

## Revisão sobre a dosagem salivar de insulina, testosterona e cortisol

### *Review of the salivary dosage of insulin, testosterone and cortisol*

Ana Eliza Andreazzi <sup>1</sup>, Audryo Oliveira Nogueira <sup>2</sup>, Gabriel Meireles Azevedo Pereira <sup>3</sup>, Lúcio Marco de Lemos <sup>4</sup>, Carlos Alberto Mourão-Júnior <sup>5</sup>

#### RESUMO

A mensuração de insulina, testosterona e cortisol é extremamente importante para fins diagnósticos, assim como para acompanhar o tratamento de diversas síndromes hormonais. Os métodos mais utilizados para dosá-los são os métodos invasivos, especialmente a dosagem sérica sanguínea. Embora seja eficiente em muitos casos, ela pode ser um problema em pacientes psiquiátricos, pessoas com fobia a métodos invasivos (como crianças) e em pacientes cuja glândula adrenal responde de forma indesejada ao estresse provocado. Assim, a dosagem na síndrome de Cushing, por exemplo, torna-se menos válida. Por outro lado, a saliva é uma fonte não-invasiva para coletar amostras de algumas substâncias encontradas no plasma e no soro sanguíneos. Logo, a saliva tem sido o foco de várias publicações recentes. O presente estudo objetiva elucidar tanto a fisiologia desses hormônios, quanto as relações entre eles, enfatizando suas passagens para a saliva, assim como a própria produção desse fluido. Além disso, nós discutimos a própria dosagem salivar, mostrando os métodos mais utilizados para coletar a saliva e estocá-la. Nós também discutimos os fatores potenciais que podem interferir na dosagem hormonal, como os fatores pré-analíticos (ciclo circadiano, dieta, etc.), pós-analíticos e os problemas metodológicos.

**Palavras-chave:** Eliminação Salivar; Formas de Dosagem; Hidrocortisona; Insulina; Proteínas e Peptídeos Salivares; Testosterona.

<sup>1</sup> Doutorado Universidade Estadual de Maringá/PR, Brasil. (Professora Adjunta do Departamento de Fisiologia)

<sup>2</sup> Graduando de Medicina na Universidade Federal de Juiz de Fora - Juiz de Fora, Minas Gerais/Brasil (Estudante de Medicina.)

<sup>3</sup> Graduando de Medicina na Universidade Federal de Juiz de Fora - Juiz de Fora, Minas Gerais/Brasil (Estudante de Medicina)

<sup>4</sup> Mestre em Parasitologia pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. (Biólogo. Diretor Técnico e Financeiro dos Laboratórios Lemos em Juiz de Fora. Juiz de Fora, MG - Brasil.)

<sup>5</sup> Doutor em Ciências pela Universidade Federal de São Paulo. (Médico Endocrinologista. Professor Associado da Universidade Federal de Juiz de Fora no Juiz de Fora, MG - Brasil.)

#### Instituição:

Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF

Rua José Lourenço Kelmer, s/n - Campus Universitário Bairro Sao Pedro - CEP: 36036-900 - Juiz de Fora - MG Laboratório de Fisiologia Instituto de Ciências Biológicas Telefone: (32) 2102-3211 FAX: (32) 2102 - 3201

#### \* Autor Correspondente:

Ana Eliza Andreazzi

E-mail: [anaeliza.andreazzi@ufjf.edu.br](mailto:anaeliza.andreazzi@ufjf.edu.br)

Recebido em: 03/05/2016.

Aprovado em: 17/03/2018.

## ABSTRACT

Measurement of insulin, testosterone and cortisol is extremely important to diagnostic purposes, likewise the treatment follow-up of several hormone syndromes. The most utilized methods to dose them are the invasive ones, specially the blood serum dosage. Though it's efficient in most cases, it can be a problem to psychiatric patients, people who have invasive methods phobia (like children) and in patients whose adrenal glands respond to the provoked stress undesirably. It makes the dosage be less valid in Cushing syndrome, for example. On the other hand, saliva is a non-invasive source to collect samples of some substances found in plasma and blood serum. Therefore, it has been the focus of several recent publications. The present study aims to elucidate as the physiology of these hormones as the relations among them, emphasizing their passage into saliva and saliva production. In addition, we discuss the salivary dosage itself, showing the most utilized methods to collect and store up. We also discuss the potential factors that can interfere in hormonal dosage, such as the preanalytical factors (circadian cycle, diet, etc.), the post-analytical ones and methodological problems.

**Keywords:** Dosage Forms; Hydrocortisone; Insulin; Salivary Elimination; Salivary Proteins and Peptides; Testosterone.

## INTRODUÇÃO

### HORMÔNIOS

A testosterona é um hormônio esteroide sexual anabólico, produzido nas células intersticiais (de Leydig) nos testículos. É responsável, nos homens, pelas características sexuais primárias (formação do órgão reprodutor) e secundárias (distribuição de pelos no corpo, voz grave, etc.). Portanto, é importante para a distinção dos gêneros.<sup>1</sup> O homem possui dez vezes mais testosterona do que as mulheres e, por isso, a testosterona é conhecida como hormônio masculino.<sup>2</sup>

O controle da liberação de testosterona se dá a partir do hormônio luteinizante (LH) ou hormônio estimulante das células intersticiais (ICSH) que estimula as células de Leydig a produzirem testosterona. A produção de LH é estimulada pelo hormônio de liberação de gonadotropina (GnRH) produzido no hipotálamo. Os altos níveis de testosterona inibem a secreção de GnRH pelo hipotálamo e de LH pela hipófise anterior, atuando como feedback negativo para controlar sua concentração.<sup>2</sup>

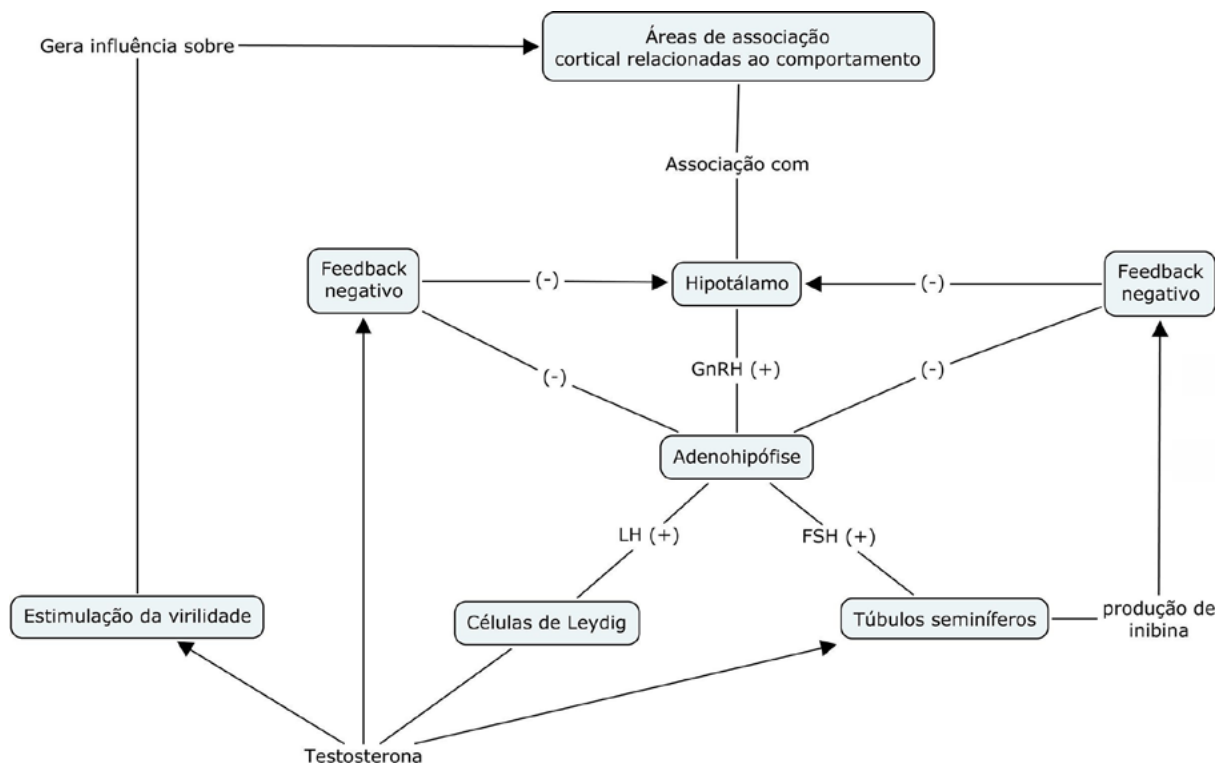
A testosterona está presente no organismo humano em três formas: livre (2,2% em homens e 1,4% em mulheres), ligada pela albumina (50% em homens e 30% em mulheres) e ligada pela globulina ligante de hormônios sexuais SHBG (44% em homens e 66% em mulheres). A testosterona ligada à albumina é livremente disponível para transporte dentro do cérebro e fígado, e parcialmente livre nas glândulas salivares e linfonodos. A testosterona ligada a SHBG não se encontra disponível para ser transportada aos tecidos.<sup>3</sup> As células vermelhas do sangue podem atuar como transportadoras de hormônios sexuais de forma semelhante à

albumina, podendo fornecer 5-15% dos hormônios sexuais aos tecidos-alvo, o que sugere ser mais preciso monitorar os níveis hormonais nelas do que no plasma, pois a capacidade de transporte hormonal é maior quando as células vermelhas estão presentes.<sup>4</sup>

A testosterona exógena é usada ilícitamente para promover ganho de massa muscular, devido à sua atividade anabólica na musculatura, e diminuição da gordura em homens e mulheres. No entanto, o uso ilícito da testosterona possui muitos riscos, como danos ao fígado, podendo levar à cirrose; doenças no músculo cardíaco e alterações de personalidade.<sup>1</sup> As concentrações de testosterona podem variar de acordo com diversos fatores, como a hora do dia, a estação do ano, o ciclo menstrual (no qual os níveis de testosterona aumentam em grande quantidade), atividade sexual e experiências pessoais, o que pode gerar erros nos estudos, podendo-se confundir as mudanças ao longo do tempo com as variações fisiológicas.<sup>5</sup>

O cortisol é um hormônio glicocorticoide catabólico produzido pela zona fasciculada do córtex da suprarrenal. Possui ação no metabolismo dos carboidratos devido ao alto poder hiperglicemiante, estimulando a glicogênese e gliconeogênese no fígado. Nos órgãos periféricos, promove a redução da síntese e aumento da degradação de proteínas e lípidos, liberando mais ácidos graxos para as atividades hepáticas. Além disso, o cortisol possui efeito anti-inflamatório, suprimindo a resposta imune através da redução da formação de citocinas, da ação de proliferação de linfócitos T, entre outros efeitos.<sup>6,2</sup>

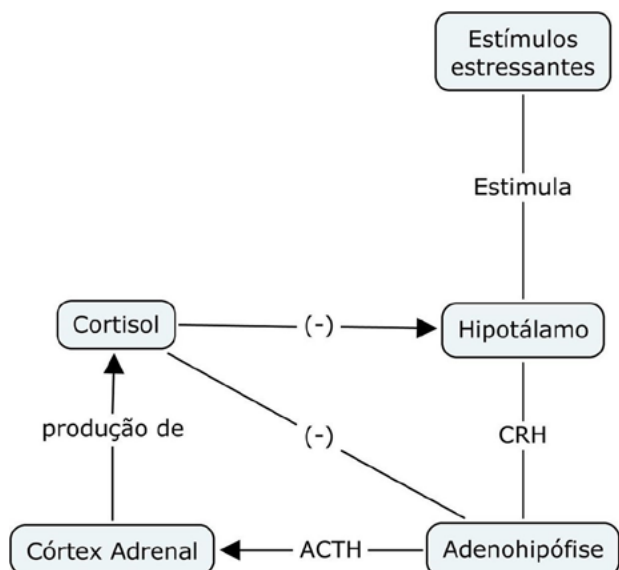
O controle da liberação de cortisol é realizado pelo hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), produzido na hipófise anterior a partir do estímulo hipotalâmico do



**Figura 1.** Esquema sobre os mecanismos de controle e liberação de testosterona no corpo humano

hormônio liberador de corticotrofina (CRH). As altas concentrações de cortisol inibem a formação de CRH no hipotálamo, promovendo o controle da concentração do glicocorticoide.

Os níveis hormonais de secreção de cortisol, CRH e ACTH não são constantes durante o dia, sendo mais altos pela manhã e mais baixos durante a noite. Portanto, o ciclo circadiano da liberação de cortisol é importante, pois os valores de referência para a concentração hormonal devem levar em conta os períodos do dia em que foram realizadas as coletas dos materiais.<sup>7</sup>



**Figura 2.** Esquema sobre os mecanismos de liberação e controle de cortisol no corpo humano.

A insulina é um hormônio produzido pelo pâncreas e que desempenha funções cruciais no metabolismo de glicose, lipídios e proteínas, além de agir de forma sinérgica ao hormônio do crescimento. A secreção pancreática de insulina está relacionada à ingestão de alimentos altamente energéticos (principalmente carboidratos), a fim de exercer sua função de armazenamento do excesso de energia. Isso consiste em produção de glicogênio de reserva no fígado e nos músculos e produção de gordura para armazenamento no tecido adiposo. No metabolismo de proteínas, a insulina promove a captação de aminoácidos pelas células e a reunião deles em proteínas, além de inibir o catabolismo dessas. Após secretada na corrente sanguínea, a insulina circula quase sempre sob a forma livre, a qual tem uma meia-vida plasmática de aproximadamente seis minutos, graças à ação da enzima insulinase. Com exceção dos neurônios, a insulina aumenta o transporte e a utilização de glicose pelas células. Os neurônios normalmente utilizam apenas glicose como fonte de energia, fazendo com que uma hiperinsulinemia gere um choque hipoglicêmico que cursa com perda de consciência, convulsões ou até mesmo coma. Já a deficiência de insulina aumenta a atividade de lipólise e conseqüentemente cetose, acidose e elevação das concentrações séricas de colesterol. Isso ajuda a explicar o quadro recorrente de arteriosclerose em diabéticos. Além da diminuição da glicose sérica, a leptina e a atividade alfa-adrenérgica diminuem a secreção de insulina; ao passo que as estimulações parassimpática e beta-adrenérgica aumentam a secreção desse hormônio hipoglicemiante.<sup>1</sup>

## METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão da literatura usando-se as bases de dados PubMed e Scielo, cujas palavras-chave foram

eliminação salivar, formas de dosagem, hidrocortisona, insulina, proteínas e peptídeos salivares, testosterona e as equivalentes em inglês. Foram analisados 45 artigos e livros e utilizados 25. Os critérios de inclusão foram a relevância do estudo desenvolvido e também sua correlação com o presente estudo.

## REVISÃO DA LITERATURA

### SALIVA

A saliva é secretada por três pares de glândulas (parótida, submandibular e sublingual) a uma taxa de meio mililitro por minuto, em condições basais de vigília, em direção à cavidade bucal. Neste local, ela desempenha funções como lubrificação, limpeza e digestão. Seu pH é ligeiramente ácido normalmente<sup>5,7</sup> e é predominantemente aquosa (99,5% de água).<sup>8</sup> A salivação é controlada por áreas localizadas no bulbo, na ponte, no mesencéfalo, na amígdala e no hipotálamo.<sup>2</sup>

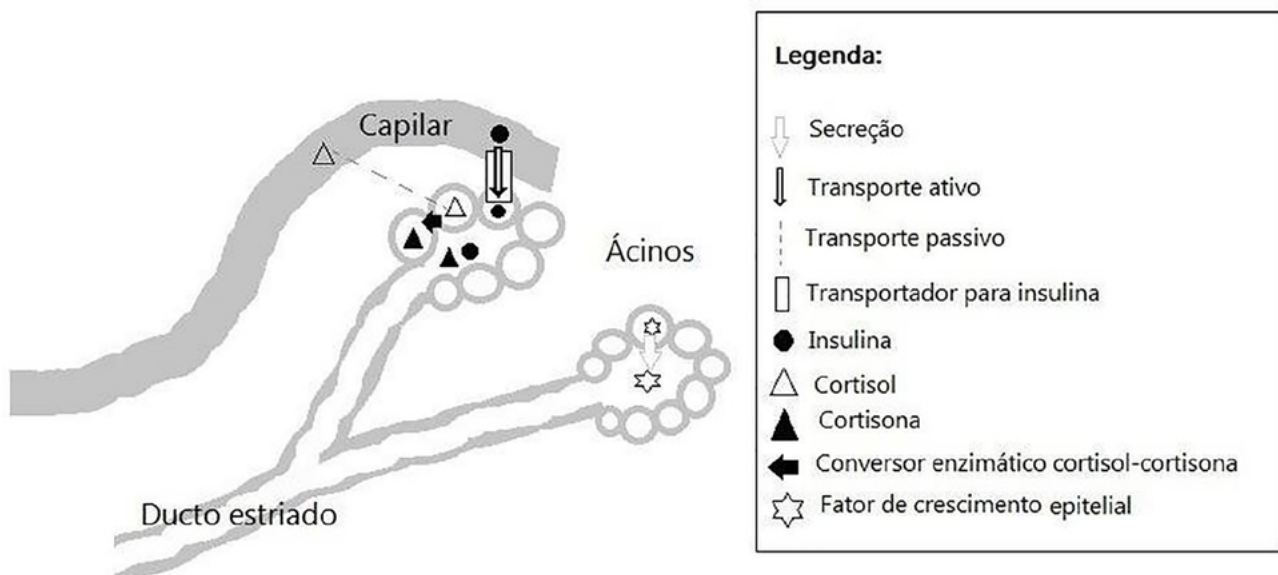
A saliva, por ser fonte não invasiva para a coleta de amostras de certas substâncias encontradas no plasma e soro sanguíneos, tem sido o motivo de diversas publicações recentes. Pela necessidade de mais estudos, essa fonte não tem sido confiada clinicamente, embora seu uso venha fortalecendo-se em pesquisas psiquiátricas, farmacocinéticas e de antidoping. No último caso, por exemplo, comparam-se os níveis de testosterona e epitestosterona na presença de testemunhas. A resistência advém pelas duvidosas faixas de referência praticadas por diferentes fabricantes de aparelhos de medida, bem como pelo descumprimento de procedimentos de coleta e armazenamento das amostras. Por outro lado, a dosagem hormonal pela saliva demonstra-se eficiente, por exemplo, em pacientes cujas glândulas adrenais responderiam indesejadamente ao estresse provocado por métodos mais invasivos, tornando a dosagem de glicocorticoides, por exemplo, mais válida no diagnóstico da síndrome de Cushing.<sup>7</sup> Além disso, pelo fato de o método poder ser praticado em casa a qualquer momento ou no meio de um treino, as investigações endócrinas tornam-se favorecidas.

### A PRODUÇÃO DE SALIVA E A PASSAGEM DE SUBSTÂNCIAS PLASMÁTICAS

Há dúvidas a respeito da rota pela qual os hormônios entram na saliva. Pesquisas até o momento sugerem que os esteróides não conjugados entram na saliva por difusão, não dependendo sua concentração da taxa de produção de saliva. Por isso, sua dosagem na saliva é mais confiável do que a dos conjugados (como tiroxina, desidroepiandrosterona, coriogonadotropina e outros estrogênios conjugados), os quais entrariam na saliva por “ultrafiltração” pelas estreitas junções das células acinosas, sendo sua concentração baixa e dependente da taxa de produção de saliva. Logo, neste último caso, não há grande interesse clínico.

Há gasto de energia no processo de formação da saliva, em que o sódio é bombeado para a luz dos ácinos das glândulas salivares, atraindo água. Após isso, há um retrocesso de sódio da saliva para o plasma, tornando a primeira mais hipotônica, visto que o ducto é pouco permeável à água. Desse modo, há três formas para que os componentes do plasma passem para a saliva: 1) Transporte ativo; 2) Difusão através das células dos ácinos e, para os não-conjugados lipossolúveis (caso do cortisol, estriol, testosterona, progesterona, etc.), nos tubos; 3) Por ultrafiltração entre as células acinosas, o que depende da diferença de concentração entre saliva e plasma (razão pela qual o glicerol passa) e da massa molecular da substância em questão.<sup>9</sup> No segundo caso, pelo fato de as concentrações salivares aproximarem-se das concentrações plasmáticas não-ligadas a proteínas, há utilidade clínica. No entanto, substâncias cujas concentrações na saliva e no plasma são muito díspares podem ser encontradas em altas concentrações na saliva em casos de escoriações com contaminação sanguínea, o que será discutido a seguir.

Sabe-se que a contaminação da saliva por sangue em uma lesão bucal pode prejudicar a dosagem hormonal pela saliva em crianças.<sup>10</sup> A contaminação sanguínea foi medida pela transferrina, uma proteína presente no sangue que, em condições normais, não se encontra em grandes proporções na cavidade bucal. Coletando salivas de crianças de diferentes raças e classes sociais, percebeu-se que DHEA é mais elevada na contaminação (esteróide conjugado); e



**Figura 3.** Mecanismo de transporte de insulina, cortisona e fator de crescimento epitelial para a saliva.

testosterona é, dos três hormônios, o que menos se altera na presença de sangue na saliva. As bases teóricas para isso já foram discutidas acima. Como a contaminação é rara e não altera grandemente a concentração de hormônios definidos, como cortisol, progesterona e testosterona, a dosagem de hormônios pela saliva é válida, mesmo nos casos em que há risco de lesões bucais.

### INFLUÊNCIA DA TESTOSTERONA E DO CORTISOL NA RESISTÊNCIA À INSULINA

A Síndrome Metabólica (SM) e a resistência à insulina são fatores de risco para doenças cardiovasculares e Diabetes Mellitus do tipo 2 (DM2), que são doenças de alta morbidade e mortalidade.<sup>11</sup>

A testosterona pode modular a sensibilidade à insulina, a tolerância à glicose, além de ter efeito na secreção de insulina pelas células beta das ilhotas pancreáticas.<sup>12</sup> Em indivíduos do sexo masculino, a testosterona está inversamente relacionada com a resistência à insulina e SM; e diversos estudos tem demonstrado que a DM tipo 2 e a SM podem ser resultados da deficiência de testosterona. Estudos também comprovaram que homens com altos níveis de testosterona possuem menor risco de adquirir DM2. Um recente estudo transversal mostrou que a terapia de privação androgênica em homens idosos com câncer de próstata avançado pode aumentar significativamente os riscos de doenças cardiovasculares, SM e DM2.<sup>13</sup>

Outro aspecto importante controlado pela testosterona é a adiposidade que, assim como a resistência à insulina, possui relação inversa com a testosterona. Os baixos níveis de testosterona estão relacionados ao aumento da adiposidade nos homens. Tal fato pode ser comprovado em indivíduos com hipogonadismo, nos quais os níveis de testosterona são baixos e há uma maior adiposidade central e visceral, assim como uma maior prevalência de resistência à insulina. Sabe-se que tal relação é bidirecional, já que o tratamento da obesidade promove o aumento dos níveis de testosterona enquanto a castração diminui a lipólise, o que pode ser revertido quando testosterona é administrada em doses fisiológicas.<sup>14</sup> Alguns estudos demonstraram que o tratamento de reposição hormonal com testosterona inibe a atividade da enzima lipase lipoproteica, reduzindo a captação de triglicérides para a produção de gordura.<sup>15</sup>

A gordura abdominal, além de hipersensibilizar o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, possui grande número de receptores para cortisol, o que estimula a adrenal a produzir mais cortisol. A alta concentração de cortisol aumenta o risco para resistência a insulina e SM.

Devido à grande relevância das doenças crônicas não transmissíveis no cenário epidemiológico mundial, a fisiopatogenia das doenças metabólicas, muitas vezes consideradas fatores de risco para doenças crônicas não transmissíveis, tem sido constantemente estudada e sabe-se que o débito energético *per se* não é suficiente para explicar todo o processo metabólico, já que a fisiopatogenia é multifatorial.

### CORTISOL E SUAS RELAÇÕES COM A TESTOSTERONA

O cortisol possui ações inversas à testosterona em relação à resistência à insulina e DM2 e, segundo Smith et al,<sup>16</sup> um dos efeitos do cortisol é inibir a secreção de testosterona.

O eixo hipotálamo-hipófise-adrenal é hipersensibilizado na obesidade abdominal, o que, provoca aumento da

secreção de cortisol, ao contrário da secreção de GH e esteróides sexuais, que diminuem.<sup>12</sup>

A razão cortisol/testosterona é uma referência da relação entre o catabolismo e o anabolismo, já que o cortisol é um hormônio catabólico, que estimula a formação de glicose e deposição lipídica, e a testosterona, anabólica, com ações inversas ao cortisol. A elevada razão cortisol/testosterona está relacionada com a Síndrome Metabólica e todos os seus aspectos, como obesidade visceral e resistência à insulina. Consequentemente, a elevada razão se associa com o aumento do risco de doenças cardiovasculares.<sup>2</sup>

### DOSAGEM SALIVAR

A concentração serosa de hormônios não ligados a proteínas tem sido tradicionalmente analisada a partir da retirada de sangue e identificação da concentração de hormônios não ligados, uma vez visto que o transporte de hormônios pelo sangue através de proteínas serosas torna estes hormônios inativos. Porém a hipótese que surge é a de que quando complexos proteína ligante-hormônio chegam à microcirculação, ocorre certo desprendimento entre os dois componentes desse complexo devido a mudanças conformacionais nos sítios de ligação. Assim, é de se esperar que a concentração serosa mascare a real concentração hormonal presente no sangue devido a esse evento de ocorrência na microcirculação.<sup>17</sup> Além disso, há diferenças em relação à concentração de hormônios esteroidais entregue a cada órgão ou tecido. Exemplos disso são a testosterona ligada a albumina, que é quase livremente disponível para além da barreira hemato-encefálica, e a testosterona livre, que é parcialmente disponível para transporte para glândulas salivares e linfonodos.<sup>3</sup> As hemácias podem influir de modo que apresentam permeabilidade aos hormônios esteróides e são afunccionais com relação aos efeitos fisiológicos desses hormônios. Desse modo, podem-se apresentar como carreadores de hormônios do mesmo modo que as proteínas serosas especializadas nesse fim.<sup>4</sup>

Os potenciais fatores envolvidos nas alterações de dosagens hormonais podem ser divididas em pré-analíticos (variações fisiológicas relativas à história patológica pregressa, ritmo circadiano, fase do ciclo menstrual, ritmo circunual, dieta, etc.; estresse físico ou emocional; uso de antibióticos; doenças não-endócrinas; problemas na coleta; contaminação de fluidos endovenosos; estocagem da amostra; valores de referência não representativos), metodológicos ou interferentes analíticos (como os relacionados aos anticorpos utilizados no imunoensaio) e pós-analíticos (problemas de comunicação de resultados ou de interpretação deles).<sup>18</sup>

Os fatores pré-analíticos são as maiores causas de erros na dosagem hormonal.<sup>19</sup> Como exemplo de fatores pré-analíticos nas dosagens hormonais de esteróides adrenais ou gonadais que devem ser analisados, há o caso do cortisol com sua variação circadiana, do sulfato de dehidroepiandrosterona com sua variação em relação à idade, da progesterona (variada em relação à idade e sexo), etc. Em relação à dieta, a maioria das dosagens hormonais é pouco influenciada pelo jejum. Dentre os hormônios que mais variam em relação à ingesta alimentar, temos a insulina e o hormônio do crescimento. Ademais, o cortisol apresenta elevação significativa após uma refeição ou após jejum muito prolongado (provavelmente devido ao estado de estresse deste caso), bem como o paratormônio após a ingesta significativa de cálcio. Uma refeição que leve à hipertrigliceridemia pode afetar as dosagens de esteróides.

Jejum muito prolongado pode aumentar os níveis de cortisol, como relatado, e também de dehidroepiandrosterona pelo mesmo fator, mas pode levar a valores mais baixos de TSH, LH e FSH. O principal exemplo de variação circadiana é a do sistema ACTH/cortisol.

Em relação aos problemas metodológicos, observa-se, por exemplo, a presença de anticorpos endógenos no paciente, o que acarreta valores inesperadamente elevados do respectivo hormônio, graças ao aumento da concentração circulante em função da existência de uma fração ligada ao anticorpo. Esta fração tem em geral meia vida biológica mais prolongada e não apresenta atividade biológica, sendo a intensidade do fenômeno relacionado à quantidade e afinidade desses anticorpos.<sup>18</sup>

## COMENTÁRIOS

### DOSAGEM SALIVAR DA INSULINA

A insulina tem sua concentração aumentada após a ingestão de glicose porque as células beta do pâncreas são o principal sensor de glicose do organismo, induzindo a secreção de insulina consoante a presença de glicose sanguínea.<sup>20</sup>

Contudo, não tinha sido demonstrada nenhuma relação entre a concentração de insulina salivar e a taxa de produção de saliva. Sabe-se que há aumento de insulina salivar em diabéticos do tipo II, mas não há uma ligação clara entre insulina salivar e no soro em diabéticos tipo I durante o tratamento de rotina com insulina.<sup>21</sup>

Sabe-se que a ligação da insulina salivar é causada pela presença de anticorpos IgA anti-insulina na saliva. Esses anticorpos podem fazer parte da reação autoimune que acontece no *Diabetes Mellitus* tipo 1, juntamente com anticorpos anti-descarboxilase do ácido glutâmico e anti-ilhotas.<sup>22</sup> Também podem ser resultado do tratamento a longo prazo da doença com insulina exógena, segundo dados da Endoclínica.<sup>23</sup> Quando da classe IgA, esses anticorpos podem ser secretados junto à saliva.

Portanto, seria imprudente utilizar a insulina salivar em estudos de pacientes individuais como inferência para a insulina do soro, ainda mais com a informação de que glândulas salivares de ratos podem produzir insulina, alterando os níveis desse hormônio nessa secreção.<sup>21</sup>

### DOSAGEM SALIVAR DA TESTOSTERONA

As medições salivares de testosterona podem ser vantajosas aos pesquisadores, pois representam a fração livre da testosterona total, além de serem fáceis de obter, mesmo fora do ambiente laboratorial.<sup>5</sup>

Contudo, foram demonstrados contratempos na dosagem de testosterona por ser bastante influenciada por processos de coleta, armazenamento e análise.<sup>10</sup> Além de a relação entre concentração de testosterona na saliva e no plasma não ser constante, os níveis de testosterona na saliva de uma pessoa não são os mesmos ao longo do tempo e, ao contrário do cortisol ou deidroepiandrosterona, podem ter sua concentração aumentada em casos de sangramento bucal (devendo-se evitar amostras salivares de pacientes que apresentaram sangramento bucal há menos de 45 minutos antes da coleta, contrariando o que havia sido citado acima com base em outro trabalho). Existem muitas variações da concentração salivar de testosterona entre ambos os sexos

ao longo da vida, embora não se conheça exatamente toda a variação que ocorre durante a vida de um único indivíduo, nem todos os fatores envolvidos.

Os materiais normalmente utilizados para extrair amostras de saliva (como algodão, cotonete de poliéster – ambos úteis na dosagem de cortisol – e ácido cítrico) ou estimular a salivação (como mistura líquida de pós cristalinos e goma de mascar) aumentam a concentração de testosterona salivar. Foi ainda observado que, no caso da goma de mascar *Trident*, esse efeito é restrito apenas nos primeiros minutos após o uso, por razões ainda desconhecidas.<sup>10</sup>

A partir da técnica de imunoensaio, percebeu-se que, em indivíduos do sexo masculino, tanto a testosterona salivar total no soro, quanto a livre foram significativamente relacionadas à dosagem na saliva. Contudo, no sexo feminino, os níveis salivares foram relacionados aos séricos totais, mas não com os séricos livres. Por essa razão, concluiu-se que correlações entre testosterona e comportamento assentadas sobre a saliva como substituta ao soro costumam ser mais subestimadas no sexo feminino.

As medidas de testosterona na saliva mantiveram-se estáveis por pelo menos dois anos quando as amostras foram imediatamente congeladas a  $-80^{\circ}\text{C}$  após coleta. Contudo, temperaturas acima ou abaixo desta podem gerar erros na estimativa do imunoensaio. O crescimento quase exponencial ao longo do tempo da testosterona salivar imunorreativa observado a  $4^{\circ}\text{C}$  sugere a hidrólise dos derivados de testosterona ou que o crescimento bacteriano possa estar interferindo na ligação do anticorpo. Em contraste, a  $-20$  ou  $-40^{\circ}\text{C}$ , houve queda da estimativa de testosterona salivar.<sup>10</sup>

A dosagem salivar de testosterona também é importante para avaliações comportamentais característicos de cada indivíduo e de sua ecologia social,<sup>10</sup> embora exista pouca informação a respeito das variações da testosterona concernente às variações de cada indivíduo, gênero e idade.

Por outro lado, também foram assinaladas diferenças em relação à dosagem salivar de testosterona e dosagem serosa deste hormônio livre, tanto em homens quanto em mulheres, que, segundo ele, não resultam da metodologia em si.<sup>24</sup> Em mulheres, o excesso de testosterona na dosagem salivar em comparação com a dosagem serosa seria resultado da transformação a partir de androstenediona nas glândulas salivares. Em homens, ao contrário, seria resultado de uma possível transformação de parte da testosterona presente nessas glândulas

Contudo, a concentração de testosterona salivar obedece a um ciclo circadiano e é mais estável em meninos do que em meninas, sendo mais fácil associá-la às mudanças comportamentais do sexo masculino.<sup>10</sup>

### DOSAGEM SALIVAR DO CORTISOL

O cortisol é facilmente alterado em situações de estresse, logo é interessante a dosagem pela saliva por ser não invasiva e livre de estresse, o que pode ser muito útil em pessoas isoladas socialmente, depressivas e grupos de pessoas com fobia aos métodos invasivos, por exemplo crianças. Essa vantagem faz a dosagem salivar do cortisol ser muito importante em pesquisas sobre o estresse.

A dosagem salivar do cortisol possui parâmetros comprovados e aceitos no diagnóstico da síndrome de cushing, uma doença causada pela manutenção patológica do hipercortisolismo. Além disso, a dosagem salivar pode ser

utilizada para verificar a evolução do paciente com síndrome de cushing.<sup>7</sup>

A dosagem salivar do cortisol também é aplicada em situações como insuficiência adrenal, Hiperplasia congênita da adrenal e monitoramento durante a reposição de hidrocortisona, o que tornam importante os estudos para o aprimoramento das técnicas de coleta, armazenamento e análise das amostras salivares.<sup>25</sup>

A contaminação sanguínea da cavidade oral pode alterar os níveis de cortisol, elevando-os falsamente. Portanto, é importante verificar a integridade da cavidade oral dos pacientes antes de realizar a coleta para descartar a presença de lesões.

## CONCLUSÃO

Os estudos na área da dosagem hormonal pela saliva são justificados pela importância da técnica principalmente em pacientes que necessitam da dosagem hormonal constante, além da comodidade, praticidade, segurança na coleta e redução do estresse no diagnóstico e tratamento das diversas comorbidades metabólicas. Talvez o exemplo mais emblemático seja o diagnóstico da síndrome de Cushing. Embora ainda haja inúmeros dúvidas a respeito da rota pela qual os hormônios entram na composição da saliva (muitas das quais foram abordadas nesta revisão, como a relação entre a testosterona salivar e a testosterona sérica em mulheres) devido à necessidade de mais estudos, a melhor compreensão da Endocrinologia tem muito a ganhar com o desenvolvimento dessa nova ferramenta.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Mourão Júnior CA, Abramov DM. *Fisiologia essencial*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2011.
- Roelfsema F, Liu PY, Takahashi PY, Yang RJ, Veldhuis JD. Dynamic Interactions Between LH and Testosterone in Healthy Community-Dwelling Men: Impact of Age and Body Composition. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2020;105(3).
- Grasa MDM, Gulfo J, Camps N, Alcalá R, Monserrat L, Moreno-Navarrete JM, et al. Modulation of SHBG binding to testosterone and estradiol by sex and morbid obesity. *European journal of endocrinology*. 2017;176(4):393-404.
- Koefoed P, Brahm J. The permeability of the human red cell membrane to steroid sex hormones. *Biochim Biophys Acta, Biomembr*. 1994; 1195 (1): 55-62.
- Dabbs JM. Salivary testosterone measurements: Reliability across hours, days, and weeks. *Physiol Behav*. 1990; 48 (1): 83-6.
- Matos AFG, Moreira RO, Guedes, EP. Aspectos neuroendócrinos da Síndrome Metabólica. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2003;47(4):410-21.
- Jones EJ, Rohleder N, Schreier HMC. Neuroendocrine coordination and youth behavior problems: A review of studies assessing sympathetic nervous system and hypothalamic-pituitary adrenal axis activity using salivary alpha amylase and salivary cortisol. *Hormones and behavior*. 2020;122:104750..
- Moriel P, Madureira HL, Uwagoya KY, Wlian L, Carvalho PE. Influência do fumo na atividade da amilase salivar e na curva glicêmica. *Rev Nutr*. 2010; 23(4):565-72.
- Kurabuchi S, Yao C, Chen G, Hosoi K. Reversible conversion among subtypes of salivary gland duct cells as identified by production of a variety of bioactive polypeptides. *Acta histochemica et cytochemica*. 2019;52(4):59-65.
- Prasad S, Lassetter B, Welker KM, Mehta PH. Unstable correspondence between salivary testosterone measured with enzyme immunoassays and tandem mass spectrometry. *Psychoneuroendocrinology*. 2019;109:104373.
- Malik S, Wong ND. Metabolic syndrome, cardiovascular risk and screening for subclinical atherosclerosis. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2009; 7(3):273-80.
- Álvarez AMÁ, Suárez IRMG, Marrero IIMA. Papel de la testosterona y el cortisol en el síndrome metabólico y la diabetes mellitus tipo 2. *Rev Cuba Endocrinol*. 2010; 21(1):80-90.
- Keating NL, O'Malley AJ, Freedland SJ, Smith MR. Diabetes and cardiovascular disease during androgen deprivation therapy: observational study of veterans with prostate cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2010 Jan 6;102(1):39-46.
- Xu XF, Pergola G, Bjorntorp P. Testosterone increases lipolysis and the number of the beta-adrenoreceptors in male rat adipocytes. *Endocrinology*. 1991; 128:379- 82.
- Kapoor D, Goodwin E, Channer KS, Jones TH. Testosterone replacement therapy improves insulin resistance, glycaemic control, visceral adiposity and hypercholesterolaemia in hypogonadal men with type 2 diabetes. *Eur J Endocrinol*. 2006 Jun;154(6):899-906.
- Smith GD, Bem-Shlomo Y, Beswick A, Yarnell J, Lightman S, Elwood P. Cortisol, testosterone, and coronary heart disease: prospective evidence from the Caerphilly study. *Circulation*. 2005 Jul 19;112(3):332-40.
- Pardridge WM. Plasma protein-mediated transport of steroid and thyroid hormones. *Am J Physiol*. 1987; 252(2):157-64.
- Bastin P, Maiter D, Gruson D. Salivary cortisol testing: preanalytic and analytic aspects. *Annales de biologie clinique*. 2018;76(4):393-405.
- Guimarães AC, Wolfart M, Brisolará MLL, Dani C. O laboratório clínico e os erros pré-analíticos. *Rev HCPA & Fac Med Univ Fed Rio Gd do Sul*. 2011; 31(1): 66-72.
- Aspinwall CA, Lakey JR, Kennedy RT. Insulin-stimulated insulin secretion in single pancreatic beta cells. *J Biol Chem*. 1999 Mar 5;274(10):6360-5.
- Pasic J, Pickup JC. Salivary insulin in normal and type I diabetic subjects. *Diabetes Care*. 1988; 11(6):489-94.
- Gross JL, Silveiro SP, Camargo JL, Reichelt AJ, Azevedo MJ. Diabetes Mellito: Diagnóstico, Classificação e Avaliação do Controle Glicêmico. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2002; 46(1):16-26.
- Endoclínica de São Paulo. Anticorpos Antiinsulina [Internet]. São Paulo: 2007 (atualizado em 2007). Disponível em: <http://www.endoclinicasp.com.br/exames-que-realizamos/anticorpos-antiinsulina/> (Acesso em 25/05/2016).

24. Rey F, Chiodoni G, Gomez F, Felber JP. Interpretation of the discrepancy observed between plasma free and salivary testosterone levels in man. *Steroids*. 1988 Oct;52(4):371-2.
25. Puhakka IJA, Peltola MJ. Salivary cortisol reactivity to psychological stressors in infancy: A meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*. 2020;115:104603.