

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



MARIA CÂNDIDA CAMARGO ROLIM

Estresse em Estudantes Pré-Vestibulandos

Tese apresentada ao Instituto de Biologia para obtenção do Título de Mestre em Biologia Funcional e Molecular, na área de Fisiologia

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida pelo(a) candidato (a)

Maria Cândida Camargo Rolim

e aprovada pela Comissão Julgadora.

RjE

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Regina Célia Spadari

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Dora Maria Grassi-Kassisse

**Campinas
2007**

UNIDADE BC

Nº CHAMADA: _____

T/UNICAMP R.646e

V. _____ EX. _____

TOMBO BCCL 75909

PROC 16P-129-08

C _____ D X

PREÇO 11,00

DATA 11-03-08

BIB-ID 427361

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP

✓ R646e

Rolim, Maria Cândida Camargo
Estresse em estudantes pré-vestibulandos / Maria
Cândida Camargo Rolim. – Campinas, SP: [s.n.], 2007.

Orientadora: Regina Célia Spadari-Bratfisch.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de
Campinas, Instituto de Biologia.

1. Stress (Fisiologia). 2. Estudantes. 3. Cortisol. I.
Spadari-Bratfisch, Regina Célia. II. Universidade Estadual
de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

(rcdt/ib)

Título em inglês: Stress in senior students.

Palavras-chave em inglês: Stress (Physiology); Students; Cortisol.

Área de concentração: Fisiologia.

Titulação: Mestre em Biologia Funcional e Molecular.

Banca examinadora: Regina Célia Spadari-Bratfisch, Janete Aparecida Anselmo Franci,
Elenice Aparecida de Moraes Ferrari.

Data da defesa: 15/02/2007.

Programa de Pós-Graduação: Biologia Funcional e Molecular.

Data da Defesa: 15/02/2007

BANCA EXAMINADORA:

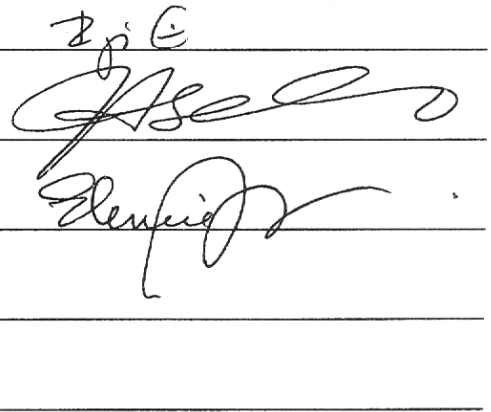
Profa. Dra. Regina Célia Spadari (Orientadora)

Profa. Dra. Janete Aparecida Anselmo Franci

Profa. Dra. Elenice Aparecida de Moraes Ferrari

Profa. Dra. Elisângela Farias Silva

Profa. Dra. Liana Lins Melo

The image shows five horizontal lines representing signature lines. The first three lines contain handwritten signatures in black ink. The first signature is 'R.C.', the second is 'Janete', and the third is 'Elenice'. The fourth and fifth lines are empty.

Aos meus pais

Dedico este trabalho

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Sérgio e Lígia, por acreditarem em cada passo que dou e pelo amor incondicional que recebo diariamente.

Aos meus irmãos e cunhadas, Sérgio, Gabriel, Janaína e Kelly, por me auxiliarem e encorajarem nos momentos difíceis.

À minha querida amiga-irmã Letícia, que esteve tão próxima a mim durante uma das fases mais difíceis de minha vida, me dando sempre muita força e carinho. A você querida, só tenho flores para dar e a minha eterna amizade a oferecer.

Aos meus preciosos amigos que me acompanham há tanto tempo nesta caminhada da vida: Ana Letícia, Carla, Mônica, Tatiana, Vivian e Michele. Obrigada por me mostrarem que os verdadeiros amigos não se separam, apenas seguem caminhos diferentes.

Ao David, pelo carinho e paciência, me socorrendo sempre que o computador não estava “disposto” a realizar as tarefas que eu desejava e tanto mais pela pessoa incrível que é.

Aos meus adoráveis companheiros de trabalho, Denise, Denis, Luciana, Paulo, Melissa, Cássia, Pedro Paulo, que transformam meus dias em sinônimo de alegria e prazer.

À Márcia, pela paciência, dedicação, atenção, competência e seriedade com que me acompanhou durante todo o mestrado, me ensinando cada passo a ser dado, na bancada ou fora dela, para tornar este trabalho possível.

Aos meus queridos amigos e colegas de pós-graduação: Heleninha, Leandro, Daniel, Danilo, Elaine, Edla, Eliane, Emiliane, Kelly, Ana Paula, Léli, Edgar, Alexandre, Gerusa, Maria Lúcia, Fabrizio, Débora, Aglécio e Helóisa, pelos momentos partilhados que muito nos ensinam e pela adorável convivência.

À professora Regina, pela receptividade, por permitir a realização dessa pesquisa, pelo apoio e confiança.

À professora Dora, pelo profissionalismo e por mostrar aos que a rodeiam que o mundo possui pessoas especiais, capazes de tratar a todos com respeito, carinho e educação.

A todos os funcionários do departamento de biologia e da pós-graduação, em especial à Andréia, Alexandra e Ivo.

À CAPES e FAPESP, entidades de fomento à pesquisa, que financiaram este projeto.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas.....	ix
Lista de Figuras.....	x
Lista de Tabelas.....	xii
Resumo.....	xiv
Abstract.....	xv
1 - Introdução.....	1
1.1 – Evolução do conceito de estresse.....	5
1.2 – Mediadores fisiológicos do estresse	9
1.3 - Mecanismos gerais de ação dos glicocorticóides.....	16
1.4 - Efeitos fisiológicos sistêmicos dos glicocorticóides	19
1.5 - Como avaliar o estresse	22
1.6 - Estresse em estudantes.....	22
2 - Objetivos.....	27
3 – Sujeitos, Material e Método.....	29
3.1 – Sujeitos experimentais.....	30
3.2 – Coleta de Saliva.....	31
3.3 – Análise da concentração salivar de cortisol.....	32
3.4 – Determinação do índice de estresse percebido.....	33
3.5 – Análise estatística.....	34

4 - Resultados.....	36
4.1 – Concentração salivar de cortisol em vestibulandos.....	37
4.2 – Concentração salivar de cortisol em vestibulandos de dois cursos pré-vestibular.....	46
4.3 – Concentração salivar de cortisol em estudantes do ensino médio.....	49
4.4. Índice de estresse percebido em vestibulandos e em alunos do ensino médio.....	53
5 - Discussão.....	60
6 - Conclusão.....	70
7 - Referências Bibliográficas.....	72
ANEXO 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	87
ANEXO 2 – Protocolo para Coleta de Saliva.....	89
ANEXO 3 – Questionário de Estresse Percebido.....	90

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH - hormônio adrenocorticotrófico

ADH – hormônio antidiurético

ANOVA – análise de variância

AP-1 - proteína ativadora-1

CRH - hormônio liberador de corticotrofina

CSC – concentração salivar de cortisol

DNA - ácido desoxirribonucléico

DP – desvio padrão

epm – erro padrão da média

GR – receptores de glicocorticóides

GREs – elementos de resposta aos glicocorticóides

MR – (*mineralocorticoid receptor*) receptores de mineralocorticóides

n – número de sujeitos

NfκB - fator nuclear [kappa] [be]

QEP - questionário de estresse percebido

RCC - ritmo circadiano da concentração salivar de cortisol

RNA_m – ácido ribonucléico mensageiro

rpm – rotação por minuto

SNC – sistema nervoso central

SNP – sistema nervoso periférico

SNS – sistema nervoso simpático

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Valores médios \pm epm da concentração salivar de cortisol (em $\mu\text{g/dL}$) de vestibulandos, ao longo do segundo semestre.....37
- Figura 2** - Valores médios \pm epm da concentração salivar de cortisol (em $\mu\text{g/dL}$) de vestibulandos do sexo feminino, em agosto (Ago), setembro (Set), outubro (Out) e no primeiro dia do exame vestibular (Nov).....38
- Figura 3** – Valores médios \pm epm da concentração salivar de cortisol (em $\mu\text{g/dL}$) de vestibulandos do sexo masculino, em agosto (Ago), setembro (Set), outubro (Out) e no primeiro dia do exame vestibular (Nov).....39
- Figura 4** – Valores médios da concentração salivar de cortisol às 8, 12 e 18h em vestibulandos de ambos os gêneros, em porcentagem.....39
- Figura 5** – Valores da concentração salivar de cortisol (em $\mu\text{g/dL}$) em três diferentes horários do dia, em vestibulandos ao longo dos meses avaliados.....40
- Figura 6** - Valores da concentração salivar de cortisol (em $\mu\text{g/dL}$) em três diferentes horários do dia, em vestibulandos do sexo feminino.....40
- Figura 7** - Valores da concentração salivar de cortisol (em $\mu\text{g/dL}$) em três diferentes horários do dia, em vestibulandos do sexo masculino.....41
- Figura 8** - Valores médios \pm epm da concentração salivar de cortisol (em $\mu\text{g/dL}$) dos vestibulandos que foram reprovados no vestibular.....43
- Figura 9** - Valores médios \pm epm da concentração salivar de cortisol (em $\mu\text{g/dL}$) dos vestibulandos que foram aprovados no vestibular.....44
- Figura 10** – Valores, em porcentagem, da concentração salivar de cortisol, tendo como máximo o maior valor obtido dentre os alunos de dois cursos preparatórios para o vestibular (setembro, às 8h, de Araraquara), sendo um localizado em Araraquara e outro em Campinas.....48
- Figura 11** – Médias da concentração salivar de cortisol medida às 8h, 12h e 18h (em $\mu\text{g/dL}$) de alunos do ensino médio, ao longo do ano.....49
- Figura 12** – Valores, em porcentagem, da concentração salivar de cortisol, tendo como máximo o maior valor obtido no grupo de estudantes do ensino médio (outubro, às 8h, no grupo Feminino).....50

Figura 13 - Valores da concentração salivar de cortisol (em $\mu\text{g/dL}$) em três diferentes horários do dia, em alunos do ensino médio.....	51
Figura 14 - Valores da concentração salivar de cortisol (em $\mu\text{g/dL}$) em três diferentes horários do dia, em alunos do ensino médio, do sexo feminino.....	51
Figura 15 - Valores da concentração salivar de cortisol (em $\mu\text{g/dL}$) em três diferentes horários do dia, em alunos do ensino médio, do sexo masculino.....	52
Figura 16 - Valores médios do escore obtido no Questionário de Estresse Percebido (QEP) de vestibulandos.....	54
Figura 17 – Valores médios do escore obtido no Questionário de Estresse Percebido (QEP) de alunos do ensino médio.....	54
Figura 18 – Porcentagem de vestibulandos por faixa de intensidade de estresse...	56
Figura 19 - Porcentagem de alunos do ensino médio por faixa de intensidade de estresse.....	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Número, seguido da porcentagem, de vestibulandos que apresentaram alteração no ritmo diurno da concentração salivar de cortisol, separados por gênero.....	41
Tabela 2 – Número de vestibulandos, de acordo com o gênero, que foram aprovados ou reprovados no exame vestibular.....	42
Tabela 3 – Número de vestibulandos que apresentam alteração no ritmo circadiano de cortisol, de acordo com o gênero, que foram aprovados ou reprovados no exame vestibular.....	42
Tabela 4 - Coeficientes de correlação de Pearson entre a concentração salivar de cortisol medida ao longo dos meses, às 8h, de alunos que apresentaram alteração no ritmo diurno e a aprovação ou reprovação no exame do vestibular.....	44
Tabela 5 - Coeficientes de correlação de Pearson entre a concentração salivar de cortisol medida ao longo dos meses, às 12h, de alunos que apresentaram alteração no ritmo diurno e a aprovação ou reprovação no exame do vestibular.....	45
Tabela 6 - Coeficientes de correlação de Pearson entre a concentração salivar de cortisol (em µg/dL) medida em novembro, às 8h, em ambos os gêneros, de alunos que apresentaram alteração no ritmo diurno da secreção de cortisol em relação a aprovação ou reprovação do exame vestibular.....	45
Tabela 7 - Coeficientes de correlação de Pearson entre a concentração salivar de cortisol (em µg/dL) medida em novembro, às 12h, em ambos os gêneros, de alunos que apresentaram alteração no ritmo diurno da secreção de cortisol em relação a aprovação ou reprovação do exame vestibular.....	45
Tabela 8 – Média (\pm epm) da concentração salivar de cortisol (em µg/dL) de vestibulandos de dois diferentes cursos preparatórios para o vestibular, sendo um localizado em Araraquara e outro em Campinas.....	47
Tabela 9 - Número de alunos do ensino médio, de ambos os gêneros, que apresentaram o ritmo circadiano da concentração salivar de cortisol (em µg/dL) alterado.....	53
Tabela 10 - Escores obtidos nos meses do segundo semestre no Questionário de Estresse Percebido (médias \pm epm) por vestibulandos aprovados ou reprovados no exame vestibular.....	57
Tabela 11 - Coeficientes de correlação de Pearson entre o escore obtido no Questionário de Estresse Percebido e a concentração salivar de cortisol (em µg/dL), às 8h, dos vestibulandos.....	57

Tabela 12 - Coeficientes de correlação de Pearson entre o escore obtido no Questionário de Estresse Percebido e a concentração salivar de cortisol (em $\mu\text{g/dL}$), às 8h, dos vestibulandos que apresentaram alteração no ritmo diurno da secreção de cortisol.....58

Tabela 13 - Coeficientes de correlação de Pearson entre os componentes do Questionário de Estresse Percebido e a concentração salivar de cortisol (em $\mu\text{g/dL}$), às 8h, de alunos do ensino médio.....58

RESUMO

Estresse é a resposta do organismo a situações que representam algum tipo de ameaça à sua integridade. Acredita-se que estudantes que prestam o vestibular enfrentam um período de alto índice de estresse psicossocial que perdura durante todo o ano. Neste estudo avaliamos o índice de estresse por meio da concentração salivar de cortisol (CSC) e da ocorrência de sinais e sintomas de estresse (questionário de estresse percebido, QEP). Estes indicadores foram avaliados em alunos de um curso pré-vestibular e em alunos do segundo ano do ensino médio. A coleta de material foi realizada mensalmente ao longo do ano letivo e no dia do vestibular. Os resultados mostram que, em vestibulandos, a CSC é significativamente mais alta em setembro, mês de inscrições, quando comparada aos outros meses do ano e ao dia do exame vestibular. Neste dia, também há um aumento na CSC às 12 e às 18h, quando comparado ao mesmo horário em agosto e outubro. O QEP não variou ao longo do ano. Não houve correlação entre os indicadores fisiológicos e psicológicos de estresse, assim como entre a concentração salivar de cortisol em novembro e o índice de aprovação no exame vestibular. Em alunos do ensino médio, a CSC e o QEP não sofreram alterações significativas ao longo do ano. Nós concluímos que vestibulandos são submetidos a alto índice de estresse ao longo do ano letivo, com aumento de indicadores fisiológicos de estresse nos meses de inscrição e no momento do exame e que a CSC pode ser um indicador confiável do grau de ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e, conseqüentemente, do índice de estresse.

ABSTRACT

Stress is defined as the organism response to a variety of potentially dangerous stimulus. During the year preparing to apply for the public universities, students have enormous intellectual work and psychosocial stress including several hours of daily study. The aim of this work is to evaluate stress through the salivary cortisol levels (SC) and the "Perceived Stress Questionnaire" (PS). These indicators of stress levels were determined in volunteer students who are preparing to start university (US) and pupils in the second year of high school (HS). Saliva samples were collected once a month during the scholar year and also on the day of the exam. The SC was higher in September, when US have to decide on a career, than those seen in other months or on the day of the exam. The SC increased in the exam day at 12:00 and 18:00 o'clock compared to August and October. The PS did not vary during the year. There was no correlation either between physiological and psychological stress or between the SC in November and the success in the admission exams. The SC and PS did not show statistical changes during the HS year. We conclude that the SC of US oscillated during the year indicating that these students are under high levels of stress, that are even higher in the period of registration and in the day of the exam, and that the SC is a good indicator of the hypothalamus-pituitary-adrenal activation level and, therefore, of stress.

I - INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

É senso comum que obter uma vaga em universidade pública é sinônimo de estar incluso em uma elite intelectual, pois essas instituições possuem elevada qualidade de ensino e a vantagem de oferecerem estudo e moradia, em alguns casos, gratuitos. Entretanto, os exames de ingresso apresentam alto grau de dificuldade, além de grande demanda pelas carreiras oferecidas, em relação às instituições particulares de ensino superior.

De acordo com Colossi et al. (2001), a educação superior é parte da história integrante da sociedade brasileira desde a chegada, a nosso país, da Família Real Portuguesa, em 1808. As três primeiras instituições fundadas no país foram: a Escola de Medicina do Rio de Janeiro, a Escola de Medicina da Bahia e a Escola de Engenharia e Arte Militar do Rio de Janeiro. Estas instituições abriram portas para os Cursos de Ciências jurídicas de São Paulo e Olinda, instalados em 1827, assim como mais 14 Escolas Superiores que, em 1889, foram desenvolvidos pela república.

Colossi et al. (2001) relatam, de acordo com dados oficiais do Ministério da Educação, que em 1994, o Brasil possuía cerca de 900 instituições de ensino superior, sendo pouco mais de uma centena constituída de universidades, enquanto as demais eram estabelecimentos isolados de ensino superior ou federações de escolas integradas. Nesta época havia quase 2.000.000 de alunos matriculados em cursos de graduação e pós-graduação no país, porém as universidades federais, estaduais e municipais abrigavam menos que 50% dessas matrículas.

A expansão do ensino superior até a data em questão (1994), tem como característica a qualidade insuficiente, resultado de um processo de crescimento destituído de avaliações das instituições e cursos (COLOSSI et al., 2001).

Vahl apud Havertood (1994) designa como oportunista a fase de expansão do ensino superior na década de 60 a 90, incentivada pela crescente demanda, e pelas facilidades propiciadas pelo governo nos projetos de investimento, onde o mesmo ingressa no campo da comercialização. Percebe-se que a expansão ocorreu sem o devido planejamento e a explosão do crescimento dessas instituições aconteceu sem critérios econômicos. Prova disso são as instituições que surgiram para suprir expectativas ou necessidades das sociedades locais ou regionais. Estas surgem pelo interesse de atuar em áreas geográficas economicamente atrativas para o empreendimento em questão (VAHL apud HAVERTOOD, 1994).

O Censo da Educação Superior, levantado pelo Ministério da Educação (MEC) e pelo Instituto Nacional de Estudos e Pesquisas Educacionais Anísio Teixeira (Inep) divulgam que no ano de 2005 havia no Brasil um universo de 2.165 instituições de ensino superior, 20.407 cursos e 4.453.156 matrículas.

Estes dados mostram o aumento do número de indivíduos que buscam dar continuidade aos estudos através do ingresso no ensino superior. No entanto, devido às condições sócio-econômicas desta grande população serem inferiores à média encontrada nos anos 90, esses alunos, em sua maioria, não estão preparados para enfrentar o exame de ingresso em uma universidade pública e não possuem condições financeiras para pagar altas quantias em uma universidade privada.

A grande demanda gerada por essa situação permitiu o crescimento do número de universidades privadas e, conseqüentemente, aumentou o número de vagas

disponíveis para cada curso. Estes fatores são alguns dos responsáveis pela atual situação do sistema de ingresso nas universidades particulares que, ao contrário das públicas, tem sido facilitado a cada ano. Entretanto, acirrou a disputa por vagas nas instituições públicas de ensino superior.

Embora seja senso comum que o período preparatório para ingresso na universidade pública, que perdura por todo o ano provoque grande estresse para os jovens brasileiros, não há pesquisas relacionadas a este assunto que comprovem tal fato.

Acredita-se que os estudantes enfrentem um período de grande ansiedade durante a realização dos testes de admissão para essas universidades. Tal fato foi colocado em pauta devido à existência de alguns estudos, como o realizado por Spangler et al. (1997), cujos resultados demonstraram que os exames, em geral, promovem reações relacionadas ao estresse na maioria dos estudantes.

O estresse no exame de admissão para uma universidade pública pode ser influenciado, entre outros fatores, pela ansiedade de se encontrar questões difíceis, falta de segurança em relação ao que foi estudado e incerteza em relação à escolha profissional.

O modo como as pessoas convivem com os estressores influencia o grau de estresse, havendo, de acordo com Lazarus et al. (1984), duas formas de reagir. Um grupo enfrenta a situação de estresse e tenta alterá-la para uma mais favorável sob o ponto de vista pessoal e outro dá atenção somente aos componentes não estressores, ignorando os estressores. Assim sendo, os efeitos do estresse sobre cada indivíduo podem ser diferentes, conforme cada um encara as dificuldades.

1.1 Evolução do conceito de estresse

A busca por definições apropriadas para o conceito de estresse e explicações sobre seus efeitos teve início há décadas.

Cannon (1914) nomeou de “homeostase” a reação que Claude Bernard havia definido como o “processo fisiológico coordenado responsável pela manutenção da estabilidade do organismo” e identificou o sistema nervoso simpático como essencial na preservação da homeostasia. Esse autor propôs ainda que o sistema nervoso simpático e a medula adrenal funcionam como uma unidade e formulou a teoria da “função de emergência” sobre a atividade deste sistema, através da observação de gatos expostos a cães latindo. A partir disto, descreveu, pela primeira vez, a reação de estresse identificando-a como uma resposta de “luta ou fuga” (ativada em situações nas quais o indivíduo se sente ameaçado), razão pela qual reconheceu também a importância do componente psicológico da resposta de estresse (CANNON, 1929). No entanto, Cannon nunca utilizou o termo “estresse” em seus trabalhos (PACAK & PALVKOVITS, 2001).

Interessado no conceito de “luta ou fuga” apresentado por Cannon, o endocrinologista Hans Selye passou a estudar o tema expondo ratos a fatores estressantes e concluiu que, independente da origem do estresse, o corpo reagia da mesma forma (PELLETIER et al., 1977).

Em 1936, Selye propôs o termo “stress” para se referir à tríade patológica que ele observava em ratos submetidos à administração de extratos químicos. Esta se caracterizava por ulcerações gastrointestinais, atrofia do timo e diminuição da atividade do sistema imunológico, além de hipertrofia da glândula adrenal. O mesmo resultado foi

por ele descrito em ratos expostos a frio, a toxinas, ao barulho, a patologias e em ratos que receberam injeções de solução salina. Neste último caso, acredita-se que o fator estressante tenha sido a administração repetida de injeções (SELYE, 1936; SAPOLSKY, 1990).

Baseado nestes resultados, Selye (1946) identificou a Síndrome Geral da Adaptação, representada por uma resposta inespecífica do organismo frente a qualquer estímulo reconhecido como aversivo ou perigoso para sua integridade, com o objetivo de promover a adaptação do animal a uma nova condição.

Selye, portanto, introduziu e popularizou o termo “stress” para denominar a resposta inespecífica do organismo a qualquer ameaça à sua integridade, e propôs o uso do termo “stressor” para definir seu agente causador (PICKERING, 1981). Ambos os termos foram incorporados ao vocabulário médico e popular de quase todas as línguas. Em português, foram criados os termos “estresse” e “estressor”, respectivamente.

Desde então, a reação de estresse vem sendo investigada e discutida por muitos pesquisadores, segundo os quais, na resposta a diferentes estressores, a atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal poderia variar, sugerindo que a presença de uma tríade patológica não represente necessariamente a ocorrência de estresse (MASON, 1971; 1975; MUNCK, et al., 1984; GOLDSTEIN, 1995).

Fatores individuais como características genéticas (MARPLE et al., 1972), gênero (LESCOAT et al., 1970; ANISHCHENKO & GUDKOVA, 1992; PARÉ & RADEI, 1993) e idade (RIEGLE, 1973; BÁNKY et al., 1994) também influenciam a reação de estresse. Mason (1975) também propôs que emoções como ansiedade e medo constituem a base para as respostas neuroendócrinas a diferentes estressores.

No entanto, o fator mais importante parece ser a percepção que o indivíduo tem do estímulo que lhe é apresentado. Esta percepção depende das experiências previamente vivenciadas pelo mesmo ou filogeneticamente adquiridas pela espécie, e da novidade ou previsibilidade do estímulo (GRIFFIN, 1989; VOGEL & JENSH, 1998).

Selye (1946) destacou a importância clínica do estresse ao estabelecer o conceito de doenças a ele relacionadas, atribuindo-as a falhas na adaptação. Este autor resumiu a reação de estresse como um processo de três fases:

- **fase de alarme**, na qual o corpo apresenta as mudanças características da primeira exposição ao estressor, com o reconhecimento de uma ameaça à integridade do organismo. Disso resulta a ativação de mecanismos de defesa, como o sistema nervoso simpático e a glândula adrenal, o que caracteriza esta fase como aquela descrita anteriormente por Cannon (1935) como “reação de luta ou fuga”;

- **fase de resistência**, ocorre se a exposição continuada ao estressor for compatível com a adaptação. Os sinais corporais característicos da reação de alarme desaparecem e ocorre readaptação do organismo. Nesta fase, o organismo encontra-se debilitado para reagir a outros estressores;

- **fase de exaustão**, surge após a exposição prolongada ao mesmo estressor ao qual o corpo não se adaptou anteriormente e a energia para a adaptação esgota-se. Os sinais da reação de alarme reaparecem de forma irreversível, podendo desencadear doenças para as quais o sujeito tenha predisposição genética e até ser fatal.

A inespecificidade da reação de estresse foi revista por alguns autores, os quais concluíram que a intensidade destas respostas varia de acordo com a qualidade e intensidade do agente estressor (MASON, 1968a, 1968b; HENNESSY et al., 1979).

Ao termo homeostasia foi adicionado o termo alostasia, criado por STERLING & EYER (1988). Segundo este conceito, a estabilidade do meio interno seria alcançada por meio de alterações fisiológicas necessárias para que os organismos se adaptem ao meio ambiente, que é variável (McEWEN, 2003; GOLDSTEIN, 2003), pois, embora a reação de estresse possa resultar em doenças, ela torna possível a sobrevivência e adaptação dos seres vivos frente aos inúmeros estímulos a que estão constantemente expostos (FRASER et al., 1975; CHROUSOS & GOLD, 1992).

Ao conjunto das alterações necessárias para manter a alostasia dá-se o nome de carga alostática. A alostase corresponderia a um novo estado de adaptação, o qual resultaria em um novo nível normal de atuação em contraposição ao conceito de homeostase, que propõem o retorno às condições iniciais (McEWEN & LASLEY, 2003).

O cérebro desempenha importante função nos processos alostáticos, controlando simultaneamente todos os mecanismos e também atuando sobre fatores como experiências, memórias e avaliação antecipada das necessidades fisiológicas (KOOB, 2001). Quando o organismo se adapta, um novo estado de equilíbrio é obtido. Entretanto, se a resposta alostática é prolongada, inadequada, se o estressor aumenta ou se ainda há falha no processo adaptativo, o resultado é a sobrecarga alostática, podendo surgir patologias relacionadas ao estresse para as quais o indivíduo apresenta alguma predisposição (McEWEN & LASLEY, 2003).

A premissa central deste tema gira em torno dos danos que surgem ao corpo se os mediadores da alostase, hormônios adrenais e neurotransmissores, entre outros, forem liberados com frequência ou controlados de forma ineficiente (McEWEN & LASLEY, 2003).

1.2. Mediadores fisiológicos do estresse

Foram apontados como os principais mediadores periféricos da resposta de estresse os eixos sistema nervoso simpático-medula adrenal e hipotálamo-hipófise-adrenal cujos mensageiros seriam a noradrenalina, a adrenalina, hormônio liberador de corticotrofina (CRH), o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e o cortisol. Estes foram considerados os “hormônios do estresse”, embora se admita que muitos outros sistemas participam dessa resposta.

O eixo constituído pelo sistema nervoso simpático e medula adrenal foi considerado como unidade funcional durante muito tempo. Entretanto, com o avanço das técnicas de dosagens que permitem a separação das catecolaminas verifica-se que em algumas situações a ativação dessas estruturas não ocorre simultaneamente.

As catecolaminas sintetizadas na medula adrenal são liberadas, principalmente, em situações extremas como ocorre durante a hipoglicemia, hipovolemia, hipotensão e dor.

Em outras ocasiões, a ativação ocorre, principalmente, em resposta a reflexos que envolvam a medula espinal e o sistema nervoso simpático, como a regulação da temperatura pelo controle da sudorese e do fluxo sanguíneo da pele, a vasodilatação da musculatura esquelética durante a atividade física, o aumento da frequência cardíaca e da força de contração do coração, o aumento agudo da pressão arterial, a atuação sobre os reflexos gastrintestinais, entre outras funções (CHROUSOS, 1997; CHROUSOS, 2002).

Estudos recentes mostram que as alterações na atividade do sistema nervoso simpático não estão relacionadas apenas com situações emergenciais. O grau de

atividade deste sistema pode variar para manter a homeostasia em situações rotineiras (GOLDSTEIN, 2003). Atividades como falar em público (GERRA et al., 2001), estado alimentar (PATEL et al., 2002), mudança de postura (LAKE et al., 1976), também estão associadas às alterações do sistema nervoso simpático.

Como mencionamos anteriormente, Cannon (1939) já havia concluído em seus estudos que, nos estados de emergência, ocorre rápida ativação dos mecanismos orgânicos de defesa, que incluem o sistema nervoso simpático, a medula e o córtex da glândula adrenal, preservando o meio interno por produzir ajustes compensatórios e antecipatórios que aumentam a probabilidade de sobrevivência. Este comportamento imediato de ativação da medula adrenal liberando, principalmente adrenalina, pode preservar a integridade do meio interno (GOLDSTEIN, 2003).

As condições caracterizadas por novidade, antecipação, imprevisibilidade ou mudança, portanto, produzem aumento da liberação de adrenalina, que se correlaciona com o grau de alerta provocado pelo estressor. Porém, se o indivíduo adquire controle sobre a situação, a liberação de adrenalina diminui, o que nem sempre acontece com a repetição à sua exposição (FRANKENHAUSER et al., 1975).

Frankenhauser et al. (1975) mostraram que entre indivíduos normais, aqueles que apresentam as concentrações relativamente mais altas de catecolaminas parecem ter melhor desempenho no que se refere à velocidade, precisão e resistência, mesmo em casos de infusão de catecolaminas. Esta relação parece ser válida principalmente para a adrenalina, mas se aplica também à noradrenalina.

Alguns estudos sobre a resposta de estresse em humanos e em modelos animais demonstraram, subseqüentemente, que inúmeros estressores desencadeiam alterações de sensibilidade às catecolaminas (noradrenalina e adrenalina) nos órgãos e

tecidos, durante o período de estresse (BASSANI & DE MORAES, 1986; VOGEL, 1988; RODRIGUES, 1993; FARIAS-SILVA et al., 1998; VAN GOOZEN et al., 1998; SPADARI-BRATFISCH & SANTOS, 2001; SAMPAIO-BARROS et al., 2003; SANTOS & SPADARI-BRATFISCH, 2006).

Durante o repouso, as concentrações plasmáticas de noradrenalina encontra-se ao redor de 50 a 80 pg/mL, e as de adrenalina, entre 200 a 250 pg/mL. Porém, durante condições de ativação do sistema nervoso autônomo, como o estresse, estes valores aumentam, atingindo concentrações de 200 a 400 pg/mL e 1500 a 2000 pg/mL, respectivamente (AIRES, 1999).

Para que o transmissor secretado por uma terminação nervosa autonômica possa estimular seu órgão efector, ele deve se ligar a receptores específicos. No caso das catecolaminas existem dois tipos principais de receptores adrenérgicos, os receptores alfa (α) e beta (β). Bylund et al. (1994) descreveram dois subgrupos de adrenoceptores do tipo α (α_1 e α_2) e três do tipo β (β_1 , β_2 e β_3) que diferem entre si quanto à seqüência de aminoácidos de sua estrutura protéica, quanto à afinidade por agonistas e antagonistas adrenérgicos, e quanto ao sistema de segundos mensageiros a que estão acoplados.

Quando em concentrações fisiológicas, a noradrenalina excita principalmente o adrenoceptor β , enquanto a adrenalina atua igualmente sobre os dois tipos de receptores adrenérgicos. Portanto, o que caracteriza qual o efeito das catecolaminas sobre cada órgão é a afinidade do hormônio com o órgão efector determinada pela população de receptores presentes naquele órgão.

Os receptores β agem diferentemente dos receptores α -adrenérgicos, por estarem acoplados ao sistema da adenilil ciclase e, quando ativados, aumentarem a

concentração intracelular de AMPc, que é o segundo mensageiro responsável pelos efeitos biológicos produzidos, com intervenção de proteínas quinases específicas e modulação da atividade de enzimas. Ao contrário do adrenoceptor β , o α_2 , diminui a concentração de AMPc e a atividade das proteínas quinases, pois interage com a proteína G_i , que é inibidora da subunidade catalítica da adenilil ciclase. No entanto, o receptor α_1 -adrenérgico está acoplado ao sistema fosfatidilinositol da membrana, e seus efeitos são mediados pela quinase protéica C, e por íons cálcio (LEFKOWITZ & HOFFMAN, 1980).

Além da interação com receptores adrenérgicos, a resposta dos tecidos às catecolaminas também se deve à atividade dos sistemas de metabolização das catecolaminas: a recaptção neuronal e a captação extra-neuronal (SHORE, 1972). A adrenalina é o principal substrato da captação extra-neuronal, no qual as catecolaminas são captadas por células não nervosas do tecido e metabolizadas por ação da enzima catecol-orto-metil transferase (COMT). O sistema de recaptção neuronal, tem como principal substrato a noradrenalina, que após ser recaptada pelas terminações nervosas, sofre inativação pela enzima monoamino-oxidase (MAO) (TRENDELENBURG & GRAEFE, 1972; ABELL, 1987). Os hormônios esteróides são alguns dos responsáveis pela alteração da eficiência destes dois sistemas (IVERSEN & SALT, 1970).

Cerca de 80% da secreção da medula adrenal correspondem à adrenalina e 20% à noradrenalina, embora as proporções relativas possam mudar consideravelmente sob condições fisiológicas diferentes.

A percepção do estímulo como uma agressão ou um desafio é um dos fatores mais importantes para desencadear a reação de estresse. Tal percepção depende da

novidade ou previsibilidade do estímulo em relação às experiências vivenciadas pelo indivíduo (GRIFFIN, 1989) ou de aquisições filogenéticas da espécie.

Algumas das respostas a estes estímulos são: o aumento da pressão arterial e o aumento do fluxo sanguíneo para os músculos ativos concomitante com a diminuição do fluxo sanguíneo para as vísceras que não são necessárias para a atividade motora rápida, aumento da concentração de glicose no sangue, aumento da glicogenólise no fígado e no músculo, aumento da força de contração muscular, aumento da atividade mental e aumento de coagulação do sangue. A soma de todos esses efeitos permite que o indivíduo desempenhe uma atividade física mais extenuante do que seria possível de outro modo. No entanto, o sistema simpático é ativado também em resposta a estados emocionais.

O desenvolvimento e a expressão de uma emoção são considerados como constituídos por vários componentes. Inicialmente, ocorre o reconhecimento de um evento importante capaz de produzir uma experiência emocional consciente, que medeia sinais de saída para estruturas periféricas que incluem o coração, vasos sanguíneos, as glândulas adrenais e glândulas sudoríparas (TSIGOS & CHROUSOS, 2002).

A organização das respostas a estímulos aversivos ou desconhecidos depende de estruturas cerebrais. A percepção do estressor pelo córtex cerebral, promove a ativação do sistema límbico e do hipotálamo que desempenha papel central neste processo (VAN DER KAR et al., 1991).

O hipotálamo tem vital importância na reação de estresse, modulando os circuitos reflexos viscerais, por meio de neurônios hipotalâmicos que se projetam para duas importantes regiões no tronco cerebral. Uma delas é o *núcleo do trato solitário*, o

principal recipiente dos influxos sensoriais a partir das vísceras. Este núcleo ativa neurônios eferentes do nervo vago e de outros nervos parassimpáticos do tronco cerebral, controlando a temperatura, a frequência cardíaca, a pressão sangüínea e a respiração. Outra região receptora das projeções hipotalâmicas é *bulbo ventral rostral*, que controla a saída pré-ganglionar simpática geral. O hipotálamo também atua sobre o sistema endócrino através de neurônios parvocelulares que sintetizam e secretam hormônios no sistema porta hipotalâmico-hipofisário. Esses hormônios podem estimular ou inibir as secreções da glândula hipófise anterior (CHARMANDARI et al., 2005).

Selye (1976) relatou que o primeiro efeito da reação de estresse tem como objetivo produzir um estímulo, que ao atuar sobre o hipotálamo, promoverá a liberação do CRH.

Conforme citado por CHARMANDARI et al. (2005), o CRH é secretado no plexo capilar primário do sistema porta-hipofisário, na eminência mediana do hipotálamo e posteriormente transportado até a hipófise anterior, onde induz a secreção do ACTH, com conseqüente aumento na secreção de glicocorticóides pelo córtex adrenal (AXEROLD & RESINE, 1984).

O aumento das concentrações plasmáticas de glicocorticóides, pelo córtex adrenal e a ativação simultânea do sistema nervoso simpático e da medula adrenal, com conseqüente aumento dos níveis plasmáticos de catecolaminas iniciam a resposta periférica do estresse (CANNON et al., 1927; AXEROLD & RESINE, 1984; NATELSON et al., 1988).

Os glicocorticóides, principalmente o cortisol, desencadeiam uma série de efeitos metabólicos que visam aliviar a natureza nociva do estado de estresse. Estas alterações são fundamentais para o sucesso do processo adaptativo uma vez que

aumentam a disponibilidade de energia e o metabolismo de suporte, além de adiarem o anabolismo, energeticamente dispendioso, até períodos menos estressantes.

Ao aumentar a concentração plasmática de cortisol, ocorre retroalimentação negativa direta sobre o hipotálamo e a glândula hipófise anterior, diminuindo a secreção de CRH e de ACTH, com o objetivo de diminuir a concentração plasmática de cortisol até concentrações fisiológicas.

Neurônios noradrenérgicos, serotonérgicos e colinérgicos, localizados no córtex pré-frontal e áreas subcorticais (incluindo o núcleo paraventricular, a amígdala, o hipocampo e o núcleo do trato solitário) desempenham papel importante na modulação dos sistemas emocional e motor. A hiperativação desse sistema, no estresse repetido, está associada a uma regulação para baixo de receptores tipo α_2 -adrenérgicos e serotonérgicos e a um conseqüente aumento da liberação de noradrenalina e serotonina. Isso, por sua vez, provoca regulação para baixo de receptores β -adrenérgicos e α_1 -adrenérgicos. Assim, as alterações neuroplásticas iniciais aumentam a liberação pré-sináptica de noradrenalina e diminuem a ação pós-sináptica dos neurônios. Desse modo, o estresse pode alterar a efetividade da rede neuronal central, sendo responsável por uma série de respostas mal adaptativas (CALOGERO et al., 1990; FULLER et al., 1996).

O hormônio antidiurético (ADH) é também liberado durante o estresse e atua como potente fator sinergista ao CRH, potencializando a liberação de ACTH. Esta é uma relação de retro-alimentação positiva entre o CRH e o ADH que ocorre no hipotálamo, sendo um peptídeo estimulado pelo outro (HORROCKS et al., 1990; IRANMANESH et al., 1990; VELDHUIS et al., 1990; CALOGERO et al., 1992).

Em situações em que não há estresse, tanto o CRH quanto o ADH são secretados no sistema porta hipotalâmico-hipofisário de forma pulsátil, obedecendo a um ritmo circadiano. A amplitude destes pulsos aumenta no início da manhã, resultando em aumento da secreção de ACTH e, como consequência, de cortisol. As variações circadianas da secreção pulsátil de ACTH e de cortisol são normalmente alteradas pela luminosidade, cronograma alimentar e atividades, assim como pela frequência com que os fatores estressantes ocorrem (CHARDAMANDARI et al., 2005).

Durante o estresse agudo ocorre aumento da amplitude e sincronização da liberação pulsátil de CRH e de ADH. Além disso, dependendo do estressor, outros fatores como a angiotensina II, citocinas e mediadores lipídicos de inflamação são secretados e agem sobre o sistema hipotálamo-hipófise (CHARDAMANDARI et al., 2005).

1.3. Mecanismos gerais de ação dos glicocorticóides

Os glicocorticóides foram descobertos em 1940, por Hench. Eles causam alterações metabólicas capazes de promover respostas diversificadas e têm potente ação antiinflamatória sendo, por isso, amplamente utilizados com finalidade terapêutica. Estão entre os primeiros hormônios descritos a se ligarem a um receptor intracelular (receptor de glicocorticóide) e exercerem seus efeitos após ligação proteína-DNA (HOLLENBERG et al., 1985). Atualmente, admite-se que existem dois tipos de receptores de glicocorticóides no sistema nervoso central. O primeiro, denominado receptor de glicocorticóide tipo I ou receptor de mineralocorticóide (GR I ou MR), é capaz de responder a concentrações fisiológicas de glicocorticóides e o segundo,

denominado receptor de glicocorticóide tipo II (GRII), é responsivo somente a concentrações de glicocorticóides mais altas, normalmente relacionadas ao estresse (CHROUSOS et al., 1992; HABIB et al., 2001; CHROUSOS et al., 2002).

Atualmente acredita-se que os glicocorticóides exerçam suas ações de duas maneiras (BUTTGEREIT et al., 1998): (1) ações dependentes de modificações na expressão gênica e (2) ações não-transcricionais.

O mecanismo de ação depende da concentração de glicocorticóide e do tempo de exposição ao hormônio. Concentrações baixas desencadeiam ações dependentes de modificação na expressão gênica, enquanto que concentrações altas acarretam também ações não-transcricionais (BUTTGEREIT et al., 1998). A velocidade da resposta também varia, sendo os efeitos sobre a expressão gênica mais lentos, já que requerem passagem por diversas etapas metabólicas (LIMBOURG & LIAO, 2003).

No mecanismo de ação dependente de modificações na expressão gênica, os glicocorticóides atravessam por difusão a membrana das células, por serem hormônios lipossolúveis, e se ligam a receptores citoplasmáticos, os quais existem sob duas formas: alfa e beta. A forma alfa é funcionalmente ativa, enquanto a forma beta é incapaz de se ligar ao hormônio, atuando como antagonista da forma alfa (BUTTGEREIT et al., 1998). O receptor alfa, na sua forma inativa, está ligado a um complexo de proteínas de choque térmico. A ligação do glicocorticóide ao receptor desfaz sua ligação às proteínas de choque térmico e o conjunto glicocorticóide-receptor sofre dimerização ao se ligar a outro conjunto glicocorticóide-receptor. Este complexo se transloca para o núcleo celular, onde se liga a seqüências palindrômicas específicas presentes no DNA (BARANIUK et al., 1996). Neste, os pontos específicos para a ligação com os glicocorticóides são chamados de “elementos de resposta aos

glicocorticóides” (GREs) (RICCARDI et al., 1999). Esta ligação inicia ou interrompe a transcrição do gene específico e conseqüentemente, modula a síntese da proteína correspondente.

Os glicocorticóides também ativam outros fatores de transcrição e atuam através de interação proteína-proteína sem associação direta com o DNA (STOECKLIN et al., 1997). Um exemplo desse mecanismo é a inibição pré-transcricional dos glicocorticóides sobre os fatores de transcrição AP-1 (*activating protein 1*) e NF- κ B (*nuclear factor kappa B*) (RAHMSDORF et al., 1990).

O mecanismo de ação não-transcricional dos glicocorticóides leva de segundos a minutos para ocorrer e, conforme citado anteriormente, necessita de doses mais altas de glicocorticóides (BUTTGEREIT et al., 1998).

Entre as ações pós-transcricionais desses hormônios, podemos citar a desestabilização do RNA mensageiro formado e influências sobre o transporte e a secreção de proteínas recém-formadas. Ocorrem ações sobre a membrana interna da mitocôndria, aumento de permeabilidade aos prótons e conseqüente distúrbio no processo de fosforilação oxidativa (BUTTGEREIT et al., 1998). Incluem-se nesta categoria os efeitos dos glicocorticóides sobre a secreção de ACTH, supressão da produção de prolactina, efeitos sobre a estabilização de membranas, indução de apoptose e possivelmente, ação antianafilática (CATO et al., 2002).

1.4. Efeitos fisiológicos sistêmicos dos glicocorticóides

A resposta de estresse, em geral, deve ocorrer por um curto período de tempo, pois, quando desta forma, está relacionada a efeitos benéficos e/ou com conseqüências não-adversas ao indivíduo. Isto porque ela é responsável por inibir a liberação de hormônio do crescimento, dos hormônios relacionados à reprodução, do sistema imunológico e por ativar o catabolismo. Estas características promovem alterações no metabolismo de carboidratos, proteínas e gorduras, sempre no sentido de aumentar a concentração plasmática de substratos energéticos às custas dos estoques de energia, além de aumentarem o tônus cardiovascular e a cognição (CHROUSOS & GOLD, 1992).

No entanto, como descrito por Chrousos & Gold, (1992) a ativação crônica da resposta de estresse pode levar a inúmeras patologias devido ao tempo prolongado de secreção do CRH e, conseqüentemente, de glicocorticóides. Por esta razão, tão importante quanto iniciar a reação de estresse, é finalizá-la. Este papel é desempenhado pelo mecanismo de retroalimentação negativa do cortisol sobre o hipotálamo e a hipófise anterior, diminuindo a secreção de CRH, de ACTH (TSIGOS & CHROUSOS, 2002).

A manutenção de um estado ativado de estresse, por falha neste mecanismo ou pelas atribulações vividas diariamente por períodos prolongados, dependendo de como são enfrentadas, pode gerar sensações desagradáveis como as reações fisiológicas de palpitações no coração e dor de estômago. No entanto, quando as crises se sucedem, a fragilidade física gerada por alterações relacionadas ao estresse pode resultar no surgimento de patologias como hipertensão, aterosclerose, infarto do miocárdio,

arritmias cardíacas, cardiomiopatias, câncer, artrite reumatóide, entre outras (CHARDAMANDARI et al., 2005).

O fato de haver relação entre a frequência de determinadas patologias e o gênero pode ser explicado pela diferença no comportamento dos hormônios sexuais (YOUNG, 1998).

Comparada à população feminina, da mesma idade, a masculina apresenta maior incidência de arterosclerose (Kalin & Zumoff, 1990) e doenças infecciosas (Klein, 2000), enquanto as mulheres apresentam maior incidência de doenças auto-imunes, incluindo a artrite reumatóide e a esclerose múltipla (Beeson, 1994; Withcare et al., 1999), além de outras patologias relacionadas ao estresse como a fibromialgia (Wolfe et al., 1995) e a dor crônica (Verhaak et al., 1998).

As diferenças fisiológicas existentes de acordo com o gênero, promoveram a busca por respostas relacionadas aos estressores. Kirschbaum et al. (1993) relatam em seus estudos que as respostas do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal tendem a ser menores em mulheres no período reprodutivo, quando comparadas a homens da mesma faixa etária. No entanto, as diferenças sexuais são muito pequenas, ou quase inexistentes, quando se comparam mulheres antes da puberdade e após a menopausa, e homens.

Outro estudo realizado por Kirschbaum et al. (1999) mostrou que a concentração salivar de cortisol encontrada em indivíduos que realizaram um teste de oratória em público seguido de um teste matemático, foi menor em mulheres do que em homens, assim como os resultados encontrados por Kudielka et al. (1998) realizados nos mesmos moldes, com 39 indivíduos do sexo masculino e 36 do sexo feminino.

De acordo com Abplanalp et al. (1977) muitos estudos fazem uso de estressores, como entrevistas, para simular situações de estresse agudo, onde ocorre ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal independente da fase do ciclo menstrual. Porém, em um estudo realizado com 15 mulheres entre os dias 5 a 7 e 24 a 26 do ciclo menstrual, a resposta a um estressor (um teste matemático) foi maior na fase lútea do que na fase folicular.

Resultados semelhantes aos apresentados anteriormente foram demonstrados por Kirschbaum et al. (1999) quando comparou as concentrações salivares de cortisol obtidas em um teste de oratória, seguido de um teste matemático, de 21 mulheres na fase lútea do ciclo menstrual com os resultados de 19 mulheres na fase folicular. A concentração salivar de cortisol obtida em mulheres na fase lútea foi mais alta em relação a fase folicular.

Outros estudos mostram que a concentração salivar de cortisol de mulheres na fase folicular é inferior a encontrada na fase lútea e, que os valores desta última, se assemelham aos encontrados em indivíduos do sexo masculino, da mesma faixa etária (ROHLEDER et al., 2001; WOLF et al., 2001).

Nepomnaschy et al. (2004) observaram em um estudo longitudinal com 24 mulheres, de uma pequena cidade da Guatemala, em idade reprodutiva que realizavam atividades como, auxiliar na colheita, trabalhar em fábricas de tecelagem e cuidar de tarefas domésticas, que a concentração urinária de cortisol ao longo do ciclo menstrual e, diferentemente, do resultado encontrado por Kirschbaum et al. (1999), as mulheres que se encontravam na fase folicular apresentaram maior concentração de cortisol.

Estes estudos demonstram que a fase menstrual em que a população feminina se encontra é um fator importante a ser controlado quando o estresse é objeto

de avaliação. Isto porque, a oscilação hormonal, como o aumento das concentrações de estrogênio, por exemplo, podem influenciar a secreção de cortisol.

Foi demonstrado por Gompertz (1958), em ratas, que o dipropionato de estradiol potencializa o efeito do ACTH sobre o peso da glândula adrenal sugerindo, portanto, que o estradiol pudesse agir sobre a secreção hipofisária de ACTH e sobre a sensibilidade da adrenal a este hormônio.

1.5. Como avaliar o estresse

O aumento das concentrações plasmáticas de catecolaminas e de cortisol é considerado um importante indicador fisiológico do estresse. A concentração do cortisol na saliva, proporcional à concentração deste hormônio no sangue, pode ser facilmente medida e as amostras podem ser obtidas por técnica não invasiva. Outra forma de realizar sua avaliação é através de testes psicológicos que quantificam o grau de ansiedade/depressão e a ocorrência dos principais sintomas psicológicos encontrados no estresse, como a síndrome do pânico, anorexia, bulimia, cefaléias, enxaquecas, além dos itens citados anteriormente, ansiedade e depressão (CASTRO & MOREIRA, 2003; GARDE & HANSEN, 2005).

1.6. Estresse em estudantes

A maioria dos autores que avaliam o estresse atua em áreas que estudam as patologias relacionadas ou os mecanismos de atuação de seus mediadores. São poucos os estudos em indivíduos saudáveis que prestam exames acadêmicos. A

escassez desse material gera dificuldade na realização de comparações entre os métodos utilizados para coleta, análise das amostras e, principalmente, entre os resultados obtidos. As pesquisas encontradas com estudantes avaliam o estresse durante a aplicação de avaliações acadêmicas em nível de graduação ou do ingresso para cursos de pós-graduação. Uma vez que o método de avaliação utilizado no Brasil para ingresso em universidades não é o mesmo adotado por outros países, isto nos impossibilita de comparar os resultados obtidos por nosso grupo com os resultados de outros grupos; entretanto, nos proporciona um modelo único para estudo do estresse prolongado. São poucos os trabalhos, como o de Ng et al. (2003) e Malarkey et al. (1995) que, como em nosso estudo, fazem uso de instrumentos fisiológicos e psicológicos para medida do estresse.

Neste trabalho foi utilizado um questionário de sintomas do estresse desenvolvido por LEVENSTEIN et al. (1993) e validado para a língua espanhola por SANZ-CARRILLO et al. (2002). Esse questionário foi desenvolvido para uma população em geral, assim como o “Inventário de Sintomas do Estresse” (ROCHA-PINTO, 1996), empregado em alunos pré-vestibulandos de um curso preparatório de Araraquara, por GARCIA et al. (2005). O Questionário de Estresse Percebido (QEP) foi traduzido para o português para ser utilizado neste estudo. A avaliação fisiológica do estresse foi efetuada por meio de coleta de saliva para análise da concentração salivar de cortisol, freqüentemente utilizada como indicadora do estresse. A concentração plasmática de cortisol considerada normal varia entre 0,5 e 25,0 µg/dL (WILLIAMS, 1992; TENNAT & HERMANN, 2001), sendo que a concentração salivar corresponde de 5 a 10% da concentração sérica (KAHN et al., 1988; BAUER et al., 2000).

Outro estudo em que um questionário foi utilizado como ferramenta de avaliação do estresse psicológico, foi realizado por Malarkey et al. (1995). Estes autores investigaram, em estudantes de medicina, a influência dos exames realizados ao final de um ano letivo, considerado um evento estressor, empregando um questionário de estresse percebido e determinando a concentração plasmática de cortisol.

Malarkey et al. (1995) e Vedhara et al. (2000) demonstraram que houve aumento na sensação de estresse durante o período de exames finais, acompanhado de diminuição na concentração salivar de cortisol que, por sua vez, pode estar relacionada à melhora na memória de curto prazo e redução da atenção. No entanto, Ng et al. (2003) mostraram que estudantes de pós-graduação, submetidos a um dos exames para ingresso no curso, apresentavam elevada concentração salivar de cortisol e elevada percepção de estresse, resultados esses semelhantes aos apresentados por Malarkey et al. (1995) em seu trabalho com estudantes da graduação.

Em um estudo realizado por Ng et al. (2003), com onze alunos de pós-graduação que realizariam o exame final do curso, os resultados mostraram que as concentrações salivares de cortisol aumentavam antes mesmo do início do exame. Chia et al. (2003) acreditam que a antecipação do evento estressor pode afetar negativamente o desempenho. Ao longo de três anos consecutivos, foi realizada pela equipe do LABEEST a determinação da concentração salivar de cortisol como indicador de estresse agudo, no dia do exame de seleção de candidatos ao curso de Pós-graduação da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) nas áreas de fisiologia e bioquímica. A avaliação consistia de uma prova escrita de conhecimentos específicos (9:00 - 12:00 h) e outra de proficiência em língua inglesa (14:30 - 16:00 h). Os candidatos (n= 45) forneceram amostras de saliva coletadas às 9:00, 12:00 e 18:00 h

em um dia de rotina e no dia da prova. A média (\pm epm) da concentração salivar de cortisol às 9:00 h, imediatamente antes do início da prova, foi maior no dia do exame de seleção ($1,30 \pm 0,13 \mu\text{g/dL}$) do que em outro dia ($0,70 \pm 0,06 \mu\text{g/dL}$), não havendo, entretanto, diferença significativa entre os dois dias nas amostras coletadas às 12:00 h (Prova= $0,59 \pm 0,07$; Rotina= $0,34 \pm 0,04 \mu\text{g/dL}$) e às 18:00 h (Prova= $0,28 \pm 0,04$; Rotina= $0,25 \pm 0,03 \mu\text{g/dL}$). A concentração salivar de cortisol em ambos os dias foi maior pela manhã, decaindo ao longo do dia, mostrando que não houve alteração do ritmo circadiano do cortisol. A prova de ingresso ao curso de pós-graduação mostrou-se um fator estressante para os candidatos, resultando em aumento temporário da concentração de cortisol salivar pela manhã, apesar do ritmo circadiano mostrar-se normal. Tal fato sugere que esta seja a resposta fisiológica de uma população saudável frente a um estresse agudo. Os resultados obtidos neste estudo sugerem que estudantes que prestam exames que têm a característica de serem decisivos, como também é o caso do exame vestibular, podem ser afetados pelo estresse agudo e que a consequência deste fato pode implicar em queda no desempenho. Entretanto, a controvérsia da literatura a este respeito evidencia a falta de esclarecimento sobre o assunto e a necessidade de mais pesquisas nessa área.

Dentre os estímulos estressantes, encontram-se as atividades ocupacionais, relacionadas ao trabalho e obrigações similares, como o estudo. Em alguns países, o estresse relacionado ao exercício da profissão é considerado um dos mais importantes problemas ocupacionais da sociedade moderna, chegando a afetar a saúde de 50 a 80% dos empregados com doenças psicossomáticas. O estresse relacionado ao trabalho pode causar problemas organizacionais, como a insatisfação, acidentes de trabalho, alto absenteísmo e baixo desempenho, além dos aumentos dos custos com

saúde, que vêm crescendo rapidamente nos países industrializados (CHEN et al., 2001). Em estudantes, o estresse, em geral, pode causar dificuldades de aprendizagem e alteração da memória, aumentando o tempo de permanência na escola, alterando o desempenho e aumentando a susceptibilidade a patologias, levando à frustração e ao desamparo e dando origem a inúmeros problemas psiquiátricos (CHROUSOS et al., 1992). Questionamentos sobre o fato de não serem integrantes da população economicamente ativa, uma gama variada de incertezas, principalmente quanto ao futuro profissional, alimentam o estresse nessa faixa da população.

Considerando o exposto acima, e a crença vigente de que o vestibular constitui um fator de estresse importante para os estudantes brasileiros, o objetivo deste trabalho foi determinar o índice de estresse percebido e a concentração salivar de cortisol nestes estudantes, ao longo do ano letivo. Analisamos também os mesmos parâmetros em estudantes do segundo ano do ensino médio.

II - OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi avaliar o nível de estresse em vestibulandos nos meses de preparação para o exame vestibular e no dia do exame.

Para tal, utilizamos os seguintes meios:

- determinação da concentração salivar de cortisol ao longo dos meses pesquisados;
- avaliação do escore obtido no “Questionário de Estresse Percebido”.

III - SUJEITOS, MATERIAL E MÉTODO

3. SUJEITOS, MATERIAL E MÉTODO

3.1. Sujeitos experimentais

De acordo com as normas vigentes do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), (parecer do projeto n° 604/2002) foram recrutados voluntários entre estudantes que cursam o Curso Preparatório para o Vestibular Cooperativa do Saber (cursinho), em Campinas (SP) e segundo ano do ensino médio do colégio Dom Bosco Cidade Alta, de Piracicaba (SP). Foram selecionados jovens de ambos os gêneros que declararam não sofrer doença alguma e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Resoluções 196/96 e 251/97 – CSN) (ANEXO 2). Foram excluídos aqueles que apresentavam alguma doença ou faziam uso de qualquer hormônio esteróide.

Para inclusão no estudo, os voluntários vestibulandos deveriam prestar o exame vestibular, no mínimo, em uma universidade pública. Os voluntários que desejaram abandonar o projeto durante a sua execução puderam fazê-lo sem nenhuma restrição.

Participaram do projeto 92 alunos do Curso Preparatório para vestibular com idade média de $19,50 \pm 0,22$ anos, sendo 68 do sexo feminino e 24 do sexo masculino. A mediana das idades destes alunos foi igual a 19, com o mínimo de 17 e máximo de 28 anos. Também participaram 48 alunos do ensino médio, 31 do sexo feminino e 17 do sexo masculino, com média de idade de $15,56 \pm 0,08$ anos e mediana de 16, com o mínimo de 15 e máximo de 17 anos.

O recrutamento dos alunos foi feito por meio de uma palestra esclarecedora, durante a qual foram expostos os objetivos da pesquisa, e solicitada a colaboração dos voluntários. Isto foi realizado em um dia rotineiro de aula e as informações sobre a forma correta e os horários a se realizar a coleta, assim como o método a ser utilizado para responder o questionário foi passada a todas as classes do Curso Preparatório para o vestibular Cooperativa do Saber e do segundo ano do ensino médio do Colégio Dom Bosco em um tempo aproximado de 10 minutos. As dúvidas foram retiradas no momento em que as informações foram passadas e, posteriormente, nos corredores da instituição, aos alunos que requisitaram.

Além das informações passadas oralmente a todos os alunos, havia um Protocolo de Coleta de Saliva anexado aos salivettes (que continham os horários especificados) entregues aos alunos, com informações a respeito da forma que a coleta deveria ser realizada (ANEXO 3).

Os resultados obtidos não foram rotineiramente divulgados. No entanto, foram disponibilizados para aqueles que os solicitaram.

3. 2. Coleta de saliva

A saliva foi coletada utilizando-se um rolete de algodão esterilizado, posicionado na cavidade oral até ficar saturado de saliva, que posteriormente, foi acondicionado em um tubo plástico “salivette” (Sarstedt, Nümbrecht, Alemanha).

Os participantes coletaram três amostras: uma entre 8 e 10 horas da manhã (ao acordar, após o desjejum); uma entre 11 horas e 13 horas (após o almoço) e uma entre

17 e 19 horas (após o lanche ou jantar). As amostras foram coletadas em horários diferentes para avaliação a variação circadiana de secreção do cortisol. As amostras foram mantidas em geladeira (4°C) até serem encaminhadas (em temperatura ambiente) ao laboratório, para congelamento à temperatura de -20° C. Antes da análise, as amostras foram descongeladas em temperatura ambiente e centrifugadas a 2800 rpm, por 20 min.

3.3. Análise da concentração salivar de cortisol

As amostras de saliva foram transferidas para placas de microtitulação, misturadas aos reagentes apropriados e analisadas por método imunoenzimático (Diagnostic Systems Laboratories Inc.; Webster, TX; USA). Este método está baseado na competição entre um antígeno não marcado e um antígeno marcado com uma enzima por um número fixo de sítios ligantes de anticorpo. A quantidade de antígeno marcado pela enzima ligado ao anticorpo é inversamente proporcional ao analito não marcado presente. Materiais não marcados foram removidos por aspiração e lavagem dos “pocinhos” da placa. Esta foi submetida à leitura em leitor de ELISA (modelo Multiscan EX, marca Labsystems, Finlândia) a 450nm que fornece os resultados de cada amostra foram lidos em absorbância. Os valores de leitura dos padrões foram utilizados para o cálculo da equação da reta e esta utilizada para converter os dados de absorbância em µg de cortisol por dL de saliva.

3.4. Determinação do índice de estresse percebido

O Questionário de Estresse Percebido (QEP) (LEVENSTEIN et al., 1993; SANZ-CARRILLO, 2002) tem como objetivo a determinação do índice de estresse em pesquisa psicossomática clínica, e através das respostas nele obtidas é possível caracterizar a frequência com que determinados eventos, nele descritos, ocorrem. O QEP foi respondido pelos alunos do segundo ano do ensino médio, uma vez por mês, em março, maio, agosto, setembro, outubro e novembro, e por alunos do curso preparatório para o vestibular, nos meses de agosto, setembro, outubro e novembro. O questionário foi entregue ao aluno juntamente com os “salivettes”, com instruções para que fosse respondido no mesmo dia em que foi feita a coleta de saliva.

O QEP é composto por 30 itens, sendo estes distribuídos em 6 diferentes aspectos relacionados à aceitação social (5, 6, 12, 17, 19, 20, 24), sobrecarga (2, 4, 11, 18), irritabilidade, tensão e fadiga (1, 3, 8, 10, 14, 15, 16, 26, 27, 30), energia e alegria (1, 13, 21, 25, 29), medo e ansiedade (22, 28) e realização e satisfação pessoal (7, 9, 23). À frente de cada questão a resposta deve ser indicada pela frequência [(1) quase nunca, (2) às vezes, (3) freqüentemente, (4) quase sempre] com a qual cada item ocorreu no último mês.

A maioria dos itens possui correlação positiva com o índice neles contidos, com exceção dos itens 1, 7, 10, 13, 17, 21, 25 e 29, que apesar de serem apresentados na mesma disposição dos outros apresentam correlação negativa, tendo suas pontuações contadas em ordem inversa.

O resultado obtido na soma dos itens envolvidos é calculado pela equação:

$$[(\text{pontuação total} - 30) / 90]$$

O resultado obtido é considerado diretamente proporcional à intensidade de estresse percebido.

A pontuação da população saudável espanhola para o questionário foi $0,35 \pm 0,01$ (SANZ-CARRILLO, 2002), enquanto em trabalhos realizados por Petrelluzzi et al. (2005) com voluntárias saudáveis, recrutadas na cidade de Campinas (SP), o valor encontrado foi de $0,42 \pm 0,01$, superior ao da população espanhola.

Não há validação deste questionário para o Brasil, por essa razão as comparações dos escores foram realizadas com a população brasileira (PETRELLUZZI et al., 2005).

3.5. Análise Estatística

Os valores da concentração salivar de cortisol foram apresentados como médias \pm erro padrão da média (epm), seguidas do tamanho da amostra (n). Os valores do QEP foram apresentados como médias \pm epm, seguidas do (n).

Comparações entre três ou mais grupos foram feitas por Análise de Variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey quando os dados apresentavam distribuição normal, e teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn para aqueles que não apresentavam distribuição normal. Teste *t* de Student não pareado foi utilizado para comparações entre dois grupos com amostras não pareadas. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $P < 0,05$.

As correlações entre: 1) o número de alunos reprovados e as concentrações salivares de cortisol e 2) os resultados obtidos nas avaliações psicológicas de estresse e entre as concentrações salivares de cortisol, foram determinadas pelo coeficiente de correlação de Pearson, utilizado para população normal.

Para análise dos dados foi utilizado o programa estatístico GraphPad Prism (San Diego, CA, EUA), versão 4.0.

IV – RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. Concentração salivar de cortisol em vestibulandos

Na Figura 1 estão representadas as médias das concentrações salivares de cortisol em vestibulandos, nos meses do segundo semestre e no dia do vestibular. Verifica-se que o ritmo diurno de secreção é mantido e que, nos três horários de coleta, a concentração salivar de cortisol é mais baixa no mês de agosto do que nos outros meses. Em setembro ocorre elevação significativa da concentração salivar de cortisol, seguida de queda em outubro. Em novembro, no dia do vestibular, ocorre aumento na concentração de cortisol das amostras de saliva coletadas antes e depois da prova.

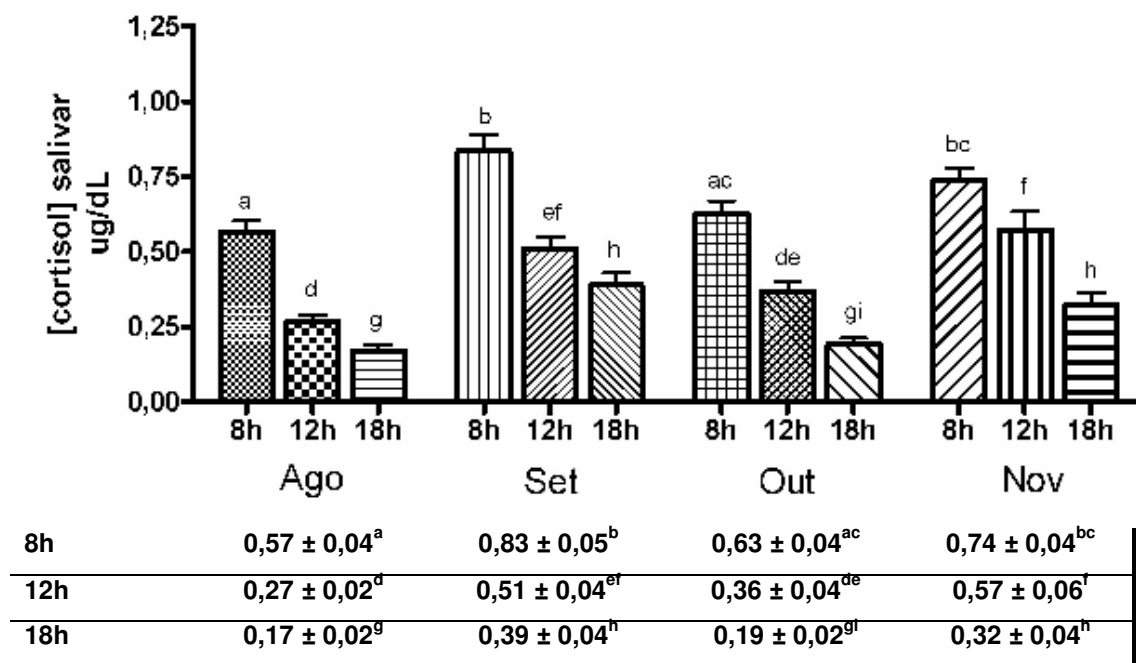


Figura 1. Valores médios ± epm da concentração salivar de cortisol (µg/dL) de vestibulandos, ao longo do segundo semestre. Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$; ANOVA seguida do teste de Tukey, $n = 92$).

A separação por gênero (Figura 2) mostra que vestibulandos do sexo feminino apresentaram maior concentração salivar de cortisol em setembro em relação a agosto e outubro, nos três horários. Em novembro, a concentração salivar de cortisol foi significativamente mais alta que em agosto apenas às 12h (imediatamente antes do início do exame vestibular). Os indivíduos do sexo masculino (Figura 3) apresentaram concentração salivar de cortisol significativamente mais alta apenas na coleta feita às 12h no mês de setembro, embora as diferenças entre homens e mulheres não sejam estatisticamente significativas, em cada um dos horários e meses (Figura 4).

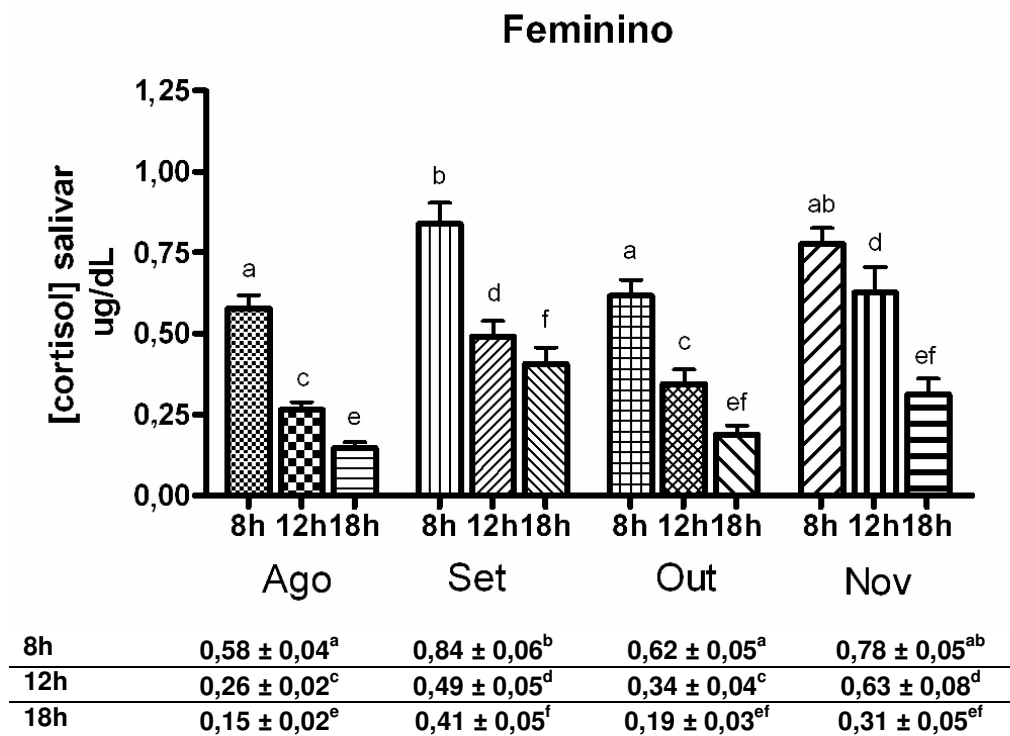


Figura 2. Valores médios \pm epm da concentração salivar de cortisol ($\mu\text{g/dL}$) de vestibulandos do sexo feminino, em agosto (Ago), setembro (Set), outubro (Out) e no primeiro dia do exame vestibular (Nov). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas (ANOVA seguido do teste de Tukey, $n = 68$).

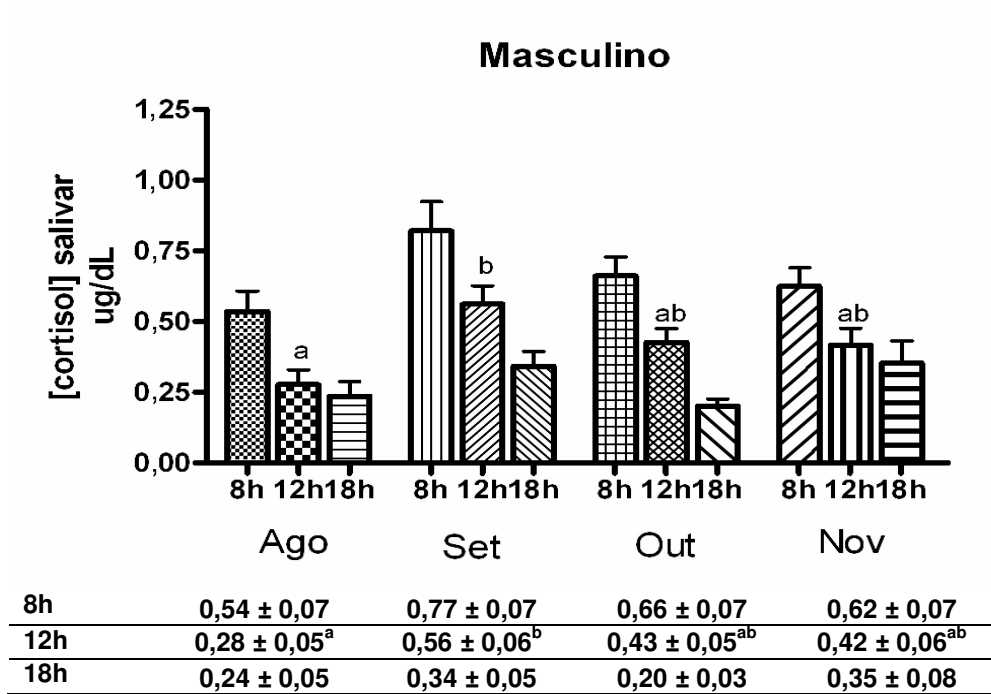


Figura 3. Valores médios ± epm da concentração salivar de cortisol ($\mu\text{g/dL}$) de vestibulandos do sexo masculino, em agosto (Ago), setembro (Set), outubro (Out) e no primeiro dia do exame vestibular (Nov). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas (ANOVA seguido do teste de Tukey, $n = 24$).

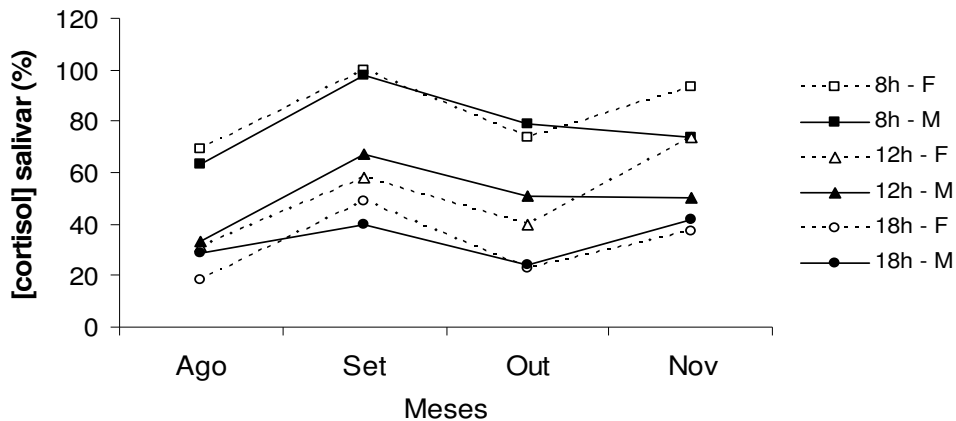


Figura 4 Valores médios da concentração salivar de cortisol às 8, 12 e 18h em vestibulandos, de ambos os gêneros (F = Feminino, $n = 68$; M = Masculino, $n = 24$), em porcentagem. Foi considerado como 100% o valor mais alto ao longo da pesquisa, obtido em setembro, às 8h, no grupo Feminino. $n =$ número de alunos.

As Figuras 5, 6 e 7 apresentam o ritmo diurno da concentração salivar de cortisol dos vestibulandos, em cada um dos meses avaliados, com concentrações mais altas pela manhã, diminuindo progressivamente às 12h e às 18h (Figura 5), sem que fossem detectadas diferenças estatisticamente significativas relacionadas ao gênero (Figuras 6 e 7).

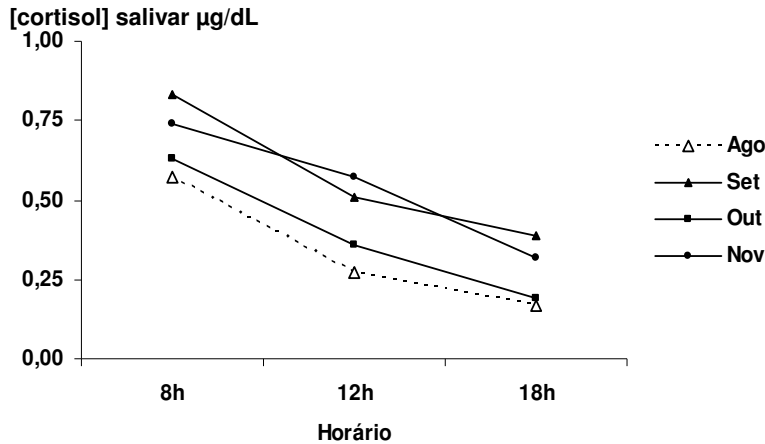
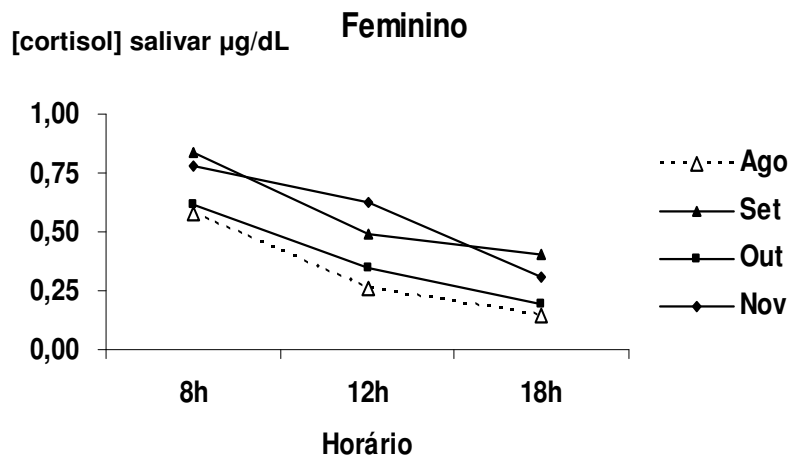
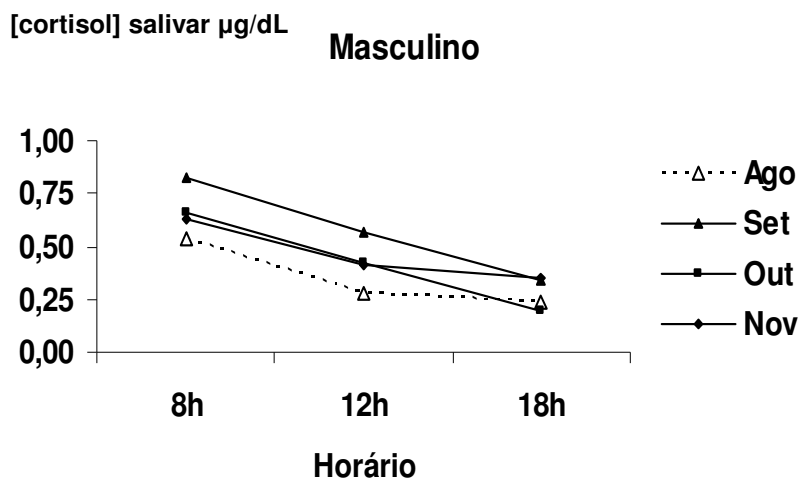


Figura 5. Valores da concentração salivar de cortisol (µg/dL) em três diferentes horários do dia, em vestibulandos ao longo dos meses avaliados (n = 92).



Figuras 6. Valores da concentração salivar de cortisol (µg/dL) em três diferentes horários do dia, em vestibulandos do sexo feminino (n = 68).



Figuras 7. Valores da concentração salivar de cortisol ($\mu\text{g/dL}$) em três diferentes horários do dia, em vestibulandos do sexo masculino ($n = 24$).

A Tabela 1 mostra o número de alunos que apresentaram alteração do ritmo diurno da concentração salivar de cortisol em cada um dos meses avaliados. O maior número de alunos com ritmo diurno de cortisol alterado foi encontrado no mês de novembro, com 50 (54%) alunos, enquanto o menor está no mês de agosto, com 36 (39%) alunos.

Tabela 1. Número, seguido de porcentagem, dos vestibulandos que apresentaram alteração no ritmo diurno da concentração salivar de cortisol, separados por gênero.

Mês	n (92)	Feminino (68)	Masculino (24)
Agosto	36 (39%)	23 (34%)	13 (54%)
Setembro	48 (52%)	35 (51%)	13 (54%)
Outubro	45 (49%)	34 (50%)	11 (46%)
Novembro	50 (54%)	34 (50%)	16 (67%)

Neste grupo de vestibulandos, 26% foram aprovados e 74% foram reprovados no vestibular. Se classificados de acordo com o gênero, esta proporção não se altera (Tabela 2). O mesmo ocorre com alunos que apresentaram alterações no ritmo diurno de cortisol (Tabela 3).

Tabela 2. Número de vestibulandos, de acordo com o gênero, que foram aprovados ou reprovados no exame vestibular.

Gênero (n)	Aprovados	Reprovados
Feminino (68)	17 (25%)	51 (75%)
Masculino (24)	7 (29%)	17 (71%)
Total (92)	24 (26%)	68 (74%)

Tabela 3. Número de vestibulandos que apresentaram alteração no ritmo circadiano de cortisol, de acordo com o gênero, que foram aprovados ou reprovados no exame vestibular.

Gênero (n)	Aprovados	Reprovados
Feminino (63)	17 (25%)	46 (73%)
Masculino (24)	7 (29%)	17 (71%)
Total (87)	24 (28%)	63 (72%)

Considerando-se apenas os alunos que foram reprovados, é possível verificar que estes apresentaram concentração salivar de cortisol significativamente mais alta nas amostras coletadas em setembro, outubro e no dia do vestibular, comparadas a agosto. Houve aumento significativo da concentração salivar de cortisol momentos antes destes alunos iniciarem as provas (Figura 8), no entanto não houve correlação significativa entre este aumento e o índice de reprovação (Pearson $r = 0.08$). Os alunos

que foram aprovados no vestibular apresentaram maior estabilidade da concentração salivar de cortisol das amostras coletadas ao longo do segundo semestre (Figura 9).

As Tabelas 4 e 5 mostram que não houve correlação entre a concentração salivar de cortisol medida às 8h e às 12 h, respectivamente, e o índice de aprovação e reprovação, em nenhum dos meses avaliados, entre indivíduos que apresentaram alteração no ritmo diurno de cortisol salivar, assim como entre os gêneros no mês do exame (novembro), às 8h (Tabela 6) e às 12h (Tabela 7).

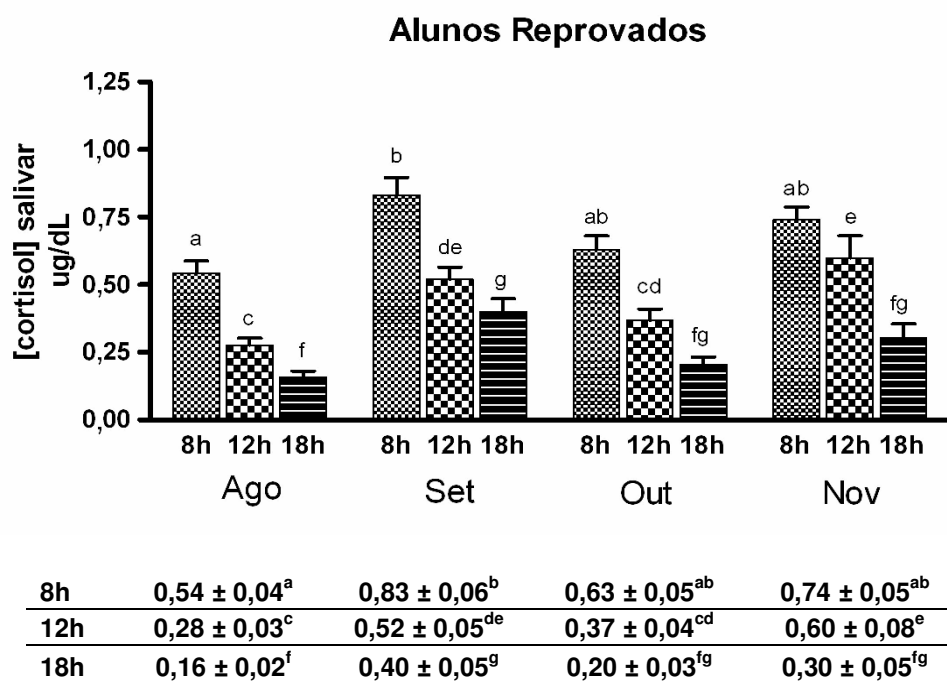


Figura 8. Valores médios \pm epm da concentração salivar de cortisol ($\mu\text{g}/\text{dL}$) dos vestibulandos que foram reprovados no vestibular. Diferenças estatisticamente significativas entre os meses indicadas por letras diferentes ($p < 0,05$; ANOVA seguido do teste de Tukey, $n = 68$).

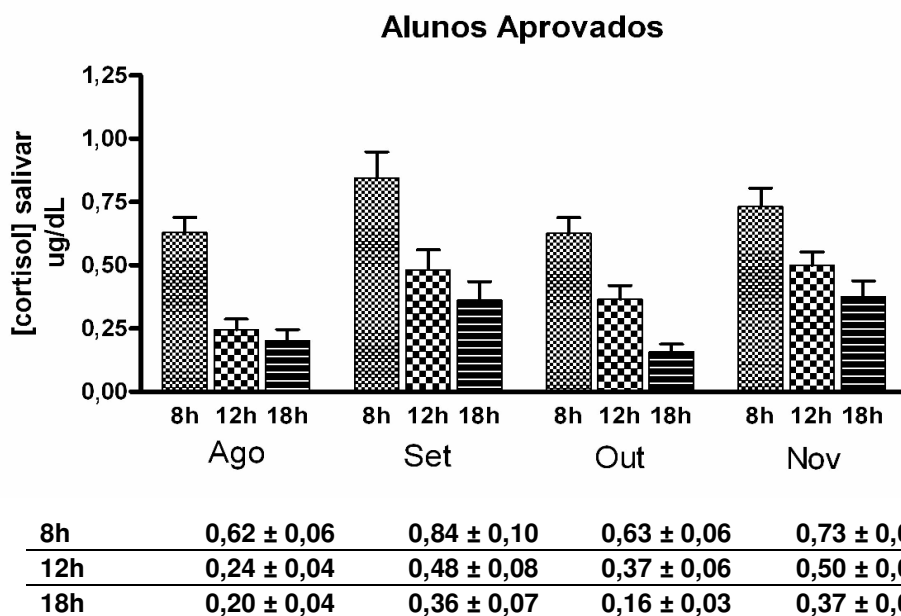


Figura 9. Valores médios \pm epm da concentração salivar de cortisol ($\mu\text{g/dL}$) dos vestibulandos que foram aprovados no vestibular ($n = 24$).

Tabela 4. Coeficiente de correlação de Pearson entre a concentração salivar de cortisol medida ao longo dos meses, às 8h, de alunos que apresentaram alteração no ritmo diurno e a aprovação ou reprovação no exame do vestibular. I.C. = intervalo de confiança de 95%.

	Agosto (36)	Setembro (48)	Outubro (45)	Novembro (50)
Pearson r	- 0,22	0,17	0,02	- 0,08
I.C.	- 0,51 a 0,11	- 0,12 a 0,43	- 0,28 a 0,31	- 0,35 a 0,20
P	0,19	0,25	0,91	0,58

Tabela 5. Coeficiente de correlação de Pearson entre a concentração salivar de cortisol medida ao longo dos meses, às 12h, de alunos que apresentaram alteração no ritmo diurno e a aprovação ou reprovação no exame do vestibular. I.C. = intervalo de confiança de 95%.

	Agosto (36)	Setembro (48)	Outubro (45)	Novembro (50)
Pearson r	0,25	0,14	0,05	0,17
I.C.	- 0,08 a 0,54	- 0,15 a 0,41	- 0,24 a 0,34	- 0,11 a 0,43
p	0,13	0,33	0,71	0,24

Tabela 6. Coeficientes de correlação de Pearson entre a concentração salivar de cortisol ($\mu\text{g/dL}$) medida em novembro, às 8h, em ambos os gêneros, de alunos que apresentaram alteração no ritmo diurno da secreção de cortisol em relação a aprovação ou reprovação do exame vestibular. I.C. = intervalo de confiança de 95%.

	Feminino (34)	Masculino (16)
Pearson r	- 0,19	0,25
I.C.	- 0,50 a 0,15	- 0,28 a 0,66
P	0,27	0,35

Tabela 7. Coeficientes de correlação de Pearson entre a concentração salivar de cortisol ($\mu\text{g/dL}$) medida em novembro, às 12h, em ambos os gêneros, de alunos que apresentaram alteração no ritmo diurno da secreção de cortisol em relação a aprovação ou reprovação do exame vestibular. I.C. = intervalo de confiança de 95%.

	Feminino (34)	Masculino (16)
Pearson r	0,26	- 0,13
I.C.	- 0,09 a 0,55	- 0,59 a 0,39
p	0,14	0,62

4.2. Concentração salivar de cortisol em vestibulandos de dois cursos pré-vestibular

A Tabela 8 apresenta os valores médios da concentração salivar de cortisol ($\mu\text{g/dL}$) de alunos de outro curso preparatório para o vestibular, localizado na cidade de Araraquara, SP (Curso Preparatório para Vestibular Maquifísica) e dos alunos do cursinho de Campinas (Curso Preparatório para Vestibular Cooperativa do Saber). Nos vestibulandos de Araraquara foram feitas determinações mensais da concentração salivar de cortisol durante o primeiro e o segundo semestres, enquanto que nos vestibulandos de Campinas, as avaliações foram feitas apenas no segundo semestre. Estes dados são representados na Figura 10, em porcentagem do valor máximo detectado em cada grupo, que corresponde à concentração salivar de cortisol medida às 8h no mês de setembro.

Nos vestibulandos de Araraquara a média da concentração salivar de cortisol foi mais alta quando comparada aos alunos de Campinas. Devemos considerar que os alunos de Araraquara realizaram suas coletas de saliva antes das refeições, diferentemente dos alunos do curso de Campinas, que realizavam suas coletas imediatamente após as refeições.

Entretanto, a variação da concentração salivar de cortisol ao longo do semestre foi similar nos dois grupos, uma vez que ambos apresentaram valores mais altos em setembro do que em agosto e outubro. Nos alunos de Araraquara, a concentração salivar de cortisol é mais alta em maio e junho do que em abril; em novembro, os valores das 8h são similares aos de outubro, no mesmo horário, e inferiores às 12h e às

18h. Nestes alunos, todas as amostras foram coletadas em um dia rotineiro de aula, enquanto no curso preparatório de Campinas, as amostras de novembro foram coletadas no dia da primeira prova do exame vestibular, que se iniciava às 13h. No mês de novembro, o valor obtido, às 8h, na concentração salivar de cortisol dos alunos da Cooperativa do Saber, não apresentou diferença significativa quando comparado aos de outubro, mas foi significativamente maior às 12h e às 18h.

Tabela 8. Média (\pm epm) da concentração salivar de cortisol ($\mu\text{g/dL}$) de vestibulandos de dois cursos preparatórios para o vestibular, sendo um localizado em Araraquara ($n = 81$) e outro em Campinas ($n = 92$).

n = número de voluntários. Obs. Os dados dos alunos de Araraquara foram extraídos de Garcia et al. (2005), com autorização dos autores.

Grupo	n	8 h	12 h	18 h
Abril				
Araraquara	81	0,62 \pm 0,05	0,40 \pm 0,06	0,19 \pm 0,03
Mai				
Araraquara	81	1,94 \pm 0,23	1,04 \pm 0,14	0,87 \pm 0,16
Junho				
Araraquara	81	1,24 \pm 0,09	0,47 \pm 0,03	0,21 \pm 0,03
Agosto				
Araraquara	81	0,75 \pm 0,07	0,30 \pm 0,05	0,26 \pm 0,06
Campinas	92	0,57 \pm 0,04	0,27 \pm 0,02	0,17 \pm 0,02
Setembro				
Araraquara	81	2,64 \pm 0,40	1,57 \pm 0,34	0,20 \pm 0,02
Campinas	92	0,83 \pm 0,05	0,51 \pm 0,04	0,39 \pm 0,04
Outubro				
Araraquara	51	0,80 \pm 0,11	0,53 \pm 0,05	0,48 \pm 0,17
Campinas	92	0,63 \pm 0,04	0,36 \pm 0,04	0,19 \pm 0,02
Novembro				
Araraquara	81	0,88 \pm 0,10	0,30 \pm 0,05	0,16 \pm 0,04
Campinas	92	0,74 \pm 0,04	0,57 \pm 0,06	0,32 \pm 0,04

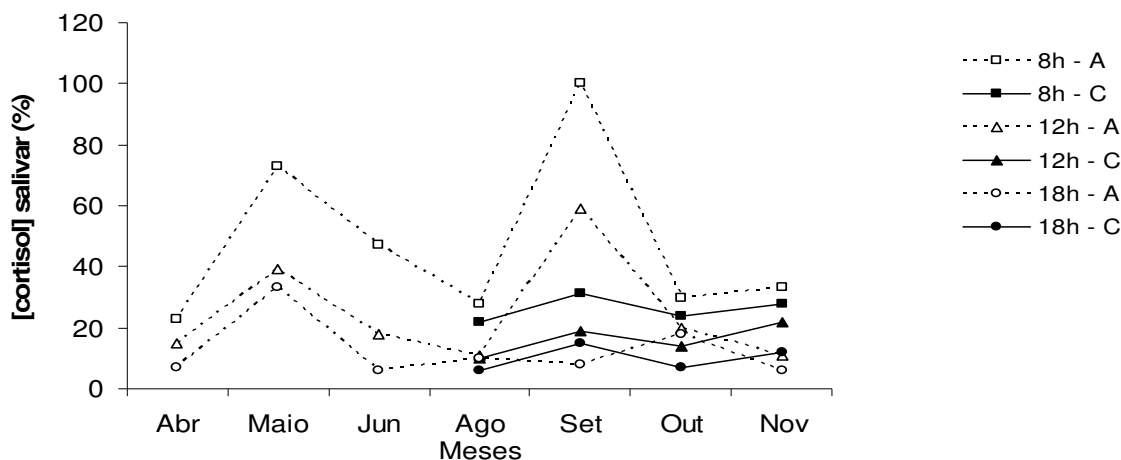
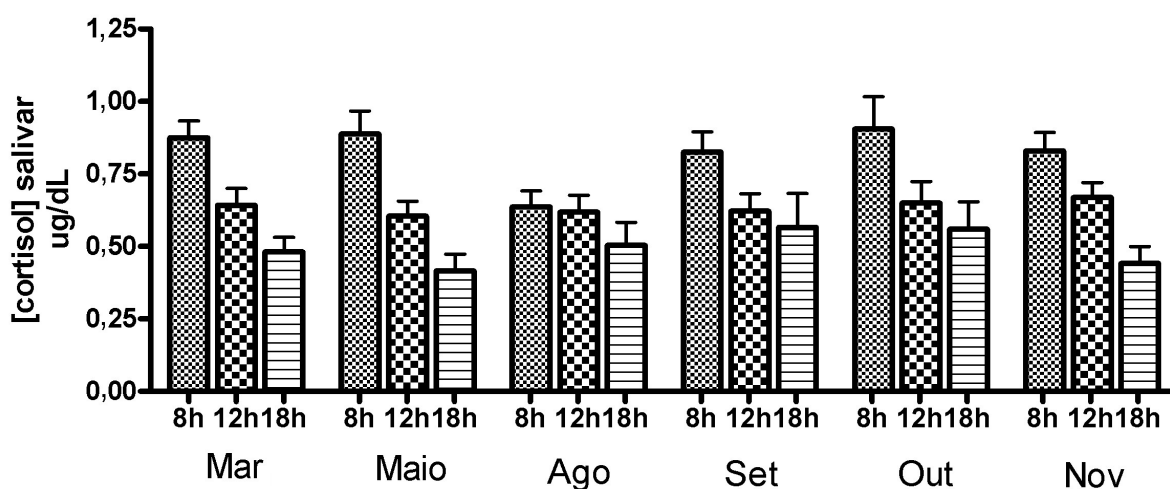


Figura 10. Valores, em porcentagem, da concentração salivar de cortisol, tendo como máximo o maior valor obtido dentre os alunos de dois cursos preparatórios para o vestibular (setembro, às 8h, de Araraquara), sendo um localizado em Araraquara (A = Araraquara, n = 81) e outro em Campinas (C = Campinas, n = 92). n = número de voluntários. Os dados dos alunos de Araraquara foram extraídos de Garcia et al. (2005), com autorização dos autores.

Assim sendo, os resultados obtidos em dois grupos de vestibulandos sugerem que ocorrem oscilações da concentração salivar de cortisol ao longo do ano letivo, com valores mais altos ocorrendo em maio, junho e setembro. Entretanto, estas oscilações poderiam ser decorrentes de influências sazonais e não de fatores relacionados ao estresse do vestibular. Para responder a esta questão, determinamos a concentração salivar de cortisol em um grupo de estudantes do segundo ano do ensino médio. Estes dados são apresentados a seguir.

4.3. Concentração salivar de cortisol em estudantes do ensino médio

A Figura 11 mostra que não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores médios da concentração salivar do cortisol ($\mu\text{g/dL}$) medida às 8h, 12h e 18h em alunos do ensino médio nos meses de março (Mar), maio, agosto (Ago), setembro (Set), outubro (Out) e novembro (Nov). Na Figura 12, estes dados são apresentados em porcentagem do maior valor encontrado, e mostra que não houve diferença estatisticamente significativa entre os indivíduos do sexo feminino e masculino, no ensino médio, em cada um dos horários ao longo do ano.



8h	0,88 ± 0,06	0,89 ± 0,08	0,64 ± 0,05	0,82 ± 0,07	0,90 ± 0,11	0,83 ± 0,06
12h	0,64 ± 0,06	0,60 ± 0,05	0,62 ± 0,06	0,62 ± 0,06	0,65 ± 0,07	0,67 ± 0,05
18h	0,48 ± 0,05	0,42 ± 0,06	0,50 ± 0,08	0,57 ± 0,12	0,56 ± 0,09	0,44 ± 0,06

Figura 11. Médias da concentração salivar do cortisol ($\mu\text{g/dL}$) medida às 8h, 12h e 18h de alunos do ensino médio, ao longo do ano ($n = 48$).

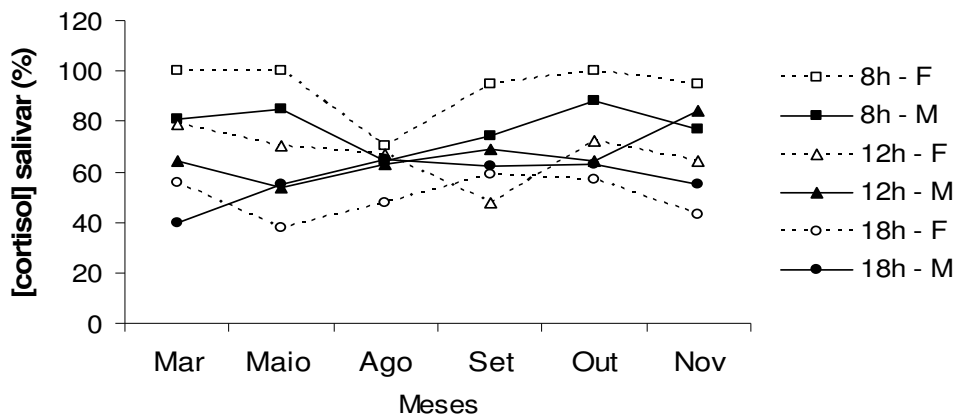


Figura 12. Valores, em porcentagem, da concentração salivar de cortisol, tendo como máximo o maior valor obtido no grupo de estudantes do ensino médio (outubro, às 8h, grupo Feminino) (F = Feminino, n = 31; M = Masculino, n = 17). n = número de alunos.

A Figura 13 apresenta o ritmo diurno de cortisol de alunos do ensino médio, elaborado através da média de cada um dos meses avaliados. Em todos os meses, exceto em agosto, o ritmo diurno de cortisol apresentou-se normal, com concentrações mais altas pela manhã, diminuindo progressivamente às 12h e às 18h. No mês de agosto, o valor das 8h foi semelhante ao valor das 12h.

A Figura 14 apresenta o ritmo diurno de cortisol de alunos do sexo feminino pertencentes ao ensino médio. É possível observar que no mês de agosto o valor das 8h é semelhante ao valor das 12h, enquanto os outros meses obedecem ao padrão do ritmo diurno de cortisol, com concentrações mais altas pela manhã, diminuindo progressivamente às 12h e às 18h.

A Figura 15 apresenta o ritmo diurno de cortisol dos alunos do sexo masculino. Nos meses de março, maio, setembro e outubro, o ritmo circadiano apresentou comportamento normal, com concentrações mais altas pela manhã, diminuindo progressivamente às 12h e às 18h, porém os meses de agosto e novembro

apresentaram alterações quando comparados às variações observadas nos demais meses. Em agosto, o valor das 8h é semelhante ao valor das 12h e das 18h, enquanto em novembro ocorre inversão às 12h, pois este se apresenta mais alto que às 8h.

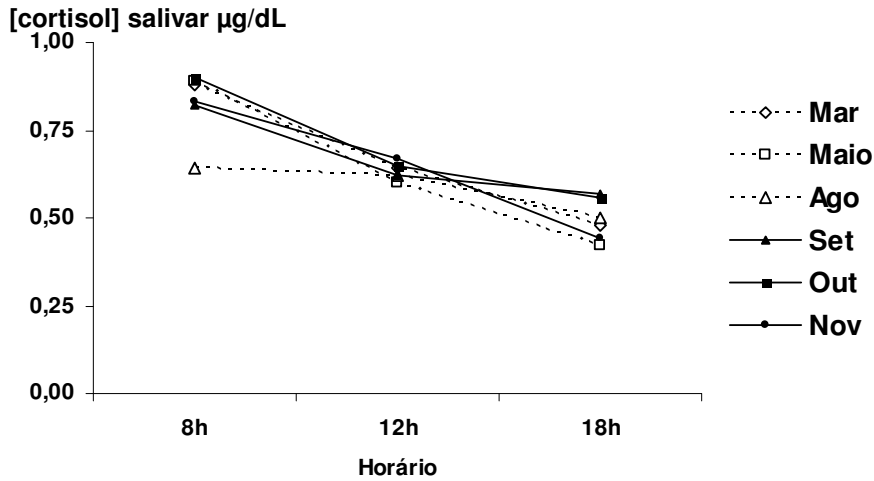


Figura 13. Valores da concentração salivar do cortisol ($\mu\text{g/dL}$) em três diferentes horários do dia, em alunos do ensino médio ($n = 48$).

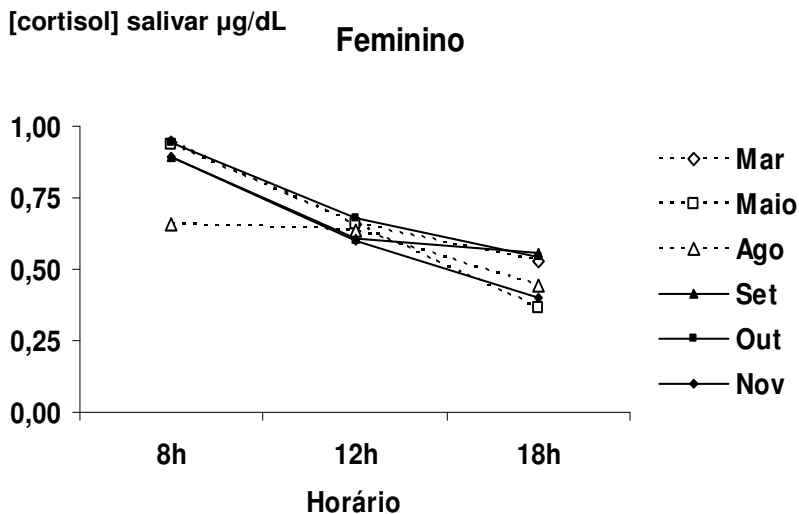


Figura 14. Valores da concentração salivar do cortisol ($\mu\text{g/dL}$) em três diferentes horários do dia, em alunos do ensino médio, do sexo feminino ($n = 31$).

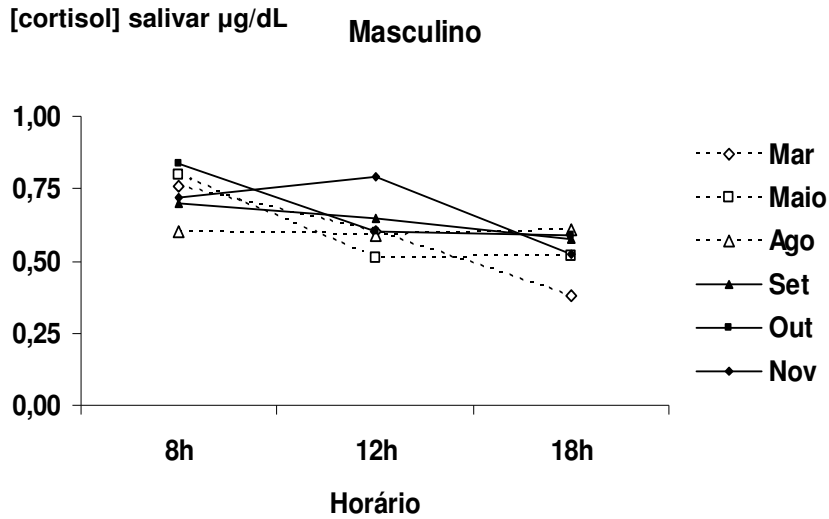


Figura 15. Valores da concentração salivar do cortisol ($\mu\text{g/dL}$) em três diferentes horários do dia, em alunos do ensino médio, do sexo masculino ($n = 17$).

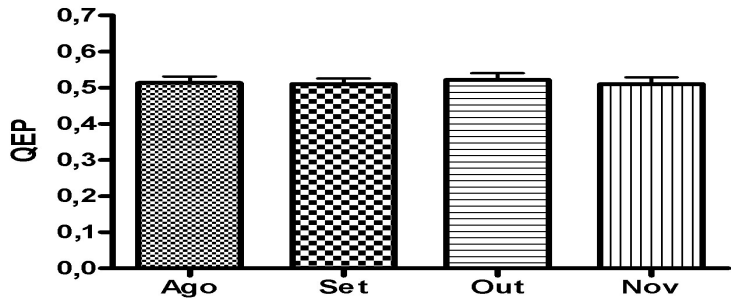
A Tabela 9 contém o número de alunos do ensino médio que apresentaram o ritmo diurno de cortisol alterado ao longo do ano. É possível observar que 25 a 30 alunos apresentaram alterações de ritmo, com o maior número de alunos a demonstrar alteração encontra-se no mês de setembro, independente do gênero. O menor número de alunos com alteração de ritmo diurno de cortisol encontra-se em novembro entre as mulheres e em outubro entre os homens.

Tabela 9. Número de alunos do ensino médio, de ambos os gêneros, que apresentaram o ritmo circadiano da concentração salivar do cortisol ($\mu\text{g/dL}$) alterado ($n = 48$ alunos, ou separados por gênero, Feminino = 31 e Masculino = 17).

Mês	N (%)	Feminino (%)	Masculino (%)
Março	30 (63)	19 (61)	11 (65)
Maio	26 (54)	16 (52)	10 (59)
Agosto	33 (69)	22 (71)	11 (65)
Setembro	36 (75)	23 (74)	13 (76)
Outubro	30 (63)	22 (71)	8 (26)
Novembro	25 (52)	13 (42)	12 (71)

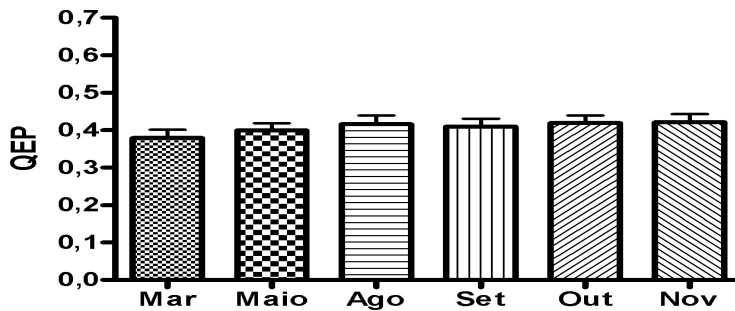
4.4. Índice de estresse percebido em vestibulandos e em alunos do ensino médio

A Figura 16 contém as médias \pm epm dos escores obtidos nos QEP nos meses de agosto, setembro, outubro e imediatamente antes do primeiro dia de exame vestibular (novembro) de alunos do Curso Preparatório para Vestibular Cooperativa do Saber. Neste grupo de estudantes não houve variação significativa do escore médio obtido no QEP ao longo do segundo semestre letivo (em torno de $0,50 \pm 0,02$). Este foi, entretanto, significativamente mais alto que aquele apresentado por alunos do ensino médio (com média + epm de $0,42 \pm 0,02$), os quais também não variaram ao longo do ano (Figura 17).



Média	0,50	0,49	0,51	0,50
epm	0,02	0,02	0,02	0,02

Figura 16. Valores médios do escore obtido no Questionário de Estresse Percebido (QEP) de vestibulandos. As barras verticais representam o erro padrão das médias.



Média	0,38	0,40	0,42	0,41	0,42	0,42
Epm	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02

Figura 17. Valores médios do escore obtido no Questionário de Estresse Percebido (QEP) de alunos do ensino médio. As barras verticais representam o erro padrão das médias.

A distribuição do número de vestibulandos por faixa de intensidade de estresse, definidas pelo escore obtido no QEP nos meses de agosto, setembro, outubro e novembro (Figura 18), mostra que mais da metade dos vestibulandos, de 53 (58%) a 63 (68%), dependendo do mês considerado, apresenta escore acima de 0,45; um valor

considerado como alto índice de estresse pelos autores do questionário (LEVENSTEIN et. al., 1993; SANZ-CARRILLO, 2002). Entre os alunos do ensino médio, a distribuição entre as faixas de intensidade de estresse é mais homogênea, com um pequeno aumento do número de alunos acima de 0,45 nos meses de outubro e novembro, como citado anteriormente. No mês de setembro foram encontrados 38 (40%) vestibulandos com o escore do QEP mais alto que a média obtida em cada um dos meses, enquanto entre os alunos do ensino médio, o maior número foi de 13 alunos (27%), no mês de março (Figura 19).

Observa-se que a porcentagem de alunos do ensino médio nas faixas de baixo índice de estresse ($<0,25$) no mês de março (21) é maior do que os meses restantes (8, 12, 12, 10, 10, respectivamente). Houve homogeneidade do número de alunos na faixa em que o escore vai de 0,25 a 0,34. O mês de maio apresentou 29% dos alunos e este valor se manteve nos meses de agosto (29), setembro (29), outubro (31) e novembro (29). O número de alunos que apresentaram escore entre 0,35 a 0,45, é maior em maio (35) do que em março (29) e diminui progressivamente em agosto (21), com pequeno aumento em setembro (25), e nova queda em outubro (17) e novembro (15), enquanto na faixa de mais alto índice de estresse ($>0,45$) a porcentagem de alunos foi inicialmente mais baixa, com 25% dos alunos no mês de março, aumentando gradativamente até o mês de novembro, representado por 46% dos alunos do ensino médio.

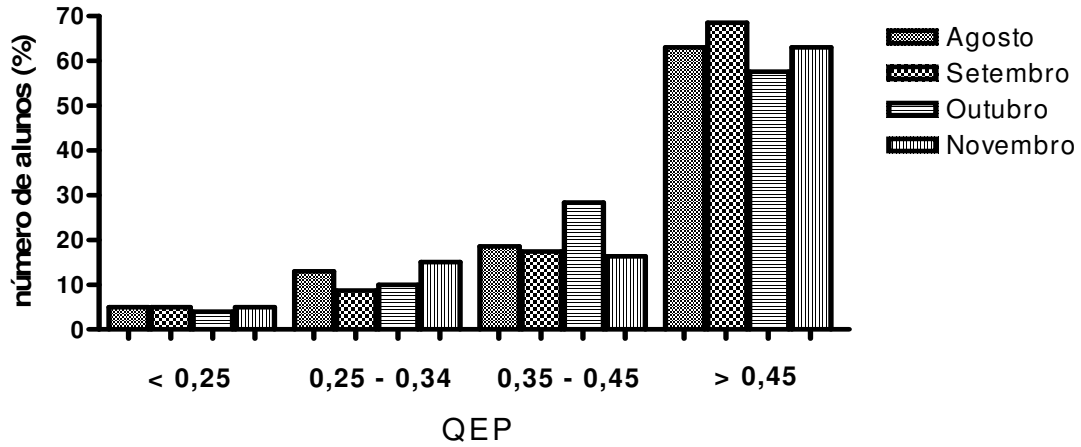


Figura 18. Porcentagem de vestibulandos por faixa de intensidade de estresse.

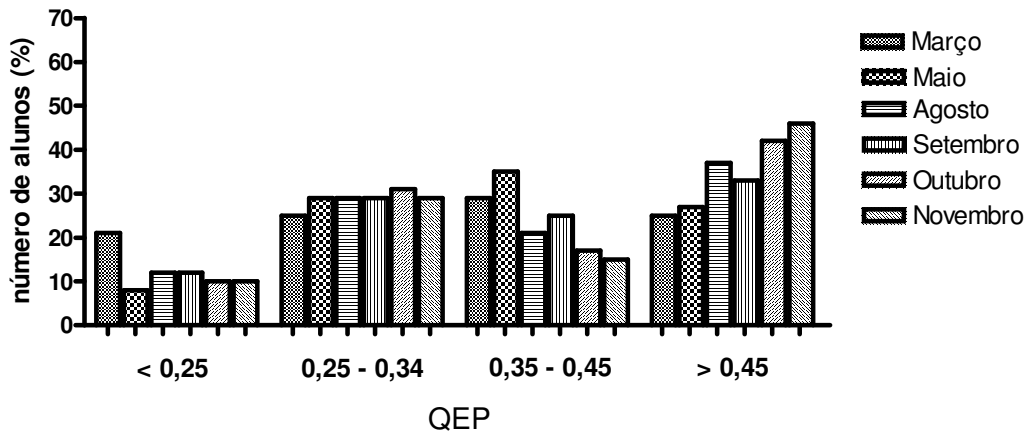


Figura 19. Porcentagem de alunos do ensino médio por faixa de intensidade de estresse.

A Tabela 10 mostra que não há diferença estatisticamente significativa nos escores obtidos no QEP por alunos aprovados e reprovados no vestibular.

Tabela 10. Escores obtidos nos meses do segundo semestre no Questionário de Estresse Percebido (médias \pm epm) por vestibulandos aprovados ou reprovados no exame vestibular.

	Aprovados	Reprovados
Agosto	0,55 \pm 0,04	0,50 \pm 0,02
Setembro	0,51 \pm 0,03	0,51 \pm 0,02
Outubro	0,55 \pm 0,04	0,51 \pm 0,02
Novembro	0,54 \pm 0,04	0,50 \pm 0,02
n	24	68

A Tabela 11 apresenta os índices de correlação realizada entre a concentração salivar de cortisol ($\mu\text{g/dL}$) e o escore do QEP de vestibulandos ao longo do semestre. A Tabela 12 a correlação entre vestibulandos que apresentavam ritmo diurno da secreção de cortisol alterado. Não houve correlação entre os escores obtidos no QEP e a concentração salivar de cortisol de vestibulandos em ambos os casos.

A Tabela 13 mostra que não houve correlação entre os escores obtidos no QEP dos alunos do ensino médio e a concentração salivar de cortisol ao longo do ano.

Tabela 11. Coeficientes de correlação de Pearson entre o escore obtido no Questionário de Estresse Percebido e a concentração salivar de cortisol ($\mu\text{g/dL}$), às 8h, dos vestibulandos (n = 92). I.C. = intervalo de confiança de 95%.

	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro
Pearson r	- 0,07	- 0,07	- 0,06	0,10
I.C.	- 0,27 a 0,14	- 0,27 a 0,14	- 0,26 a 0,15	- 0,11 a 0,30
P	0,52	0,53	0,59	0,35

Tabela 12. Coeficientes de correlação de Pearson entre o escore obtido no Questionário de Estresse Percebido e a concentração salivar de cortisol ($\mu\text{g/dL}$) às 8h

dos vestibulandos que apresentaram alteração no ritmo diurno da secreção de cortisol. I.C. = intervalo de confiança de 95%.

	Agosto (36)	Setembro (48)	Outubro (45)	Novembro (50)
Pearson r	- 0,05	- 0,18	0,001	- 0,10
I.C.	- 0,37 a 0,29	- 0,44 a 0,11	- 0,29 a 0,29	-0,37 a 0,18
P	0,79	0,22	0,99	0,49

Tabela 13. Coeficiente de correlação de Pearson entre os componentes do Questionário de Estresse Percebido e a concentração de cortisol salivar ($\mu\text{g/dL}$), às 8h, de alunos do ensino médio. I.C. = intervalo de confiança de 95%.

	Março	Maió	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro
Pearson r	- 0,13	- 0,02	- 0,21	- 0,19	- 0,04	- 0,11
I.C.	- 0,40 a 0,16	- 0,30 a 0,27	- 0,47 a 0,07	- 0,45 a 0,10	- 0,32 a 0,24	- 0,39 a 0,16
P	0,38	0,91	0,14	0,19	0,78	0,44

Em resumo, nossos resultados mostraram que:

Vestibulandos apresentam índice de estresse percebido mais elevado que estudantes do ensino médio. Este índice se mantém estável ao longo do ano letivo em ambos os grupos.

Não foram detectadas variações sazonais na concentração salivar de cortisol.

Vestibulandos apresentam aumento da concentração salivar de cortisol nos meses de maio e setembro, que correspondem à época das inscrições ao exame vestibular.

Vestibulandos apresentam aumento da concentração salivar de cortisol em novembro, em relação ao início do semestre (agosto), e também aumento da concentração salivar de cortisol no momento do exame.

O aumento da concentração salivar de cortisol que ocorre momentos antes ao exame (12 horas) não apresentou correlação com a aprovação ou reprovação dos indivíduos.

V – DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

Os resultados aqui apresentados demonstram que a concentração salivar de cortisol em estudantes de cursos preparatórios para o vestibular apresentou valores mais baixos no início de cada semestre letivo (março e agosto), seguidos de aumento nos meses seguintes, e atingindo picos nos meses de maio e setembro. Essa oscilação na concentração salivar de cortisol, ao longo do ano letivo, foi observada em dois grupos compostos por alunos que viviam em cidades diferentes (Araraquara e Campinas) e que foram avaliados em anos diferentes (2002 e 2004, respectivamente). Após o pico da concentração salivar de cortisol, observado em setembro, houve queda em outubro e, novamente, aumento em novembro, em ambos os grupos.

Dentre os alunos do curso preparatório de Campinas, cujas amostras de novembro foram coletadas no dia do exame vestibular, a concentração salivar de cortisol da amostra coletada às 8 horas foi maior que em agosto, mas similar às de setembro e outubro. Por outro lado, os valores obtidos nos horários das 12 e 18 horas, imediatamente antes do início da prova e após seu término, apresentaram-se elevados em relação aos mesmos horários nos meses de agosto e de outubro, enquanto as amostras coletadas em outro dia de novembro, que não o do vestibular, nos estudantes de Araraquara, apresentaram valores menores ou similares aos encontrados nos outros meses.

Estes dados mostram que o exame vestibular representa um estresse agudo, situação esta em que ocorre ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Mostram também que os estudantes brasileiros permanecem expostos a altas concentrações de cortisol em outros períodos do ano, que poderiam caracterizar situação de estresse

crônico. A concentração plasmática de cortisol considerada normal varia entre 0,5 e 25,0 $\mu\text{g/dL}$ (WILLIAMS, 1992; TENNAT & HERMANN, 2001), sendo que a concentração salivar corresponde a 5 a 10% da concentração sérica (KAHN et al., 1988; BAUER et al., 2000). No entanto, existem discussões sobre o fato desta faixa de variação ser muito ampla (SCHOMMER et al., 2003). Esta grande variação reconhecida na literatura internacional no que se refere à concentração salivar e plasmática de cortisol, entre indivíduos diferentes e entre amostras coletadas de um mesmo indivíduo em dias diferentes, justifica a grande variação nas médias da concentração salivar de cortisol obtida em nosso estudo, em grupos diferentes de estudantes.

Outro dado que merece atenção diz respeito aos valores observados em maio (curso de Araraquara) e setembro (cursos de Araraquara e Campinas), meses em que os estudantes fazem as inscrições para escolha da carreira. Nestes meses, a concentração salivar de cortisol apresentou-se elevada, em ambos os grupos, quando comparada aos outros meses do ano. Entretanto, a elevada concentração salivar de cortisol nesses meses poderia estar relacionada à sazonalidade e não a fatores relacionados ao exame vestibular.

Sazonalidade foi descrita como sendo a repetição de padrões observados em determinadas estações do ano (SHER et al., 2005), relacionada a alterações acentuadas no clima (KING et al., 2000).

São poucos os relatos de variações sazonais da concentração de cortisol em humanos e, certamente, não há nenhum registro de estudo feito em país tropical com clima semelhante ao nosso. Variações sazonais da concentração salivar de cortisol foram detectadas em um estudo longitudinal realizado ao longo de 12 meses, com 147 indivíduos saudáveis que apresentaram concentrações significativamente mais

elevadas durante o outono e o inverno do que na primavera e no verão (KING et al., 2000). Os indivíduos avaliados neste estudo, viviam em Massachusetts (EUA), onde a temperatura no verão varia em torno de 15°C, enquanto no inverno chega a 5°C negativos, e a duração dos períodos de claro e escuro varia muito ao longo do ano, de acordo com as estações. Sher et al. (2005) observaram que um grupo de pacientes portadores de depressão apresentou concentração salivar de cortisol mais alta na primavera e no outono, quando comparados aos valores obtidos no verão e inverno. Entretanto, as diferenças são bastante sutis, embora estatisticamente significativas, e o estudo apresenta-se pouco convincente.

Para verificar se as altas concentrações salivares de cortisol obtidas em vestibulandos nos meses de maio e setembro são relacionadas a influências sazonais, determinamos a concentração salivar de cortisol em um grupo de estudantes do segundo ano do ensino médio. Estes não apresentaram alterações significativas da concentração salivar de cortisol ao longo do ano. O fato de viverem em um país tropical, onde as oscilações de luminosidade e temperatura não são muito acentuadas como nos países de latitudes mais elevadas pode justificar estes resultados. Estes dados também sugerem que as oscilações da concentração salivar de cortisol observadas em vestibulandos ao longo do ano não têm origem na sazonalidade.

A secreção de cortisol obedece a um ritmo circadiano, e variações deste ritmo podem ser indicativas de estresse. Price et al. (1983) definem como normal o ritmo circadiano de cortisol quando um valor mais alto é observado no período da manhã, entre 6 e 8 horas, em comparação aos períodos da tarde e noite, com um declínio estável durante o dia. Krieger et al. (1971) definem como ritmo circadiano normal do

cortisol aquele em que todos os valores obtidos após as 8 horas são menores ou iguais que 75% do valor das 8 horas.

No presente trabalho, observamos que as médias da concentração plasmática de cortisol dos alunos do ensino médio e do curso preparatório para o vestibular apresentaram ritmo circadiano de cortisol normal, de acordo com a definição citada por Price et al. (1983). Entretanto, quando analisamos os valores individuais, é possível observar que cerca de 75% dos alunos do ensino médio e apresentaram alteração no ritmo diurno de cortisol em setembro e 69% em agosto, enquanto entre os vestibulandos, a maior incidência de alteração do ritmo circadiano do cortisol ocorreu em setembro (52%) e a menor em agosto (39%).

Em estudos apresentados por diferentes grupos (OCKENFELDS et al., 1995; ADAM & GUNNAR, 2001; GROSSI et al., 2001), a elevada concentração salivar de cortisol e as alterações do ritmo diurno de secreção foram correlacionadas com estresse psicossocial, tais como *status* no emprego e grande volume de trabalho. Entre estudantes, estas alterações podem estar relacionadas ao volume e à dificuldade dos conteúdos a serem aprendidos e memorizados, bem como à pressão psicossocial para definição da carreira a seguir (NG et al., 2003).

Quando comparamos a concentração salivar de cortisol dos dois grupos de vestibulandos, podemos observar que estas se apresentam bastante diferentes, pois as concentrações registradas nos alunos de Araraquara são mais elevadas em relação aos valores apresentados pelos alunos de Campinas. A diferença entre estes dois grupos pode ser atribuída ao fato de as amostras terem sido coletadas em jejum no primeiro grupo, e após as refeições no segundo, pois de acordo com Nandi et al. (2002), ocorre ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e conseqüente aumento da

concentração salivar de cortisol em resposta ao jejum. A coleta das amostras foi feita após as refeições no grupo de alunos de Campinas porque os exames vestibulares ocorrem, em geral, a partir das 13 horas e, neste caso, as amostras de saliva seriam coletadas após o almoço, no dia dos exames. Isto permitiria a comparação com os valores obtidos nos outros meses do ano.

Um outro fato que chama a atenção em nossos resultados, é que a concentração salivar de cortisol em alunos do segundo ano do ensino médio é mais elevada do que aquela dos vestibulandos, especialmente nas amostras coletadas as 12 e às 18 horas. Este resultado pode, provavelmente, ser atribuído ao regime de estudo em tempo integral deste grupo de alunos do ensino médio, os quais permaneciam na escola das 8 até as 17 horas.

Quando nos referimos a estudantes, preocupa a associação existente entre concentração salivar de cortisol e performance em testes de avaliação de memória e atenção. Vedhara et al. (2000) demonstraram que estudantes de graduação apresentavam altos índices de estresse percebido nos períodos de exames, mas a concentração salivar de cortisol estava mais baixa do que no período regular de atividades acadêmicas. A redução no cortisol foi acompanhada de melhora no desempenho de tarefas que envolviam memória de curto prazo, porém foram observadas quedas no desempenho de tarefas medindo atenção seletiva e atenção dividida. Lupien et al. (1999) propõem que os efeitos dos corticóides sobre a aquisição e consolidação da memória dependem da concentração plasmática de glicocorticóides. Sua hipótese é de que estes efeitos obedeceriam a uma relação na forma de U invertido, com o excesso de cortisol provocando diminuição da atenção e integração da memória, dificultando o discernimento entre aspectos relevantes e irrelevantes, e

afetando aquisição e consolidação da memória, enquanto que aumentos moderados na secreção de cortisol melhorariam a memória (LUPIEN & McEWEN, 1997).

Um outro grupo de pesquisadores (FONTANI et al., 2004), avaliando o grau de atenção juntamente com dados emocionais e hormonais, demonstrou que sujeitos com altas concentrações de cortisol mostravam menor variabilidade no tempo de reação frente a um estímulo, e maior tempo de reação quando é necessário tomar decisões. Sob este aspecto, a presença de concentrações moderadamente elevadas de cortisol na saliva e no sangue, durante o período que antecede os exames vestibulares, seria benéfica aos estudantes, favorecendo a tomada rápida de decisões, a memória e a atenção. Porém, concentrações muito elevadas durante os exames seriam prejudiciais ao desempenho. No presente estudo, não houve correlação entre a concentração salivar de cortisol e a aprovação ou reprovação. Por outro lado, é necessário lembrar que o índice de aprovação em exames vestibulares é muito baixo, devido à alta relação candidatos:vaga e que o resultado no exame, considerando-se apenas estas duas possibilidades (aprovado vs. reprovado) pode não ser um bom índice de desempenho. Esta justificativa se fortalece quando nos lembramos que as notas de corte também variam grandemente entre as carreiras. Assim sendo, num próximo estudo, sugerimos que as notas obtidas nos exames sejam usadas como indicadores de desempenho.

Admite-se que a carga alostática gerada pelo estresse pode não apenas prejudicar aspectos da memória e a aquisição de conteúdos, mas também desencadear patologias para as quais os indivíduos tenham alguma predisposição (McEWEN & WINGFIELD, 2003; SAPOLSKY, 2003). Neste sentido, uma vez demonstrado que estudantes brasileiros estão expostos a altas concentrações salivares de cortisol, seria

interessante fazer um estudo epidemiológico com estes estudantes, aplicando-se testes de memória e inventários da incidência de doenças relacionadas ao estresse.

Dentre os indivíduos analisados em nosso estudo não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os gêneros. Admite-se que, em mulheres, as alterações hormonais existentes ao longo do ciclo menstrual podem influenciar nas respostas do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal frente a estímulos estressores (FRANKENHAEUSER et al., 1978, 1980; OWENS et al., 1993; THORSTEINSSON et al., 1998; MATTHEWS et al., 2001; LARSON et al., 2001). Nós optamos por não considerar a fase do ciclo menstrual em que as voluntárias do estudo se encontravam uma vez que este controle não seria possível no dia dos exames vestibulares.

Os alunos do curso pré-vestibular apresentaram alto índice de estresse percebido ($0,50 \pm 0,02$) quando comparados aos alunos do segundo ano do ensino médio ($0,41 \pm 0,02$) e aos valores encontrados na população saudável espanhola ($0,35 \pm 0,01$) (SANZ-CARRILLO, 2002). Em ambos os grupos, não houve variação do índice de estresse percebido ao longo do ano.

Outro estudo realizado em nosso laboratório (PETRELLUZZI et al., 2005) avaliou o índice de estresse percebido de mulheres que apresentavam endometriose e dor pélvica crônica e em mulheres do grupo controle isentas desta patologia. O escore obtido no grupo de mulheres saudáveis ($0,42 \pm 0,01$) se assemelhou ao dos alunos do ensino médio, enquanto mulheres com dor pélvica crônica apresentaram escore ($0,55 \pm 0,01$) semelhante aos dos vestibulandos, revelando que, alunos que prestam o exame vestibular também apresentam alto índice de estresse percebido.

A maioria dos autores que avalia a concentração salivar de cortisol como índice de estresse não faz uso de questionários para indicação de sintomas de estresse. São poucos os que utilizam ambos os instrumentos. Ng et al. (2003) avaliaram a concentração salivar de cortisol e o estresse percebido antes e após a realização de uma avaliação de final de curso, em alunos de mestrado. O resultado mostrou que ocorre aumento nos escores do QEP e nas concentrações salivares de cortisol antes do início da prova, revelando que ambos os indicadores são sensíveis ao estresse agudo.

Um estudo realizado por Bauer et al. (2000) avaliou a concentração salivar de cortisol, o grau de ansiedade, depressão e estresse percebido em pessoas idosas responsáveis por cuidar de companheiros que apresentavam demência. O resultado mostrou que há correlação entre estas variáveis. No presente estudo, não houve correlação entre a concentração salivar de cortisol e o índice de estresse percebido de ambos os grupos, mesmo quando a população utilizada apresentava alterações no ritmo circadiano de cortisol. Além disso, nem o QEP (SANZ-CARRILLO et al., 2002) nem o Inventário de Sintomas de Estresse (ROCHA-PINO, 1996) detectaram alterações dos índices de percepção do estresse ao longo do ano, embora o primeiro houvesse discriminado entre os dois grupos de estudantes (ensino médio vs. vestibulandos). Outros autores (MALARKEY et al., 1995) também não encontraram correlação alguma entre os escores obtidos em um questionário de estresse percebido (desenvolvido por COHEN & WILLIAMSON, 1998) e a concentração plasmática de cortisol em estudantes de medicina no período das avaliações finais. É possível que os instrumentos citados não sejam adequados para este tipo de avaliação e que um instrumento específico tenha que ser desenvolvido para determinar esta variável, em períodos repetidos.

Concluindo, os resultados mostram que os estudantes brasileiros sofrem altos índices de estresse durante o ano em que se preparam para prestar o exame vestibular, e não apenas no momento dos exames. A exposição a elevadas concentrações de cortisol em diferentes momentos ao longo do ano pode acarretar o desenvolvimento de patologias para os quais eles tenham predisposição e influenciar no desempenho destes alunos. Assim sendo, sugerimos que medidas de alívio do estresse devem ser utilizadas ao mesmo tempo em que se avalia o seu impacto sobre o bem estar e o desempenho destes jovens.

VI - CONCLUSÃO

6. CONCLUSÃO

Os resultados aqui apresentados permitem concluir que: vestibulandos são submetidos a alto índice de estresse ao longo do ano letivo, com aumento da concentração salivar de cortisol, indicador fisiológico de estresse, nos meses de inscrição e no momento do exame. Essas variações provavelmente não são relacionadas à sazonalidade uma vez que não foram registradas em alunos do ensino médio.

A comparação entre os dados obtidos neste estudo e dados obtidos anteriormente pelo laboratório indicou que as concentrações salivares de cortisol apresentam o mesmo padrão de variação, sugerindo, portanto, que este pode ser um indicador confiável do grau de ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e, conseqüentemente, do índice de estresse.

O índice de estresse percebido manteve-se estável ao longo do período em vestibulandos e estudantes do ensino médio e, portanto, não se mostrou um bom indicador desse parâmetro, em estudos longitudinais.

VII – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABELL, C.W. Monoamine oxidase A and B from human liver and brain. **Methods in Enzimology**, v. 142, p. 638-650, 1987.

ADPLANALP, J.M.; LIVINGSTON, L.; ROSE, R.M.; SANDWISCH, D. Cortisol and growth hormone responses to psychological stress during the menstrual cycle. **Psychosom. Med.**, v. 39, p. 158-157, 1977.

AIRES, M.M. **Fisiologia**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1999.

ANISHCHENKO, T.G. & GUDKOVA, E.V. Sex differences in sensitivity of albion rats to adrenalin. **Byull. Éksp. Biol. Med.**, v. 113, n. 6, p. 577-579, 1992.

AXELROD, J. & RESINE, T.D. Stress hormones: their interaction and regulation. **Science**, v. 224, n. 4648, p. 452-459, 1984.

BÁNK, Z; NAGY, G.M.; HALÁSZ, B. Analysis of pituitary prolactin and adrenocortical response to ether, formalin or restraint in lactating rats: rise in corticosterone, but no increase in plasma prolactin levels after exposure to stress. **Neuroendocrinology**, v. 59, p. 63-71, 1994.

BARANIUK, J.N. Molecular actions of glucocorticoids: an introduction. **J. Allergy and Clin. Immunol.**, v. 97, n. 1, p. 141-146, 1996.

BASSANI, R.A. & DE MORAES, S. Variações da sensibilidade a catecolaminas em átrios direitos isolados de ratos submetidos a choque na pata. **I Reunião Annual da Federação das Sociedades de Biologia Experimental**, São Paulo – SP. Anais, p. 299, 1986.

BAUER, M. E.; VEDHARA, K.; PERKS, P.; WILCOCK, G.K.; LIGHTMAN, S.L. & SHANKS, N. Chronic stress in caregivers of dementia patients is associated with

reduced lymphocyte sensitivity to glucocorticoids. **Journal of Neuroimmunology**, v. 103, p. 84-92, 2000.

BEESON, P.B. Age and sex associations of 40 autoimmune diseases. **Am. J. Med.**, v. 96, p.457-462, 1994.

BUTTGEREIT, F.; WEHLING, M; BURMESTER, G.R. A new hypothesis of modular glucocorticoids actions. **Arthritis Rheum.**, v. 41, n. 5, p. 761-767, 1998.

BYLUND, D.B.; EIKENBERG, D.C.; HIEBLE, J.P.; LANGER, S.Z.; LEFKOWITZ, R.J.; MINNEMAN, K.P.; MOLINOFF, P.B.; RUFFOLO, R.R.; TRENDELENBURG, U. International Union of Pharmacology Nomenclature of Adrenoceptors. **Pharmac. Rev.**, v. 46, n. 2, p. 121-136, 1994.

CALOGERO, A.E.; BAGDY, G.; SZEMEREDI, K.; TARTAGLIA, M.E.; GOLD, P.W.; CHROUSOS, G.P. Mechanisms of secretion receptor agonist-induced activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the rat. **Endocrinology**, v. 126, p. 1888-1894, 1990.

_____, A.E.; NORTON, J.A.; SHEPPARD, B.C.; LISTWAK, S.J.; CROMACK, D.T. Pulsatile activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis during major surgery. **Metabolism**, v. 41, p. 839-845, 1992.

CANNON, W.B.; The emergency function of the adrenal medulla in pain and major emotions. **Am. J. Physiol.**, v. 33, p. 356-372, 1914.

_____, W.B., Organization for physiological homeostasis. **Physiol.**, v. 9, p. 399-431, 1929.

_____, W.B.; QUERIDO, S.; BRITTON, S.W.; BRIGHT, E.M. Studies on the conditions of activity in endocrine gonads. The role of adrenal excretion in the chemical control of body temperature. **Am. J. Physiol.**, v. 79, p. 466-506, 1927.

_____, W.B., Stress and atrainhs of homeostasis. **Am. J. Med. Sci.**, v. 189, p. 1-12, 1935.

CASTRO, M. & MOREIRA, A.C. Análise crítica do cortisol salivar na avaliação do eixo hipotálamo-hipófise-adrena. **Arq. Brás. Endocrinol. Metab.**, v. 47, n. 4, p. 358-367, 2003.

CATO, A.C.; NESTL, A.; MINK, S. Rapid actions of steroids receptors in cellular signalling pathways. **Sci. STRE.**, 2002.

CHARMANDARI, E.; TSIGOS, C.; CHROUSOS, G. Endocrinology of the stress response. **Annu. Rev. Physiol.**, v. 67, p. 259-284, 2005.

CHEN, W. –Q.; WONG, T. –W. & YU, T. –S. Reability and validity of the Occupational Stress Scale for Chinese off-shore oil installation workers. **Stress and Health**, v. 17, n. 3, p. 175-183, 2001.

CHROUSOS, G.P., & GOLD, P.W. The concept of stress and stress system disorders. **Jama**, v. 267, n. 9, p. 1244-1252, 1992.

_____, G.P. The neuroendocrinology of stress: its relation to hormonal milieu, growth and development. **Growth Genet. Horm.**, v. 13, p. 1-8, 1997.

_____, G.P. Organization and integration of the endocrine system. **Pediatric Endocrinology**, ed. M Sperling, p. 1-14, 2002.

COLOSSI, N.; QUEIROZ, E. G.; CONSENTINO, A. Mudanças no conceito do ensino superior no Brasil: Uma tendência ao ensino colaborativo. **Congresso Brasileiro em Engenharia – Cobenge**, Anais, 2001.

FARIAS-SILVA, E.; GRASSI-KASSISSE, D.M.; SPADARI-BRATFISCH, R.C. Efeito do estresse sobre a sensibilidade da resposta lipolítica às catecolaminas. **XIII**

Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, Caxambu – MG, Anais, p. 274, 1998.

FRANKENHAUSER, M. Experimental approaches to the studies of catecholamines and emotion. **Emotions – their parameters and measurement**, Levi, L. (Ed), Raven Press LTD, New York, 1975.

_____, M.; RAUSTE VON WRIGHT, M.; COLLINS, A.; VON WRITH, J.; SEDVALL, G.; SWAHN, C.G. Sex difference in psychoneuroendocrine reactions to examination estresse. **Psychosom. Med.**, v. 40, p. 334-343, 1978.

_____, M.; LUNDBERG, U.; FORSMAN, L. Dissociation between sympathetic-adrenal and pituitary-adrenal responses to an achievement situation characterized by high controllability: comparison between type A and type B males and females. **Biol. Psychol.**, v. 10, p. 79-91, 1980.

FRASER, C.M.; RITCHIE, J.S.D.; FRASER, A.F. The term “stress” in a veterinary context. **Br. Vet. J.**, v. 131, p. 653-662, 1975.

FULLER, R.W. Serotonin receptors involved in regulation of pituitary-adrenocortical function in rats. **Behav. Brain Res.**, v. 73, p. 215-219, 1996.

GARCIA, M.C.; PETRELLUZZI, K. F.S.; ROLIM, M.C.C.; GRASSI-KASSISSE, M.; SPADARI-BRATFISCH, R.C. Estresse em vestibulandos. **XX Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental – FESBE**, p. 153, 2005.

GARDE, A.H. & HANSEN, A.M. Long-term stability of salivary cortisol. **Scand J. Clin. Lab. Invest.**, v. 65, p. 433-436, 2005.

GERRA, G. et al. Neuroendocrine response to experimentally – induced psychological stress in health humans. **Psychoneuroendocrinology**, v. 26, p. 91-107, 2001.

GOLDSTEIN, D.S. Stress, catecholamines, and cardiovascular disease. New York, **Oxford University Press**, p. 573, 1995.

_____, D.S. Catecholamines and stress. **Endocr. Regul.**, v. 37, p. 69-80, 2003.

GOMPertz, D. The effect of sex hormones on the adrenal gland of the male rat. **J. Endocrinol.**, v. 17, p. 107-113, 1958.

GRIFFIN, J.F.T. Stress and immunity: a unifying concept. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, v. 20, p. 263-312, 1989.

HAWERROTH, L. J. A expansão do ensino superior nas universidades do sistema fundacional catarinense. Florianópolis; **Insular**. 1999.

HENNESSEY, M.B.; HEYBACH, J.P.; VERNIKOS, J.; LEVINE, S. Plasma corticosterone concentrations sensitively reflect levels of stimulus intensity in the rat. **Physiol. Behav.**, v. 22, p. 821-825, 1979.

HOLLENBERG, S.M.; WEINBERG, C.; ONG, E.S.; CERELLI, G.H.; ORO, A.; LEBO, R.; THOMPSON, E.B.; ROSENFELD, M.G.; EVANS, R.M. Primary structure and expression of a functional human glucocorticoid receptor cDNA. **Nature**, v. 318, p. 635-641, 1985.

HORROCKS, P.M.; JONES, A.F.; RATCLIFFE, W.A.; HOLDER, G.; WHITE, A. Patterns of ACTH and cortisol pulsatility over twenty four hours in normal males and females. **Clin. Endocrinol.**, v. 32, n. 1, p. 127-134, 1990.

Instituto Nacional de Estudos e Pesquisas Educacionais Anísio Teixeira (Inep) e Ministério da Educação (MEC). Censo da Educação Superior. Dezembro de 2005. Disponível na Internet: <http://www.inep.gov.br>.

IRANMANESH, A.; LIZARRALDE, G.; SHORT, D.; VELDHUIS, J.D. Intensive venous sampling paradigms disclose high frequency adrenocorticotropin release episodes in normal men. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 71. n. 5, p. 1276-1283, 1990.

IVERSEN, L.L. & SALT, P.J. Inhibition of catecholamine uptake₂ by streroids in the isolated rat heart. **Br. J. Pharmacol.**, v. 40, n. 3, p. 528-530, 1970.

KAHN, J. P.; RUBINOW, D.; DAVIS, C.; KLING, M. & POST, R. Salivary cortisol: a pratical method for evaluation of adrenal function. **Biol. Psychiatry**, v. 23, p. 335-349, 1988.

KALIN, M.F.; ZUMOFF, B. Sex hormone and coronary disease: a review of clinical studies. **Steroids**, v. 55, p. 330-352, 1990.

KING, J. A., ROSAL, M. C., MA, Y., REED, G., KELLY, T. A., STANEK, E.J., OCKENE, I. S. Sequence and seasonal effects of salivary cortisol. **Behav. Med.**, v. 26, n. 2, p. 67-73, 2000.

KIRSCHBAUM, C.; PIRKE, K.M.; HELLHAMMER, D.H. The trier social stress – a tool for investigating psychobiological stress responses in a laboratory setting. **Neuropsychobiology**, v. 28, p.76-81, 1993.

_____, C.; KUDIELKA, B.M.; GAAB, J.; SCHOMMER, N.C.; HALLHAMMER, D.H. Impact in gender, menstrual cycle phase, and oral contraceptives on the activity of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. **Psychosom. Med.**, v. 61, p. 154-162, 1999.

KLEIN, S.L. The effects of hormones on sex differences in infection: from genes to behavior. **Neurosci. Biobehav. Rev.**, v. 24, p. 627-638, 2000.

KOOB GF, LEMOAL M. Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis. **Neuropsychopharmacology**, v. 24, p. 97–129, 2001.

KRIEGER, D. T.; ALLEN, W.; RIZZO, F.; KRIEGER, H. P. Characterization of the normal temporal pattern of plasma corticosteroid levels. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 32, n. 3, p. 266-284, 1971.

KUDIELKA, B.M.; HALLHAMMER, J.; HALLHAMMER D.H.; WOLF, O.T.; PIRKE, K.M.; VARADI, E.; PILZ, E.; KIRSCHBAUM, K. Sex differences in endocrine and psychological responses to psychosocial stress in healthy elderly subjects and the impact of a 2-week dehydroepiandrosterone treatment. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 83, p. 1756-1761, 1998.

LAKE, C.R.; ZIEGLER, M.G.; KOPLIN, I.J. Use of plasma norepinephrine for evaluation of sympathetic neuronal function in man. **Life Sci.**, v. 18, p. 1315-1325, 1976.

LANDSBERG, L. & YOUNG, J.B. Catecholamines and the adrenal medulla. In: WILSON, J.D. & FOSTER, D.W. **Willians Text Book of Endocrinology**, ed. 8, Philadelphia, p. 621-705, 1992.

LARSON, M.R.; ADER, R.; MOYNIHAN, J.A. Heart rate, neuroendocrine, and immunological reactivity in response to an acute laboratory stressor. **Psychosom. Med.**, v. 63, p. 493-501, 2001.

LAZARUS, R.S. & FOLKMAN, S. **Stress, Appraisal, and Coping**. Springer, New York, 1984.

LEFKOWITZ, R.J. & HOFFMAN, B.B. Adrenergic receptors. **Adv. Cyclic. Nucleotides Res.**, v. 12, p. 37-47, 1980.

LESCOAT, G.; JEGO, P.; BERAUD, B.; MANIEY, J. Influence de sexe sur les modalités de réponse de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien aux agressions émotionnelles et somatiques chez le rat. **C. R. Soc. Biol.**, v. 164, p. 2106-2113, 1970.

LEVENSTEIN, S.; PRANTERA, V.; VARVO, V.; SCRIBANO, M. L.; BERTO, E.; LUZI, C.; ANDREOLI, A. Development of the perceived stress questionnaire: a new tool for psychosomatic research. **J. Psychosom. Res.**, v. 37, p. 19-32, 1993.

LIMBOURG, F.P; LIAO, J.K. Nontranscriptional actions of the glucocorticoid receptor. **J. Mol. Med.**, v. 81, p. 168-174, 2003.

LUPIEN, S.J.; MCEWEN, B.S. The acute effects of corticosteroids on cognition: integration of animal and human model studies. **Brain Research Reviews**, v. 24, p. 1-27, 1997.

MALARKEY, W.B.; PEARL, D.K.; DEMERS, L.M.; LIELCOLT-GLASER, J. K.; GLASER, R. Influence of academic stress and season on 24-hours mean concentrations of ACTH, cortisol and β -endorphin. **Psychoneuroendocrinology**, v. 20, n. 5, p. 499-508, 1995.

MARPLE, D.N.; ABERLE, E.D; FORREST. J.C.; BLAKE, W.H.; JUDGE, M.D. Endocrine responses of stress susceptible and stress resistant swine to environmental stressors. **J. Anim. Sci.**, v. 35, n.3, p. 576-579, 1972.

MASON, J.W. A review of psychoendocrine research on the pituitary-adrenal cortical system. **Psychosom. Med.**, v. 30, p. 576-607, 1968a.

_____, J.W. A review of psychoendocrine research on the pituitary-adrenal cortical system. **Psychosom. Med.**, v. 30, p. 631-653, 1968b.

_____, J.W. A re-evaluation of the concept of "non-specificity" in stress theory. **J. Psych. Res.**, v. 8, p. 323-333, 1971.

_____, J.W. A historical view of the stress field. **J. Hum. Stress**, v.1, n. 2, p. 22-36, 1975.

MATTHEWS, K.A.; GUMP, B.B.; OWENS, J.F. Chronic stress influences cardiovascular neuroendócrina responses during acute stress and recovery, especially in men. **Health Psychol.**, v. 20, p. 403-410, 2001.

McEWEN, B.S, & LASLEY, E.N. The end of stress as we know it. **Washington D.C. National Academies Press**, p. 240, 2003.

_____, B.S. & WINGFIELD, J.C. The concept of allostasis en biology and biomedicine. **Hormones and Behavior**, v. 43, p.2-15, 2003.

MUNCK, A.; GUYRE, P.M.; HOLBROOK, N.J. Physiological functions of glucocorticóides in stress and their relation to pharmacological actions. **Endocri. Rev.**, v. 5, p. 25-44, 1984.

NANDI, J.; MEGUID, M.M.; INUI, A.; XU, Y.; MAKARENKO, I.G.; TADA, T.; CHEN, C. Central mechanisms involved with catabolism. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 5, p. 407-418, 2002.

NATELSON, B.H.; OTTENWELLER, J.E.; COOK, J.A.; PITMAN, D.; MCCARTY, R.; TAPP, W.N. Effect of stressor intensity on habituation of the adrenocortical stress response. **Physiol. & Behav.**, v. 43, p. 41-46, 1988.

NEPOMNASKI, D.; WELCH, K.; MCCONNELL, D.; STRASSMANN, B.I.; ENGLAND, B.G. Stress and female reproductive function: a study of daily variations in cortisol, gonadotrophins, and gonadal steroids ina rural Mayan population. **American Journal of Human Biology**, v. 16, p. 523-532, 2004.

NG, V.; KOH, D.; MOK, B. Y. Y.; CHIA, S. E.; LIM, L. P. Salivary biomarkers associated with academic assessment stress among dental undergraduates. **Journal of Dental Education**, v. 67, n. 10, 2003.

NG, V.; KOH, D.; CHIA, S. E. Examination stress, salivary cortisol and academic performance. **Psychological Reports**, v. 93, p. 1133-1134, 2003.

OWENS, J.F.; STONEY, C.M.; MATTHEWS, K.A. Menopausal status influences ambulatory blood pressure levels and blood pressure changes during mental stress. **Circulation**, v. 88, p. 2794-2802, 1993.

PACK, K.; PALKOVITS, M. Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders. **Endocrine Reviews**, v.22, n. 4, p. 502-548, 2001.

PARÉ, W.P. & RADEI, E. Sex differences and stress response of WKY rats. **Physiol. Behav.**, v. 54, p. 1179-1185, 1993.

PATEL, J.N. et al. Norepinephrine spillover from human adipose tissue before and after 72-hours fast. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 87, p. 3373-3377, 2002.

PELLETIER, K. R. Mind as Healer, Mind as Slayer. **Dell Publishing Co.**, New York, v. 71, 1977.

PETRELLUZZI, K. F.S.; GARCIA, M.C.; MARQUES, A.; LORENÇATO, C.; NAVARRO, M.J.; PETTA, C.A.; GRASSI-KASSISSE, M.; SPADARI-BRATFISCH, R.C. Hypocortisolism in patients with endometriosis and chronic pelvic pain. **XX Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental – FESBE**, p. 114, 2005.

PICKERING, A.D. The concept of biological stress. In: Stress and fish. Ed. Pickering, **Academic Press**, New York, 1981.

PRICE, D. A.; CLOSE, G. C.; FIELDING, B. A. Age of appearance of circadian rhythm in salivary cortisol values in infancy. **Arch. Dis. Child**, v. 58, p. 454-456, 1983.

RAHMSDORF, J.C; PARK, H.J.; CATO, K.K.; GEBEL, A.C.; PONTA, S.; HERRLICH, H. Antitumor promotion and antiinflammation down-modulation of AP-1 (fos-jun) activity by glucocorticoid hormone. **Cell**, v. 62, p. 1189-1204, 1990.

RICCARDI, C.; CIFONE, M.G.; MIGLIORATI, G. Glucocorticoid hormone-induced modulation of gene expression and regulation of T-cell death: role of GITR and GILZ, two dexamethasone induce genes. **Cell Death Differ.**, v. 6, p. 1182-1189, 1999.

RIEGLE, G.D. Chronic stress effects on adrenocortical responsiveness in Young and aged rats. **Neuroendocrinology**, v.11, p.1-10, 1979.

ROCHA-PINTO, W.N. Stress e Qualidade de Vida de Pacientes com Vitiligo, **Dissertação de Mestrado, Pontifícia Universidade Católica de Campinas**, 1996.

RODRIGUES, M.L.V. Sensibilidade às catecolaminas dos átrios direitos de ratas: influência das fases do ciclo estral e do estresse. 1993. 74f. **Dissertação de Mestrado**. Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1993.

ROHLEDER, N.; SCOMMER, N.C.; HELLHAMMER, D.H; ENGEL, E; KIRSCHBAUM, C. Sex differences in glucocorticoid sensitivity of proinflammatory cytokine production after psychosocial stress. **Psychosom. Med.**, v. 63, p. 966-972, 2001.

SAMPAIO-BARROS, M.M.; FARIAS-SILVA, E.; GRASSI-KASSISSE, D.M.; SPADARI-BRATFISCH,R.C. Effect of swimming session duration and repetition on metabolic markers in rats. **Stress**, v. 6, n. 2, p. 127-132, 2003.

SANZ-CARRILLO, C; GARCIA-CAMPAYO,J.; RUBIO, A.; SANTED, M.A.; MONTORO,M. Validation of the Spanish version of the perceived stress questionnaire. **Journal of Psychosomatic. Research**, p. 167-172, 2002.

SAPOLSKY, R.M. Assumindo o controle do estresse. **Scientific America**, p. 79-87, 2003

SELYE, H. A syndrome produced by diverse nocuous agents. **Nature**, v. 138, n. 1, 1936.

_____, H. The general adaptative syndrome and disease of adaptation. **J. Clin. Endocrinol.**, v. 6, p. 117-230, 1946.

_____, H. The stress of life. **McGraw-Hill Books Inc.**, New York, p. 324, 1956.

SCHONEVELD, O.J.L.M.; GAEMERS, I.C., LAMERS, W.H. Mechanisms of glucocorticoid signaling. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1680, p. 114-128, 2004.

SHER, L.; OQUENDO, M. A.; GALFALVY, H. C.; ZALSMAN, G.; COOPER, T. B.; MANN, J. J. Higher cortisol levels in spring and fall in patients with major depression. **Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 29, p. 529-534, 2005.

SHORE, P.A. Transport and storage of biogenic amines. **Ann. Rev. Pharmacol.**, v. 12, p. 209-226, 1972.

SPADARI-BRATFISCH, R.C. & SANTOS, I.N. Chronotropic response to (+/-)-CGP12177A in right atria of stressed rats. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, v. 79, p. 1-7, 2001.

SPANGLER G. Psychological and physiological responses during an exam and their relation to personality characteristics. **Psychoneuroendocrinology**, v. 22, p. 423-41, 1997.

STERLING, P. & EYER, J. Allostasis a new paradigm to explain arousal pathology. In: FISHER, S.; Reasem, J. editors. **Handbook of life stress, cognition and health**, John Wiley & Sons Inc., New York, p. 629-649, 1988.

STOECKLIN, E.; WISSLER, M.; MORIGGL, R.; GRONER, B. Specific DNA binding of STAT 5, but not of glucocorticoid receptor, is required for their functional cooperation in the regulation of gene transcription. **Mol. Cell. Biol.**, v. 17, p. 6708-6716, 1997.

TENNAT, F. & HERMANN, L. Evidence of a clinical neuroendocrine syndrome in severe chronic pain. **Pain Med.**, v. 2, n. 3, p. 252, 2001.

TERSMAN, Z.; COLLINS, A.; ENEROTH, P. Cardiovascular responses to psychological and physiological stressors during the menstrual cycle. **Psychosom. Med.**, v. 53, p. 185-197, 1991.

THORSTEINSSON, E.B.; JAMES, J.E.; GREGG, M.E. Effects of video-relayed social support on hemodynamic reactivity and salivary cortisol during laboratory-based behavioral challenge. **Health Psychol.**, v. 17, p. 436-444, 1998.

TRENDELENBURG, U. & GRAEFE, K.H. Supersensitivity to catecholamines after impairment of extraneuronal uptake or catechol-O-metil transferase. **Federation Proc.**, v. 34, p. 1971-1974, 1975.

TSIGOS, C. & CHROUSOS, G.P. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. **Journal of Psychosomatic Research**, v. 53, p. 865-871, 2002.

VAN GOOZEN, S. H. M. et al. Salivary cortisol and cardiovascular activity during stress in oppositional-defiant disorder boys and normal controls. **Biol. Psych.**, v.43, n.7, p.531-539, 1998.

VEDHARA, K.; HYDE, J.; GILCHIRST, I. D.; TYTHERLEIGH, M.; PLUMMER, S. Acute stress, memory, attention and cortisol. **Psychoneuroendocrinology**, v. 25, p. 535-549, 2000.

VELDHUIS, J.D.; IRANMANESH, A.; JOHNSON, M.L.; LIZARRALDE, G. Amplitude, but not frequency, modulation of adrenocorticotropin secretory bursts gives rise to the nyctohemeral rhythm of the corticotropic axis in man. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 71, p. 452-463, 1990.

VERHAAK, P.F.M.; KERSENS, J.J.; DEKKER, J.; SORBI, M.J.; BENSING, J.M. Prevalence of chronic benign pain disorder among adults: a review of the literature. **Pain.**, v. 77, p. 231-239, 1998.

VOGEL, W.H. & JENESH, R. Chronic stress and plasma catecholamine and corticosterone levels in male rats. **Neurosc. Lett.**, v. 87, p. 183-188, 1988.

WHITCARE, C.C.; REINGOLD, S.C; O'LOONEY, P.A. The task force on gender, multiple sclerosis and autoimmunity. A gender cap in autoimmunity. **Science**, v. 283, p. 1277-1278, 1999.

WOLF, O.T.; SCHOMMER, N.C.; HELLHAMMER, D.H.; MCEWEN, B.S.; KIRSCHBAUM, K. The relationship between stress induced cortisol levels and memory differs between men and women. **Psychoneuroendocrinology**, v. 26, p. 711-720, 2001.

YOUNG, E.A. Sex differences and the HPA axis: implications for psychiatric disease. **J. Gend-Specif. Med.**, v. 1, p. 21-27, 1998.

ANEXO 1:**Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

Nome da pesquisa: *Influência do estresse em estudantes pré-vestibulandos nos cursos de maior demanda, envolvendo as três áreas do conhecimento*

Pesquisador: MARIA CÂNDIDA CAMARGO ROLIM

Orientadora: REGINA CÉLIA SPADARI-BRATFISCH

Nome do Estudante:

Idade:

RG:

Endereço:

Medicamento que usou no último mês:

Têm alguma doença? Sim Qual? _____ Não

Para as mulhres: Toma Anticoncepcional? Sim Qual? _____ Não

Nome do responsável legal pelo estudante::

Idade:

RG:

Endereço:

Grau de parentesco:

Prova documental comprobatória da responsabilidade:

Justificativa e Objetivo

O projeto visa avaliar o grau de estresse em alunos que estejam pleiteando uma vaga em cursos concorridos e verificar se há correlação entre o nível de dificuldade de ingresso e o nível de estresse. Visa também, avaliar o grau de estresse promovido pela carga horária em classes de segundo ano do ensino médio para nos certificarmos de que o estresse vivido por vestibulandos provém, unicamente, da prova do vestibular.

Procedimentos

A saliva será coletada utilizando “salivettes” contendo uma peça de gaze absorvente. Os indivíduos serão instruídos para colocar a gaze na boca até a gaze ficar saturada com saliva. A gaze então, será colocada de volta no “salivette”.

Os estudantes serão instruídos para coletarem três amostras: uma entre 8 e 10 horas da manhã (ao acordar, após o desjejum); uma entre 11 horas da manhã e 1 hora da tarde (após o almoço) e uma entre 5 e 7 horas da noite (após o lanche ou o jantar).

Nos mesmos dias, os voluntários deverão responder aos questionários cujas cópias se encontram em anexo, para avaliação psicológica do estresse.

Como é um procedimento de avaliação e não é um processo invasivo, o estudante não corre nenhum risco ou transtorno.

Garantias

O estudante irá receber resposta a qualquer pergunta e esclarecimento a dúvidas acerca de assuntos relacionados com a pesquisa.

O estudante poderá deixar de participar da pesquisa a qualquer tempo, sem prejuízo do atendimento, cuidado e tratamento pela equipe da especialidade do HC.

A equipe zelará pela privacidade do estudante e garantirá que sua identificação não será exposta nas conclusões ou publicações. A equipe manterá o sigilo e o caráter confidencial das informações.

Caso haja gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

A divulgação dos resultados obtidos em laboratório, bem como o resultado dos testes aplicados aos alunos, não serão, de rotina, divulgados. Mas isso não impede que o sejam no caso de esta ser a vontade do doador, expressa em moldes formais.

MARIA CÂNDIDA CAMARGO ROLIM

Mestranda em Fisiologia e Biofísica do Instituto de Biologia

Fone: (0xx19) 97468432

REGINA CÉLIA SPADARI-BRATFISCH

Professora Associada voluntária

Fone: (019)3788-6187

Data: __/__/____

Assinatura Aluno: _____

Assinatura Responsável: _____

Anexo 2**Protocolo para coleta de SALIVA**

1-a coleta deve ser em estado alimentado. Portanto colete após o desjejum, o almoço e após o jantar.

2-NÃO escove os dentes e NÃO use fio dental.

Após alimentar-se, bocheche com água e, em seguida, faça sua coleta.

3-Caso pratique atividade física, faça sua coleta antes de se exercitar.

4-Coloque o algodão na boca e deixe encharcar com a saliva (± 5 min).

5-coloque os SALIVETTES em geladeira/congelador.

6-o transporte do SALIVETTE não precisa ser em gelo.

7-ATENÇÃO aos horários indicados no SALIVETTE para sua coleta.

ANEXO 3

Questionário de Estresse Percebido

Em cada pergunta marque um círculo no número que melhor descreva com que frequência se aplica esta questão a sua vida em geral **durante os últimos um ou dois anos**. Responda rapidamente, sem tentar controlar as respostas.

	Quase nunca	Às vezes	Frequen- temente	Quase sempre
(1) Se sente descansado(a)	1	2	3	4
(2) Sente que lhe designam muita pressão	1	2	3	4
(3) Está irritado(a) e mal humorado(a)	1	2	3	4
(4) Tem muitas coisas para fazer	1	2	3	4
(5) Se sente só e isolado(a)	1	2	3	4
(6) Se encontra submetido(a) a situações conflitantes	1	2	3	4
(7) Sente que está fazendo coisas que realmente gosta	1	2	3	4
(8) Se sente cansado(a)	1	2	3	4
(9) Teme não alcançar todas as suas metas	1	2	3	4
(10) Se sente tranqüilo(a)	1	2	3	4
(11) Tem que tomar decisões demais	1	2	3	4
(12) Se sente frustrado(a)	1	2	3	4
(13) Se sente cheio(a) de energia	1	2	3	4
(14) Se sente tenso(a)	1	2	3	4
(15) Seus problemas parecem multiplicar-se	1	2	3	4
(16) Sente que tem pressa	1	2	3	4
(17) Se sente seguro(a) e protegido(a)	1	2	3	4
(18) Tem muitas preocupações	1	2	3	4
(19) Está sob pressão de outras pessoas	1	2	3	4
(20) Se sente desanimado(a)	1	2	3	4
(21) Se diverte	1	2	3	4
(22) Tem medo do futuro	1	2	3	4
(23) Sente que faz coisas por obrigação, não porque queira fazê-las	1	2	3	4
(24) Se sente criticado(a) ou julgado(a)	1	2	3	4
(25) Se sente alegre	1	2	3	4
(26) Se sente esgotado(a) mentalmente	1	2	3	4
(27) Tem problemas para relaxar	1	2	3	4
(28) Se sente angustiado(a) pela responsabilidade	1	2	3	4
(29) Tem tempo suficiente para você	1	2	3	4
(30) Se sente pressionado(a) pelos prazos de tempo	1	2	3	4