

JOSIANE MOTTA E MOTTA

**Resposta hemodinâmica e metabólica aguda ao estresse
físico e mental em indivíduos normais: Estudo piloto**

JOSIANE MOTTA E MOTTA

Resposta hemodinâmica e metabólica aguda ao estresse físico e mental em indivíduos normais: Estudo piloto

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina como requisito parcial para obtenção do Título de “Doutora em Ciências da Saúde” pela Universidade Nove de Julho (UNINOVE)

Orientador: Prof^a. Dr^a. Fernanda M. Consolim-Colombo

São Paulo

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da Universidade Nove de Julho – UNINOVE

© reprodução autorizada pelo autor

Motta, Josiane Motta e.

Resposta hemodinâmica e metabólica ao estresse físico e mental em indivíduos normais: estudo piloto. / Josiane Motta e Motta. 2019.

64 f.

Tese (doutorado) – Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2019.

Orientador (a): Profª. Drª. Fernanda M. Consolim-Colombo.



São Paulo 19 de dezembro de 2019

TERMO DE APROVAÇÃO

Aluna: **JOSIANE MOTTA E MOTTA**

Título da dissertação: **RESPOSTA HEMODINÂMICA E METABÓLICA AGUDA DO ESTRESSE FÍSICO E MENTAL EM INDIVÍDUOS NORMAIS: ESTUDO PILOTO.**

Presidente: PROFA. DRA. FERNANDA MARCIANO C. COLOMBO

Fernanda Colombo

Membro: PROF. DR. HUMBERTO DELLÊ

Humberto Dellê

Membro: PROF. DR. HENO FERREIRA LOPES

Heno Ferreira Lopes

Membro: PROF. DR. JOSÉ ANTÔNIO SILVA JÚNIOR

José Antonio Silva Júnior

JOSIANE MOTTA E MOTTA

**Resposta hemodinâmica e metabólica aguda ao estresse
físico e mental em indivíduos normais: Estudo piloto**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa
de Pós-graduação em Medicina da UNINOVE
– composição da Banca examinadora:

Presidente: Prof.^a Dr.^a Fernanda M. Consolim-Colombo -
Orientadora (UNINOVE)

Membro: Prof. Dr. Humberto Delle (UNINOVE)

Membro: Prof. Dr. Heno Ferreira Lopes (INCOR, FMUSP)

Membro Prof, Dr. Jose Antonio Silva Junior (UNINOVE)

São Paulo, 19-12-2019

Dedico este trabalho

Para Sofia que cresceu e hoje me ensina todos os dias.

Para Hélio Schwartzman pelo incentivo e pelos nossos dias no sítio.

Agradeço ao colega Humberto Delle com sua ajuda inestimável.

Agradeço à Profa. Dra Fernanda M.Consolim-Colombo por sua prontidão em ajudar.

Agradeço minha irmã Nilce, que desde os mapas históricos nas lições de colégio, sempre me ajudou a corrigir meus erros...

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Heno Ferreira Lopes, pela confiança e dedicação ao trabalho.

Aos residentes e voluntários que me ajudaram a fazer a pesquisa.

Aos amigos do hospital Campo Limpo e alunos, que me motivaram a seguir e aprender um pouco mais.

“Tudo o que começa a viver já começa também a morrer, a caminhar para a morte”.

(Heidegger)

“Não é o estresse que nos mata, é a nossa reação ao estresse”.

(Hans Selye)

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento dessa publicação:

Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) NBR6027:20120.

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

.

RESUMO

Motta JM. Resposta hemodinâmica e metabólica aguda ao estresse físico e mental em indivíduos normais: Estudo piloto [Tese de Doutorado]. São Paulo: Programa de Pós-graduação em de Medicina, Universidade Nove de Julho (UNINOVE), 2019.

Introdução: Existe uma interação direta do sistema nervoso autônomo com o metabolismo lipídico e glicídico, de modo que a mobilização de glicose e de ácidos graxos livres (AGLs) sofre grande influência em especial do sistema nervoso simpático. Os AGLs exibem uma ampla gama de funções, desde a regulação imune até o metabolismo em uma variedade de tecidos e órgãos. A concentração de ácidos graxos é aumentada em estados crônicos de estresse, podendo estar relacionados a liberação de hormônios vasoconstritores (noradrenalina, adrenalina) e alterações hemodinâmicas associadas. **Objetivo:** Avaliar alterações hemodinâmicas, autonômicas e metabólicas em resposta a associação de estresse agudo (físico e mental) em indivíduos saudáveis. **Métodos:** Nesse estudo, 15 indivíduos, de 31 ± 7 anos, de ambos os sexos, foram avaliados em três momentos: antes e após a aplicação de duas sessões de testes, combinando estresse físico (teste de exercício isométrico) e mental (teste das cores), com intervalos de 30 min. Foram analisados: pressão arterial, frequência cardíaca, resistência vascular sistêmica e distensibilidade das grandes e pequenas artérias obtidos com o HDI (Hypertension Diagnosis Incorporation, CR2000, Eagan, USA); parâmetros de variabilidade da frequência cardíaca registrados com o Polar RS800 e analisados com o *software* Kubios. Amostras de sangue foram coletadas para dosagem de ácidos graxos glicose, insulina e catecolaminas. O teste de ANOVA foi usado para comparar os parâmetros nos diferentes momentos de avaliação; análise de regressão linear foi utilizada para verificar o efeito de variáveis hemodinâmicas sobre alterações metabólicas. A significância de p estabelecida foi $<0,05$. **Resultados:** Comparado ao basal, após o primeiro estímulo, houve aumento significativo ($p < 0,05$) na pressão arterial diastólica (5,1%), na resistência vascular periférica (6,1%), na distensibilidade das grandes (14%) e pequenas artérias (25%) e nos níveis de AGLs, 24%). Essas alterações foram ainda mais evidentes, após o segundo estímulo. Em relação ao basal, os valores de noradrenalina aumentaram de forma significativa após o segundo estímulo (18,7%). Alterações hemodinâmicas não tiveram relação direta com as alterações nos AGLs.

Conclusão: O organismo de jovens saudáveis, quando desafiado por uma combinação de estresse físico e mental, responde com alterações no sistema nervoso simpático, que influenciam no perfil hemodinâmico. As alterações metabólicas que acompanham essa resposta, em especial o aumento das taxas de ácidos graxos livres, são rápidas e proporcionais aos estímulos aplicados, e parecem ocorrer independentemente das alterações hemodinâmicas observadas.

Palavras-chave: Estresse, ácidos graxos, pressão arterial, frequência cardíaca, resistência vascular

ABSTRACT

Introduction: There is a direct interaction of the central nervous system and the autonomic nervous system with lipid and glycidic metabolism. Thus, glucose and free fatty acid (FFA) mobilization is greatly influenced by the autonomic nervous system, especially the sympathetic nervous system. FFA exhibit a wide range of functions, from immune regulation to metabolism in a variety of tissues and organs. Fatty acid concentration is increased in stress states, when vasoconstrictor hormones (norepinephrine, adrenaline) will be released and associated hemodynamic changes

Objective: To evaluate hemodynamic, autonomic and metabolic changes in response to the association of acute stress (physical and mental) in healthy individuals. **Methods**

In this study, 15 subjects, 31 ± 7 years old, of both sexes, were evaluated 3 times: before and after the application of two test sessions, combining physical (isometric exercise test) and mental (Stroop color test) stress at 30 min intervals. Blood pressure, heart rate, systemic vascular resistance and distensibility of the large and small arteries obtained with HDI were analyzed (Hypertension Diagnosis Incorporation, CR2000, Eagan, USA); heart rate variability parameters recorded with Polar RS800 and analyzed with Kubios software. Blood samples were collected for measurement of fatty acids glucose, insulin and catecholamines. The ANOVA test was used to compare the parameters at the different evaluation moments; Linear regression analysis was used to verify the effect of hemodynamic variables on metabolic changes. The significance of p established was <0.05 . Results: Compared to baseline, after the first stimulus there was a significant increase ($p < 0.05$) in diastolic blood pressure (5.1%), peripheral vascular resistance (6.1%), and large distensibility (14%). and small arteries (25%) and FFA levels (24%). These changes were even more evident after the second stimulus. Compared to baseline, noradrenaline values increased significantly after the second stimulus (18,7%). Hemodynamic changes were not directly related to changes in FFA. Conclusion: The organism of healthy young people, when challenged by a combination of physical and mental stress, responds with changes in the sympathetic nervous system, which influence the hemodynamic profile. The metabolic changes that accompany this response, especially the increase in free fatty acid rates, are rapid and proportional to the stimuli applied, and appear to occur independently of the observed hemodynamic changes.

Key words: stress, fatty acids, blood pressure, heart rate, vascular resistance

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

C1:	Componente C1 (distensibilidade de grandes artérias)
C2:	Componente C2 (distensibilidade de pequenas artérias)
AGLs	Ácidos graxos livres
DC:	Débito cardíaco
FC:	Frequência cardíaca
HA:	Hipertensão arterial
HF:	Componente de alta frequência
HF+	História familiar positiva de hipertensão arterial
IMC:	Índice massa corpórea
kg:	Quilograma
LF/HF:	Relação LF/HF
LF:	Componente de baixa frequência
mmHg:	Milímetros de mercúrio
OMS:	Organização Mundial de Saúde
PAD:	Pressão arterial diastólica
PAS:	Pressão arterial sistólica
RVP:	Resistência vascular periférica
TMB:	Taxa metabólica basal
VS:	Volume sistólico

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados demográficos, antropométricos, hemodinâmicos e metabólicos dos voluntários.....	32
Tabela 2 – Variáveis hemodinâmicas na condição basal e após os Estímulos.....	33
Tabela 3 - Parâmetros de composição corporal na condição basal e após os Estímulos.	34
Tabela 4 - Valores de glicose, insulina e ácidos graxos em relação aos três momentos de avaliação.	35
Tabela 5- Porcentagem de variação da Pressão Arterial Diastólica e da resistência vascular entre o momento basal e após Estímulo 1.....	39
Tabela 6- Impacto das variações percentuais da Pressão Arterial Diastólica e da resistência vascular sobre os valores de ácidos graxos nos três momentos de avaliação.....	39
Tabela 7- Impacto da Pressão Arterial Diastólica e da resistência vascular somente no estado basal (momento1) sobre os ácidos graxos durante os três momentos.	40
Tabela 8 Impacto das variações percentuais da Pressão Arterial Diastólica e da resistência vascular sobre os valores de Insulina nos três momentos de avaliação.....	41
Tabela 9- Impacto da Pressão Arterial Diastólica e da resistência vascular somente no estado basal (momento1) sobre a insulina durante os três momentos de análise.....	41
Tabela 10- Impacto das variações percentuais da Pressão Arterial Diastólica e da resistência vascular sobre os valores de glicose nos três momentos de avaliação.....	42
Tabela 11- Impacto da Pressão Arterial Diastólica e da resistência vascular somente no estado basal (momento1) sobre a glicose durante os três momentos de análise.....	43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma do desenho da pesquisa	30
Figura 2- Gráfico de perfil médio da Glicose em relação aos três momentos.	36
Figura 3: Gráfico de perfil médio da Insulina em relação aos três momentos.	37
Figura 4: Gráfico dos valores individuais de ácidos graxos em relação aos três momentos.	38
Figura 5- Gráfico de perfil mediano dos Ácidos graxos em relação aos três momentos,	38
Figura 6-Gráfico de perfil médio de noradrenalina em relação aos três momentos. .	44

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
1.1 Sistema nervoso e modulação metabólica	18
1.2 Demanda metabólica, carboidratos e ácidos graxos	18
1.3 Papel do estresse agudo na liberação de ácidos graxos	20
1.4 Ácidos graxos e citocinas	21
1.5 Modulação hemodinâmica e metabolismo lipídico	22
1.6 Variabilidade de frequência cardíaca	23
1.7 Estresse e resposta hemodinâmica	23
2 - JUSTIFICATIVA	24
3 - OBJETIVOS	25
Objetivo Principal	25
Objetivos específicos:	25
4 - POPULAÇÃO E MÉTODOS	26
4.1 População	26
4.2 MÉTODOS	26
Avaliação antropométrica	26
Dosagens bioquímicas e metabólicas	27
Composição corporal - Bioimpedância	28
Perfil hemodinâmico	28
Estresse físico e mental	28
Modulação autonômica	29
4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA	30
5 - RESULTADOS	32
6 - DISCUSSÃO	45
7 - CONCLUSÃO	53
8- REFERÊNCIAS	54

9 – ANEXO.....	59
----------------	----

Resposta hemodinâmica e metabólica aguda ao estresse físico e mental em indivíduos normais: Estudo piloto

1. INTRODUÇÃO

1.1 Sistema nervoso e modulação metabólica

Existe uma interação direta do sistema nervoso central e do sistema nervoso autônomo com o metabolismo lipídico e glicídico, de modo que a mobilização de glicose e de ácidos graxos sofre grande influência do sistema nervoso autônomo, sobretudo do sistema nervoso simpático.^{1,2} Na verdade, o controle neural do metabolismo não contempla somente o metabolismo de glicose e ácidos graxos, mas o controle neural ocorre na produção de energia, armazenamento, mobilização, conversão e utilização. O controle neural ocorre sobre a ação do trato gastrointestinal, fígado, pâncreas, músculos e também o tecido adiposo branco e marrom.³ As primeiras evidências a respeito da importância da estimulação simpática no tecido adiposo para provocar a lipólise surgiram na década de 60. Em estudo experimental Weiss e Maickel demonstraram que a estimulação elétrica da inervação do tecido adiposo resulta na quebra de triglicérides em ácidos graxos.⁴ A gliconeogênese a partir de glicerol, alanina e lactato mais a produção de corpos cetônicos a partir da oxidação de ácidos graxos no fígado são fundamentais como fonte de energia para os tecidos do nosso organismo.¹ A energia produzida é usada para manter a taxa metabólica basal, em condições de jejum e durante atividade física. Existem três componentes principais relacionados ao gasto de energia do organismo: a taxa metabólica basal (TMB), a termogênese adaptativa e a atividade física. A TMB é a energia gasta que é medida em condições de neutralidade de temperatura (sem exposição ao frio ou ao calor), após a digestão, em repouso, e representa o oxigênio consumido para produzir adenosina trifosfato.⁵

1.2 Demanda metabólica, carboidratos e ácidos graxos

O organismo humano usa como substrato energético a glicose, os ácidos graxos e os aminoácidos. Um grama de carboidratos (glicose) fornece ao organismo quatro calorias, um grama de gordura (ácido graxo) fornece aproximadamente nove calorias

e um grama de proteínas (aminoácidos) fornece quatro calorias. A glicose circula no sangue e é armazenada na forma de glicogênio; os ácidos graxos circulam no sangue e são armazenados na forma de triglicérides. Em condições basais e quando aumenta a demanda metabólica, a glicose e os ácidos graxos armazenados são liberados para serem oxidados e produzirem energia. Os aminoácidos, diferentemente da glicose e dos ácidos graxos, não são armazenados. [6-9](#)

Em um homem adulto (~70 kg) a energia armazenada na forma de glicogênio no fígado, músculos, cérebro e glicose circulante corresponde a aproximadamente 2.000 calorias. A glicose armazenada na forma de glicogênio é liberada na circulação de acordo com as necessidades do organismo. Ela fica estocada na forma de glicogênio no fígado e músculos esqueléticos e essa é uma fonte de energia quase que exclusiva para o cérebro e é uma fonte de energia para todos os tipos de células do organismo. A glicose estocada serve como uma importante fonte de energia para uso imediato pelos músculos esqueléticos em exercícios vigorosos. Os ácidos graxos armazenados na forma de triglicérides em diferentes órgãos (fígado, tecido adiposo visceral, tecido adiposo subcutâneo, músculos esqueléticos) de um homem adulto correspondem a uma reserva de aproximadamente 135.000 calorias. Eles são liberados na circulação durante exercícios agudos e treinos a longo prazo. A oxidação de ácidos graxos em indivíduos treinados, a longo prazo, aumenta até 41%, e a oxidação de ácido graxo (palmitato) aumenta 33% durante um treino de 90 a 120 minutos de exercício submáximo. A lipólise do tecido adiposo fornece ácidos graxos livres circulantes para atender às necessidades calóricas em forma de gordura do organismo. A liberação de AGLs é bem regulada em indivíduos com peso normal; no entanto, na obesidade central, que se apresenta com aumento da circunferência abdominal, o excesso de lipólise pode levar a alterações metabólicas como a resistência vascular à insulina e a alterações do metabolismo de lípidos. A lipólise “normal” é determinada pela taxa metabólica basal do indivíduo. A gordura da parte superior do corpo é mais lipoliticamente ativa do que a gordura da parte inferior do corpo em mulheres e homens. Os AGLs liberados pelo depósito de gordura visceral contribuem apenas com uma pequena porcentagem de liberação sistêmica de AGLs. Quando a atividade da insulina está aumentada, provoca diminuição de mobilização de gordura. Após uma refeição com carboidrato também há diminuição da concentração de AGLs. O excesso de ácidos graxos reduz um pouco esse efeito, mas não totalmente. Os perfis circadianos de concentrações

plasmáticas de AGLs mostram, portanto, as maiores concentrações após um jejum noturno, com supressão após cada refeição.[10](#)

Um fato importante é que a concentração de ácidos graxos é aumentada em estados de estresse. Concentrações de 1.720 mmol/L foram encontrados em pilotos de corrida antes de iniciar uma corrida.[11](#) Durante o exercício, quando a gordura é mobilizada do tecido adiposo para suprir os músculos que trabalham, as concentrações podem subir um pouco, mas muitas vezes as concentrações plasmáticas de AGLs permanecem relativamente estáveis. Isso ocorre para suprir a atividade muscular, de modo que haja aumento da lipólise do tecido adiposo. O excesso de ácidos graxos armazenados compete com a glicose e ambos atuam como fonte de energia no metabolismo. Essa competição pode explicar, pelo menos parcialmente, os mecanismos envolvidos no agrupamento de fator de risco cardiovascular denominado síndrome metabólica. De acordo com as observações de Randle, existe um antagonismo entre ácidos graxos e glicose durante a oxidação dos mesmos. Ocorre uma supressão da oxidação da glicose quando a concentração de ácidos graxos aumenta na circulação pela ingestão de alimentos ou pela liberação do tecido adiposo (lipólise), e o oposto ocorre quando aumenta a glicose no sangue. Uma vez que a reserva de energia é predominantemente na forma de ácidos graxos, pode-se imaginar que o desequilíbrio do ciclo glicose-ácidos graxos, no obeso, possa ocorrer à custa da supressão do metabolismo de glicose pelos ácidos graxos.[12](#)

1.3 Papel do estresse agudo na liberação de ácidos graxos

Existem situações em que o organismo aumenta o seu consumo de energia, tais como o estresse (físico ou mental) e a atividade física propriamente dita. O estresse resulta no aumento de cortisol circulante, de catecolaminas, e essas substâncias estão relacionadas com a ativação de mecanismos intrínsecos do organismo para redirecionar o metabolismo. Esse redirecionamento, em algumas situações, resulta no aumento do consumo de ácidos graxos. Os ácidos graxos consumidos são removidos principalmente do tecido adiposo visceral. Os adipócitos do tecido adiposo visceral respondem rapidamente a diferentes estímulos, como, por exemplo, o adrenérgico. O tecido adiposo visceral tem receptores adrenérgicos do tipo alfa 2, beta 1, beta 2 e beta 3.[13](#) Os receptores beta adrenérgicos do tipo 3 têm relação muito direta com a lipólise,[14](#) de modo que o sistema nervoso simpático participa diretamente da modulação do tecido adiposo, sobretudo o tecido adiposo visceral. A rica inervação

do tecido adiposo visceral talvez sirva para suprir de forma rápida e dinâmica as necessidades de ácidos graxos pelo organismo. Uma situação que ilustra bem a demanda rápida e aumentada de ácidos graxos é o exercício dinâmico de moderada a grande intensidade. Durante a atividade física moderada/intensa, a demanda metabólica aumenta significativamente. Nessa condição, o estoque de glicose e glicogênio é consumido rapidamente e a partir daí o organismo produz energia a partir de corpos cetônicos e de ácidos graxos¹⁵. Do ponto de vista quantitativo, os ácidos graxos representam de longe a maior fonte de calorias para o organismo humano, e o consumo de glicose e ácidos graxos é modulado momento a momento pelo organismo. Boden já demonstrou a relação do aumento agudo de ácidos graxos na circulação (infusão de intralipid e heparina) com a diminuição da captação de glicose estimulada pela insulina na circulação.¹⁶

1.4 Ácidos graxos e citocinas

Muitos estudos indicaram que os AGLs exibem uma ampla gama de funções, desde a regulação imune até o metabolismo em uma variedade de tecidos e órgãos¹⁷⁻¹⁹. Eles têm, portanto, influência direta e indireta em nosso organismo.²⁰ A quimiotaxia de neutrófilos é ativada por mediadores inflamatórios, como fator de necrose tumoral (TNF) - α , IL-17, etc. e quimiocinas como a quimiocina (CXCL) 1, 8, e várias outras. Os AGLs afetam a quimiotaxia e a viabilidade dos neutrófilos.²¹ Os AGLs, como propionato e butirato, inibem a produção de TNF- α pelos neutrófilos na presença de lipopolissacarídeo (LPS).¹⁸ Acredita-se que a supressão da atividade do fator nuclear kappa B (NF- κ B) e a inibição da HDAC (histona deacetilase) sejam os mecanismos subjacentes. Por outro lado, os neutrófilos aumentam a produção de IL-8, IL-6 e IL-1 β em altas concentrações (20 mmol/L) de AGLs, enquanto concentrações mais baixas não induzem a produção de citocinas. No entanto, concentrações mais baixas de AGLs aumentam a produção induzida por TLR2 da produção de IL-8 e TNF- α .¹⁷ Os AGLs suprimem a inflamação do intestino grosso em camundongos com colite induzida por sulfato de dextrano pela indução de apoptose de neutrófilos via GPR43/FFAR267 e via inibição de HDAC.^{17,22}

Os ácidos graxos livres tanto suprimem quanto promovem as funções metabólicas em neutrófilos. Os AGLs também afetam a imunorregulação em monócitos e macrófagos.²³ Em experiências com seres humanos, os ácidos graxos livres (0,2-20 mmol/L) reduzem a produção de TNF- α , proteína quimiotática de monócito-1 (MCP-1) sob estimulação da LPS e aumentam a produção de prostaglandina E2 (PGE2).

Acredita-se que a supressão da atividade do NF- κ B e a inibição da HDAC sejam os mecanismos subjacentes, como no caso dos neutrófilos. O butirato aumenta a produção e liberação de ROS, quando sob estimulação com LPS, e aumenta a expressão de caspase-1 e a produção de IL-1 β [19](#)

O tecido adiposo não apenas armazena energia através do acúmulo de triglicérides mas também secreta várias adipocinas que afetam o metabolismo em todo o organismo. Em tecido adiposo hipertrófico, a invasão de macrófagos promove a ativação da secreção de ácidos graxos livres (AGLs), TNF- α , IL-6, MCP-1, inibidor do ativador do plasminogênio-1 (PAI-1) e outras citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, o que acarreta em disfunções metabólicas, incluindo a resistência vascular à insulina, resultando na promoção da aterogênese. Essas interações entre ácidos graxos derivados de adipócitos e adipocinas derivadas de macrófagos representam um ciclo que pode ser repetitivo.[24](#)

1.5 Modulação hemodinâmica e metabolismo lipídico

O comportamento da hemodinâmica do ser humano vem sendo observado a partir do comportamento do pulso arterial desde muito antes da era cristã. O imperador chinês Huang Ti, em 2600 a.C., observou que as pessoas que comiam mais sal tinham pulso mais duro e sofriam mais acidentes vasculares cerebrais.[25](#) Na Antiguidade, os egípcios descreveram a relação entre o coração e o pulso arterial, e há aproximadamente 400 anos Harvey descreveu a circulação sanguínea.[26](#) Hoje se sabe que pressão arterial tem componentes constantes, como a pressão arterial média (esta é constante da aorta até as artérias mais periféricas), e componentes pulsáteis, flutuantes. A medida da pressão arterial se define com dois componentes: a pressão arterial sistólica (PAS) e pressão arterial diastólica (PAD), o que permite calcular a pressão de pulso. A pressão de pulso resulta da subtração da pressão arterial diastólica da pressão artéria sistólica. A pressão diastólica tem valores constantes a partir da aorta, mas a pressão de pulso e a pressão sistólica aumentam da aorta para os vasos da periféricos, e esse incremento gira em torno de 15 mmHg e representa o aumento da onda de pulso, que varia de acordo com condições fisiológicas ou patológicas como envelhecimento, alteração do tônus vascular, enrijecimento das artérias, sexo, posição, índice de massa corporal, frequência cardíaca. A manutenção da pressão arterial em equilíbrio depende da modulação do

débito cardíaco (volume sistólico x frequência cardíaca) e da resistência vascular sistêmica. A resistência vascular sistêmica depende da modulação autonômica, sobretudo de estímulo simpático.²⁷⁻²⁹ Além da modulação autonômica, a resistência vascular sistêmica depende de fatores locais como óxido nítrico, endotelina, ADP, ATP, dióxido de carbono e oxigênio. Steinberg e cols.,³⁰ através de protocolo usando infusão de ácidos graxos em curta duração e longa duração em indivíduos magros sensíveis à insulina, demonstraram uma diminuição na captação de glicose e na produção de óxido nítrico nessa população. O resultado hemodinâmico foi a redução de fluxo sanguíneo para membro inferior após infusão prolongada de ácidos graxos. Como o estresse psicossocial e físico resulta na ativação simpática, o que se espera é que a maior atividade simpática vá resultar na mobilização de ácidos graxos e que esse possível aumento agudo dos ácidos graxos possa interferir, pelo menos de forma discreta, na função vascular e na resistência vascular sistêmica.³¹

1.6 Variabilidade de frequência cardíaca

A frequência cardíaca não é constante e depende da modulação do sistema nervoso autônomo (sistema nervoso simpático e parassimpático), sendo que o estímulo vagal resulta em maior variabilidade da frequência cardíaca. Quanto maior participação do sistema nervoso simpático, menor é a variabilidade da frequência cardíaca (VFC).^{28,29} O sistema nervoso autônomo (SNA) desempenha um papel importante não apenas em situações fisiológicas mas também em várias enfermidades, como neuropatia diabética, infarto do miocárdio (IM) e insuficiência cardíaca congestiva (ICC).³²⁻³⁴

A VFC, ou as alterações batimento a batimento da frequência cardíaca, é uma reflexão precisa e confiável dos muitos fatores fisiológicos que modulam o ritmo normal do coração. Isso ocorre em condições basais e em situações estressantes. De fato, na avaliação da VFC, permite-se a análise da interação do componente simpático e parassimpático do SNA. O desbalanço entre sistema nervoso simpático e parassimpático, avaliado por meio da análise da VFC, pode refletir em possíveis alterações metabólicas, uma vez que a regulação da produção de energia no organismo depende de estímulo do sistema nervoso autônomo.³⁵

1.7 Estresse e resposta hemodinâmica

O estresse tem sido definido como um processo no qual as demandas ambientais excedem a capacidade adaptativa de um organismo, resultando em mudanças psicológicas e biológicas que podem colocar pessoas em risco de doença.³⁶ Tanto os estressores quanto a resposta adaptativa dos indivíduos (a interação entre estressor e resposta) foram definidos de diferentes maneiras em estudos experimentais e epidemiológicos.³⁷ A homeostase do organismo ocorre na dependência do tipo de ameaça percebido, independentemente do potencial de dano físico.^{32,36} Na revisão de Chrousos e cols.³⁸ e de Lovallo e Gerin foram descritos três níveis de resposta ao estresse psicológico que podem contribuir para o maior ou menor grau de reatividade cardiovascular: (i) o *nível cognitivo-emocional*, para o qual a base anatômica reside em estruturas corticais e límbicas localizadas acima do hipotálamo, que é responsável por diferenças psicológicas individuais nas respostas cognitivo-emocionais; (ii) o *nível autônomo-endócrino*, regulado por estruturas anatômicas localizadas no hipotálamo e no tronco encefálico, que amalgama a entrada de centros cerebrais superiores com respostas endócrinas e autonômicas; e (iii) o *nível periférico*, incluindo fontes periféricas para a reatividade individual diferente para vários insumos.^{39,40} Um exemplo desses fatores periféricos seriam as alterações estruturais das paredes arteriais, levando à reatividade vascular alterada em resposta a insultos externos.⁴¹ A reatividade vascular também sofre a influência direta de fatores internos. Em situação de estresse, ocorre a liberação de hormônios vasoconstritores (noradrenalina, adrenalina) e inibição da produção e atividade de óxido nítrico, resultando em vasoconstrição, disfunção endotelial e aumento da pressão arterial.^{29,42-44} Além da ação em receptores específicos na modulação hemodinâmica, esses neuro-hormônios contribuem com a liberação de ácidos graxos, que de alguma forma podem contribuir para maior reatividade vascular.^{45,46} Em estudo de Steiberg e cols., a infusão de ácidos graxos resultou na redução de fluxo sanguíneo e na produção de NO em indivíduos normais.³⁰

2 - JUSTIFICATIVA

A modulação do metabolismo pelo sistema nervoso autônomo já é pelo menos parcialmente conhecida. Sabe-se que ocorre predomínio do metabolismo de carboidratos ou de ácidos graxos de acordo com a demanda do organismo. O estresse

físico de diferentes intensidades ativa vias metabólicas de carboidratos ou de ácidos graxos. Quanto ao estresse psíquico, não se sabe muito bem qual o seu impacto no metabolismo de glicídios e lipídios. Também não se sabe qual o impacto do estresse físico e psíquico agudo na hemodinâmica, na variabilidade de frequência cardíaca e no metabolismo de ácidos graxos. O estresse psicológico resulta em maior liberação de adrenalina, e o físico, na de noradrenalina. O aumento da primeira resulta em aumento de débito cardíaco, enquanto o aumento da noradrenalina resulta em maior resistência vascular periférica, motivo pelo qual se fez a opção pelos dois tipos de estímulo.

3 - OBJETIVOS

Objetivo Principal

Avaliar alterações hemodinâmicas e metabólicas em resposta a associação de estresse físico e mental em indivíduos saudáveis.

Objetivos específicos:

Avaliar em adultos jovens e saudáveis submetidos a aplicação de testes de estresse físico e de estresse mental, as alterações nos seguintes parâmetros:

- Perfil hemodinâmico (Pressão arterial, Frequência cardíaca, Resistência Vascular Periférica) de forma não invasiva, distensibilidade de grandes e pequenas artérias – com o equipamento HDI
- Modulação autonômica - por meio da análise da variabilidade da frequência cardíaca (registro da FC com equipamento Polar) e pela quantificação de catecolaminas séricas.
- Metabólicos: dosagem de glicose, insulina, e de ácidos graxos.

Avaliar em adultos jovens a quantidade e tipo de estímulos estressores, para se obter respostas hemodinâmicas e aumento de liberação plasmática de ácidos graxos.

4 - POPULAÇÃO E MÉTODOS

4.1 População

Os voluntários do estudo foram convocados através de cartazes afixados em um hospital da rede pública de São Paulo. Foram avaliados inicialmente 17 voluntários do sexo masculino e feminino, com idade entre 18 e 40 anos, brancos e não brancos. Dois voluntários foram eliminados, e 15 voluntários foram submetidos a uma avaliação clínica que incluiu história, exame físico completo e dados antropométricos. Fizeram parte do estudo os pacientes que preencheram os critérios de inclusão listados a seguir:

Critérios de inclusão - Indivíduos de ambos os gêneros, brancos e não brancos, índice de massa corpórea menor que 40 kg/m^2 , idade entre 18 e 40 anos, pressão arterial menor que 140/90 mm Hg, LDL-colesterol menor que 190 mg/dL, triglicérides menor que 400 mg/dL, função renal normal e sem doenças sistêmicas.

Critérios de exclusão - Voluntários hipertensos, com cardiopatia valvar, portadores de marcapasso cardíaco, portadores de arritmia cardíaca, voluntários com hipotireoidismo ou hipertireoidismo, portadores de algum tipo de doença do colágeno, voluntários com doença de Crohn e celíaca, portadores de algum tipo de câncer ou doença crônica incapacitante, fumantes, diabéticos, pessoas com índice massa corpórea maior que 40 kg/m^2 .

O cálculo amostral foi feito tendo como variável principal os valores de ácidos graxos, e foi feito a partir de estudo prévio (*Am J Hypertens 2001; 14 (10): 1032-1037*) que avaliou a sobrecarga aguda de lípidos em filhos de hipertensos.

Todos os participantes do estudo foram orientados em relação aos procedimentos da pesquisa, e assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) conforme resolução nº.466/12. O projeto foi aprovado pelo CEP do Hospital Campo Limpo sob o nº CAAE: 6547716430015452.

4.2 MÉTODOS

Avaliação antropométrica

A medida da estatura foi feita com a trena antropométrica Sanny® totalmente alinhada estendida em uma parede plana e sem rodapé, com solo plano e rígido e com ângulo de 90° em relação à parede para o apoio correto da trena. Um cursor móvel manual com ângulo de 90° e com dispositivo de alinhamento horizontal foi usado, posicionando-o simultaneamente sobre o ponto mais alto da cabeça do avaliado junto com a trena métrica, possibilitando a leitura do valor da mesma em um ângulo de 90° entre a base horizontal do cursor apoiada sobre o ponto mais alto da cabeça e a parede.

O avaliado estava com roupas não pesadas mantendo-se em pé, descalço e em postura ereta, distribuindo o peso corporal igualmente nas duas pernas, pés unidos, braços relaxados e posicionados ao lado do corpo e encostando a parte posterior do corpo na parede sobre a trena métrica. Solicitou-se que os calcanhares e as e regiões pélvicas, escapular e occipital permanecessem encostados contra a trena, e que mantivesse o olhar para frente no plano de Frankfurt.

No momento da obtenção da medida, solicitou-se o que o voluntário prendesse a respiração. Obteve-se o valor em cm com precisão de mm.³⁸

O peso foi medido em uma balança digital Plenna®, com unidade de medida em kg com precisão de 100 g e tendo capacidade de medição na faixa de 0.0 kg a 150 kg. Os voluntários estavam descalços, utilizando pouca roupa, na posição de Frankfurt.

O Índice de massa corporal (IMC) foi calculado usando a fórmula de Quételet, em que o peso em quilogramas é dividido pela a estatura em metros ao quadrado.

Dosagens bioquímicas e metabólicas

Os voluntários vieram ao laboratório em jejum de 10-12 horas para coleta de sangue para exames laboratoriais e realização de testes não invasivos. Foram realizadas dosagens de glicemia, ureia, creatinina, sódio, potássio, colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol, triglicérides, ácido úrico, insulina, ácidos graxos livres, catecolaminas,

As dosagens foram realizadas com kits comerciais, colesterol total, HDL-colesterol, triglicerídeos, glicemia, sódio e potássio foram avaliados pelo método colorimétrico enzimático, em equipamento automático (Modelo BioSystems 310), de acordo com as recomendações do fabricante do kit Labtest®. A insulina foi dosada através do método de radioimunoensaio INSULIN-CT da CIS BioInternational®,

utilizando-se contador gama Abbott® (coeficiente de variação intraensaio 2,6%). Os ácidos graxos foram dosados pelo método semiautomático colorimétrico com Kit NEFFA - Randox®). A coleta de catecolaminas e ácidos graxos livres foi repetida após os voluntários serem submetidos a estresse físico e mental (*handgrip* e teste das cores).

Composição corporal - Bioimpedância

A bioimpedância (BIA 405, USA) foi usada para avaliar o percentual de gordura corpórea, massa magra, ângulo de fase e taxa metabólica basal nos voluntários em condição basal e após o segundo estresse físico e mental (*handgrip* e teste das cores). A ideia foi avaliar o impacto dos estímulos físico e psíquico na taxa metabólica basal.

Perfil hemodinâmico

O perfil hemodinâmico foi avaliado de forma não invasiva com o equipamento HDI (Hypertension Diagnosis Incorporation, CR2000, Eagan, USA). O HDI CR2000 é um aparelho que registra curvas de pressão arterial de forma não invasiva (tonometria), e por meio da análise com software específico, fornece valores de parâmetros: volume sistólico, débito cardíaco, resistência vascular total, impedância vascular total, distensibilidade de grandes artérias (complacência vascular) e a distensibilidade de pequenas artérias (função endotelial).

A avaliação hemodinâmica foi realizada com o voluntário em repouso e após o estresse físico e mental (*handgrip* e teste das cores).

Estresse físico e mental

Teste de estresse físico – Optou-se por realizar o teste de *handgrip* (exercício isovolumétrico) com o dinamômetro. Os voluntários foram treinados a realizarem 30% da força máxima, durante um período de 3 minutos em posição sentada.

Teste de estresse mental – utilizou-se o teste das cores (*Stroop Color Test*) que exige a leitura de uma palavra (referente a uma cor) escrita com uma cor diferente do seu real significado. O teste das cores foi aplicado para cada indivíduo com uma duração de aproximadamente 08 -10 minutos. O teste se compões com 3 etapas: leitura de

palavras, nomeação de cores e identificação da cor em que está escrita cada palavra, sem ter em conta o significado da palavra escrita. Ou seja, a cor deve ser nomeada independente da palavra escrita. A leitura de cada palavra dá uma indicação da competência de leitura e estabelece um ponto de comparação relativamente à tarefa de nomeação de cor. O fato de haver uma diferença entre o nome da palavra e a cor da fonte leva a um efeito de confusão na nomeação da cor e consequente estresse.

Modulação autonômica

A modulação autonômica foi avaliada por meio da variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo e de frequência. Os voluntários da pesquisa foram orientados a não ingerirem álcool, café ou outras substâncias análogas pelo menos 12 horas antes do teste. Foi realizado o registro dos batimentos cardíacos com o Polar RS800 (POLAR®, Oulu, Finland), estando os voluntários em repouso, para a análise da variabilidade da frequência cardíaca (VFC), durante períodos estabelecidos.

A VFC foi avaliada e medida pelo registro do intervalo R-R (ms) através do cardiófrequencímetro e com um cinto transmissor que detecta o sinal eletrocardiográfico batimento-a-batimento. Esse sistema detecta a despolarização ventricular, correspondente à onda R do eletrocardiograma, com frequência de amostragem de 500 Hz e resolução temporal de 1 ms, e foi validado previamente com a eletrocardiografia dinâmica de 24 horas (Holter). O aparelho para aquisição de sinais (Polar RS800) transmite os dados através de uma onda eletromagnética para o aplicativo ELITE HRV (ELITE HRV LLC, Asheville, NC, USA). Os dados processados pelo ELITE HRV foram exportados na linguagem do bloco de notas (.txt) para um computador. A seguir os dados exportados foram analisados pelo *software* Kubios (KUBIOS OY®, 2016, Kuopio, Finland). Nesse equipamento, as unidades de tempo são fixadas em 1 ms e as amostras dos intervalos RR são coletadas a uma frequência de 1000 Hz.⁴⁷ Utilizou-se o período de 5 min de registro do sinal para as análises.

Sequência Experimental

Como pode ser observado na Figura 1, inicialmente os voluntários foram colocados em repouso, em decúbito dorsal. A seguir, foram monitorizados com o Polar e foi feita a punção de um acesso venoso. Após 30 minutos de repouso, foi iniciado o registro

a análise estatística. O teste de Shapiro Wilk foi usado para checar a normalidade das diferentes variáveis. O teste do qui-quadrado foi usado para a análise de variáveis não numéricas. O teste de ANOVA foi usado para comparar as amostras em diferentes momentos: basal, estresse 1, estresse 2. Correlações foram realizadas com testes de Pearson ou Spearman, de acordo com a distribuição das amostras. As amostras serão apresentadas como médias e/ou medianas.

Para as variáveis quantitativas (glicose, insulina e ácidos graxos) as principais medidas de posição e de dispersão foram reportadas. A significância de p estabelecida foi $<0,05$.

A fim de comparar a distribuição dos dados em relação aos três momentos, o teste não paramétrico de Friedman foi aplicado aos dados. No caso de indícios de uma diferença conduzimos com o teste de comparação múltipla com correção de Bonferroni a fim de detectar em quais momentos a distribuição dos dados não é igual. O nível de significância adotado foi de 5%. Assim, resultados cujos valores p são menores que 0,05 foram considerados estatisticamente significativos. A significância de p estabelecida foi $<0,05$.

Foi feito modelo de regressão a fim de avaliar como as variáveis independentes (PAD, resistência vascular periférica) influenciam nos valores de ácidos graxos ao longo dos três momentos. Para isso, utilizou-se o modelo de equações de estimação generalizadas (GEE, em inglês *Generalized Estimation Equations*), o qual é um modelo para análise de dados longitudinais. Em todas as análises consideramos uma estrutura da matriz de correlação de trabalho auto-regressivo de primeira ordem (AR(1)), o qual representa a dependência intra-individual. A distribuição gama foi considerada para modelar o comportamento dos ácidos graxos considerando a função de ligação logarítmica.

5 - RESULTADOS

Os dados clínicos, antropométricos, hemodinâmicos e bioquímicos dos voluntários são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Dados demográficos, antropométricos, hemodinâmicos e metabólicos dos voluntários

Variáveis (n=15)	Resultados
Idade (anos)	31 ± 7
Sexo (masculino/feminino)	6/9
Raça (branco/não branco)	10/5
Peso (kg)	72,6 ± 15,3
Altura (m)	1,7 ± 12,6
Índice de massa corpórea (kg/m ²)	25,4 ± 3,8
PA sistólica (mmHg)	110 ± 11
PA diastólica (mmHg)	64 ± 7
Frequência cardíaca (bpm)	71,6 ± 11,8
Colesterol total (mg/dL)	178 ± 38,7
LDL-colesterol (mg/dL)	102 ± 31,2
HDL-colesterol (mg/dL)	54 ± 12,4
Triglicérides (mg/dL)	91 ± 41,8
Glicemia (mg/dL)	81 ± 6,3
Insulina (μUI/mL)	7,4 ± 3,3

Valores representam a média ± dp

Na tabela 2 estão apresentadas as variáveis aferidas antes e após a realização dos dois Estímulos. Como pode ser observado, comparado com o momento basal, houve

aumento significativo na pressão arterial diastólica e na resistência vascular periférica avaliadas de forma não invasiva. Além disso, a distensibilidade das grandes e pequenas artérias também sofreram significativas mudanças, caracterizadas por aumentos nesses parâmetros.

Tabela 2 – Variáveis hemodinâmicas na condição basal e após os Estímulos.

Variáveis (n=15)	Basal	Após Estímulos	P
PA sistólica (mmHg)	110 ± 11	112 ± 9	0,479
PA diastólica (mmHg)	64 ± 7	68 ± 6	0,021
Pressão de pulso (mmHg)	47 ± 9	44 ± 8	0,146
Frequência cardíaca (bpm)	71 ± 11	68 ± 13	0,308
Débito cardíaco (L/min)	5,4 ± 0,6	5,5 ± 0,6	0,677
Dist. de grandes artérias (ml/mmHgx10)	14 ± 5	16 ± 4	0,049
Dist. de pequenas artérias (ml/mmHgx100)	8 ± 3	10 ± 2	0,044
Resistência vascular Vasc. Sistêmica (dyne.sec.cm ⁻⁵)	1209 ± 139	1264 ± 142	0,023

PA=pressão arterial; Dist = distensibilidade
Valores representam a média ± dp

Em relação às variáveis relacionadas à composição corporal, obtidas com a técnica de Bioimpedância, não se detectaram diferenças significativas quando comparados os valores na condição basal e após a realização dos dois Estímulos. (Tabela 3).

Tabela 3 - Parâmetros de composição corporal na condição basal e após os Estímulos.

Variáveis (n=15)	Basal	Após Estímulos	P
Ângulo de fase (graus)	6,8 ± 1,1	6,7 ± 1,2	0,255
Capacitância (pF)	626 ± 156	625 ± 149	0,441
Resistência vascular (ohms)	605 ± 96	605 ± 93	0,487
Reactância (ohms)	70 ± 13	70 ± 14	0,341
Massa magra (kg)	51 ± 10	51 ± 10	0,134
Massa gorda (kg)	21 ± 6	21 ± 5	0,238
Água corporal (%)	38 ± 7	37 ± 7	0,145
Taxa metabólica basal(cal)	1600 ± 314	1588 ± 309	0,221

Valores representam a média ± dp

As dosagens de ácidos graxos, glicose e insulina foram realizadas no basal, após o Estímulo 1 e também após o Estímulo 2. Dessa forma, para avaliar o efeito em relação aos Estímulos, comparamos sua distribuição em relação aos 3 momentos de avaliação. Utilizaram-se os termos Momento 1 para os valores basais, Momento 2 para a análise feita após o Estímulo 1, e Momento 3 para as análises feitas após o Estímulo 2.

Na Tabela 4 estão as medidas-resumo das variáveis de interesse em relação aos 3 momentos, bem como o valor p associado ao teste de Friedman.

Diante dos resultados, há evidências para dizer que não há uma diferença significativa da distribuição dos dados de Glicose em relação aos 3 momentos (valor $p=0,264$), ou seja, temos indícios de que a distribuição dos dados de Glicose é a mesma em relação aos três momentos.

Tabela 4 - Valores de glicose, insulina e ácidos graxos em relação aos três momentos de avaliação.

Variável	Momento	N	Mínimo	Q1	Média	Mediana	Q3	Máximo	DP	valor p	Comparação múltipla	
											Comparação	valor p ajustado
Glicose	1	15	66,000	71,000	75,533	75,000	79,000	86,000	5,730	0,264	1 vs 2	
	2	15	68,000	71,000	75,800	75,000	79,000	88,000	5,545		1 vs 3	
	3	15	61,000	70,000	74,133	76,000	80,000	84,000	7,170		2 vs 3	
Insulina	1	15	3,100	5,600	7,413	6,700	9,200	16,000	3,354	0,004†	1 vs 2	0,134
	2	15	1,700	3,600	5,940	5,200	7,800	12,900	3,143		1 vs 3	0,706
	3	15	3,000	5,000	7,820	7,800	10,300	14,100	3,551		2 vs 3	0,004
Ácidos graxos	1	14	0,120	0,188	0,350	0,265	0,523	0,900	0,225	0,01†	1 vs 2	0,392
	2	14	0,110	0,253	0,482	0,460	0,723	1,020	0,264		1 vs 3	0,007
	3	14	0,150	0,325	0,586	0,500	0,835	1,240	0,340		2 vs 3	0,392

*Q1: primeiro quartil, Q3: terceiro quartil, DP: desvio padrão. † Teste de Friedman.

Momento 1 = basal; Momento 2 = após Estímulo 1; e Momento 3 = após Estímulo 2

Para a variável insulina, há indícios para dizer que a distribuição dos dados não é a mesma em relação aos 3 momentos (valor $p=0,004$), sendo que a diferença se dá entre o segundo e terceiro momento (valor p ajustado= $0,004$). É importante mencionar que não houve uma diferença significativa entre o primeiro e segundo momento, (valor p ajustado= $0,134$), bem como entre o primeiro e terceiro momento (valor p ajustado= $0,706$), isto é, nesses momentos a distribuição dos dados é a mesma.

Em relação aos ácidos graxos, temos evidências de que a distribuição dos dados não é a mesma em relação aos momentos (valor $p=0,01$), sendo que a diferença se encontra entre o primeiro e terceiro momento (valor p ajustado= $0,007$). Além disso, temos indícios para dizer que a distribuição dos dados é a mesma entre o primeiro e segundo momento (valor p ajustado= $0,392$), assim como entre o segundo e terceiro momento (valor p ajustado= $0,392$).

Nas Figuras 2 a 5 são apresentados os gráficos de perfil individual e médio mediano das variáveis glicose, insulina, ácido graxos em relação aos três momentos avaliados e/ou.

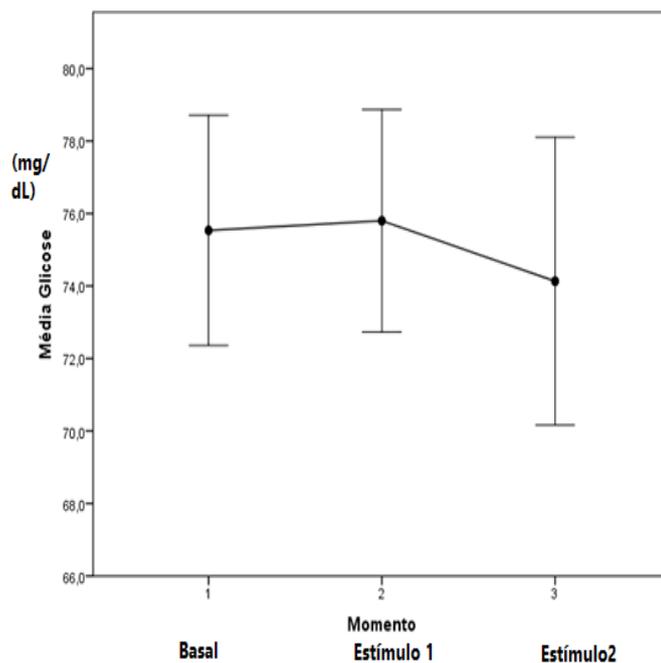


Figura 2- Gráfico de perfil médio da Glicose em relação aos três momentos.

O símbolo • representa o valor médio e a barra o intervalo de 95% de confiança para a média em relação aos três momentos. Momento1 = basal ; momento 2 = após Estímulo 1 ; e Momento 3 = após Estímulo 2.

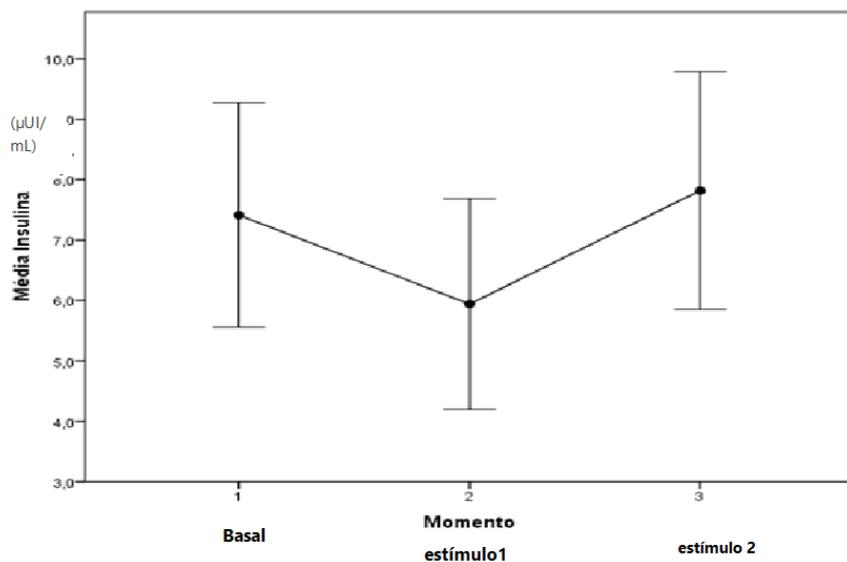


Figura 3: Gráfico de perfil médio da Insulina em relação aos três momentos.

O símbolo ● representa o valor médio, e a barra o intervalo de 95% de confiança para a média em relação aos três momentos. Momento1 = basal ; momento 2 = após Estímulo 1 ; e Momento 3 = após Estímulo 2.

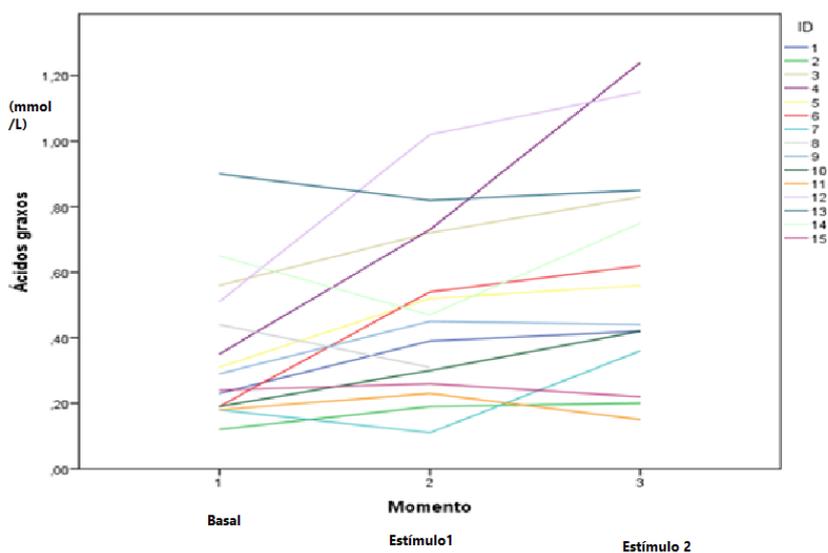


Figura 4: Gráfico dos valores individuais de ácidos graxos em relação aos três momentos.

O símbolo ● representa o valor médio e a barra o intervalo de 95% de confiança para a média. Momento1 = basal ; momento 2 = após Estímulo 1 ; e Momento 3 = após estímulo 2.

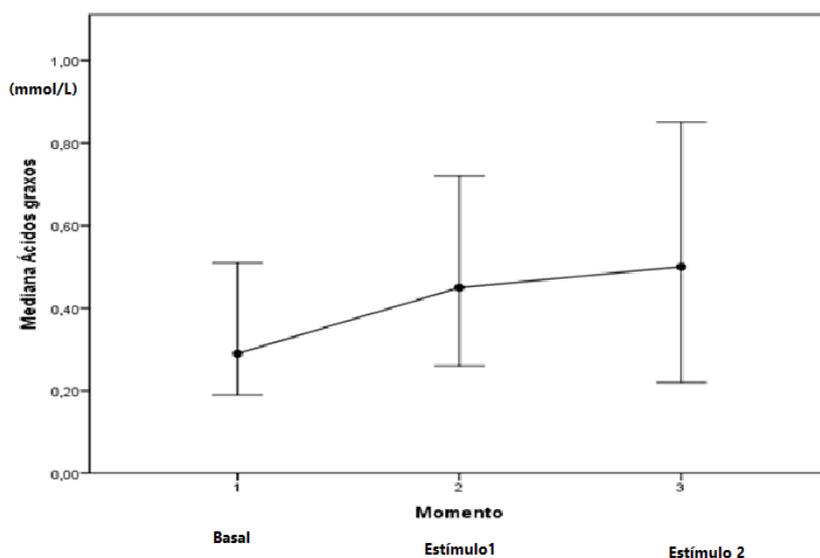


Figura 5- Gráfico de perfil mediano dos Ácidos graxos em relação aos três momentos,

● representa o valor médio e a barra o intervalo de 95% de confiança para a mediana. em relação aos três momentos. Momento1 = basal ; momento 2 = após Estímulo 1 ; e Momento 3 = após Estímulo 2

Com o objetivo de verificar o impacto das alterações hemodinâmicas que ocorreram em resposta ao estresse (PAD e resistência vascular classificadas como variáveis independentes) sobre os incrementos de ácidos graxos (variável dependente), realizamos análises de regressão linear considerando as mudanças entre os momentos de avaliação. Interessante porque com isso conseguimos avaliar a variável categórica que é o fator tempo que nesse estudo foi considerado como momento 1- basal, momento 2 após estímulo físico e psíquico e momento 3 após segundo estímulo.

Inicialmente as variáveis PAD e resistência vascular foram transformadas no sentido de quantificar o aumento ou a redução percentual do momento 1 (basal) para o momento 2 (após Estímulo 1) (Tabela 5). Pode-se verificar que a variação média da PAD foi de 5,12%. Já para a resistência vascular o aumento percentual foi de 6,1%.

Tabela 5- Porcentagem de variação da Pressão Arterial Diastólica e da resistência vascular entre o momento basal e após Estímulo 1

Variável	N	Mínimo	Média	Mediana	Máximo	Desvio padrão
PAD (variação %)	15	-7,14	5,12	4,29	21,15	7,74
Resistência vascular (variação %)	14	-11,42	6,10	6,27	20,74	8,58

Na Tabela 6 estão as estimativas do impacto das variações percentuais da PAD e da resistência vascular sobre os valores de ácidos graxos. Há indícios de efeito apenas do tempo, sendo esperado um aumento mais acentuado no terceiro momento (valor $p < 0,0001$) - o valor da estimativa do Momento 3 é maior do que do momento 2, indicando que o valor médio de ácidos graxos é maior no terceiro momento. Pode-se observar ainda que não há indícios de efeito das variáveis PAD (valor $p = 0,367$) e Resistência vascular (valor $p = 0,461$). O fator tempo é relevante em um estudo piloto quando se conclui que há a necessidade de um segundo estímulo para perceber alterações metabólicas e hemodinâmicas o que orienta a metodologia para estudos com estresse em laboratório.

Tabela 6- Impacto das variações percentuais da Pressão Arterial Diastólica e da resistência vascular sobre os valores de ácidos graxos nos três momentos de avaliação.

Parâmetro	Estimativa	Erro Padrão	95% Intervalo de Confiança		valor p
			Inferior	Superior	
(Intercepto)	-0,878	0,2214	-1,312	-0,444	<0,0001
PAD (variação %)	-0,014	0,0159	-0,046	0,017	0,367
Resistência vascular (variação %)	-0,012	0,0163	-0,044	0,020	0,461
Momento 3	0,506	0,1281	0,255	0,757	<0,0001
Momento 2	0,303	0,1183	0,071	0,535	0,010
Momento 1	Ref				

Escala 0,283

Momento1 = basal ; momento 2 = após Estímulo 1 ; e Momento 3 = após Estímulo 2

Além disso, ajustamos um outro modelo considerando a informação de PAD e Resistência vascular apenas no primeiro momento (variáveis independentes) e seu efeito nos ácidos graxo (variável dependente) (Tabela 7). De acordo com os resultados, temos indícios apenas de efeito do tempo nos ácidos graxos, sendo esperado um aumento mais acentuado no terceiro momento (valor $p < 0,0001$).

Tabela 7- Impacto da Pressão Arterial Diastólica e da resistência vascular somente no estado basal (momento1) sobre os ácidos graxos durante os três momentos.

Parâmetro	Estimativa	Erro Padrão	95% Intervalo de Confiança		valor p
			Inferior	Superior	
(Intercepto)	-0,308	1,825	-3,885	3,270	0,866
PAD1 basal	-0,003	0,021	-0,045	0,039	0,878
resistência vascular basal	-0,0004	0,0006	-0,002	0,001	0,514
Momento 3	0,500	0,135	0,235	0,766	<0,0001
Momento 2	0,288	0,125	0,043	0,533	0,021
Momento 1	Ref				
Escala	0,343				

Momento1 = basal ; momento 2 = após Estímulo 1 ; e Momento 3 = após Estímulo 2

Com o objetivo de avaliar como as variáveis hemodinâmicas independentes (PAD, resistência vascular) influenciam na Insulina (variável dependente) ao longo dos três momentos, o modelo de equações de estimação generalizadas foi ajustado aos dados.

Na Tabela 8 estão as estimativas do impacto das variações percentuais da PAD e resistência vascular sobre os valores de insulina nos três momentos de análise. Não há indícios de efeito da PAD (valor $p=0,361$) e Resistência vascular (valor $p=0,862$). Por outro lado, há uma tendência de redução da Insulina no segundo momento (valor $p=0,051$).

Tabela 8 Impacto das variações percentuais da Pressão Arterial Diastólica e da resistência vascular sobre os valores de Insulina nos três momentos de avaliação

Parâmetro	Estimativa	Erro Padrão	95% Intervalo de Confiança		valor p
			Inferior	Superior	
(Intercepto)	7,636	1,0835	5,512	9,760	<0,0001
PAD (variação %)	-0,070	0,0772	-0,222	0,081	0,361
Resistência vascular (variação %)	0,017	0,1001	-0,179	0,214	0,862
Momento 3	0,507	0,8646	-1,187	2,202	0,557
Momento 2	-1,471	0,7546	-2,950	0,008	0,051
Momento 1	Ref				
Escala	12,512				

Momento1 = basal ; momento 2 = após Estímulo 1 ; e Momento 3 = após Estímulo 2

Além disso, ajustamos um outro modelo considerando os valores de PAD e Resistência vascular apenas no primeiro momento (variáveis independentes) sobre a insulina (variável dependente) (Tabela 9). De acordo com os resultados, temos indícios de efeito da PAD1 basal (valor $p=0,031$), sendo esperados maiores valores de insulina para maiores valores de PAD1 basal. Há ainda uma tendência de redução da Insulina no segundo momento (valor $p=0,051$).

Tabela 9- Impacto da Pressão Arterial Diastólica e da resistência vascular somente no estado basal (momento1) sobre a insulina durante os três momentos de análise.

Parâmetro	Estimativa	Erro Padrão	95% Intervalo de Confiança		valor p
			Inferior	Superior	
(Intercepto)	-6,681	8,706	-23,744	10,381	0,443
PAD1 basal	0,209	0,097	0,019	0,398	0,031
resistência vascular basal	0,001	0,0047	-0,009	0,010	0,898
Momento 3	0,507	0,865	-1,187	2,202	0,557
Momento 2	-1,471	0,755	-2,950	0,008	0,051
Momento 1	Ref				
Escala	10,977				

Momento1 = basal ; momento 2 = após Estímulo 1 ; e Momento 3 = após Estímulo 2

Com o objetivo de avaliar como as variáveis independentes (PAD, resistência vascular) influenciam na Glicose (variável dependente), o modelo de equações de estimação generalizadas foi ajustado aos dados.

Na Tabela 10 estão as estimativas do impacto das variações percentuais da PAD e resistência vascular sobre os valores de glicose nos três momentos de análise.

De acordo com os resultados, não temos indícios de efeito do tempo (valor $p > 0,05$), bem como da PAD (valor $p = 0,361$). Porém, encontramos efeito significativo da resistência vascular (valor $p = 0,002$), indicando que maiores valores da resistência vascular se espera glicose média menor, ou seja, à medida que Resistência vascular aumenta percentualmente (do momento 1 para o momento 2), espera-se uma redução no valor da glicose média.

Tabela 10- Impacto das variações percentuais da Pressão Arterial Diastólica e da resistência vascular sobre os valores de glicose nos três momentos de avaliação

Parâmetro	Estimativa	Erro Padrão	95% Intervalo de Confiança		valor p
			Inferior	Superior	
(Intercepto)	78,133	1,6038	74,990	81,277	<0,0001
PAD (variação %)	-0,007	0,1176	-0,238	0,223	0,952
Resistência vascular (variação %)	-0,367	0,1169	-0,596	-0,138	0,002
Momento 3	-1,857	2,3944	-6,550	2,836	0,438
Momento 2	0,500	1,3083	-2,064	3,064	0,702
Momento 1	Ref				
Escala	30,702				

Além disso, ajustamos um outro modelo considerando os valores de PAD e Resistência vascular apenas no primeiro momento (variáveis independentes) sobre a glicose (variável dependente) (Tabela 11). De acordo com os resultados, não temos indícios de efeito do tempo (valor $p > 0,05$), bem como para PAD1 basal (valor $p = 0,222$) e Resistência vascular (valor $p = 0,169$).

Tabela 11- Impacto da Pressão Arterial Diastólica e da resistência vascular somente no estado basal (momento1) sobre a glicose durante os três momentos de análise.

Parâmetro	Estimativa	Erro Padrão	95% Intervalo de Confiança		valor p
			Inferior	Superior	
(Intercepto)	53,904	13,288	27,861	79,948	<0,0001
PAD1 basal	0,182	0,149	-0,110	0,474	0,222
resistência vascular basal	0,009	0,006	-0,004	0,021	0,169
Momento 3	-1,857	2,394	-6,550	2,836	0,438
Momento 2	0,500	1,308	-2,064	3,064	0,702
Momento 1	Ref				
Escala	38,885				

Com relação à VFC, não foram evidenciadas diferenças estatísticas significantes. As variáveis obtidas pela análise da VFC no domínio do tempo [desvio padrão de todos os intervalos R-R normais (SDNN); desvio-padrão de todos os intervalos R-R normais (SDNN); raiz quadrada das médias quadráticas das diferenças dos intervalos R-R sucessivos (RMSSD); e o percentual de diferenças de intervalo intervalos R-R sucessivos maior que 50 milissegundos (pNN50)] foram semelhantes nos momentos analisados.

A análise dos componentes da VFC no domínio da frequência (componentes de alta - LF e baixa frequência - HF, respectivamente relacionados a modulação simpática e vagal) bem como a relação LF/HF (que infere sobre o balanço simpato-vagal) não sofreram alterações detectáveis pelo método utilizado no presente estudo.

Entretanto, com relação ao valor de catecolaminas circulantes pode-se observar significativo efeito da aplicação dos estímulos de estresse. Notaram-se maiores valores noradrenalina após o segundo momento de estresse físico e mental (valor $p=0,023$), de acordo com a figura 6 em que valores representam a média \pm erro padrão nos três diferentes momentos.

O estresse físico e mental resultou no aumento significativo ($p=0,034$) de noradrenalina (nmol/L) após o segundo estímulo quando comparado com o basal ((basal: $44,5 \pm 8,2$; estímulo 1: $55,5 \pm 12,2$; estímulo 2: $65,3 \pm 8,9$). Os níveis de adrenalina não aumentaram significativamente.

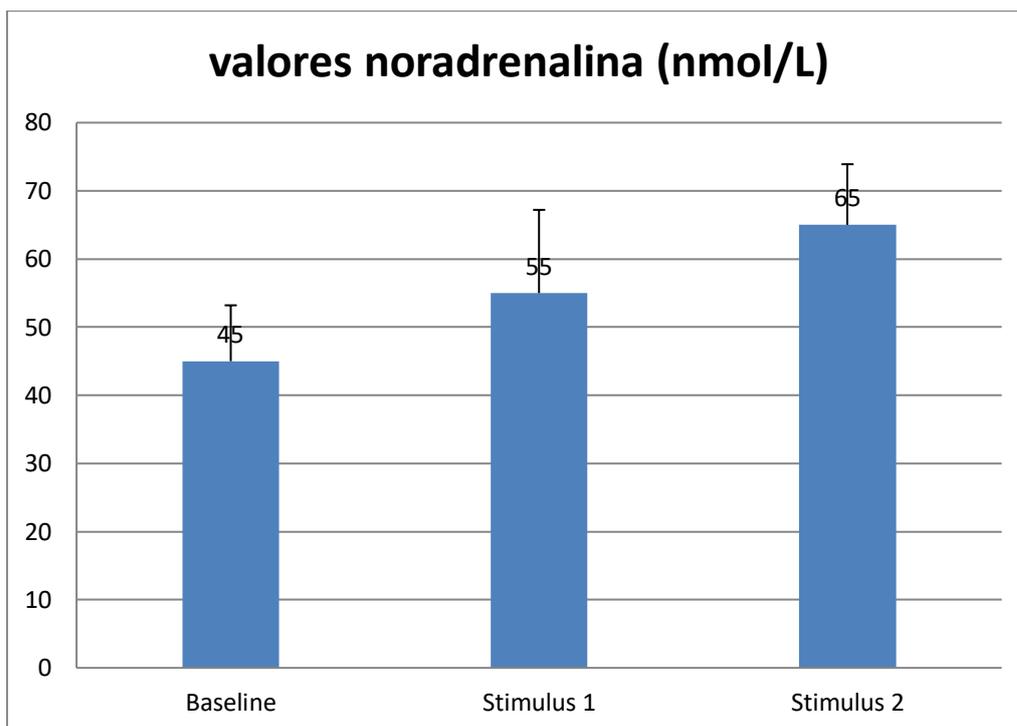


Figura 6-Gráfico de perfil médio de noradrenalina em relação aos três momentos.

6 - DISCUSSÃO

O resultado mais importante do estudo foi demonstrar que a associação de um teste de estresse físico (exercício isométrico) com um teste de estresse mental (teste das cores) causou significativa alteração na homeostase de indivíduos jovens e saudáveis, caracterizada por: incremento nos valores séricos de ácidos graxos, no aumento da pressão arterial diastólica e da resistência vascular sistêmica e na liberação de noradrenalina circulante. A maior parte das alterações observadas ocorreu após a aplicação de apenas um conjunto desses testes (somente um estímulo) e a aplicação de outro grupo de estímulos acentuou ainda mais as alterações. A variação de algumas variáveis só aconteceu após determinado tempo e após dois estímulos o que sugere que para estudos com estresse há necessidade de um tempo maior de observação

Os níveis de ácidos graxos plasmáticos são maiores em obesos, discretamente mais elevados em mulheres e têm variação durante o dia e após refeição. Na pesquisa que fizemos, os indivíduos são homens e mulheres, magros, foram testados pela manhã e estavam em jejum para haver menor interferência dessas condições já citadas. Os ácidos graxos aumentaram rapidamente na corrente sanguínea após estímulo psicológico e físico. Sabe-se que os ácidos graxos exercem papel importante no metabolismo, principalmente como fonte de energia. Eles são produzidos no fígado, armazenados no tecido adiposo branco, são importante fonte de energia para o músculo cardíaco e esquelético e servem como fonte de calor para o tecido adiposo marrom.⁴⁸ Diferentemente da glicose, até anos recentes não se sabia muito a respeito da modulação dos ácidos graxos pelo sistema nervoso. Havel e Golfien^{49,50} haviam demonstrado o efeito da noradrenalina e adrenalina na liberação de ácidos graxos em cães, em 1959. Os autores mostraram que a infusão de doses

crescentes de noradrenalina em cães resultou no aumento prolongado de ácidos graxos livres. No nosso estudo, testamos o impacto de diferentes formas de estresse de modo repetido no aumento de ácidos graxos livres. Após o primeiro estímulo, houve aumento dos níveis de ácidos graxos livres. Esse aumento persistiu por 30 minutos, e um novo estímulo resultou em aumento adicional dos níveis de ácidos graxos. Essa regulação de forma rápida e precisa da homeostase metabólica tem a participação do sistema nervoso autônomo. Por outro lado, a relação entre o sistema nervoso central e ácidos graxos se dá nos dois sentidos. O sistema nervoso central e autonômico regula a liberação de ácidos graxos, e, ao mesmo tempo, os ácidos graxos interagem com o sistema nervoso central no sentido de regular o metabolismo de glicose e a homeostase de energia. Os ácidos graxos agem em receptores específicos no hipotálamo, e essa é uma forma de o sistema nervoso central modular a homeostase metabólica.^{49,51,52}

Nos trabalhos realizados sobre efeito do estresse, a metodologia adotada foi muito importante, pois os pesquisadores relataram resultados conflituosos devido à heterogeneidade das pesquisas. Um exemplo de escolha que deve ser bem feita é a escolha do horário de aplicação dos testes. Um segundo exemplo seria usar a metodologia em relação aos resultados, pois deve ser feita uma análise criteriosa dos efeitos do estresse antes, durante e depois do estímulo e a seguir descrever também o comportamento de variáveis hemodinâmicas (frequência cardíaca e pressão sistólica) na fase de recuperação pós estresse, pois esse comportamento pode prever risco cardiovascular.²

Testes mentais precisam seguir uma metodologia, e a escolha incorreta do teste, segundo Steptoe, pode provocar respostas metabólicas exageradas, às vezes atribuída à ação ou contração do músculo. A falta de metodologia pode até mesmo provocar contaminação dos resultados por aspectos psicossociais dos voluntários.⁵³ Nessa pesquisa, optamos por dois tipos diferentes de estresse (físico e mental) para diminuir esse risco. Na nossa avaliação, os indivíduos eram jovens e não se registrou repercussão na frequência cardíaca e pressão sistólica, mesmo após estresse repetido. Nossa hipótese era a de que, devido ao tipo de estresse moderado que provocamos (*hand grip* e teste das cores), teríamos um comportamento mais periférico do que central, o que foi corroborado quando vimos aumento da liberação de noradrenalina. A coleta de sangue foi feita sempre 30 minutos após o estresse,

para evitar erros de avaliação já relatados em estudo anteriores, como excesso de tensão muscular no teste com o *hand grip*. Nossos voluntários apresentaram alteração da resistência vascular, pressão arterial diastólica e alterações da complacência vascular com estresse sucessivo e respeitando um tempo de 30 minutos entre os estímulos o que sugere esse efeito periférico.^{54 55}

Nesse estudo, os estímulos psicológicos e físicos resultaram em aumento de ácidos graxos e no aumento da pressão arterial diastólica e da resistência vascular sistêmica. De acordo com Wallin e cols., o estresse psicológico e físico está associado com diferentes efeitos na atividade simpática para o coração e para a periferia²⁹. No nosso estudo, não houve diferença na frequência cardíaca antes e depois dos estímulos (estresse mental e físico), sugerindo o aumento da atividade simpática mais para a periferia que para o coração. Essa hipótese pode ser corroborada pela observação do aumento da pressão arterial diastólica dos indivíduos, que depende do aumento da resistência vascular periférica. Ainda, não houve aumento da pressão arterial sistólica, que depende mais diretamente do débito cardíaco, que, por sua vez, está relacionado diretamente com aumento da frequência cardíaca.

A resposta fisiopatológica aos estímulos do sistema nervoso simpático na camada tecido muscular liso dos vasos resulta no enrijecimento das artérias, inclusive das artérias musculares periféricas, levando ao aumento da resistência vascular e, por fim, da pressão arterial média. Na pesquisa que fizemos com estresse moderado, psíquico e físico, tivemos aumento da resistência vascular periférica.

O aumento da pressão diastólica influencia a resposta do sistema nervoso simpático ao estresse. Em estudos anteriores, foi relatado que a pressão arterial parece subir nos primeiros dois minutos após estresse e, talvez, os primeiros 30 segundos seriam os mais intensos.^{56,57} No nosso estudo, tivemos mais 30 minutos de exposição a 02 estímulos de estresses diferentes e somente a pressão diastólica subiu, provavelmente porque nossa população é jovem, com barorreflexo ainda muito sensível e preservado.

Schneider em seu trabalho justificou o aumento da pressão diastólica após estresse repetido devido à diminuição da sensibilidade do barorreflexo em voluntários normais com história de pais com hipertensão. Em nossa pesquisa, o comportamento da pressão arterial diastólica após estresse ($p=0,03$) e a Resistência vascular

periférica (valor $p=0,041$) não são iguais nos dois momentos medidos, quando feito o teste de Wilcoxon⁵⁸, sugerindo que no momento 2 pós-estresse há repercussão dessas duas variáveis, provavelmente por efeito mais periférico do que cardíaco.

No estudo de de Visser, em indivíduos normais, mas com história parental de hipertensão, foi notado aumento da resistência vascular periférica após dois tipos de estresse.⁵⁹

No trabalho feito com normotensos sedentários, esses foram considerados hiperreativos, porque apresentaram aumento de pressão sistólica e diastólica, quando submetidos ao teste com bicicleta ao serem comparados com indivíduos normotensos não sedentários (pouco reativos). Os sedentários apresentaram também maior aumento de pressão sistólica e diastólica quando fizeram teste mental com Stroop test, mas não o tiveram com Hand Grip ou imersão da mão no gelo (“*cold pressor*”), quando comparados aos indivíduos pouco reativos.⁶⁰ No nosso trabalho, não separamos indivíduos mais ou menos reativos, mas todos possuíam níveis pressóricos normais basais e mantiveram pressões arteriais sistólicas após estresse.

O estresse psicológico e físico resultou no aumento na distensibilidade de grandes e pequenas artérias em voluntários normais. Estudos anteriores já demonstraram uma associação da variação da frequência cardíaca com a distensibilidade de artérias de grande e médio calibre em humanos. No estudo de Giannattasio e cols., houve redução da distensibilidade de artérias de grande e médio calibre com o aumento da frequência cardíaca.⁶¹ No nosso estudo, a frequência cardíaca não se modificou após o estresse físico e psicológico. Talvez a intensidade do estresse não tenha sido o suficiente para isso, pois, Wallin e cols.²⁹ demonstraram um aumento sustentado de frequência cardíaca em voluntários normais após estresse físico (handgrip) e psicológico (teste aritmético). Nesse trabalho, Wallin relatou que, além do aumento da distensibilidade das grandes artérias, ocorreu também o aumento da distensibilidade de pequenas artérias após o estresse psicológico e físico. Alguns testes, como teste do discurso em público e testes aritméticos, parecem ter uma resposta mais intensa em relação a pressão sistólica, mas o teste das cores já é validado e é considerado um teste estressor moderado, mas capaz de alterar variáveis hemodinâmicas como a pressão arterial.⁶²

Em indivíduos com maior distribuição de massa gorda, há excesso de disposição de ácidos graxos pela maior quantidade de tecido adiposo, os adipócitos

também se tornam menos sensíveis ao efeito lipolítico da insulina e assim não vai ocorrer re-esterificação suficiente dos ácidos graxos. O excesso de ácidos graxos irá competir com a glicose como substrato fornecedor de energia para a gordura e músculo, provocando menor oxidação da glicose e aumento da resistência periférica à insulina no tecido muscular e no hepático.¹⁶

Nos indivíduos normais, a liberação de ácidos graxos pode estimular maior secreção de insulina (como aconteceu na nossa pesquisa) a partir estímulo mental e físico, e esse aumento de insulina é destinado a compensar a resistência periférica à insulina.¹⁶ O aumento dos ácidos graxos aconteceu no segundo para terceiro momento e se correlacionou com aumento de insulina.

Em estudo anterior, feito com indivíduos jovens, observou-se que, após refeição com glicose, é maior a repercussão do estresse do que em pessoas que não se alimentaram⁶³. Na nossa experimentação, mesmo em jejum houve repercussão hemodinâmica com alteração na pressão arterial diastólica. Houve ainda diferença na liberação de ácidos graxos e insulina após estresse físico e mental.

O efeito do status de jejum não parece ter sido importante porque a glicemia não teve alteração nos três momentos. Após os os estímulos 1 e 2, contudo, conseguimos demonstrar no momento 2 um aumento da insulina, o que nos faz sugerir que pode ser uma consequência fisiopatológica da liberação de ácido graxos após estresse.

Há vários tipos de testes estressores que podem ser psicológicos como teste mental, como o *Stroop color test*, teste com discurso para uma plateia ou de resolução de problemas de aritmética, e ainda testes estressores físicos como exercício isométrico (*Hand Grip*) e o teste com imersão do braço em gelo ("*Cold pressor*"), que provocam respostas hemodinâmicas diferentes. A resistência vascular periférica tende a aumentar mais com o teste da imersão do braço em gelo ("*Cold pressor*") e no nosso trabalho houve incremento da resistência vascular após estresse repetido com Hand grip e Stroop teste.^{55,64-66}

No trabalho de Cinciripini, também feito com estresse repetido em pacientes hiper-reativos (que seriam voluntários com história familiar de hipertensão e homens), tentou-se explicar como seria o mecanismo fisiopatológico que levaria à rigidez vascular, descrevendo (mostrando) que há alteração da morfologia da camada muscular dos vasos e, e alteração da função cardiovascular (débito cardíaco), alteração da regulação de excreção e reabsorção de sódio e água pelo rim. ⁶⁷ Nossos

voluntários só se mostraram reativos na parte hemodinâmica em relação à pressão diastólica, complacência de pequenos e grandes vasos e à resistência vascular.

Para avaliar essa homeostasia, fizemos dois tipos de estresse (físico e mental) e comprovamos que nesses tipos de estresse pode haver alterações metabólicas e hemodinâmicas, mas é importante sempre haver mais de um tipo de estímulo, e foi necessário provocar estresse físico e mental em dois momentos para aumentar a sensibilidade de detecção dessas alterações.

Em estudo feito com indivíduos hiper-reativos, o teste *hand grip* não foi o maior provocador de aumento pressórico em comparação ao teste de imersão no gelo, contrariando outros trabalhos. No nosso trabalho, apesar de termos feito todo protocolo do *hand grip*, também não houve aumento considerável para a pressão sistólica, o que sugere a menor reatividade do grupo de voluntários jovens e normais ao estresse físico e mental, principalmente a nível do coração.⁶⁸

A familiarização ou habituação do voluntário em relação aos procedimentos pode também comprometer o teste mental, o que justificaria o não aumento da pressão arterial. Nos nossos resultados, observou-se aumento da pressão diastólica quando se comparou o momento basal com o momento pós-estresse, mostrando que os dois estímulos de estresse foram realmente suficientes para causar alteração hemodinâmica.⁶⁰

Gênero, história familiar de doença cardiovascular, estilo de vida, fenótipo cerebral e distribuição da gordura visceral, mas não a raça, também podem influenciar na resposta ao estresse físico e mental^{62,69,70}. Na nossa pesquisa, os indivíduos eram sedentários, pardos e brancos, jovens e não tinham circunferência abdominal ou massa gorda aumentadas, que poderiam ser variáveis para alterar a resposta ao estresse.

Em pesquisas prévias, as medidas sanguíneas de noradrenalina apresentaram algumas dificuldades técnicas devido à depuração plasmática na própria concentração sérica e, quando a coleta é feita no antebraço, não há representação, segundo Wallin, da quantidade de catecolamina do sangue arterial.²⁹

Manuck *and col.*, estudando jovens normotensos filhos de hipertensos sob estresse, não observaram aumento de catecolaminas urinárias.⁷¹

A resposta do sistema nervoso simpático ao exercício moderado e exposição ao frio é a liberação de noradrenalina enquanto a resposta ao estresse psíquico e ao jejum é a liberação de adrenalina.⁴⁴

Em estudos científicos, o aumento de catecolaminas em testes laboratoriais pode não ser significativo para representar o estresse cotidiano, até mesmo porque os participantes assinam um termo de consentimento prévio que poderia minimizar esse efeito estressante. Em nosso trabalho, houve aumento de noradrenalina plasmática em cerca de 18,7% após o segundo momento de estímulo de estresse com teste Stroop e *Hand Grip*.⁶⁵

A literatura demonstra que, em relação à variabilidade da frequência cardíaca (VFC), os trabalhos podem ser conflitantes tanto por terem metodologias de pesquisa diferentes como por ocorrerem em situações ou condições ecológicas diferentes. Alguns exemplos incluem se a medida da VFC se deu sob alimentação com carboidratos, jejum, ou ingestão de água, realização do teste em diferentes horários do dia, posição do corpo (em pé ou deitado).⁷² Outro fator que pode alterar os resultados é a relação entre VFC e a modulação vagal que é bem heterogênea e pode variar entre pessoas.⁷²

No nosso trabalho, adotamos o jejum, o paciente estava deitado, mas não encontramos diferença considerável entre as variáveis de variabilidade de frequência cardíaca nas medidas realizadas. A hipótese é que o método utilizado para avaliar a VFC possa não ter sido adequado, com a sensibilidade necessária, ou que os tipos de estresse alteraram preferencialmente o sistema simpático periférico.

SUMÁRIO DOS RESULTADOS:

A aplicação da combinação de testes de estresse físico e mental em indivíduos normais resultou em aumento da atividade simpática e alterações hemodinâmicas, caracterizadas pelo aumento de noradrenalina plasmática, da pressão arterial diastólica, da resistência vascular sistêmica, e da distensibilidade das grandes e pequenas artérias. Do ponto de vista metabólico, houve rápida e progressiva mobilização de ácidos graxos, pois o estresse repetido resultou em maior incremento dos níveis de ácidos graxos. As alterações hemodinâmicas e metabólicas não tiveram, majoritariamente, relação direta entre si, com exceção da pressão arterial diastólica basal e a insulina. O melhor momento para se observar essas alterações foi após segundo estímulo estressor físico e mental.

7 - CONCLUSÃO

O organismo de jovens saudáveis, quando desafiado por uma combinação de estresse físico e mental, responde com alterações no sistema nervoso simpático, que influenciam no perfil hemodinâmico. As alterações metabólicas que acompanham essa resposta, em especial o aumento das taxas de ácidos graxos livres, são rápidas e proporcionais aos estímulos aplicados, e parecem ocorrer independentemente das alterações hemodinâmicas observadas.

8- REFERÊNCIAS

1. Rui L. Energy metabolism in the liver. *Compr Physiol* 2014;4:177-97.
2. Chida Y, Steptoe A. Greater Cardiovascular Responses to Laboratory Mental Stress Are Associated With Poor Subsequent Cardiovascular Risk Status. *Hypertension* 2010;55:1026-32.
3. Münzberg H, Qualls-Creekmore E, Berthoud H-R, Morrison CD, Yu S. Neural Control of Energy Expenditure. *Handb Exp Pharmacol* 2016;233:173-94.
4. Weiss B, Maickel RP. Sympathetic nervous control of adipose tissue lipolysis. *International Journal of Neuropharmacology* 1968;7:395-403.
5. Brand M, Brindle K, Buckingham JA, Harper JA, Rolfe D, Stuart J. The significance and mechanism of mitochondrial proton conductance. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity* 1999;23 Suppl 6:S4-11.
6. Koutsari C, Mundi MS, Ali AH, Jensen MD. Storage rates of circulating free fatty acid into adipose tissue during eating or walking in humans. *Diabetes* 2012;61:329-38.
7. Koutsari C, Jensen MD. Thematic review series: Patient-Oriented Research. Free fatty acid metabolism in human obesity. *J Lipid Res* 2006;47:1643-50.
8. Koutsari C, Snozek CL, Jensen MD. Plasma NEFA storage in adipose tissue in the postprandial state: sex-related and regional differences. *Diabetologia* 2008;51:2041-8.
9. Koutsari C, Zagana A, Tzoras I, Sidossis LS, Matalas AL. Gender influence on plasma triacylglycerol response to meals with different monounsaturated and saturated fatty acid content. *European journal of clinical nutrition* 2004;58:495-502.
10. Frayn KN, Humphreys SM. Metabolic characteristics of human subcutaneous abdominal adipose tissue after overnight fast. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism* 2012;302:E468-75.
11. Taggart P, Carruthers M. ENDOGENOUS HYPERLIPIDÆMIA INDUCED BY EMOTIONAL STRESS OF RACING DRIVING. *The Lancet* 1971;297:363-6.
12. Randle PJ, Garland PB, Hales CN, Newsholme EA. The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet* 1963;1:785-9.
13. Lafontan M, Berlan M. Fat cell adrenergic receptors and the control of white and brown fat cell function. *J Lipid Res* 1993;34:1057-91.
14. Lonnqvist F, Thome A, Nilzell K, Hoffstedt J, Arner P. A pathogenic role of visceral fat beta 3-adrenoceptors in obesity. *The Journal of clinical investigation* 1995;95:1109-16.
15. Ahlborg G, Felig P, Hagenfeldt L, Hendler R, Wahren J. Substrate turnover during prolonged exercise in man. Splanchnic and leg metabolism of glucose, free fatty acids, and amino acids. *The Journal of clinical investigation* 1974;53:1080-90.
16. Boden G. Role of Fatty Acids in the Pathogenesis of Insulin Resistance and NIDDM. *Diabetes* 1997;46:3-10.

17. Kasubuchi M, Hasegawa S, Hiramatsu T, Ichimura A, Kimura I. Dietary gut microbial metabolites, short-chain fatty acids, and host metabolic regulation. *Nutrients* 2015;7:2839-49.
18. Soret R, Chevalier J, De Coppet P, et al. Short-chain fatty acids regulate the enteric neurons and control gastrointestinal motility in rats. *Gastroenterology* 2010;138:1772-82.
19. Kim MH, Kang SG, Park JH, Yanagisawa M, Kim CH. Short-Chain Fatty Acids Activate GPR41 and GPR43 on Intestinal Epithelial Cells to Promote Inflammatory Responses in Mice. *Gastroenterology* 2013;145:396-406.e10.
20. Tan J, McKenzie C, Potamitis M, Thorburn AN, Mackay CR, Macia L. Chapter Three - The Role of Short-Chain Fatty Acids in Health and Disease. In: Frederick WA, ed. *Advances in Immunology*: Academic Press; 2014:91-119.
21. Karpe F, Dickmann JR, Frayn KN. Fatty acids, obesity, and insulin resistance: time for a reevaluation. *Diabetes* 2011;60:2441-9.
22. Kimura I, Inoue D, Hirano K, Tsujimoto G. The SCFA Receptor GPR43 and Energy Metabolism. *Frontiers in Endocrinology* 2014;5:85.
23. Hue L, Taegtmeyer H. The Randle cycle revisited: a new head for an old hat. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism* 2009;297:E578-91.
24. Krssak M, Falk Petersen K, Dresner A, et al. Intramyocellular lipid concentrations are correlated with insulin sensitivity in humans: a ¹H NMR spectroscopy study. *Diabetologia* 1999;42:113-6.
25. Booth J. A short history of blood pressure measurement. *Proc R Soc Med* 1977;70:793-9.
26. Harvey, William - Discovery of circulation of the blood. In.
27. Perin PC, Maule S, Quadri R. SYMPATHETIC NERVOUS SYSTEM, DIABETES, AND HYPERTENSION. *Clinical and Experimental Hypertension* 2001;23:45-55.
28. Kimura I, Inoue D, Maeda T, et al. Short-chain fatty acids and ketones directly regulate sympathetic nervous system via G protein-coupled receptor 41 (GPR41). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2011;108:8030-5.
29. Wallin BG, Esler M, Dorward P, et al. Simultaneous measurements of cardiac noradrenaline spillover and sympathetic outflow to skeletal muscle in humans. *The Journal of Physiology* 1992;453:45-58.
30. Steinberg HO, Paradisi G, Hook G, Crowder K, Cronin J, Baron AD. Free fatty acid elevation impairs insulin-mediated vasodilation and nitric oxide production. *Diabetes* 2000;49:1231-8.
31. Kronenberg G, Schöner J, Nolte C, Heinz A, Endres M, Gertz K. Charting the perfect storm: emerging biological interfaces between stress and stroke. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2017;267:487-94.
32. Sergeant S, Ruczinski I, Ivester P, et al. Impact of methods used to express levels of circulating fatty acids on the degree and direction of associations with blood lipids in humans. *Br J Nutr* 2016;115:251-61.
33. Tsuji H, Venditti FJ, Jr., Manders ES, et al. Reduced heart rate variability and mortality risk in an elderly cohort. The Framingham Heart Study. *Circulation* 1994;90:878-83.
34. Braga LM, Prado GF, Umeda, II, et al. Reproducibility for Heart Rate Variability Analysis during 6-Min Walk Test in Patients with Heart Failure and Agreement between Devices. *PLoS One* 2016;11:e0167407.
35. Julius S, Nesbitt S. Sympathetic overactivity in hypertension. A moving target.

Am J Hypertens 1996;9:113S-20S.

36. Selye H. Stress, hormones and inflammation. American journal of proctology 1955;6:226-7.

37. Bitton A, Sewitch MJ, Peppercorn MA, et al. Psychosocial determinants of relapse in ulcerative colitis: a longitudinal study. The American journal of gastroenterology 2003;98:2203-8.

38. Flaa A, Mundal HH, Eide I, Kjeldsen S, Rostrup M. Sympathetic Activity and Cardiovascular Risk Factors in Young Men in the Low, Normal, and High Blood Pressure Ranges. Hypertension 2006;47:396-402.

39. Chrousos GP, Gold PW. The Concepts of Stress and Stress System Disorders: Overview of Physical and Behavioral Homeostasis. JAMA 1992;267:1244-52.

40. Lovallo WR, Gerin W. Psychophysiological Reactivity: Mechanisms and Pathways to Cardiovascular Disease. Psychosomatic Medicine 2003;65:36-45.

41. Matthews KA, Katholi CR, McCreath H, et al. Blood Pressure Reactivity to Psychological Stress Predicts Hypertension in the CARDIA Study. Circulation 2004;110:74-8.

42. Logan JG, Barksdale DJ, Carlson J, Carlson BW, Rowsey PJ. Psychological stress and arterial stiffness in Korean Americans. Journal of psychosomatic research 2012;73:53-8.

43. Dias RG, Negrão CE, Krieger MH. Óxido nítrico e sistema cardiovascular: ativação celular, reatividade vascular e variante genética. Arquivos Brasileiros de Cardiologia 2011;96:68-75.

44. Sparrenberger F, Cichelero FT, Ascoli AM, et al. Does psychosocial stress cause hypertension? A systematic review of observational studies. Journal Of Human Hypertension 2008;23:12.

45. Schommer NC, Hellhammer DH, Kirschbaum C. Dissociation Between Reactivity of the Hypothalamus-Pituitary-Adrenal Axis and the Sympathetic-Adrenal-Medullary System to Repeated Psychosocial Stress. Psychosomatic Medicine 2003;65:450-60.

46. Matthews Karen A, Katholi Charles R, McCreath H, et al. Blood Pressure Reactivity to Psychological Stress Predicts Hypertension in the CARDIA Study. Circulation 2004;110:74-8.

47. Perrotta AS, Jeklin AT, Hives BA, Meanwell LE, Warburton DER. Validity of the Elite HRV Smartphone Application for Examining Heart Rate Variability in a Field-Based Setting. The Journal of Strength & Conditioning Research 2017;31:2296-302.

48. Geerling JJ, Boon MR, Kooijman S, et al. Sympathetic nervous system control of triglyceride metabolism: novel concepts derived from recent studies. J Lipid Res 2014;55:180-9.

49. Havel PJ. Peripheral Signals Conveying Metabolic Information to the Brain: Short-Term and Long-Term Regulation of Food Intake and Energy Homeostasis. Experimental Biology and Medicine 2001;226:963-77.

50. Goldfien RJHaA.

The role of the sympathetic nervous system in the metabolism of free fatty acids},

. In; 1959.

51. Seeley RJ, Woods SC. Monitoring of stored and available fuel by the CNS: implications for obesity. Nature Reviews Neuroscience 2003;4:901-9.

52. Puglianiello A, Cianfarani S. Central Control of Glucose Homeostasis. The review of diabetic studies : RDS 2006;3:54-60.

53. Steptoe A, Marmot M. Psychosocial, Hemostatic, and Inflammatory Correlates of Delayed Poststress Blood Pressure Recovery. *Psychosomatic Medicine* 2006;68:531-7.
54. Dunn JS, Taylor CE. Cardiovascular reactivity to stressors: Effect of time of day? *Chronobiology International* 2014;31:166-74.
55. Carter JR, Goldstein DS. Sympathoneural and adrenomedullary responses to mental stress. *Compr Physiol* 2015;5:119-46.
56. Kamiya H, Okumura K, Sone T, et al. Plasma adrenomedullin levels in the coronary circulation in vasospastic angina pectoris. *The American journal of cardiology* 2000;85:656-8, A10.
57. Greaney JL, Matthews EL, Wenner MM. Sympathetic reactivity in young women with a family history of hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2015;308:H816-22.
58. Schneider GM, Jacobs DW, Gevirtz RN, O'Connor DT. Cardiovascular haemodynamic response to repeated mental stress in normotensive subjects at genetic risk of hypertension: evidence of enhanced reactivity, blunted adaptation, and delayed recovery. *Journal Of Human Hypertension* 2003;17:829-40.
59. de Visser D, van Hoof IMS, van Doornen L, Hofman A, Orlebeke J, Grobbee D. Cardiovascular response to mental stress in offspring of hypertensive parents: The Dutch Hypertension and Offspring Study. *Journal of hypertension* 1995;13:901-8.
60. Herkenhoff F, Lima EG, Mill JG. Arterial pressure reactivity to experimental stress tests in normotensive humans with arterial pressure hyperreactivity during submaximal exercise. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas* 1994;27:1425-30.
61. Giannattasio C, Vincenti A, Failla M, et al. Effects of Heart Rate Changes on Arterial Distensibility in Humans. *Hypertension* 2003;42:253-6.
62. Simoes GMS, Campagnaro BP, Tonini CL, Meyrelles SS, Kuniyoshi FHS, Vasquez EC. Hemodynamic reactivity to laboratory stressors in healthy subjects: influence of gender and family history of cardiovascular diseases. *Int J Med Sci* 2013;10:848-56.
63. Frohnert BI, Jacobs DR, Jr., Steinberger J, Moran A, Steffen LM, Sinaiko AR. Relation between serum free fatty acids and adiposity, insulin resistance, and cardiovascular risk factors from adolescence to adulthood. *Diabetes* 2013;62:3163-9.
64. Lambert G, Schlaich M, Lambert E, Dawood T, Esler M. Stress Reactivity and Its Association With Increased Cardiovascular Risk: A Role for the Sympathetic Nervous System? *Hypertension* 2010;55:e20-e.
65. Fonkoue IT, Carter JR. Sympathetic neural reactivity to mental stress in humans: test-retest reproducibility. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 2015;309:R1380-R6.
66. El Sayed K, Macefield VG, Hissen SL, Joyner MJ, Taylor CE. Blood pressure reactivity at onset of mental stress determines sympathetic vascular response in young adults. *Physiol Rep* 2018;6:e13944-e.
67. Cinciripini PM. Cognitive stress and cardiovascular reactivity. I. Relationship to hypertension. *American heart journal* 1986;112:1044-50.
68. Moriyama K, Ifuku H. Increased cardiovascular reactivity to the cold pressor test is not associated with increased reactivity to isometric handgrip exercise. *European Journal of Applied Physiology* 2010;108:837-43.
69. Ginty AT, Kraynak TE, Fisher JP, Gianaros PJ. Cardiovascular and autonomic reactivity to psychological stress: Neurophysiological substrates and links to cardiovascular disease. *Auton Neurosci* 2017;207:2-9.

70. Jones A, McMillan MR, Jones RW, et al. Adiposity is associated with blunted cardiovascular, neuroendocrine and cognitive responses to acute mental stress. *PLoS ONE* 2012;7:e39143-e.
71. Manuck SB, Polefrone JM, Terrell DF, et al. Absence of enhanced sympathoadrenal activity and behaviorally evoked cardiovascular reactivity among offspring of hypertensives. *American Journal of Hypertension* 1996;9:248-55.
72. Quintana DS, Heathers JAJ. Considerations in the assessment of heart rate variability in biobehavioral research. *Front Psychol* 2014;5.

9 – ANEXO

TCLE - Termo de Consentimento para Participação em Pesquisa Clínica:

Nome do Voluntário: _____

Endereço: _____

Telefone para contato: _____ Cidade: _____ CEP: _____

E-mail: _____

1. Título do Trabalho Experimental: Resposta hemodinâmica e metabólica aguda ao estresse físico e mental em indivíduos normais

2. Objetivo: Primário: avaliar parâmetros metabólicos e hemodinâmicos em indivíduos normais submetidos a estresse físico e mental

Secundário: avaliar em indivíduos jovens qual melhor momento após estresse físico e mental para coleta de ácidos graxos

3. Justificativa: A hipertensão arterial sistêmica (HAS) ou pressão alta tem origem desde a infância devido a causas genéticas e pode ser desencadeada por fatores ambientais como excesso de sódio, estresse, obesidade. Em pessoas hipertensas é comum a associação com obesidade, dislipidemias, e diabetes mellitus. Essas síndromes também se sobrepõem à presença de resistência vascular à atividade da insulina nos tecidos como músculos e fígado. A insulina é o hormônio responsável pelo metabolismo da glicose proveniente da dieta com carboidratos que ingerimos e que

vai fornecer energia para funcionamento das células. Além da glicose O organismo humano também usa como fonte de energia os ácidos graxos e os aminoácidos. O excesso de glicose pode desencadear lesões orgânicas no rim, coração, cérebro e vasos, e doenças como infarto, acidente vascular cerebral, doença renal, sendo estes problemas de difícil solução com repercussões na saúde pública. A hipertensão arterial tem como um importante mecanismo para seu desenvolvimento o aumento da atividade do sistema nervoso simpático. Este promove a liberação de ácidos graxos na circulação sanguínea de acordo com a necessidade do indivíduo e gasto metabólico. Os ácidos graxos são importante fonte de energia que são fornecidos pela gordura na dieta e quando o organismo dá preferência para utilizá-los utilizar pode resultar em competição com a glicose o que contribui para intensificar a resistência vascular à insulina e possivelmente com outras alterações encontradas nos pacientes com a síndrome metabólica

4. Procedimentos da Fase Experimental: Os voluntários da pesquisa serão maiores que 18 anos e deverão vir no laboratório de pesquisa clínica em jejum de 10-12 horas para coleta de sangue para exames laboratoriais e realização de testes não invasivos. O tempo para execução dos procedimentos é de 1 hora

Exames laboratoriais – serão realizadas dosagens de glicemia, ureia, creatinina, sódio, potássio, colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol, triglicérides, ácido úrico, insulina, ácidos graxos livres e catecolaminas, interceucinas. A coleta de sangue para a dosagem de glicose, insulina, catecolaminas e ácidos graxos livres vai ser repetida após os voluntários serem submetidos a estresse físico e mental (*handgrip* e teste das cores). Não será necessário mais de uma punção pois se manterá o acesso venoso para a segunda coleta de sangue.

Teste de *handgrip* – o teste de *handgrip* será realizado com um dinamômetro Os voluntários serão orientados a realizarem 30% da força total durante um período de 3 minutos.

Teste das cores – O teste de cores consiste na leitura de uma palavra escrita com uma cor diferente do que ela significa. O teste das cores vai ser aplicado para cada indivíduo com uma duração de aproximadamente 10 minutos. O teste vai constituir de 3 tarefas: leitura de palavras, nomeação de cores e identificação da cor em que esta

escrita cada palavra, sem ter em conta o significado da mesma. A leitura de cada palavra dá uma indicação da fluência de leitura e estabelece um ponto de comparação relativamente à tarefa de nomeação de cor. O fato de haver uma discrepância entre o nome da palavra e a cor da tinta provoca um efeito de interferência na nomeação de cor.

Avaliação da composição corporal - a BIA será usada para a medida do percentual de gordura corpórea, massa magra, ângulo de fase e taxa metabólica basal nos voluntários (BIA 405, USA) em condição basal e após estresse físico e mental (*handgrip* e teste das cores).

Avaliação hemodinâmica – a avaliação hemodinâmica será de forma não invasiva com o H.D.I. (HypertensionDiagnosisIncorporation, CR2000, Eagan, USA). O H.D.I. CR2000 é um aparelho para avaliação hemodinâmica não invasiva que fornece valores do débito cardíaco, resistência vascular total, volume sistólico, impedância vascular total, distensibilidade de grandes artérias (complacência vascular) e a distensibilidade de pequenas artérias (função endotelial). A avaliação hemodinâmica também será realizada com o voluntário em repouso e após o estresse físico e mental (*handgrip* e teste das cores).

5.Desconforto ou Riscos Esperados: Desconforto devido ao tempo de exames tem duração de 1h e da coleta de sangue que poderá resultar em desconforto da punção pela picada da agulha e possível hematoma no braço do paciente, assim como a avaliação corpórea (BIA) quanto o HDI são métodos de superfície, não invasivos ao nosso modo de ver, sem risco para o paciente,mas poderá haver constrangimento, pois a avaliação corporal exige que o paciente fique deitado, sem cinto ou metais mas mantém-se vestido suas roupas. Pode haver estresse mental pelo stroop teste mas este já foi realizado em várias tipos de voluntários e não demonstrou risco de permanência de estresse ou desencadeamento de outras doenças psiquiátricas.

6. Métodos Alternativos Existentes: os métodos alternativos para este tipo de avaliação não são menos invasivos que os testes os critérios utilizados para esta pesquisa.

7. Retirada do Consentimento: o participante de pesquisa poderá retirar seu consentimento, decidindo não participar da pesquisa a qualquer tempo, sem nenhum prejuízo.

8. Garantia do Sigilo: os pesquisadores se comprometem em manter sigilo sobre os dados de pesquisa.

9. Garantia de ressarcimento compensação material, exclusivamente de despesas do participante e seus acompanhantes, quando necessário, tais como transporte e alimentação. Res. Nº 466/12 – Item II.21: Os pacientes não receberão nenhum tipo de pagamento ou ressarcimento por participarem da pesquisa.

10. Local da Pesquisa: A pesquisa será desenvolvida no ambulatório de Medicina e de enfermagem da Universidade Nove de Julho (UNINOVE) e e no **hospital Campo Limpo- estrada de Itapecerica 1661. São Paulo capital telefone 33947747**

11. Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) é um colegiado interdisciplinar e independente, com “munus público”, que deve existir nas instituições que realizam pesquisas envolvendo seres humanos no Brasil, criado para defender os interesses dos participantes de pesquisas em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento das pesquisas dentro dos padrões ético (Normas e Diretrizes Regulamentadoras da Pesquisa envolvendo Seres Humanos – Res. CNS nº 466/12). O Comitê de Ética é responsável pela avaliação e acompanhamento dos protocolos de pesquisa no que corresponde aos aspectos éticos.

Endereço do Comitê de Ética da Uninove: Rua. Vergueiro nº 235/249 – 3º subsolo - Liberdade – São Paulo – SP CEP. 01504-001 Fone: 3385-9197
comitedeetica@uninove.br

12. Nome Completo e telefones dos Pesquisadores (Orientador e Alunos)

para Contato:

Orientadoras:

Dra. Josiane Motta Motta, fone: (011)972442861 email jommtta99@yahoo.com.br;

Prof Dr Dr. Heno Ferreira Lopes Fone 996188893 email: hiphenogmail.com

13. Eventuais intercorrências que vierem a surgir no decorrer da pesquisa poderão ser discutidas pelos meios próprios.

15. Consentimento Pós-Informação:

Eu, _____, após leitura e compreensão deste termo de informação e consentimento, entendo que minha participação é voluntária, e que posso sair a qualquer momento do estudo, sem prejuízo algum. Confirmando que recebi uma via deste termo de consentimento, e autorizo a realização do trabalho de pesquisa e a divulgação dos dados obtidos somente neste estudo no meio científico.

São Paulo, de de .

Assinatura do Participante
Responsável

Assinatura do Pesquisador
