artificial, com uso de espátulas e sondas, por três examinadores treinados (dois odontopediatras e um periodontista) e calibrados (Kappa= 0,99).

Durante o exame bucal foi avaliado a presença de lesões em tecidos moles e presença de sangramento gengival espontâneo.

Coleta de amostras de saliva

Amostras de saliva foram coletadas em repouso, antes do início dos testes físicos e do treino, após uma hora da última refeição, entre as 09:00 e 10:00 da manhã ou 14:00 e 15:00 da tarde, conforme o horário de treino. As meninas foram orientadas a enxaguar a boca durante um minuto com água potável antes da coleta. A seguir, foram orientadas a salivar espontaneamente em tubos de coleta graduados estéreis, durante dois minutos. As amostras de saliva foram imediatamente colocadas em gelo e congeladas a -20 °C antes do uso.

Ensaio imunoenzimático para determinação da concentração de IL-6 e TNF α

As amostras de saliva foram centrifugadas a 4000g, durante 5 minutos para sedimentação de restos celulares e debris em saliva. A seguir, as amostras foram submetidas a ensaio imunoenzimático, em duplicatas, para determinação da concentração salivar de IL-6 e TNF α , utilizando kits comerciais (Human IL-6 ELISA Set, cat. 555220 e Human TNF ELISA Set, cat. 555212, BD OptiEIA™, Becton e Dickinson Biosciences, Franklin Lakes, EUA).

Salto vertical com contramovimento

As meninas foram previamente familiarizadas para realizar o teste de salto com contramovimento, antes da coleta de dados. O teste de salto vertical com contramovimento foi realizado em plataforma de força (Smart jump, Fusion Sports, Summer Park, Austrália), sendo realizados três saltos consecutivos, com um minuto de intervalo. A maior altura de salto em três tentativas foi anotada. Para o teste, as crianças foram orientadas a permanecerem em posição ereta e, quando um sinal luminoso fosse aceso, deveriam agachar rapidamente com os joelhos flexionados a aproximadamente 90° e imediatamente saltar com as pernas estendidas. Os braços deveriam ser estendidos durante a fase de voo do salto, simulando o movimento de bloqueio em rede.

Teste de shuttle run de 20 m (teste de Léger)

Para estimar o consumo máximo de oxigênio (VO_2 máx.), foi aplicado o teste progressivo máximo desenvolvido por Léger & Lambert em 1982 e modificado por Léger e colaboradores em 1984 (Leger and Lambert 1982). A estimativa de VO_2 máx. foi calculada utilizando a fórmula descrita por Léger e colaboradores em 1988, para crianças de 8 a 19 anos (Leger, Mercier et al. 1988):

$$VO_2\text{máx.} = 31,024 + 3,238A - 3,248B + 0,1536AB$$

A = velocidade alcançada no último estágio alcançado

B = idade

A faixa de risco cardiovascular estimada pelo desempenho em testes de corrida para estimação de VO_2 máx. foi estipulada conforme sugerido por Ruiz e colaboradores (2016). Crianças e adolescentes com VO_2 máx. <35 mL/Kg/min, ou que não alcançaram o estágio 3 do teste de Léger foram consideradas sob risco de doenças cardiovasculares (Ruiz, Caverro-Redondo et al. 2016).

Treinamento de voleibol

As meninas foram submetidas a práticas semanais de treinamento de voleibol, realizados em duas a três sessões por semana, com duração de 120 a 180 minutos sessão, dependendo da experiência prévia da criança na prática esportiva. Os treinos foram realizados durante oito semanas consecutivas, e consistiam de 10 minutos de aquecimento com corrida em baixa intensidade, exercícios técnico-táticos específicos da categoria, exercícios aeróbicos e anaeróbicos com e sem bolas, jogos simulados e cinco minutos de alongamento ao término de cada sessão de treino. As crianças que tiveram três ou mais faltas durante o treino foram excluídas do estudo.

As meninas avaliadas no estudo longitudinal completaram as oito semanas de treino e foram submetidas a testes de salto, Léger e coleta de saliva no início e após oito semanas de treino.

Análise estatística

A distribuição de normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilks. Variáveis contínuas com distribuição normal foram expressas em média e desvio padrão. Variáveis sem distribuição normal foram expressas em medianas e quartis de 25 a 75%. Diferenças entre grupos foram avaliadas com teste de ANOVA *one-way*, seguido de pós teste de Tukey (dados paramétricos) ou teste de Kruskal-Wallis com pós teste de Dunn (dados não paramétricos). Dados categóricos foram expressos em porcentagens e avaliados pelo teste de Qui quadrado com correção de Yates ou teste exato de Fisher. A comparação entre as variáveis nos momentos pré e pós foi realizada com teste T pareado ou teste de Wilcoxon. A associação entre a concentração salivar de IL-6, TNF α , altura de salto e VO₂máx., com as demais variáveis de estudo foram determinadas por meio de análise de regressão linear múltipla. A correlação entre as variáveis que permaneceram significantes no ajuste *stepwise* da regressão linear múltipla e as variáveis preditoras foram determinados pelo teste de correlação de Spearman. As variáveis de estudo foram consideradas significantes se $p < 0,05$.

Resultados

Estudo transversal

Foram convidadas 148 meninas matriculadas no programa de voleibol, das quais 120 (81%) foram avaliadas, sendo 28 (19%) excluídas devido à ausência de apresentação do termo de consentimento, não realização de testes físicos, falta de dados completos de coleta ou falta no dia de realização dos testes físicos.

Em relação ao tempo de treinamento, as meninas foram alocadas em três grupos: iniciantes (sem experiência prévia), ≤ 12 meses (tempo mínimo de três meses e máximo de 12 meses de prática) ou > 12 meses (mínimo de 13 e máximo de 84 meses). Das 120 meninas, 24 (20%) eram iniciantes, 54 (45%) ≤ 12 meses e 42 (35%) > 12 meses.

A idade média das meninas foi $12,5 \pm 2,3$ anos, com idade mínima de 7 anos e máxima de 17 anos. Meninas dos grupos ≤ 12 meses e > 12 meses apresentaram média de idade maior em relação às iniciantes (tabela 1).

Não foram observadas alterações bucais inflamatórias e lesões de tecidos moles. O índice CPOD foi de 1.0 [0.5 – 2.5] sem diferença entre as meninas com diferentes tempos de treino. Nenhuma criança apresentou sangramento gengival espontâneo.

Em relação ao IMC, sete (05,8%) apresentaram baixo peso, 85 (70,8%) peso normal, 14 (11,7%) sobrepeso e 14 (11,7%) obesidade. A frequência de meninas em diferentes faixas de IMC foi semelhante nos grupos com diferentes tempos de treinamento (tabela 1). A altura média de salto foi $28,3 \pm 5,9$ cm sendo que as meninas que praticavam voleibol a mais de 12 meses apresentaram altura de salto maior em relação as que treinavam a menos de 12 meses e iniciantes (tabela 1).

Em relação ao teste de Léger, o estágio mediano completado foi o 03 [02 a 4,5], e a estimativa de VO_2 máx. médio de $39,8 \pm 5,0$ ml/Kg/min, sem diferenças significativas entre os grupos. De acordo com os critérios descritos por Ruiz e colaboradores (2016), 13 (10,3%) das meninas estavam sob risco de desenvolvimento de doença cardiovascular, sem diferença de frequência entre os grupos.

A concentração mediana de IL-6 foi 0,68 [0,43 – 1,13] pg/ml e de TNF α foi 0,46 [0,28 – 0,59] pg/ml, sem diferenças entre grupos (tabela 1).

Tabela 1. Características da amostra em relação ao tempo de participação no programa de treinamento (n=120).

	Iniciante	≤ 12 meses	> 12 meses
Idade (anos)	11,8 ± 2,3	12,1 ± 2,1	13,5 ± 2,1**#
CPOD	01 [0,5 – 1,5]	01 [0,5 – 2,5]	01 [0,5 – 3,0]
IMC			
Baixo	01 (04,2%)	05 (02,4%)	01 (09,3%)
Normal	17 (70,8%)	35 (78,6%)	33 (64,8%)
Sobrepeso	03 (12,5%)	08 (07,1%)	03 (14,8%)
Obesidade	03 (12,5%)	06 (11,9%)	05 (11,1%)
Número de treinos semanais	02 [02 – 02]	02 [02 – 2,5]	02 [02 – 3,5]
Tempo de treino semanal (minutos)	240 [180 – 255]	240 [210 – 240]	270 [240 -630]*
VO ₂ máx. (ml/kg/min)	39,7 ± 5,9	40,3 ± 4,4	39,4 ± 5,8
Altura de salto vertical (cm)	24,7 ± 3,7	27,2 ± 6,4	30,9 ± 5,0**#
IL-6 (pg/ml)	0,73 [0,51- 1,11]	0,66 [0,43 – 1,13]	0,53 [0,59 – 1,20]
TNFα (pg/ml)	0,44 [0,25 – 0,61]	0,43 [0,29 – 0,56]	0,48 [0,28 – 0,65]

* $p < 0,01$, ** $p < 0,01$ em relação a iniciante.

$p < 0,05$ em relação a ≤ 12 meses.

Considerando que o IMC e aptidão cardiorrespiratória estão associados aos níveis séricos de IL-6, os níveis salivares da citocina foram avaliados em relação a estas variáveis. Os níveis medianos de IL-6 não foram diferentes nas meninas de baixo peso (0,86, 0,56 – 1,84 pg/ml), normais (0,66, 0,44 – 1,13 pg/ml), com sobrepeso (0,65, 0,40 – 0,82 pg/ml) e obesas (0,72, 0,46 – 1,15 pg/ml). Os níveis de IL-6 também não foram diferentes ($p > 0,05$) entre as crianças sob risco de doenças cardiovasculares (0,83, 0,42 – 1,32 pg/ml) e com boa aptidão cardiorrespiratória (0,67, 0,43 – 1,13 pg/ml).

A análise de regressão linear multivariada, considerando a concentração salivar de IL-6 como variável de desfecho (tabela 2) demonstrou que apenas os níveis de TNFα e altura de salto vertical estavam relacionados aos níveis de IL-6. O coeficiente de correlação de Spearman demonstrou uma correlação moderada entre a concentração de IL-6 e TNFα salivares ($r=0,34$; $p < 0,001$) e uma correlação negativa entre IL-6 e altura de salto vertical ($r=-0,28$, $p < 0,005$).

Tabela 2. Análise de regressão linear multivariada da concentração de IL -6 salivar e variáveis de estudo (n=120).

	Análise multivariada		Análise multivariada ajustada	
	Coefficiente ± DP	P	Coefficiente ± DP	P
Idade	0,10 ± 0,20	0,31		
CPOD	0,03 ± 0,16	0,84		
IMC				
Baixo	-0,42 ± 0,97	0,66		
Sobrepeso	0,83 ± 0,87	0,34		
Obesidade	-0,96 ± 0,90	0,29		
Tempo de treino semanal	0,00 ± 0,02	0,65		
VO ₂ máx.	0,12 ± 0,08	0,15		
Altura de salto	-0,13 ± 0,06	0,006	-0,08 ± 0,03	0,04
TNFα	2,48 ± 0,68	0,0005	2,52 ± 0,62	0,0001
Tempo de treino				
≤ 12 meses	0,70 ± 0,70	0,31		
> 12 meses	0,19 ± 0,75	0,80		
		$r^2 = 0.26$		$r^2 = 0.23$

Os níveis medianos de TNFα não foram diferentes nas meninas de baixo peso (0,49, 0,38 – 0,66 pg/ml), normais (0,45, 0,28 – 0,62 pg/ml), com sobrepeso (0,56, 0,40 – 0,64 pg/ml) e obesas (0,30, 0,22 – 0,47 pg/ml). Os níveis de TNF também não foram significativamente diferentes entre as crianças sob risco de doenças cardiovasculares (0,49, 0,30 – 0,61 pg/ml) e com boa aptidão cardiorrespiratória (0,45, 0,28 – 0,52 pg/ml).

A análise de regressão linear multivariada, considerando a concentração salivar de TNFα como variável de desfecho (tabela 3) demonstrou que apenas a idade e os níveis de IL-6 estavam relacionados a concentração desta citocina. O coeficiente de correlação de Spearman demonstrou uma correlação moderada entre a concentração de TNFα salivar e idade ($r=0,33$; $p<0,001$).

Tabela 3. Análise de regressão linear multivariada da concentração de TNF α salivar e variáveis de estudo.

	Análise multivariada		Análise multivariada ajustada	
	Coeficiente \pm DP	<i>P</i>	Coeficiente \pm DP	<i>p</i>
Idade	0,03 \pm 0,03	0,03	0,03 \pm 0,01	0,004
CPOD	0,00 \pm 0,04	0,89		
IMC				
Baixo	-0,04 \pm 0,20	0,79		
Sobrepeso	0,14 \pm 0,14	0,30		
Obesidade	-0,05 \pm 0,14	0,73		
Tempo de treino semanal	0,00 \pm 0,01	0,71		
VO ₂ máx.	-0,01 \pm 0,01	0,54		
Altura de salto	0,01 \pm 0,01	0,55		
IL-6	0,06 \pm 0,01	0,0005	0,05 \pm 0,01	0,0005
Tempo de treino				
\leq 12 meses	-0,16 \pm 0,11	0,15		
$>$ 12 meses	-0,11 \pm 0,12	0,33		
		$r^2 = 0.28$		$r^2 = 0.18$

O VO₂máx. apresentou associação com a altura de salto, idade e tempo de treino semanal (tabela 4). A altura de salto foi influenciada pela idade, IMC, tempo de treino semanal, VO₂máx. e tempo de prática da escolinha de voleibol (tabela 4).

Tabela 4. Análise multivariada de VO₂máx. e altura de salto em relação às demais variáveis de estudo.

	Análise multivariada ajustada de VO ₂ máx.		Análise multivariada ajustada da altura de salto	
	Coeficiente ± DP	P	Coeficiente ± DP	P
Idade	-2,00 ± 0,16	<0,001	1,62 ± 0,27	0,0001
CPOD				
IMC				
Baixo				
Sobrepeso			-2,92 ± 1,32	0,03
Obesidade			-5,36 ± 1,33	0,0003
Tempo de treino semanal	0,05 ± 0,01	0,01	0,06 ± 0,00	0,03
Altura de salto	0,33 ± 0,07	0,0003	-	-
VO ₂ máx.	-	-	0,51 ± 0,11	0,0005
IL-6				
TNFα				
Tempo de treino				
≤ 12 meses			1,98 ± 1,12	0,08
> 12 meses			2,49 ± 1,19	0,03
		r ² = 0.66		r ² = 0.67

Estudo longitudinal

Após oito semanas de treinamento, 63 (52,5%) meninas concluíram as avaliações. O número de desistências das meninas iniciantes foi 20 (83,3%), 29 (53,3%) intermediárias e oito (19%) entre as praticantes avançadas. Três meninas foram excluídas da análise devido a sinais de infecções das vias respiratórias e uma apresentou parotidite. As demais crianças foram excluídas por não completarem o período de treinamento, ou faltarem em até duas sessões de treinos. Considerando que apenas quatro meninas do grupo iniciante completaram o período de treino, elas não foram incluídas na análise final.

Nas meninas que completaram o período de treinamento, a concentração mediana inicial de IL-6 foi 0,66 [0,42 – 1,24] µg/ml e na coleta final foi 0,61 [0,59 – 0,65] µg/ml, sem diferença entre os momentos ($p > 0,005$, teste de Wilcoxon). A concentração mediana de TNFα na primeira coleta foi menor 0,46 [0,2 – 0,62] em relação à segunda 1,16 [0,84 – 2,14] ($p < 0,005$, teste de Wilcoxon). Não foram

observadas diferenças significativas na idade, faixa de IMC, número de treino semanais e VO_2 máx., entre as meninas de diferentes categorias. No entanto, as meninas do grupo > 12 meses apresentaram maior tempo semanal de treino e maior altura de salto (tabela 5).

A concentração de IL-6 salivar foi reduzida do momento pré para oito semanas de treinamento apenas no grupo \leq 12 meses (tabela 5). Os níveis de TNF α aumentaram em todos os grupos após oito semanas de treinamento (tabela 5).

Tabela 5. Características das meninas que completaram as oito semanas de treinamento e concentrações salivares de IL-6 e TNF α .

	\leq 12 meses <i>n</i> = 25	> 12 meses <i>n</i> = 34
Idade (anos)	11,6 \pm 2,0	13,3 \pm 2,0 [#]
IMC		
Baixo	02 (08,0%)	01 (02,9%)
Normal	46 (64,0%)	28 (82,3%)
Sobrepeso	08 (07,1%)	03 (08,8%)
Obesidade	03 (12,0%)	02 (05,8%)
Número de treinos semanais	02 [02 – 02]	02 [02 – 3,5]
Tempo de treino semanal (minutos)	240 [180 – 240]	270 [240 -630]*
VO_2 máx. inicial (ml/kg/min)	41,2 \pm 4,9	40,1 \pm 5,3
VO_2 máx. oito semanas (ml/kg/min)	40,6 \pm 7,7	42,2 \pm 7,5
<i>P</i> (Inicial X oito semanas)	0,79	0,001
Salto vertical inicial (cm)	26,4 \pm 6,4	31,5 \pm 4,9 ^{**}
Salto vertical oito semanas	26,7 \pm 7,5	33,5 \pm 5,3
<i>P</i> (Inicial X oito semanas)	0,43	0,002
IL-6 (pg/ml) inicial	0,78 [0,48 – 1,32]	0,50 [0,39 – 1,13]
IL-6 (pg/ml) oito semanas	0,60 [0,59 – 0,62]	0,61 [0,59 – 0,71]
<i>P</i> (Inicial X oito semanas)	0,02	1,00
TNF α (pg/ml) inicial	0,33 [0,59 – 0,54]	0,48 [0,28 – 0,65]
TNF α oito semanas	1,43 [0,84 – 2,12]	1,00 [0,72 – 1,21]
<i>P</i> (inicial X oito semanas)	0,001	0,001

* $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$ em relação ao grupo \leq 12 semanas.

Discussão

Os principais achados do estudo demonstram que os níveis de IL-6 e TNF α em saliva apresentam correlação entre si. No entanto, as concentrações salivares de citocinas não estão associadas a história de cárie dentária (fator local), e a índices de saúde associados ao risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (sobrepeso e obesidade e baixa aptidão cardiorrespiratória). Os resultados do presente estudo também sugerem que a melhora da aptidão cardiorrespiratória não

apresentou correlação com os níveis salivares de citocinas inflamatórias. As principais variáveis associadas a aptidão cardiorrespiratória foram o tempo de prática de esporte e a idade. No entanto, em relação ao salto vertical, foi verificada a influência da idade e IMC, do tempo de prática do esporte e uma correlação negativa com a IL-6. Esses resultados demonstram que a presença de citocinas inflamatórias em saliva de crianças e adolescentes não está correlacionada com a capacidade 33 aeróbica, mas o aumento de IL-6 pode estar correlacionado a menor potência de membros inferiores.

A IL-6 pode ser detectada em saliva de pacientes saudáveis, com um pico após o despertar matutino (Izawa, Miki et al. 2013). A fim de evitar esta variação, as amostras de saliva foram coletadas após as 9h da manhã. A IL-6 é uma citocina com efeitos pleiotróficos, apresentando atividade anti-inflamatória e anabólica sobre os tecidos musculares, mas com efeitos pró-inflamatórios quando associada a lesão tecidual e a secreção de outras citocinas inflamatórias, tais como a TNF α e IL-1 β (Garbers, Hermanns et al. 2012). Níveis elevados de IL-6 podem ser observados na saliva de pacientes diabéticos, (Desai and Mathews 2014, Lopez del Valle, Ocasio-Lopez et al. 2015) e sob risco de desenvolvimento de doença coronariana inflamatória (Kosaka, Kokubo et al. 2014). Para evitar vieses, crianças diabéticas não foram incluídas no estudo. Mas, o IMC foi incluído devido a sua associação com doenças cardiovasculares e baixo nível de atividade física habitual. Além disso, a associação de IL-6 salivar com doenças inflamatórias pode estar enviesada pela presença de focos inflamatórios bucais, como cáries ativas e doenças periodontais, comuns a estes pacientes (Kosaka, Kokubo et al. 2014, Lopez del Valle, Ocasio-Lopez et al. 2015). No presente estudo, todas as crianças foram avaliadas por cirurgiões-dentistas pediatras e um periodontista, previamente treinados e calibrados, a fim de excluir crianças com sinais de lesões bucais inflamatórias e determinar se a presença de cárie dentária poderia alterar os níveis de IL-6 e TNF α .

Não foi observada associação da concentração salivar de citocinas inflamatórias e a aptidão cardiorrespiratória e a faixa de risco de doenças cardiovasculares estimada por baixo VO₂máx., sugerida por Ruiz e colaboradores (2016). Um estudo em crianças norueguesas demonstrou que o VO₂máx. não apresentou correlação com os níveis séricos de IL-6 e TNF α (Steene-Johannessen, Kolle et al. 2013), corroborando os achados em saliva. Por outro lado, um estudo em crianças normais e obesas, com alta e baixa aptidão cardiorrespiratória demonstrou

que um baixo VO_2 máx. está associado a níveis mais elevados de IL-6 circulantes, independente do IMC (Hosick, McMurray et al. 2013). No entanto, não observamos associação de IL-6 com a faixa de risco de doenças cardiovasculares estabelecida em relação ao VO_2 máx., o nível aptidão cardiorrespiratória e o IMC. Isso sugere 34 a IL-6 presente em saliva não é um bom marcador de risco cardiovascular e aptidão aeróbica em crianças e adolescentes. Isso pode estar associado a baixa correlação entre os níveis de IL-6 e TNF α observados entre amostras de saliva e soro de meninas (11 a 17 anos) (Riis, Out et al. 2014). Estes resultados sugerem que os níveis destas citocinas em saliva não estão correlacionadas com a adaptação aeróbica ao exercício e ao IMC.

A força muscular em membros inferiores, avaliada no teste de saltos verticais, apresentou fraca correlação com os níveis salivares de IL-6. A força muscular também apresentou correlação negativa com os níveis séricos de IL-6, observados por Steene-Johannessen e colaboradores (2013) em crianças e adolescentes. Em pacientes adultos e idosos, é observada uma correlação negativa fraca a moderada entre medidas de força muscular (testes de apreensão manual, extensão isométrica de pernas, flexão e extensão de joelhos) com os níveis séricos de IL-6 (da Cunha Nascimento, de Sousa et al. 2015, Andrews, Trupin et al. 2016, Gubelmann, Vollenweider et al. 2016). A redução de força muscular em presença de aumento da concentração de IL-6 está associada a uma inflamação crônica de baixa intensidade provocada pelo acúmulo de gordura visceral ou presença de doenças inflamatórias crônicas (da Cunha Nascimento, de Sousa et al. 2015, Andrews, Trupin et al. 2016, Gubelmann, Vollenweider et al. 2016). Um dos mecanismos que podem estar associados a redução de força e massa muscular na presença de níveis elevados de IL-6 é que a exposição crônica a esta citocina provoca a ativação de vias de sinalização moleculares de proteólise (via ativação da via ubiquitina-proteasoma) e inibição da síntese proteica (via inibição da sinalização mTOR-Akt e PGC-1 α), resultando em perda de massa muscular em estudos experimentais e epidemiológicos (White, Puppa et al. 2012, Narsale and Carson 2014, Andrews, Trupin et al. 2016).

Um estudo em adolescentes (16 ± 1.4 anos) praticantes de voleibol, durante um período pré-competitivo, demonstrou que sete semanas de treinamento promoveram aumento significativo da altura de salto vertical e VO_2 máx. e promovem redução significativa dos níveis séricos de IL-6 (Eliakim, Portal et al. 2013). A

associação negativa de altura de salto no estudo transversal, e a redução dos níveis de IL-6 nas meninas com ≤ 12 meses de treinamento sugerem que os níveis de 35 salivares podem apresentar associação negativa com a potência de membros inferiores em crianças e adolescentes.

Estima-se que 15,3% das crianças e adolescentes brasileiras estejam com sobrepeso e 8,9% sejam obesos (Todendi, Possuelo et al. 2016). Na amostra inicial (n=120 meninas), cerca de 28% das meninas apresentaram sobrepeso e obesidade. Em crianças de seis a 19 anos com sobrepeso e obesidade, são observados níveis séricos aumentados de IL-6 e TNF α (Caminiti, Armeno et al. 2016, Nascimento, Alves et al. 2016, Todendi, Possuelo et al. 2016). O aumento de IL-6 circulante em meninas obesas em relação às não obesas parece ser evidente após a puberdade (Tam, Garnett et al. 2010). No entanto, esta correlação foi observada apenas para o TNF α no presente estudo. Ao contrário do esperado, não observamos correlação entre os níveis salivares de IL-6 com IMC e o desempenho aeróbico. No entanto, uma das limitações do presente estudo, foi a ausência de medidas sanguíneas, em comparação com as medidas salivares.

Estudos em crianças com intervenções nutricionais, associadas ou não à prática de exercícios físicos, com objetivo de redução de IMC, demonstraram que a diminuição de IMC está associada a redução dos níveis de IL-6 sérica (Roberts, Izadpanah et al. 2013, Gong, Yuan et al. 2014). Em relação ao IMC, Roberts e colaboradores (2013) demonstrou que uma intervenção nutricional com exercícios físicos, durante duas semanas, foi capaz de reduzir o IMC e IL-6 de forma similar em crianças obesas e normais. Porém, no presente estudo, a prática prévia de voleibol e o tempo de treino semanal não demonstram correlação com o IMC, sugerindo que a intervenção não está correlacionada a alteração significativa desta variável. Por outro lado, a ausência de diferença entre IL-6 relativa ao IMC pode estar associada ao curto período de tempo de treino ao qual as meninas haviam sido submetidas previamente antes da coleta inicial de saliva (quatro semanas).

Em adolescentes obesos, um período de sete dias de intervenção com exercícios de ciclismo e resistidos de intensidade moderada a alta provocou o aumento dos níveis séricos de TNF α (Liu, Gillis et al. 2015). Embora, no presente estudo, não tenhamos controlado a carga de treino e não tenha sido realizada avaliação sérica de citocinas, é possível que o treinamento tenha produzido modulação positiva da TNF α salivar.

Os resultados sugerem que, níveis salivares de IL-6 e TNF α apresentam correlação, que a IL-6 está relacionada com a aptidão física, através do teste de salto vertical com contramovimento, e que o treinamento promove o aumento da concentração de TNF α salivar, mas isso não está associado ao desempenho físico.

Agradecimentos

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por concessão de bolsa de estudos a C.P.S. Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq) e Fundação Araucária - PR, por concessão de financiamento para o desenvolvimento do estudo. Aos professores Dr. Fábio Yuzo Nakamura e Dr. Emerson José Venâncio pelo empréstimo de equipamentos e consultoria científica na coleta e análise de dados. A secretaria de Esportes do Município de Cambé, Paraná, Brasil e professores coordenadores da Escolinha de Voleibol feminino, prof. Reginaldo Mazzola e Eduardo Fiel.

Limitações do estudo

Não realização de análises sanguíneas para efeito comparativo.

Referências bibliográficas

Andrews, J. S., L. Trupin, C. L. Hough, D. I. Daikh, E. H. Yelin and P. P. Katz (2016). "Serum biomarkers of inflammation and muscle strength among women with systemic lupus erythematosus." Cytokine **90**: 109-112.

Caminiti, C., M. Armeno and C. S. Mazza (2016). "Waist-to-height ratio as a marker of low-grade inflammation in obese children and adolescents." J Pediatr Endocrinol Metab **29**(5): 543-551.

da Cunha Nascimento, D., N. M. de Sousa, I. V. de Sousa Neto, R. A. Tibana, V. C. de Souza, D. C. Vieira, N. F. Camarco, S. de Oliveira, J. A. de Almeida, J. Navalta and J. Prestes (2015). "Classification of pro-inflammatory status for interleukin-6 affects relative muscle strength in obese elderly women." Aging Clin Exp Res **27**(6): 791-797.

De Filippo, G., D. Rendina, F. Moccia, V. Rocco and A. Campanozzi (2015). "Interleukin-6, soluble interleukin-6 receptor/interleukin-6 complex and insulin resistance in obese children and adolescents." J Endocrinol Invest **38**(3): 339-343.

de Onis, M. and T. Lobstein (2010). "Defining obesity risk status in the general childhood population: which cut-offs should we use?" Int J Pediatr Obes **5**(6): 458-460.

Desai, G. S. and S. T. Mathews (2014). "Saliva as a non-invasive diagnostic tool for inflammation and insulin-resistance." World J Diabetes **5**(6): 730-738.

Eliakim, A., S. Portal, Z. Zadik, Y. Meckel and D. Nemet (2013). "Training reduces catabolic and inflammatory response to a single practice in female volleyball players." J Strength Cond Res **27**(11): 3110-3115.

Falaschetti, E., A. D. Hingorani, A. Jones, M. Charakida, N. Finan, P. Whincup, D. A. Lawlor, G. Davey Smith, N. Sattar and J. E. Deanfield (2010). "Adiposity and cardiovascular risk factors in a large contemporary population of pre-pubertal children." Eur Heart J **31**(24): 3063-3072.

Gaines, J., A. N. Vgontzas, J. Fernandez-Mendoza, S. L. Calhoun, F. He, D. Liao, M. D. Sawyer and E. O. Bixler (2016). "Inflammation mediates the association between visceral adiposity and obstructive sleep apnea in adolescents." Am J Physiol Endocrinol Metab **311**(5): E851-E858.

Garbers, C., H. M. Hermanns, F. Schaper, G. Muller-Newen, J. Grotzinger, S. Rose-John and J. Scheller (2012). "Plasticity and cross-talk of interleukin 6-type cytokines." Cytokine Growth Factor Rev **23**(3): 85-97.

38

Gong, L., F. Yuan, J. Teng, X. Li, S. Zheng, L. Lin, H. Deng, G. Ma, C. Sun and Y. Li (2014). "Weight loss, inflammatory markers, and improvements of iron status in overweight and obese children." J Pediatr **164**(4): 795-800 e792.

Gubelmann, C., P. Vollenweider and P. Marques-Vidal (2016). "Association of grip strength with cardiovascular risk markers." Eur J Prev Cardiol.

Hanneman, S. K., D. McCue and G. L. Blog (2016). "Validation of Salivary Interleukin-6 and Tumor Necrosis Factor-Alpha of Healthy Adult Volunteers by Enzyme Immunoassay." Nurs Res **65**(6): 475-480.

Hosick, P., R. McMurray, A. C. Hackney, C. Battaglini, T. Combs and J. Harrell (2013). "Resting IL-6 and TNF-alpha level in children of different weight and fitness status." Pediatr Exerc Sci **25**(2): 238-247.

Izawa, S., K. Miki, X. Liu and N. Ogawa (2013). "The diurnal patterns of salivary interleukin-6 and C-reactive protein in healthy young adults." Brain Behav Immun **27**(1): 38-41.

Klein Kremer, A., E. Kuzminsky, L. Bentur and R. M. Nagler (2014). "Salivary and serum analysis in children diagnosed with pneumonia." Pediatr Pulmonol **49**(6): 569-573.

Kosaka, T., Y. Kokubo, T. Ono, S. Sekine, M. Kida, M. Kikui, M. Yamamoto, M. Watanabe, A. Amano, Y. Maeda and Y. Miyamoto (2014). "Salivary inflammatory cytokines may be novel markers of carotid atherosclerosis in a Japanese general population: the Suita study." Atherosclerosis **237**(1): 123-128.

Leger, L. A. and J. Lambert (1982). "A maximal multistage 20-m shuttle run test to predict VO₂ max." Eur J Appl Physiol Occup Physiol **49**(1): 1-12.

Leger, L. A., D. Mercier, C. Gadoury and J. Lambert (1988). "The multistage 20 metre shuttle run test for aerobic fitness." J Sports Sci **6**(2): 93-101.

Liu, M., L. J. Gillis, N. R. Persadie, S. A. Atkinson, S. M. Phillips and B. W. Timmons (2015). "Effects of Short-Term Exercise Training With and Without Milk Intake on Cardiometabolic and Inflammatory Adaptations in Obese Adolescents." Pediatr Exerc Sci **27**(4): 518-524.

Lopes, W. A., N. Leite, L. R. da Silva, D. T. Brunelli, A. F. Gaspari, R. B. Radominski, M. P. Chacon-Mikahil and C. R. Cavaglieri (2016). "Effects of 12 weeks of combined training without caloric restriction on inflammatory markers in overweight girls." J Sports Sci **34**(20): 1902-1912.

Lopez del Valle, L. M., C. Ocasio-Lopez and M. Steffen (2015). "Comparison of Levels of Salivary Cytokines in Diabetic and Nondiabetic Puerto Rican Children: A Case-control Pilot Study." Pediatr Dent **37**(1): 30-34.

Mendes, E. L., A. C. Andaki, C. J. Brito, J. M. Guedes, M. P. Santos and J. Mota (2016). "Waist circumference to height ratio predicts inflammatory risk in children." Ann Hum Biol: 1-9.

Menon, M. M., R. V. Balagopal, K. Sajitha, K. Parvathy, G. B. Sangeetha, X. M. Arun and J. Sureshkumar (2016). "Evaluation of salivary interleukin-6 in children with early childhood caries after treatment." Contemp Clin Dent **7**(2): 198-202.

Narsale, A. A. and J. A. Carson (2014). "Role of interleukin-6 in cachexia: therapeutic implications." Curr Opin Support Palliat Care **8**(4): 321-327.

Nascimento, H., A. I. Alves, A. F. Medeiros, S. Coimbra, C. Catarino, E. Bronze-da-Rocha, E. Costa, P. Rocha-Pereira, G. Silva, L. Aires, A. Seabra, J. Mota, H. Ferreira Mansilha, C. Rego, A. Santos-Silva and L. Belo (2016). "Impact of a School-Based Intervention Protocol - ACORDA Project - On Adipokines in An Overweight and Obese Pediatric Population." Pediatr Exerc Sci **28**(3): 407-416.

Nemet, D., S. Oren, M. Pantanowitz and A. Eliakim (2013). "Effects of a multidisciplinary childhood obesity treatment intervention on adipocytokines, inflammatory and growth mediators." Horm Res Paediatr **79**(6): 325-332.

Nielsen, M. S., J. S. Quist, J. P. Chaput, S. M. Dalskov, C. T. Damsgaard, C. Ritz, A. Astrup, K. F. Michaelsen, A. Sjodin and M. F. Hjorth (2016). "Physical Activity, Sedentary Time, and Sleep and the Association With Inflammatory Markers and Adiponectin in 8- to 11-Year-Old Danish Children." J Phys Act Health **13**(6): 733-739.

Prasad, S., A. K. Tyagi and B. B. Aggarwal (2016). "Detection of inflammatory biomarkers in saliva and urine: Potential in diagnosis, prevention, and treatment for chronic diseases." Exp Biol Med (Maywood) **241**(8): 783-799.

Rathnayake, N., S. Akerman, B. Klinge, N. Lundegren, H. Jansson, Y. Tryselius, T. Sorsa and A. Gustafsson (2013). "Salivary biomarkers for detection of systemic diseases." PLoS One **8**(4): e61356.

Riis, J. L., D. A. Granger, J. A. DiPietro, K. Bandeen-Roche and S. B. Johnson (2015). "Salivary cytokines as a minimally-invasive measure of immune functioning in young children: correlates of individual differences and sensitivity to laboratory stress." Dev Psychobiol **57**(2): 153-167.

Riis, J. L., D. Out, L. D. Dorn, S. J. Beal, L. A. Denson, S. Pabst, K. Jaedicke and D. A. Granger (2014). "Salivary cytokines in healthy adolescent girls: Intercorrelations, stability, and associations with serum cytokines, age, and pubertal stage." Dev Psychobiol **56**(4): 797-811.

Roberts, C. K., A. Izadpanah, S. S. Angadi and R. J. Barnard (2013). "Effects of an intensive short-term diet and exercise intervention: comparison between normal-weight and obese children." Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol **305**(5): R405-411.

Ruiz, J. R., I. Caverro-Redondo, F. B. Ortega, G. J. Welk, L. B. Andersen and V. Martinez-Vizcaino (2016). "Cardiorespiratory fitness cut points to avoid cardiovascular disease risk in children and adolescents; what level of fitness should raise a red flag? A systematic review and meta-analysis." Br J Sports Med.

Sobieska, M., E. Gajewska, G. Kalmus and W. Samborski (2013). "Obesity, physical fitness, and inflammatory markers in Polish children." Med Sci Monit **19**: 493-500.

Steene-Johannessen, J., E. Kolle, L. B. Andersen and S. A. Anderssen (2013). "Adiposity, aerobic fitness, muscle fitness, and markers of inflammation in children." Med Sci Sports Exerc **45**(4): 714-721.

Tam, C. S., S. P. Garnett, C. T. Cowell, L. K. Heilbronn, J. W. Lee, M. Wong and L. A. Baur (2010). "IL-6, IL-8 and IL-10 levels in healthy weight and overweight children." Horm Res Paediatr **73**(2): 128-134.

Thomas, N. E. and D. R. Williams (2008). "Inflammatory factors, physical activity, and physical fitness in young people." Scand J Med Sci Sports **18**(5): 543-556.

Todendi, P. F., L. G. Possuelo, E. I. Klinger, C. P. Reuter, M. S. Burgos, D. J. Moura, M. Fiegenbaum and A. R. Valim (2016). "Low-grade inflammation markers in children and adolescents: Influence of anthropometric characteristics and CRP and IL6 polymorphisms." Cytokine **88**: 177-183.

Valle, M., R. Martos, M. D. Canete, R. Valle, E. L. van Donkelaar, F. Bermudo and R. Canete (2015). "Association of serum uric acid levels to inflammation biomarkers and endothelial dysfunction in obese prepubertal children." Pediatr Diabetes **16**(6): 441-447.

White, J. P., M. J. Puppa, S. Sato, S. Gao, R. L. Price, J. W. Baynes, M. C. Kostek, L. E. Matesic and J. A. Carson (2012). "IL-6 regulation on skeletal muscle mitochondrial remodeling during cancer cachexia in the ApcMin/+ mouse." Skelet Muscle **2**: 14.

Williamson, S., C. Munro, R. Pickler, M. J. Grap and R. K. Elswick, Jr. (2012). "Comparison of biomarkers in blood and saliva in healthy adults." Nurs Res Pract **2012**: 246178.

WORLD HEALTH ORGANIZATION: Oral health surveys: basic methods - 5 th edition. p. 125, 2013.

Zabaleta, J., C. Velasco-Gonzalez, J. Estrada, E. Ravussin, N. Pelligrino, M. C. Mohler, E. Larson-Meyer, A. H. Boulares, Y. Powell-Young, B. Bennett, K. Happel, W. Cefalu, R. Scribner, T. S. Tseng and M. Sothorn (2014). "Inverse correlation of serum inflammatory markers with metabolic parameters in healthy, Black and White prepubertal youth." Int J Obes (Lond) **38**(4): 563-568.

4 CONCLUSÃO

A partir dos resultados encontrados neste estudo pode-se concluir que, os níveis salivares de IL-6 e TNF α em meninas praticantes de voleibol não apresentaram correlação com o IMC, independente do tempo de prática do esporte. O desempenho físico também não apresentou associação com a presença alterada de citocinas pró-inflamatórias, bem como o risco de doença cardiovascular. No entanto, a alteração de níveis de IL-6 mostrou associação com a presença de TNF α e altura de salto vertical.

Os resultados demonstram que, níveis salivares de IL-6 e TNF α apresentam correlação, que a IL-6 está relacionada com a aptidão física e que o treinamento aumenta a concentração de TNF α salivar, mas isso não está associado ao desempenho físico.

REFERÊNCIAS

ABESO. Diretrizes Brasileiras de Obesidade. São Paulo: 4ª ed, 2014.

ARNOLD, A. et al. Global burden of câncer attributable to high body – mass index in 2012: a population – based study. **Lancet Oncol**, v. 16, n.1, p. 36-46, Jan 2015.

ARON-WISNEWSKY, J. Human adipose tissue macrophages: M1 and M2 cell surface markers in subcutaneous and omental depots and after weight loss. **J Clin Endocrinol Metab**, v.94, n.11, p.4619-23, Nov 2009.

CAMINITI, C., ARMENO, M. e MAZZA, C. S. Waist-to-height ratio as a marker of low-grade inflammation in obese children and adolescents. **J Pediatr Endocrinol Metab**, v. 29, n. 5, p. 543-51, May 2016.

CANCELLO, R. et al. Reduction of macrophage infiltration and chemoattractant gene expression changes in white adipose tissue of morbidly obese subjects after surgery – induced weight - loss. **Diabetes**. v. 54, n.8, p.2277-86, Aug 2005.

CINKAJZLOVÁ, A., MRAZ, M. e HALUZIK, M. H. Lymphocytes and macrophages in adipose tissue in obesity: markers or markers of subclinical inflammation? **Protoplasma**, p. 1-14, Feb 2017.

DA CUNHA NASCIMENTO, D. et al. Classification of pro-inflammatory status for interleukin-6 affects relative muscle strength in obese elderly women. **Aging Clin Exp Res**, v. 27, n. 6, p. 791-7, Dec 2015.

DE FILIPPO, G. et al. Interleukin-6, soluble interleukin-6 receptor/interleukin-6 complex and insulin resistance in obese children and adolescents. **J Endocrinol Invest**, v. 38, n. 3, p. 339-43, Mar 2015.

DESAI, G. S. e MATHEWS, S. T. Saliva as a non-invasive diagnostic tool for inflammation and insulin-resistance. **World J Diabetes**, v. 5, n. 6, p. 730-8, Dec 15 2014.

FALASCHETTI, E. et al. Adiposity and cardiovascular risk factors in a large contemporary population of pre-pubertal children. **Eur Heart J**, v. 31, n. 24, p. 3063-72, Dec 2010.

GALIC, S., OAKHILL, J. S. e STEINBERG, G, R. Adipose tissue as an endocrine organ. **Molecular and cellular Endocrinol**, v. 316, n.02, p. 129-39, Mar 2010.

GLEESON, M. et al. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. **Nat Rev Immunol**, v.11, p. 607-15, Sep 2011.

43

HOSICK, P. et al. Resting IL-6 and TNF-alpha level in children of different weight and fitness status. **Pediatr Exerc Sci**, v. 25, n. 2, p. 238-47, May 2013.

HOTAMISLIGIL, G.S. Inflammation and metabolic disorders. **Nature**, v.444, n.7121, p.860-67, Dec 2006.

JACKSON, S. E. et al. Weight loss and mortality in overweight and obese cancer survivors: a systematic review. **PLoS One**. v.12, n.1, Jan 2017.

KAWANESHI, N. et al. Exercise training inhibits inflammation in adipose tissue via both suppression of macrophage infiltration and acceleration of phenotypic switching from M1 to M2 macrophages in high-fat-diet induced obese mice. **Exerc Immunol Rev**, v.16, p.105-18, 2010.

KENNEY, E.L. e GORTMAKER, S.L. United States adolescents' television, computer, videogame, smartphone, and tablet use: associations with sugary drinks, sleep, physical activity and obesity. **J Pediatr**. v.182, p.144-49, Dec 2016.

KHAODHIAR, L. et al. Serum levels of interleukin-6 and C-Reactive protein with body mass index across the broad range of obesity. **J Parenter Enteral Nutr**, v.28, n. 6, p. 410-5, Nov-Dec 2004.

KLEIN KREMER, A. et al. Salivary and serum analysis in children diagnosed with pneumonia. **Pediatr Pulmonol**, v. 49, n. 6, p. 569-73, Jun 2014.

LEE, H., LEE, I.S. e CHOUE, R. Obesity, Inflammation and Diet. **Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr**, v.16, n. 3, p. 143-52, Sep 2013.

LOPES, W. A. et al. Effects of 12 weeks of combined training without caloric restriction on inflammatory markers in overweight girls. **J Sports Sci**, v. 34, n. 20, p. 1902-12, Oct 2016.

NICKLAS, B.J. et al. Diet – induced weight- loss, exercise and chronic inflammation in older obese adults: a randomized controlled clinical trial. **Am J Clin Nutr**, v.79, n.4, p.544-51, Apr 2004.

NIELSEN, M. S. et al. Physical Activity, Sedentary Time, and Sleep and the Association With Inflammatory Markers and Adiponectin in 8- to 11-Year-Old Danish Children. **J Phys Act Health**, v. 13, n. 6, p. 733-9, Jul 2016.

OUCHI, N. et al. Adipokines in inflammation and metabolic disease. **Nat Rev Immunol**, v.11, n.2, p.85-97, Feb 2011.

ROOK, G.A.W. e DALGLEISH, A. Infection, immunoregulation and cancer. **Immunol Rev**, v. 240, n.1, p.141-59, Mar 2011.

WELLEN, K.E. e HOTASMISGISIL, G.S. Inflammation, stress and Diabetes. **J Invest**.v.115, n.5, p.1111-1119, May 2005.

World Health Organization. 10 Facts on obesity. May, 2014.

APÊNDICES

APÊNDICE A

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

CONVITE

Senhores Pais e/ou Responsáveis

Eu, professora Dra. Solange de Paula Ramos, do departamento de Histologia da Universidade Estadual de Londrina, realizarei pesquisa para avaliação da Saúde Bucal e análise de saliva para determinação de fatores que podem contribuir para o surgimento de algumas doenças crônicas (diabetes, inflamação, colesterol alto, obesidade) em crianças em idade escolar, que realizam ou não atividade física extra-escolar do tipo voleibol. O projeto é intitulado “Níveis de mediadores inflamatórios salivares em crianças e adolescentes praticantes de esportes em contra turno escolar”, e gostaríamos da sua autorização para que seu filho (ou menor sob sua responsabilidade) possa participar da pesquisa. Para isso, é necessário que o senhor (a) leia atentamente o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, em anexo, e assine o documento em duas vias.

Desde já, agradeço a vossa atenção, e coloco-me a disposição para os esclarecimentos necessários.

Prof. Dra. Solange e Paula Ramos

Departamento de Histologia

Centro de Ciências da Saúde

Universidade Estadual de Londrina

Telefone: (43) 3371-4327

Titulo da pesquisa:**Níveis de mediadores inflamatórios salivares em crianças e adolescentes praticantes de esportes em contra turno escolar**

Prezado (a) Senhor (a):

Gostaríamos de sua autorização (a) para que seu filho (ou menor sob sua responsabilidade) participe da pesquisa “Níveis de mediadores inflamatórios salivares em crianças e adolescentes praticantes de esportes em contra turno escolar”, realizada na Universidade Estadual de Londrina. O objetivo da pesquisa é avaliar se a prática de atividades físicas extra-escolares em escolas de esporte pode melhorar as condições de saúde bucal (cárie e inflamação na gengiva) e alterar a composição da saliva (aumentar a quantidade de anticorpos, hormônios e proteínas de defesa) em crianças de 7 a 17 anos, além de avaliar se as crianças que praticam atividade física extra-escolar sofrem maior risco de traumatismos de boca. A participação de seu filho é muito importante e ela se daria da seguinte forma: permitir que as crianças sejam examinadas por um dentista para avaliar as condições de saúde bucal (presença de cáries e doenças da gengiva), permitir a coleta de amostras de saliva e realizar testes físicos (corridas curtas e saltos) para determinação da aptidão física da criança, no início do estudo e após 4 e 8 semanas.

Gostaríamos de esclarecer que a autorização dos pais ou responsáveis e a participação das crianças são totalmente voluntárias, podendo você: recusar-se a autorizar a dar permissão de participação do menor sob sua responsabilidade, e a criança pode recusar-se ou desistir, a qualquer momento, do estudo, sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo aos responsáveis e crianças. Informamos ainda que as informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a identidade das crianças e responsáveis.

As amostras de saliva serão utilizadas para avaliação dos níveis de proteínas de defesa (anticorpos e enzimas salivares) e para detecção de substâncias associadas ao desenvolvimento de doenças em pessoas sedentárias (proteínas inflamatórias). Todos os resultados serão repassados aos pais e responsáveis, com as devidas orientações e interpretação. Após realização dos exames laboratoriais as amostras serão destruídas e descartadas.

Os benefícios esperados são a esclarecer se a atividade física extra-escolar pode melhorar a qualidade da saúde bucal e tem potencial de proteger as crianças contra algumas doenças crônicas. Além disso, pretendemos estabelecer se é necessário o uso de protetores bucais em crianças praticantes de atividade física extra-escolar, para minimizar a

chance de lesões de dentes por trauma. Para isso, solicitamos que os pais e treinadores reportem aos pesquisadores responsáveis os episódios de traumatismo bucal durante e fora do horário da prática de atividade física extra-escolar. Esclarecemos que é responsabilidade de pais e responsáveis pelas crianças conduzi-las a serviços de emergência e/ou aos dentistas de preferência quando ocorrer traumatismo de cabeça e pescoço. No entanto, estaremos à disposição para atendimento e esclarecimento de dúvidas.

Os procedimentos realizados no estudo não oferecem risco à saúde das crianças, nem provocam desconforto.

Informamos que o (a) senhor (a) não pagará nem será remunerado pela participação da criança no estudo. Garantimos, no entanto, que todas as despesas decorrentes da pesquisa serão ressarcidas, quando devidas e decorrentes especificamente da autorização na participação na pesquisa. Os potenciais benefícios do estudo para as crianças é o monitoramento da condição de saúde bucal, instrução de higiene bucal, avaliação de marcadores salivares de crianças que praticam ou não atividades físicas extra-escolares, e monitoramento da adaptação ao treino para as crianças submetidas a atividade física extra-escolar.

Caso o (a) senhor (a) tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos pode nos contactar a: Prof. Dra. Solange de Paula Ramos, Rodovia Celso Garcia Cid PR445 km380 – Departamento de Histologia da Universidade Estadual de Londrina, telefone (43) 3371-4327/9901-4992, e-mail: ramossolange@yahoo.com, ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, situado junto ao LABESC – Laboratório Escola, no Campus Universitário, telefone 3371-5455 ou por e-mail: cep268@uel.br.

Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas, devidamente preenchida, assinada e entregue ao (a) senhor (a).

Londrina, ___ de _____ de 201_.

Prof. Dra. Solange de Paula Ramos. Telefones: 9901-4992/33715499

RG: _____

_____, tendo sido devidamente esclarecido sobre os procedimentos da pesquisa, concordo em participar **voluntariamente** da pesquisa descrita acima.

Assinatura (ou impressão dactiloscópica): _____

Data: _____

_____, tendo sido devidamente esclarecido sobre os procedimentos da pesquisa, concordo em permitir que o menor acima citado, sob minha responsabilidade, participe **voluntariamente** da pesquisa descrita acima.

Assinatura (ou impressão dactiloscópica): _____

Data: _____

Obs: Caso o participante da pesquisa seja menor de idade, deve ser incluído o campo para assinatura do menor e do responsável.

APÊNDICE B

Questionário

PROJETO Níveis de mediadores inflamatórios salivares em crianças e adolescentes praticantes de esportes em contra turno escolar

Nome:.....

Data de nascimento:/...../.....Idade:Gênero: () F () M

Raça: () negra () branca () parda () amarela () mestiça (B/N + A)

Escola:.....

Pratica atividade física tipo esporte em período extra-escolar? () não () sim

Esporte que pratica:

Há quanto tempo pratica esse esporte:.....

Quantos dias por semana pratica esporte: ()1X ()2X ()3X ()4X ()5X ()6X

Quantas horas treina por dia?.....

Em qual período pratica esporte? () manhã () tarde () noite

Peso:kg Altura:m IMC:.....

Plataforma de salto:

Teste:..... Data:...../...../..... Horário:.....

Teste:..... Data:...../...../..... Horário:.....

Teste:..... Data:...../...../..... Horário:.....

EXAME BUCAL 1

Nome completo: _____

Idade:/...../.....

Dentição: () mista () permanente

CPOD

C = CARIADO P = PERDIDO O = RESTAURADO A = AUSENTE

18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38

Total de dentes:

CPOD:

ANEXOS

ANEXO A

Normas de apresentação à revista *Pediatric Exercise Science*

Authorship Guidelines

The Journals Division at Human Kinetics adheres to the criteria for authorship as outlined by the International Committee of Medical Journal Editors*:

Each author should have participated sufficiently in the work to take public responsibility for the content. Authorship credit should be based only on substantial contributions to:

- a. Conception and design, or analysis and interpretation of data; and
- b. Drafting the article or revising it critically for important intellectual content; and
- c. Final approval of the version to be published.

Conditions a, b, and c must all be met. Individuals who do not meet the above criteria may be listed in the acknowledgments section of the manuscript.

*Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. *New England Journal of Medicine*, 1991, 324, 424–428.

Open Access

Human Kinetics is pleased to allow our authors the option of having their articles published Open Access within *PES*. In order for an article to be published Open Access, authors must complete and return the Request for Open Access form and provide payment for this option.

Manuscript Guidelines

Pediatric Exercise Science welcomes submissions of original research, topical reviews, commentaries, and letters to the editor which address issues surrounding the science of exercise in subjects less than 18 years old. In general, *Pediatric Exercise Science* does not publish material related to physical education curricula or pedagogy, sports medicine (including athletic injuries), or motor development.

The instructions below are intended to help authors prepare high-quality and readable manuscripts. Authors are encouraged to refer to a recent issue of the journal to ascertain the preferred layout, format, style, and appearance.

Format

The manuscript should be double-spaced, including the abstract, references, and any block quotations. Line numbers should be inserted, continuous throughout the text, to facilitate the review process. Manuscripts are subject to editing to eliminate sexist and biased language. Please note that a blind review process is used to evaluate manuscripts. As such, any clues to the author's identity should be eliminated from the

manuscript. The first page of the manuscript must not include author names or affiliations, but it should include the title of the paper and a preferred running head.

It is expected that the length of the body of the manuscript, including title page, abstract, text, and references, will be 15 to 20 double-spaced pages. Number the pages in the upper right corner beginning with the title page. All manuscripts must include an abstract limited to 200 words. A structured abstract format should be used that includes labeling the following sections within the abstract paragraph: Purpose, Method, Results, and Conclusion.

A statement regarding institutional review board approval as well as obtaining informed consent/assent from parents/child subjects should be included in the Methods section.

Style

Writing style should be concise and direct. Avoid using unnecessary jargon and abbreviations, but use an acronym or abbreviation if it is more commonly recognized than the spelled-out version of a term. Formats of numbers and units should follow the *AMA Manual of Style*, 10th edition. Measurements of length, height, mass, and volume should be reported in metric units (meter, kilogram). Only standard physiological abbreviations should be used. Avoid abbreviations in the title. The full wording should precede the first use of an abbreviation.

Figures and Tables

Figures and tables should be limited to a combined total of 5 and should not duplicate material in the text. Figure legends and tables should be included in the main document with the full text. Tables must be formatted by Word and must be editable. Please do not submit tables as images, PDFs, or separate files. Figures should be submitted separately in TIF, JPG, or PNG format. Figures should be professional in appearance and have clean, crisp lines. Hand drawings and hand lettering are not acceptable. Submit one copy of each figure. Identify each figure clearly. Tables should be double-spaced on separate sheets and include brief titles. However, authors are encouraged to submit illustrations rather than tables. When tabular material is necessary, the information should not duplicate the text.

References

The reference style for *Pediatric Exercise Science* should follow the Vancouver style guidelines set by the [International Committee of Medical Journal Editors](#), as they appear in the committee's [Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals](#). In the reference list, the citations should be listed in alphabetical order (rather than in the order of citation). In the text, references are identified by Arabic numerals in parentheses (1). Assure that all entries in the reference list are cited in the text and that all those in the text are included in the reference list. References should be limited to previously published works or those which are in press (accepted for publication). Usually the number of references

should not exceed 50. An abstract properly identified may be cited only when it is the sole source. The reference list should be double-spaced. When the number of authors of a reference exceed 7, use the first 3 followed by “et al.”. Examples of reference style include:

Journal Article: Soldin OP, Mattison DR. Sex differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clin Pharmacokinet.* 2009;48(3):143–157.

Book: Heyward VH, Stolarczyk LM. *Applied Body Composition Assessment.* Champaign, IL: Human Kinetics; 1996.

Chapter in an Edited Book: Young LR, Altose MD. Respiratory responses to ventilatory loading. In: Hornbein TF, editor. *Regulation of Breathing.* New York: Dekker; 1981, pp. 905–964.

Authors are encouraged to consult the [U.S. National Library of Medicine](#) for more detailed examples.

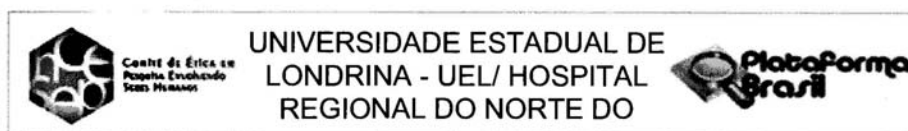
Submit a Manuscript

Authors must submit their manuscripts through ScholarOne, the online submission system for *PES*. ScholarOne manages the electronic transfer of manuscripts throughout the manuscript review process while providing step-by-step instructions and a user-friendly design. Upon submission, the corresponding author is required to nominate two potential reviewers for the manuscript with suitable expertise in the area addressed by the manuscript. The journal is under no obligation to use any of the nominated reviewers.

Authors of manuscripts accepted for publication will be required to transfer copyright to Human Kinetics, Inc. Please visit ScholarOne to review the copyright form located under the "Instructions & Forms" link in the upper right corner. You do not need an account to access this information. Also, any problems that may be encountered can be resolved easily by selecting “Help” in the upper right corner.

ANEXO B

Aprovação Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Impacto da prática de exercícios físicos extra-escolares sobre a saúde bucal e composição salivar em crianças de 7 a 10 anos

Pesquisador: Solange de Paula Ramos

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 34466314.1.0000.5231

Instituição Proponente: Departamento de Histologia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 821.804

Data da Relatoria: 10/10/2014

Apresentação do Projeto:

A pesquisa aborda o impacto da prática de exercícios físicos extra-escolares (futebol de campo) sobre a saúde bucal e composição salivar em crianças de 7 a 10 anos. Acredita-se que a prática de atividades do tipo futebol altera a composição salivar e pode aumentar o risco de traumatismo dentário. Serão selecionados 165 meninos que não praticam atividade física extra-escolar (grupo de controle) e 165 meninos praticantes de futebol de campo em escolinha de futebol em horário extra-escolar para avaliação de dois cirurgiões dentistas previamente treinados e calibrados para realização do estudo.

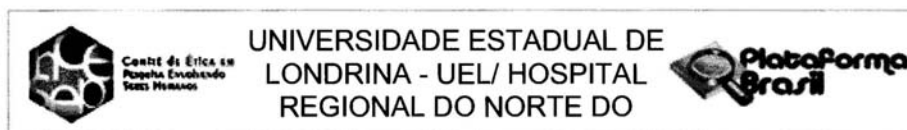
Objetivo da Pesquisa:

Determinar o efeito de um semestre de atividade esportiva extra-escolar sobre marcadores bioquímicos salivares de inflamação, imunidade e anabolismo, e na incidência de traumatismo buço-dentário, em crianças de 7 a 10 anos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Sobre os riscos, o projeto afirma que nenhum dos procedimentos de coleta de dados é invasivo ou oferece riscos para as crianças. Sobre os benefícios, haverá orientação dos pais e treinadores

Endereço: PROPPG - LABESC - Sala 3
Bairro: Campus Universitário **CEP:** 86.057-970
UF: PR **Município:** LONDRINA
Telefone: (43)3371-5455 **E-mail:** cep268@uel.br



Continuação do Parecer: 821.804

quanto a medidas laboratoriais e clínicas que são indicadores de saúde bucal e sistêmica.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de pesquisa relevante que foi readequada em função dos questionamentos anteriores. Nesse sentido, não serão mais realizados exames radiográficos e tampouco haverá armazenamento de material biológico humano. Como as medidas de análise serão colhidas nas co-participantes, não há mais a necessidade de autorização da COU. Da mesma forma, tendo em vista que a ocorrência de possíveis traumas não está associada à proposta específica da pesquisa, uma vez que, será realizado apenas seguimento destes agravos que podem ocorrer independentemente do estudo, a apresentação de justificativa de que os pais, professores e treinadores serão orientados para os encaminhamentos necessários é adequada.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

o TCLE foi reestruturado para linguagem mais clara e acessível aos participantes do estudos e os demais termos estão apresentados adequadamente.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Prezado (a) Pesquisador (a),

Este é seu parecer final de aprovação, vinculado ao Comitê de Ética em Pesquisas Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina. É sua responsabilidade imprimi-lo para apresentação aos órgãos e/ou instituições pertinentes.

Coordenação CEP/UEL.

Endereço: PROPPG - LABESC - Sala 3
Bairro: Campus Universitário **CEP:** 86.057-970
UF: PR **Município:** LONDRINA
Telefone: (43)3371-5455 **E-mail:** cep268@uel.br