JOSILENE LOPES DETTONI

**Efeitos da privação parcial do sono no
endotélio venoso e no controle
autônômico em voluntários saudáveis**

**Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em Ciências.**

**Área de concentração: Pneumologia
Orientador: Prof. Dr. Geraldo Lorenzi-Filho**

São Paulo

2008

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Dettoni, Josilene Lopes

Efeitos da privação parcial do sono no endotélio venoso e no controle autonômico em voluntários saudáveis / Josilene Lopes Dettoni. -- São Paulo, 2008.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Departamento de Cardio-Pneumologia.

Área de concentração: Pneumologia.

Orientador: Geraldo Lorenzi-Filho.

Descritores: 1.Sono 2.Privação do sono 3.Endotélio 4.Sistema nervoso autônomo

USP/FM/SBD-318/08

DEDICATÓRIA

A DEUS, em primeiro lugar, sem Ele nada seria possível; nem a minha existência.

Aos MEUS PAIS José e Lenir pelo amor incondicional, pelos ensinamentos durante toda minha vida, pelo incentivo, por sempre ser um exemplo de vida, de fé, de amor, de dedicação.

Aos meus irmãos: Josenir e Jovanir sempre companheiros, amigos leais durante minha vida e em todas as áreas de conhecimento. Meu eterno amor a vocês.

Ao querido Renato Thudor (in memoriam), por todos os momentos de incentivo, por ter feito parte desta caminhada, e da minha vida. Onde quer que eu esteja, interceda junto ao PAI por mim.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Geraldo Lorenzi-Filho, meu orientador, pela oportunidade dada e por me inserir em seu grupo de pesquisa.

Ao Prof. Dr. Marcelo Rubira, por toda colaboração prestada ao meu ingresso neste doutorado.

À Profa. Dra. Fernanda Marciano Consolim-Colombo, ao Prof. Dr. Heitor Moreno Junior pela profunda amizade, incentivo, apoio e ensinamentos, que em muito me engrandeceram como pesquisadora e pessoa.

Aos amigos da UNICAMP: Samira, Joca e Adriana amigos-irmãos, pelo auxílio incessante ao longo desta caminhada e também ao Dr. Juan Yugar Toledo, obrigada pelos ensinamentos e ajuda.

Aos pós-graduandos, verdadeiros “amigos da escola”: Dr. Julio, Ft.. Suellen e Ft. Silvia Beatriz, amigos-anjos, pelo apoio, amizade e carinho oferecidos no dia a dia. Nossa amizade transpassou os muros do InCor. Também não poderia deixar de agradecer ao Lucas, a Ana Beatriz e ao Eduardo.

Ao Sodalício de Vida Cristã, aos membros do Movimento de Vida Cristã e Focolares, por me ajudarem nos momentos mais críticos da minha vida, durante esta caminhada.

À Dra. Rosa Miranda, Jady Miranda e Tereza Militão, anjos que apareceram em minha vida, que muito me incetivaram e acompanharam, agradeço pela ajuda e doação.

À Dra. Rosana Alves, obrigada pelas palavras de incentivo e orações.

À irmã-amiga Dra.Katia, Manoel, Lucas e Luis Guimarães, anjos-irmãos, que tão generosamente me incluíram em sua família. Sou muito Guimarães.

A Adelaide, colega de luta na pós graduação, mulher de muita força.

A todo o pessoal do laboratório do sono que conviveu comigo neste período de pesquisa.

Ao Cristiano Mostarda, pela grandiosa ajuda neste trabalho.

Ao Fábio e Ana, pelas polissonografias feitas com profunda dedicação e carinho.

Ao Prof. Dr. Mário Terra Filho, por seus ensinamentos durante a pós-graduação.

Ao Prof. Dr. Francisco Vargas e ao Prof. Dr. Rogério de Souza por estimular o crescimento e o amadurecimento da ciência dentro da pneumologia.

As secretárias da pneumologia, Luciana e à Dina, obrigada pela cordial atenção e dedicação. Dina sua ajuda e amizade contribuíram nesta pesquisa.

As secretárias da unidade de Hipertensão, Silvia e Djanira, muitíssimo obrigada pelo apoio, carinho. e atenção.

A família Sebok pela grande contribuição neste estudo.

Em especial, a todos os meus queridos voluntários, pela colaboração, imensa generosidade e pela confiança. Sem vocês, nenhum pesquisador conseguiria nada.

Ao amigo Pe. Luis pelo apoio ofertado com tanta bondade e generosidade.

Sem a contribuição destas pessoas, não seria possível a conclusão desta tese. O meu muito obrigada a cada um e que Deus os protejam, abençoem e os guiem em suas vidas.

“Devemos acreditar: nada acontece por acaso. Nenhum acontecimento alegre, indiferente ou doloroso, nenhum encontro, nenhuma situação de família, de trabalho, de escola, nenhuma condição de saúde física ou espiritual é desprovida de sentido. Mas, cada coisa é portadora de uma mensagem de Deus que devemos saber interpretar e acolher com todo o coração ”

(Chiara Lubich)

NORMATIZAÇÃO

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

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

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2a. ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

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

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Sono.....	2
1.2 Privação de sono.....	3
1.3 Endotélio	6
1.3.1 Substâncias vasoativas	9
1.3.2 Disfunção endotelial	15
1.3.3 Avaliação da Função Endotelial.....	16
1.4 Controle Autonômico.....	17
2. OBJETIVOS.....	20
2.1 Objetivo geral	21
2.2 Objetivo específico	21
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	22
3.1 Casuística	23
3.1.1 Critérios de inclusão	23
3.1.2 Critérios de exclusão	23
3.2 Métodos e procedimentos	24
3.2.1 Avaliação inicial	24
3.2.2 Polissonografia	24
3.2.3 Exames bioquímicos séricos	25
3.3 Protocolo do estudo	26
3.3.1 Desenho do estudo.....	27
3.3.2 Cálculo da amostra.....	28
3.3.3 Diário de Sono	28
3.3.4 Actigrafia.....	28
3.3.5 Escala de sonolência de Epworth.....	31
3.3.6 Reatividade vascular venosa	32
3.3.6.1 Drogas infundidas no estudo de complacência venosa	36
3.3.6.2 Quantificação da reatividade da veia	37
3.3.7 Controle autonômico cardiovascular no momento basal e durante "tilt test"	37
3.4 Análise da variabilidade do intervalo (RR) e da pressão arterial (PA)	43
3.4.1 Variabilidade no domínio da frequência (análise espectral) ..	43
3.4.2 Variabilidade no domínio do tempo	44
3.5 Análise estatística	45

4	RESULTADOS	46
4.1	Características do sono	48
4.2	Função Endotelial.....	54
4.3	Variáveis hemodinâmicas nos momentos basal e estresse postural ("tilt test") nos períodos de sono controle e privação parcial do sono	59
4.4	Análise da modulação autonômica para o coração.....	63
4.5	Análise da modulação autonômica para o vaso	65
4.6	"Tilt Test"	66
4.7	Variáveis bioquímicas séricas	68
5	DISCUSSÃO	70
5.1	Considerações gerais.....	71
5.2	Limitações do estudo	80
5.3	Implicações clínicas	80
6	CONCLUSÕES	82
7	ANEXOS	84
	Anexo A - Termo de consentimento livre e esclarecido.....	85
	Anexo B - Diário de sono.....	88
	Anexo C - Escala de sonolência de Epworth	89
	Anexo D - Diluição de Fenilefrina	90
	Anexo E - Concentração de Fenilefrina	91
	Anexo F - Doses de acetilcolina	92
	Anexo G - Doses de nitroprussiato	93
8	REFERÊNCIAS.....	94

LISTA DE ABREVIATURAS

ACh	Acetilcolina
ADP	Adenosina difosfato
BPM	Batimentos por minuto
CVS	Ciclo vigília-sono
DC	Débito cardíaco
ECE	Enzima conversora de endotelina
ECG	Eletrocardiograma
EDCF	Fator constritor derivado do endotélio
EDHF	Fator hiperpolarizante derivado do endotélio
EEG	Eletroencefalograma
EMG	Eletromiografia
eNOS	Enzima óxido nítrico sintase
EOG	Eletrooculograma
ESE	Escala de sonolência de Epworth
ET-1	Endotelina 1
ET-A	Endotelina A
ET-B	Endotelina B
FC	Frequência cardíaca
GMP	Guanosina Monofosfato
IAH	Índice de apnéia e hipopnéia
IMC	Índice de massa corpórea
IP	Intervalo de pulso
NO	Óxido nítrico

NOS	Óxido nítrico sintase
NPS	Nitroprussiato de sódio
NTG	Nitroglicerina
OSA	Apnéia obstrutiva do sono
PA	Pressão arterial
PAD	Pressão arterial diastólica
PAS	Pressão arterial sistólica
PP	Pressão de pulso
RVP	Resistência vascular periférica
TPS	Tempo período de sono
TTR	Tempo total de registro
TTS	Tempo total de sono
VC 70%	Venoconstrição de 70%
VFC	Variabilidade da frequência cardíaca
VPA	Variabilidade da pressão arterial

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Fluxograma do protocolo do estudo	27
Figura 2 -	Actígrafo de pulso	31
Figura 3 -	Avaliação da complacência venosa de uma veia do dorso da mão.....	33
Figura 4 -	Representação esquemática do transdutor capaz de detectar pequenos deslocamentos lineares conforme a mudança do calibre da veia	34
Figura 5 -	Transdutor (TDLV, Shaevitz Engineering, Pennsauken, NJ) e aferição da calibração do transdutor	35
Figura 6 -	Registro no momento basal	41
Figura 7 -	Registro no momento do " <i>Tilt Test</i> ".	42
Figura 8 -	Diagrama dos indivíduos que permaneceram na seleção da amostra.....	47
Figura 9 -	Tempo de sono (em horas) no período de sono controle e no período de privação parcial.....	49
Figura 10 -	Actograma não laudado (período de sono controle)	50
Figura 11 -	Actograma laudado (período de sono controle)	51
Figura 12 -	Actograma não laudado (período de privação parcial)	52
Figura 13 -	Actograma laudado (período de privação parcial)	53
Figura 14 -	Resposta média em porcentagem de venoconstrição a infusão de fenilefrina no período de sono controle e privação	54
Figura 15 -	Média das doses para resposta venoconstritora de 70% (VC 70% - venoconstrição de 70 %) no período de sono controle e no período de privação parcial.....	55
Figura 16 -	Respostas de venodilatação máxima induzida por acetilcolina	56
Figura 17 -	Curva dose-resposta da acetilcolina (0,36-3600 ng/min) nos períodos de sono controle e de privação parcial.....	57

Figura 18 - Resposta de venodilatação máxima induzida por nitroprussiato de sódio	58
Figura 19 - Valores da variabilidade da FC nos períodos de sono controle e de privação na condição basal. Em repouso (Figura 19A), mostrando aumento da relação de LF/HF (Figura 19B), mostrando aumento na banda de LF (Figura 19C) e um decréscimo na banda de HF (Figura 19D)	64
Figura 20 - Valores da variabilidade da PA nos períodos de sono controle e de privação parcial durante o momento basal	65
Figura 21 - Análise do delta (<i>"tilt test"</i> vs basal) após o período controle e privação parcial do sono	66
Figura 22 - Análise do delta da PA em relação ao basal vs <i>"tilt test"</i> . <i>Amostra do</i> aumento da variabilidade da PA na banda LF sendo menor após período de privação parcial de sono (Figura 22A) e mostrando a diminuição de alfa promovido pelo <i>"tilt test"</i> após período de privação parcial de sono (Figura 22B)	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Características demográficas da população estudada	48
Tabela 2 -	Valores das variáveis hemodinâmicas no momento basal durante os períodos de sono controle e de privação parcial	59
Tabela 3 -	Valores das variáveis hemodinâmicas comparando o momento basal vs “ <i>tilt test</i> ” durante o período de sono controle	60
Tabela 4 -	Valores das variáveis hemodinâmicas comparando basal vs “ <i>tilt test</i> ” durante o período de sono privação	61
Tabela 5 -	Valores de Delta percentuais (basal vs “ <i>tilt test</i> ”) dos períodos de sono controle e privação parcial	62
Tabela 6 -	Valores basais das variáveis da VFC nos períodos de sono controle e privação parcial	63
Tabela 7 -	Características bioquímicas nos períodos de sono controle e sono privação	66
Tabela 8 -	Valores de Delta percentual da Pressão Arterial (basal vs “ <i>tilt test</i> ”) nos períodos de sono controle e privação parcial	68
Tabela 9 -	Características bioquímicas nos períodos do sono controle e sono privação	68

RESUMO

Dettoni JL. *Efeitos da privação parcial do sono no endotélio venoso e no controle autonômico em voluntários saudáveis* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2008. 112p.

A privação do sono é um problema sério nos tempos atuais e pode ter graves consequências para a fisiologia humana. De fato, a redução no tempo de sono tem sido associada a um notável aumento na incidência de hipertensão arterial, diabetes mellitus, infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral e estresse, porém os mecanismos envolvidos são pobremente compreendidos. **Objetivos:** Avaliar o impacto da privação parcial do sono na função endotelial venosa e no controle autonômico cardiovascular em homens saudáveis. **Métodos:** Treze voluntários do sexo masculino, saudáveis e com idade média de 31 ± 2 anos, tiveram o sono monitorado por diário de sono e actigrafia de pulso durante 12 noites consecutivas, nas quais foram divididas em 2 dois períodos. Um período de 5 noites denominado de privação parcial do sono (dormir < 5h por noite) e outro de 5 noites denominado de sono controle (dormir > 7h por noite). Entre estes períodos, foi interposto por 2 noites de sono irrestrito (com pelo menos de 7 horas de sono por noite). A escolha do período inicial de sono foi randomizada. Ao término de cada período de 5 dias, foi analisada a reatividade vascular venosa (com a técnica da veia do dorso da mão, "*Dorsal Hand Vein*"), a sonolência diurna excessiva (através da Escala de Sonolência de Epworth), realizada avaliação hemodinâmica e autonômica (no momento em repouso e mediante o teste de inclinação postural "*tilt test*"), exames de sangue e dosagem de norepinefrina plasmática. A frequência cardíaca e pressão arterial de batimento a batimento na posição supina e com a manobra de "*tilt test*" foi monitorado com intervalo (RR) e variabilidade de pressão arterial. **Resultados:** Os indivíduos dormiram em média 8.0 h durante o período de sono controle e 4.5 h no período de privação parcial do sono, sendo a diferença significativa entre os mesmos ($p < 0.01$). O período privação de sono não mudou a frequência cardíaca e a pressão arterial basal significativamente, mas promoveu um aumento significativo em baixas frequências cardíacas e variabilidade da pressão arterial, como também na norepinefrina plasmática. O "*tilt test*" promoveu uma queda em PA sistólica depois da privação parcial do sono, que foi significativamente maior depois do período de sono controle ($p < 0.05$). A privação parcial do sono causou uma redução significativa na venodilatação endotélio-dependente e não mudou venodilatação endotélio-independente. **Conclusão:** Privação parcial do sono durante só 5 noites já é o suficiente para causar disfunção endotelial venosa, um aumento significativo na atividade simpática e no prejuízo do controle da pressão arterial.

Descritores: sono; privação do sono; atividade simpática; disfunção endotelial

SUMMARY

Dettoni JL. *Effects of partial sleep deprivation on venous endothelium and autonomic control of healthy volunteers* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2008. 112 p.

Background: Sleep curtailment is a serious and common problem in western societies and can have significant consequences in the human physiology. In fact epidemiological studies showed that sleep deprivation (reduction in sleeping time) is associated with increased blood pressure, higher incidence of diabetes mellitus, myocardial heart attack, strokes in the brain, and stress, however the mechanisms are poorly understood.

Objectives: Evaluate the impact of partial sleep deprivation in the venous endothelial function and the autonomic cardiovascular autonomic control in healthy men.

Methods: Thirteen healthy male volunteers (average age: 31 ± 2 years) had their sleep monitored by sleep diary and wrist actigraphy during 12 consecutive nights, these were divided into two periods. The subjects were randomized and crossed over to 5 nights of control sleep (> 7 hs) and 5 nights of partial sleep deprivation (< 5 hs), interposed by 2 nights of unrestricted sleep (at least 7 hours sleep per night). The choice of the initial sleeping period was randomized. At the end of each period of 5 days heart rate and beat-to-beat blood pressure in the supine position and head up tilt test maneuver were monitored with off line determination of RR-interval and blood pressure variability. In addition, serum norepinephrine and venous endothelial functions were measured by dorsal hand vein technique; also we performed the evaluation of excessive day sleepiness (evaluated through the Epworth Sleepiness Scale), hemodynamic and autonomous evaluation (during sleep and through the tilt test).

Results: The subjects slept 8.0 and 4.5 hs during control and partial sleep deprivation periods, respectively ($p < 0.01$). Sleep deprivation did not change significantly the resting heart rate and blood pressure but promoted a significant increase in the low frequency bands of heart rate and blood pressure variability as well as serum norepinephrine. Tilt test promoted a significantly greater drop in systolic BP after partial sleep deprivation than after control sleep ($p < 0.05$). Partial sleep deprivation caused a considerable reduction of acetylcholine induced venodilatation (endothelium dependent) and did not change sodium nitroprusside venodilatation (independent from the endothelium).

Conclusion: Partial sleep deprivation for only 5 nights is sufficient to cause significant increase in sympathetic activity, impairment of blood pressure control and endothelial dysfunction.

Descriptors: sleep; sleep deprivation; sympathetic activity; endothelial dysfunction.

1. INTRODUÇÃO

O presente estudo investiga os efeitos da privação parcial de sono no endotélio venoso e no controle autonômico em homens saudáveis. Nesse contexto, se faz uma introdução abordando vários assuntos considerados pertinentes e que estarão descritos a seguir, em forma de tópicos.

1.1. SONO

A espécie humana, como muitas outras, apresenta oscilações nos seus padrões biológicos desde suas origens, ajustando-se a ciclos ambientais como o dia e a noite e as estações do ano¹. Essas oscilações, quando se repetem regularmente, são chamadas de ritmos biológicos e os mais conhecidos são aqueles em que os períodos tendem a coincidir com o período do ciclo dia/noite de 24 horas¹⁻³. O ciclo sono-vigília é a manifestação de um ritmo biológico e os homens organizam suas atividades segundo ciclos de 24 horas¹⁻³.

Oscilações da temperatura corporal, frequência cardíaca, pressão sangüínea e respostas celulares para estímulos internos, tais como hormônios, sistema enzimático, neurotransmissores, eletrólitos e substratos metabólicos demonstram ritmicidade circadiana^{1,3}.

Essa organização temporal resulta da atuação de fatores endógenos (relógios biológicos) e de fatores ambientais (sincronizadores).

Na espécie humana, os sincronizadores sociais parecem ser os mais importantes, em particular a jornada de trabalho. As dessincronizações produzidas por mudanças abruptas em jornadas de trabalho manifestam-se com o surgimento de distúrbios de sono, sensações de mal-estar, complicações gastrointestinais, flutuações no humor e reduções no desempenho de atividades diárias¹. Sabe-se hoje que a exposição crônica a horários irregulares devido a atividades de trabalho afeta a ritmicidade biológica, com conseqüências diversas, desde distúrbios de humor até problemas de sono²⁻⁵.

1.2. PRIVAÇÃO DO SONO

A privação do sono é um problema sério nos tempos atuais e pode ter graves conseqüências para a fisiologia humana. Trabalhos publicados no início do século passado já descreviam uma redução na duração do tempo de sono ao longo do desenvolvimento⁶. A maior parte dos trabalhos sobre o tema buscava, de uma forma ou de outra, estabelecer padrões de normalidade da duração do tempo de sono para as diversas faixas etárias⁷. Na verdade, a preocupação com as necessidades diárias de sono pode ser encontrada em registros bem mais antigos⁸. O primeiro estudo de privação de sono foi em 1894 com cães⁹ e em 1896 com homens¹⁰. Desde então,

este tema tem levantado cada vez mais questionamentos sobre a importância do sono e as consequências de sua falta¹¹.

Pesquisas em animais confirmam que o sono é fundamental para a sobrevivência e que sua restrição excessiva pode ser letal^{12,13}. Um longo período de privação de sono é comum na sociedade atual. O que se considera tempo “normal” de sono é de, aproximadamente, 6 a 8 horas¹⁴. Segundo um levantamento feito em 2004 pela Fundação Nacional de Sono, aproximadamente um terço dos adultos americanos apresentam privação crônica do sono. Cerca de 30% dos americanos dormem 6 horas ou menos por dia¹⁵.

A redução no período de sono pode ser classificada em privação parcial, seletiva e total¹⁶. Considera-se como privação parcial quando há uma diminuição nas horas de sono que se mantém por algum período. Na privação total, ocorre uma ausência de sono. Já na privação seletiva alguma fase de sono está abolida¹⁶. Alguns estudos têm sido feitos com o método da plataforma para privarem ratos do sono REM demonstrando que a ausência desta fase é mais maléfica para o organismo do que a diminuição nas horas de sono.

A privação de sono tem efeitos profundos em vários aspectos, promovendo uma cascata de diferentes reações nas funções cognitivas e fisiológicas, tais como: sonolência diurna, mudanças no humor, fadiga, irritabilidade, dificuldade de concentração, desorientação, prejuízos na função imune e na atividade autonômica¹⁶⁻²⁰.

Pesquisas sugerem que a privação do sono pode aumentar a incidência de eventos cardiovasculares^{11,17,21}. De fato, uma redução no tempo de sono tem sido associada a um notável aumento na incidência de hipertensão, diabetes mellitus, infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral e estresse¹⁹⁻²⁵. A privação de sono também causa estresse mental que, por sua vez, pode causar isquemia miocárdica que, se permanecer por um tempo maior, pode estimular o desenvolvimento de lesões ateroscleróticas²⁶.

Estudos demonstraram que pessoas privadas de sono tinham níveis de proteína C reativa e de interleucina-6 aumentados^{27,28}. Análises epidemiológicas mostram que o nível elevado da proteína C reativa em homens e mulheres aparentemente saudáveis é um forte preditor de doença cardiovascular^{29,30}. Não somente a tolerância à glicose é diminuída com a privação do sono³¹, como também a sensibilidade à insulina em sujeitos saudáveis, após 24 horas da restrição de sono³². Ambas as situações contribuem direta ou indiretamente para aumentar as doenças cardiovasculares, respectivamente³³.

A maior parte dos estudos nessa área avaliou os efeitos da privação aguda de uma noite de sono. No entanto, é cada vez mais comum em nossa sociedade pessoas se privarem parcialmente de sono durante a semana, tentando recuperar-lo nos finais de semana. Os efeitos cardiovasculares dessa realidade foram pouco estudados e são objeto deste estudo. Far-se-á, a seguir, uma revisão sobre o endotélio e disfunção endotelial, visto que essa é uma das avaliações centrais neste estudo.

1.3 ENDOTÉLIO

O sistema circulatório está revestido por uma camada tênue de células denominadas “endotélio vascular”, que delimita anatomicamente a área de separação física entre o compartimento intravascular e os demais tecidos e órgãos do corpo humano^{34,35}. Esta membrana constitui um verdadeiro órgão multifuncional, essencial para a fisiologia vascular normal³⁶. O papel do endotélio nas doenças cardiovasculares tem se tornado alvo de intensas investigações científicas³⁶.

O endotélio pode ser considerado um órgão endócrino ativo que, em respostas a estímulos humorais, neurais e mecânicos, sintetiza e libera substâncias vasoativas que modulam tônus, calibre vascular e fluxo sangüíneo, desempenhando papel fundamental na regulação da circulação e na proliferação e migração das células do músculo liso vascular e adesão de leucócitos^{35,36}.

O endotélio forma uma barreira de permeabilidade altamente seletiva^{37,38}. Acredita-se que o aumento da permeabilidade de macromoléculas plasmáticas como as lipoproteínas tem um papel importante no desenvolvimento da lesão aterosclerótica (processo inflamatório crônico subclínico)³⁶.

O endotélio tem a capacidade de monitoração, integração e transdução de sinalizações através da expressão de diversos receptores de superfície. Como exemplo, tem os receptores para citocinas, interleucinas 1α e 1β , fator de necrose tumoral α , interferon γ , fator transformador do

crescimento β , fator de crescimento fibroblástico, fator endotelial de crescimento vascular, fator de permeabilidade vascular, angiotensina II, catecolaminas e outros, como a insulina e os fatores “tipo insulina” (insulina like), ou ainda os produtos bacterianos como as endotoxinas e suas proteínas de ligação que regulam importantes respostas teciduais. A sensibilidade da monitoração e as funções de transdução estendem-se, além do clássico estímulo humoral, à biotransdução de diferentes tipos de estimulação mecânica, como as forças geradas pelo fluxo sanguíneo pulsátil “shear stress” ou força de cisalhamento^{35,36}.

O endotélio também produz diversas substâncias biologicamente ativas, incluindo citocinas, fatores de crescimento, já citados, e outras substâncias semelhantes a hormônios (moléculas efetoras), que influenciam o comportamento de múltiplas células e tecidos. Algumas ações ocorrem na célula de origem (regulação autócrina), enquanto outras agem nas células adjacentes (regulação parácrina). Finalmente, podem ser secretadas na circulação e agir à distância como verdadeiros hormônios (regulação endócrina)³⁹. Dentre as substâncias secretadas, tem-se como destaque o Óxido Nítrico (NO), que será abordado adiante.

Uma das primeiras funções descritas do endotélio foi a sua capacidade de modular a dilatação dos vasos. Por meio de substâncias vasoativas produzidas pelas células endoteliais (descritas adiante), a camada muscular torna-se mais ou menos responsiva a estímulos fisiológicos ou farmacológicos⁴⁰.

O endotélio normalmente proporciona uma superfície não trombogênica devido à sua capacidade para formar derivados de prostaglandinas, em especial a prostaciclina, que, além de ser um potente vasodilatador, é também um efetivo inibidor da agregação plaquetária^{41,42}. As células endoteliais secretam não só agentes que são efetivos para lise de coágulos, incluindo o plasminogênio, como também sintetizam substâncias procoagulantes como o Fator de Von Willebrand⁴³. Por outro lado, células endoteliais também têm a capacidade de produzir substâncias trombogênicas, como fatores da coagulação, moléculas de adesão, inibidor do ativador do plasminogênio e tromboxane A_2 ⁴⁴.

O endotélio tem ainda a capacidade de inibir a proliferação celular da musculatura lisa vascular, impedindo a migração de células musculares lisas, através de mecanismos diretos, como a síntese de NO, que inibe a proliferação celular, e/ou indiretos (ação plaquetária). Em situações especiais (isquemia), pode secretar fatores de crescimento e outras citocinas capazes de exercer controle autócrino e/ou Parácrino da multiplicação celular^{44,45}. Na resposta imunológica, participa ativamente na expressão de integrinas, moléculas de adesão e secreção de citocinas, permitindo a migração de monócitos, linfócitos e neutrófilos e maior atividade fagocitária local⁴⁶⁻⁴⁸.

Finalmente, o endotélio também participa na degradação e transformação metabólica de numerosos fármacos endógenos, como angiotensina, bradicinina, norepinefrina, 5-hidroxitriptamina, prostaglandinas

E e F, leucotrienos, nucleotídeos de adenina, adenosina, endotelina e outros³⁹.

1.3.1. TÔNUS VASCULAR E SUBSTÂNCIAS VASOATIVAS

O tônus vascular é modulado principalmente pelo endotélio que é capaz de sintetizar e liberar inúmeras substâncias que causam vasodilatação e vasoconstrição da musculatura lisa, tanto em condições basais como quando estimulado por diferentes agentes (físicos, neurotransmissores, hormônios e autacóides)⁴⁰.

1.3.1.1. SUBSTÂNCIAS VASODILATADORAS

O mecanismo vasodilatador endotelial é mediado por substâncias vasoativas, principalmente pelo NO. Também a prostaciclina, a bradicinina, o fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF) e os metabólitos das monoxigenases e outras^{39,49}. Tem um papel que é influenciado por estímulos centrais e periféricos (sistema nervoso simpático) e estímulos locais (tônus miogênico)⁵⁰.

A. ÓXIDO NÍTRICO (NO)

As células endoteliais produzem o mais potente vasodilator já descoberto, o NO, que foi descrito por Furchgott e Zawadzki em 1980 e identificado como uma substância não prostanóide, lábil e difusível, mediadora do relaxamento dependente do endotélio⁴⁹.

A formação do NO pelo endotélio desempenha um papel crítico na manutenção do equilíbrio entre vasoconstrição e vasodilatação no processo de homeostase arterial⁴⁹. As células endoteliais expressam constitutivamente a enzima NO sintase (eNOS) que gera NO usando a L-arginina como substrato. O NO difunde-se em direção às células musculares lisas vasculares e as relaxa pela estimulação da enzima citosólica guanilato ciclase solúvel, que leva ao aumento do GMP cíclico^{51,52}. O aumento de GMP cíclico, cuja ação nos tecidos de mamíferos é mediada principalmente pela ativação da proteína quinase G, diminui o influxo de cálcio para o citoplasma e aumenta a captação de Ca^{2+} /ATPase pelo retículo sarcoplasmático. A diminuição do Ca^{2+} intracitoplasmático promove o relaxamento do vaso⁵².

Adicionalmente, o NO pode causar relaxamento muscular por interação com canais de potássio diretamente e também indiretamente por regular a produção de substâncias vasoconstritoras, como a endotelina-1 nas células endoteliais^{36,40}.

A produção de NO é o maior contribuinte do relaxamento dependente do endotélio, em grandes artérias isoladas, incluindo as coronárias, artérias

mesentéricas, pulmonares e cerebrais. Seu significado *in vivo* é sugerido pelas observações de que os inibidores da eNOS causam vasoconstrição em muitos leitos vasculares e um aumento da pressão arterial sistêmica em animais e humanos^{53,54}.

O principal estímulo para a produção de NO é o *shear stress*⁴⁰. Inúmeras substâncias endógenas estimulam a liberação de NO por meio da ligação com receptores específicos na superfície endotelial: hormônios circulantes (como catecolaminas e vasopressina), autacóides (como a bradicinina e a histamina) ou ainda, mediadores liberados pelas plaquetas (serotonina e adenosina difosfato - ADP) ou formados durante a coagulação (trombina)^{55,56}.

O NO também inibe a adesão e agregação de plaquetas e leucócitos ao endotélio, inibe a proliferação de células musculares lisas, modula a produção de moléculas de adesão e de fatores vasoconstritores, como a endotelina-1⁵⁷. Além do efeito na dilatação vascular, o NO é o mediador de importantes funções do endotélio⁴⁰.

DOADORES DE NO

Estudos mostraram que doadores de NO possuem ações *in vivo* e *in vitro* semelhantes àsquelas do NO endógeno⁵⁸.

Os doadores de NO em sistemas biológicos podem ser divididos em três grupos, a saber: 1) nitratos orgânicos, como trinitrato de glicerol; 2)

nitritos orgânicos, como nitrito de amilo; e 3) compostos nitrosos inorgânicos, como nitroprussiato de sódio, nitrosotióis e nitroglutatonas.

Nitroprussiato de sódio libera, espontaneamente, NO por mecanismo desconhecido e é, portanto, um potente vasodilatador com uma meia vida biológica bastante curta, de aproximadamente 2 minutos⁵⁹.

B. OUTRAS SUBSTÂNCIAS VASODILATADORAS PRODUZIDAS PELO ENDOTÉLIO

• PROSTACICLINA

A prostaciclina é um produto da ciclooxigenase e o mais potente inibidor endógeno da agregação plaquetária, além de exercer outras funções sobre a ação moduladora das reações imunológicas e da proliferação celular^{44,60}. A prostaciclina causa relaxamento das células musculares lisas, pela ativação da adenilciclase e aumento da produção de AMP cíclico. O AMP cíclico também aumenta a extração de Ca^{2+} do citosol no músculo liso vascular, inibindo o processo contrátil⁵⁷.

• FATOR HIPERPOLARIZANTE DERIVADO DO ENDOTÉLIO (EDHF)

A hiperpolarização induzida pelo EDHF é mediada pelo aumento do movimento de íons potássio. A contribuição da hiperpolarização para o relaxamento dependente do endotélio varia com a função e o tamanho das

artérias, sendo predominante em vasos de resistência⁶¹. O NO e outros fatores (estrógenos, exercícios físicos e ácidos graxos presentes na dieta), também podem modular a liberação de EDHF pelas células endoteliais⁵⁷.

1.3.1.2. SUBSTÂNCIAS VASOCONSTRITORAS

- **PROSTAGLANDINAS/TROMBOXANO**

Um grupo de fatores constritores derivados do endotélio é gerado pelo metabolismo do ácido araquidônico, envolvendo as ciclooxigenases⁶². O metabolismo do ácido araquidônico pela ciclooxigenase nas células endoteliais pode levar à secreção de prostaglandina H₂, o precursor de todos os prostanóides. A prostaglandina H₂ e o tromboxane A₂ agem nos receptores endoperoxídeo/tromboxane no músculo liso vascular induzindo vasoconstrição⁶³. Entre os estímulos que causam vasoconstrição dependente do endotélio, sensível aos inibidores da ciclooxigenase, cita-se a resposta fisiológica ao estiramento circunferencial, iniciada pela distensão súbita da parede vascular, em resposta a um aumento da pressão sanguínea; e a liberação de fatores vasoconstritores derivados do endotélio. Esses fatores promovem ativação da camada de células musculares lisas para restaurar a relação de fluxo normal⁶⁴. Além disso, a ciclooxigenase é uma fonte de ânions superóxidos, que podem causar vasoconstrição, direta ou indiretamente, pela inativação do NO.

- **ENDOTELINA**

A ET-1 é o mais potente vasoconstritor endógeno já identificado, sendo 100 vezes mais potente que a norepinefrina em base molar⁶⁵. Ela age sobre os receptores ET-A, ativa a proteína G, que estimula a hidrólise da fosfolipase C, dando origem ao diacilglicerol e ao inositol 1,4,5 trifosfato que mobiliza o cálcio intracelular, facilitando a vasoconstrição. Células endoteliais produzem ET-1 através da transdução do mRNA gerando pré-pró-endotelina, a qual é convertida em "big" endotelina. A "big" endotelina é convertida em peptídeo maduro ET-1 pela ação da enzima conversora da endotelina (ECE). Endotelina-1 causa vasodilatação em baixas concentrações, pela ativação do receptor ET-B acoplado à liberação de NO, prostaciclina e EDHF. Altas concentrações de ET-1 causam marcadas e sustentadas contração, pela ativação dos receptores ET-A, em alguns vasos sanguíneos, e dos receptores ET-B das células musculares lisas⁶⁵. Os níveis circulantes de ET-1 são baixos, sugerindo discreta produção endógena sob condições fisiológicas e/ou liberação sub-luminal do peptídeo para células musculares lisas.

- **ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO OU RADICAIS LIVRES**

As células endoteliais secretam radicais livres de oxigênio e peróxido de hidrogênio em resposta ao estresse de cisalhamento e à agonistas endoteliais^{35,66}. O ânion superóxido inativa o NO⁶⁷, facilitando a mobilização do Ca²⁺ citosólico nas células do músculo liso vascular ou promovendo a sensibilidade ao Ca²⁺ a elementos contráteis^{35,66}.

Quando altas quantidades de radicais livres são produzidas por diferentes estímulos, o resultado é uma menor biodisponibilidade do NO, com as consequências negativas associadas a esta situação⁴⁰.

1.3.2 DISFUNÇÃO ENDOTELIAL

A função endotelial normal pode ser definida quando várias substâncias produzidas pelo endotélio interagem entre si e com elementos celulares adjacentes, mantendo um estado de equilíbrio do ponto de vista funcional⁴⁰. Esse equilíbrio pode ser alterado por estímulos endógenos e exógenos (incluindo estresse físico e psicológico, e doenças), instalando-se o quadro de disfunção endotelial^{35,68}.

Na disfunção endotelial ocorre menor produção ou maior degradação de NO e de substâncias vasodilatadoras, podendo ou não ocorrer maior produção de substâncias vasoconstritoras^{35,68}. Nesse contexto, a disfunção endotelial pode ser definida por um estado de vasoespasmo, inflamação, adesão e agregação de plaquetas e leucócitos, trombose, proliferação vascular anormal, que predispõem ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares^{68,69}.

Clinicamente pode ser avaliada pela dosagem de substâncias produzidas pelo endotélio ou pela análise das respostas de vasodilatação dependente do endotélio^{40,68,72}.

Estudos demonstram que potencialmente a disfunção endotelial pode ser “melhorada” levantando a possibilidade de sua interferência na progressão da doença, diminuindo o risco de eventos cardiovasculares⁷⁰⁻⁷². De fato, a disfunção endotelial transitória pode ser observada em situações como o estresse mental agudo⁷³ e após privação de sono causada por 24 horas de plantão⁷⁴. Kato et al (2000)⁷⁵ testaram a hipótese que pacientes com apnéia obstrutiva do sono (AOS) possuem alteração do endotélio independente de outras doenças correlatas, observando a presença de disfunção para a vasodilatação endotélio dependente⁷⁶.

1.3.3 AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO ENDOTELIAL

A grande maioria dos estudos de função endotelial em humanos utiliza técnicas que avaliam a variação do fluxo de sangue arterial ou o diâmetro de grandes artérias de um segmento, que se seguem à infusão de drogas vasoativas ou após manobras de isquemia local⁴⁰. Entretanto, o endotélio venoso também pode ser avaliado quanto ao seu funcionamento normal por meio da técnica de complacência venosa^{72,77}. Devido ao fácil acesso, às baixas pressões intravasculares, à parede vascular fina e à sua distensibilidade, as veias oferecem uma oportunidade singular para estudos diretos de ações e interações de estímulos fisiológicos e farmacológicos no leito vascular humano *in vivo*⁷⁷⁻⁷⁹. É importante salientar que, em torno de 2/3 do volume de sangue está contido nas veias⁷⁸⁻⁸¹.

Vários trabalhos foram publicados descrevendo as alterações nas respostas da vasodilatação da veia do dorso da mão após a infusão local de acetilcolina ou bradicinina em pacientes com fatores de risco que, reconhecidamente, afetam o endotélio arterial^{72,82-84}. Dessa forma, pode-se avaliar diretamente a disfunção do endotélio venoso, com uma técnica pouco invasiva e praticamente sem risco.

1.4. CONTROLE AUTONÔMICO

Para assegurar a perfusão dos tecidos (fluxo tecidual), nas mais variadas situações fisiológicas e patológicas, é fundamental que a pressão arterial permaneça dentro de limites estáveis⁸⁵. A manutenção e as variações da pressão arterial dependem de mecanismos complexos e redundantes que determinam ajustes apropriados na frequência e contratilidade cardíacas, no estado contrátil dos vasos arteriais e venosos (respectivamente, vasos de resistência e capacitância) e na distribuição de fluido dentro e fora dos vasos. No controle participam núcleos autonômicos do sistema nervoso central e sistema nervoso periférico, rins e sistema renina-angiotensina, outros sistemas hormonais, incluindo vias endócrinas e parácrinas^{85,86}.

Dos mecanismos de regulação, o sistema nervoso autonômico é o que é ativado mais rapidamente frente a uma alteração aguda na pressão arterial, promovendo ajustes rápidos e de curta duração (segundos)

principalmente pela ação de mecanismos reflexos que usam vias ou circuitos neurais denominados “arcos reflexos”⁸⁵⁻⁸⁶.

Os arcos reflexos são compostos por receptores, vias aferentes, núcleos de integração central e vias eferentes (sistema nervoso simpático e parassimpático). Dois importantes arcos reflexos neurais estão envolvidos na regulação da pressão arterial: o baroreflexo (mediado por estimulação dos barorreceptores aórticos e carotídeos, chamados de receptores de alta pressão) e reflexo cardiopulmonar (mediado por estimulação de receptores cardiopulmonares, chamados de receptores de baixa pressão)⁸⁷.

Estes receptores quando estimulados de forma súbita por aumento da pressão arterial sistêmica ou da pressão venosa central, aumentam a descarga pelas fibras nervosas aferentes; os sinais chegam aos centros vasomotores na medula, onde são integrados e convergem para as áreas centrais do sistema, modulando a atividade do sistema nervoso simpático e do parassimpático; destas áreas saem os estímulos eferentes que atingem o coração e os vasos sanguíneos, levando a uma diminuição da frequência cardíaca e da resistência vascular periférica, fazendo com que a pressão arterial retorne ao normal^{87,88}.

De forma oposta, a queda da pressão arterial ou do enchimento cardíaco diminui a descarga nervosa pelas fibras aferentes, com menor estímulo nas áreas centrais; como resultado há liberação da atividade simpática e diminuição da atividade parassimpática, levando a um aumento da frequência cardíaca e da resistência vascular periférica, fazendo com que a pressão arterial retorne aos valores prévios⁸⁷⁻⁸⁹.

Desta forma, torna-se claro a importância da atividade simpática e parassimpática na modulação de variáveis hemodinâmicas para adequado controle cardiovascular^{50,89}. Um método clássico de avaliação da atividade simpática é a dosagem de catecolaminas séricas^{90,91}. O método tem grande utilização e representa a atividade simpática sistêmica ou global^{91,92}.

Atualmente, a análise da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) têm-se tornado uma ferramenta extremamente útil no entendimento da modulação autonômica para o coração durante a situação de repouso e nas manobras que estimulem a atividade simpática, como manobras de estresse postural (“*tilt test*”)^{87,93}.

Da mesma forma, a análise da variabilidade da pressão sistólica pode trazer informações quanto a modulação do simpático para o sistema vascular. Está bem demonstrado que o aumento da variabilidade da pressão arterial está associada a um maior grau de aterosclerose carotídea⁹⁴⁻⁹⁶ e a um aumento da mortalidade por doença cardiovascular^{96,97}. Vários estudos evidenciaram que a redução na VFC é um forte e independente preditor de mortalidade em indivíduos com cardiopatia isquêmica⁹⁸⁻¹⁰¹.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar em homens saudáveis o impacto da privação parcial do sono na função endotelial venosa e no controle autonômico cardiovascular.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar na referida amostra, após períodos de sono controle e de privação parcial de sono, os seguintes parâmetros:

- Função endotelial venosa – quantificar a venodilatação
- Controle autonômico – analisar as variáveis hemodinâmicas (DC, PA, FC e RVP) e a modulação autonômica cardíaca (atividade simpática e parassimpática) em repouso e em estresse postural, e a atividade simpática sistêmica com dosagem de catecolaminas.

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1. CASUÍSTICA

O projeto desta pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética Médica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e Instituto do Coração (InCor) e pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq), em 25/05/2006, com o número de protocolo de pesquisa 242/06. Todos os voluntários deste estudo assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo A).

Os participantes foram selecionados segundo os critérios abaixo:

3.1.1. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram selecionados para o estudo indivíduos saudáveis, do sexo masculino, entre 21 e 40 anos, e que não apresentassem qualquer patologia prévia ou atual.

3.1.2. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídos do estudo tabagistas, portadores de hipercolesterolemia¹⁰², obesos¹⁰³ com índice de massa corpórea (IMC) ≥ 30 Kg/m², índice de apnéia-hipopnéia (IAH) ≥ 5 eventos por hora de sono¹⁰⁴, que fizessem uso de medicação aguda ou crônica e trabalhadores noturnos.

3.2. MÉTODOS E PROCEDIMENTOS

3.2.1. AVALIAÇÃO INICIAL

Antes de iniciar o protocolo, os voluntários realizaram dois exames prévios: polissonografia e exame de sangue (hemograma, dosagem de glicose, colesterol total e frações) para que fossem descartados distúrbios respiratórios do sono, diabetes mellitus e hipercolesterolemia. Além disso, também foi aferida a pressão arterial (PA) e calculado o IMC.

3.2.2. POLISSONOGRAFIA

A polissonografia reúne diversos exames num só, simultaneamente: o eletroencefalograma (EEG); a eletromiografia (EMG) (submentoniana e tibial); o eletrooculograma (EOG); o eletrocardiograma; fluxo aéreo nasal e oral; frequência respiratória; oximetria de pulso; movimento do tórax e abdômen. Por ser um exame diagnóstico de múltiplas funções, é capaz de detectar diversos distúrbios e alterações intrínsecas do sono, assim como os distúrbios respiratórios a ele relacionados ¹⁰⁵⁻¹⁰⁸.

Em síntese, ela é considerada como exame padrão ouro no diagnóstico dos distúrbios do sono, avaliando-o com acurácia, confiança e validade ¹⁰⁸. Outras medidas importantes registradas são: tempo total de registro (TTR), considerado a partir do momento em que as luzes são apagadas até o final da noite; tempo de período de sono (TPS),

compreendido entre o início e o término do sono, incluindo despertares após o início do sono e tempo total de sono (TTS), visto entre o início e o término do sono, excluídos os períodos de vigília após o início do sono ¹⁰⁸.

Quanto ao ritmo e esforço respiratório, a Associação Americana dos Distúrbios do Sono ¹⁰⁹ padroniza-os como apnéias e hipopnéias, sendo considerados o índice de apnéias-hipopnéias (IAH) por hora de sono como normais de 0 a 5; e alterados em leve de 5 a 15; moderado de 15 a 30 e grave acima de 30 ¹⁰⁹.

3.2.3. EXAMES BIOQUÍMICOS SÉRICOS

Os voluntários realizaram uma coleta de sangue pré-protocolo, para seleção da amostra, dentro dos critérios de inclusão e exclusão, sendo analisados os valores de glicose, colesterol total, frações e hemograma completo.

Depois de selecionados, os indivíduos iniciaram o protocolo experimental e realizaram duas novas coletas sanguíneas colhidas no final dos períodos (que serão explicados posteriormente) para análise das mesmas variáveis, acrescentando apenas, para inferência da atividade simpática, a dosagem sérica de catecolaminas (norepinefrina) pelo método da cromatografia líquida de alta performance com detecção eletroquímica (0,5 volts). Segundo método descrito por Naffah-Mazzacoratti⁹², onde na presença de heparina, o sangue é mantido a 4°C até centrifugação em centrífuga refrigerada a 4° C por 10 min (3.000 rpm).

Todos os exames de sangue foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas do InCor no período da manhã, após 8 horas de jejum.

3.3 PROTOCOLO DO ESTUDO

O estudo foi dividido em 2 períodos de 5 noites consecutivas (privação e controle); foram sorteados aleatoriamente e intercalados por um período de 2 noites.

No período de privação os indivíduos foram orientados a dormir menos que 5 horas por noite e mais do que 3 horas e meia por noite.

No período controle os indivíduos foram orientados a dormir mais que 7 horas por noite e menos que 9 horas e meia por noite.

Durante as duas noites de intervalo entre os períodos de privação e controle (ou controle e privação), os indivíduos foram orientados a dormir ao menos 7 horas por noite. No quinto e no décimo segundo dia, correspondendo ao final dos períodos privação ou controle foram realizados as coletas de sangue, dosagem de catecolaminas e exames específicos que serão descritos a seguir.

Ressaltamos que todas as avaliações foram realizadas no período da manhã. Para controle das horas de sono durante o período total de estudo, ou seja, 12 dias, todos os indivíduos foram monitorados através do actígrafo de pulso e preencheram um diário de sono (Anexo B). No final de cada

período, os indivíduos responderam ao questionário da escala de sonolência excessiva de Epworth (Anexo C).

3.3.1. DESENHO DO ESTUDO

Para melhor compreensão do protocolo do estudo, fizemos uma representação usando o fluxograma abaixo apresentado:

ou

Coleta de dados

- coleta de sangue,
- análise da reatividade vascular,
- avaliação autonômica (em repouso e “*tilt test*”)

Figura1 - Fluxograma do protocolo do estudo

3.3.2. CÁLCULO DA AMOSTRA

O tamanho da amostra foi calculado através de um estudo piloto com 5 voluntários que realizaram apenas o teste de reatividade vascular com a técnica “Dorsal Hand Vein” que indicou que a privação de sono induziu uma diferença de 80% de vasoconstrição e sugeriu em um $n = 12$ para um alfa de 0,05 e poder de 0,9.

3.3.3. DIÁRIO DE SONO

Os indivíduos anotaram durante os 12 dias, em um diário entregue no início do protocolo, todos os horários de início e término do sono e outras informações relevantes que podiam afetar o sono, incluindo a ingestão de bebidas cafeinadas, horário de alimentação e atividade física (Anexo B).

3.3.4. ACTIGRAFIA

O actígrafo de pulso (Figura 2) é um instrumento de medida de atividade que foi inicialmente desenvolvido pelo exército americano no final da década de 70. Este aparelho permite uma abordagem não invasiva em condições de laboratório ou campo, com a obtenção de uma série temporal longa, de até várias semanas consecutivas¹¹⁰.

O actígrafo é um acelerômetro miniaturizado contendo um cristal piezoelétrico em balanço e deve ser utilizado no pulso não dominante (Mini

Motionlogger Actigraph ® Ambulatory Monitoring, Inc.). O cristal é um sensor bilaminado, tendo sua voltagem proporcional à mudança de direção de seu movimento, ou seja, gera uma voltagem a cada movimento. Esse sinal é amplificado, filtrado e comparado com uma voltagem de referência, antes de ser transformado em uma representação digital. Os valores acumulados durante um período são armazenados na memória do aparelho (32KB) por, no máximo, 16 dias e, posteriormente, transferidos para um computador utilizando como conector uma interface (Auto Actigraph Interface Unit). A detecção e o registro dos dados são realizados através do “Zero Crossing Mode”, que conta o número de vezes em cada período de um minuto¹¹¹.

Este modo de coleta independe da aceleração que pode estar sendo deslocada acima ou abaixo do limiar da referência. Com a sua utilização, estima-se a frequência do movimento, sendo a opção de escolha para o estudo do ciclo vigília-sono .

Com os registros é possível estimar, através da quantidade de atividade ocorrida naquele instante, os períodos de sono e vigília de cada indivíduo, a partir da aplicação de um algoritmo. Trata-se de um procedimento automático realizado pelo programa Action-W® (AMBULATORY MONITORING INC., 2001).

Dois algoritmos foram validados, um por Cole ¹¹² e outro por Sadeh¹¹³. Ambos os algoritmos possuem uma precisão de aproximadamente 90% de concordância quando comparados com a polissonografia, que foi tomada como padrão-ouro para a validação dos algoritmos.

Neste estudo, foi utilizado o algoritmo de Sadeh¹¹³ por ser mais preciso ao se analisar o tempo total de sono. O uso do actígrafo deve-se ao fato de ser este um aparelho de maior precisão, capaz de detectar, por exemplo, pequenas interrupções de sono que usualmente não são percebidas pelos indivíduos.

Existem, evidentemente, restrições nestas estimativas nas quais, por exemplo, há períodos de vigília em que o indivíduo esteja imóvel (assistindo televisão), que poderá ser detectado como período de sono, se for suficientemente duradouro; há, portanto, riscos de superestimar os episódios de sono. Por outro lado, períodos de sono mais agitados poderão ser considerados vigília, também ocorrendo, portanto, uma superestimativa como no caso das interrupções de sono. Além disso, os períodos em que o aparelho não foi usado serão estimados como sono, se não forem adequadamente identificados.

Por estes motivos, é indispensável realizar a edição dos dados de vigília e sono obtidos com a aplicação do algoritmo. Essa deve ser bastante cuidadosa e comparar os registros do protocolo do diário de sono aos do actígrafo, tendo estes últimos dispostos em forma de gráficos na tela do computador, denominados actogramas.

Os registros do actígrafo são processados automaticamente pelo programa Action-W® (AMBULATORY MONITORING, INC., 2001), que o acompanha.

De acordo com os dados brutos mostrados pelo actígrafo e com os resultados do diário de sono, foi feita a edição dos dados no software Action-W®.

Figura 2 – Actígrafo de pulso

3.3.5. ESCALA DE SONOLÊNCIA DE EPWORTH

A sonolência excessiva diurna foi avaliada pela Escala de Sonolência de Epworth (ESE), que é um questionário simples, apresentado para proporcionar uma medição do nível geral de sonolência diurna dos indivíduos. A ESE foi projetada para medir a propensão para o sono de um modo padronizado e simples, com uma escala que cobre toda a faixa de propensões para o sono, desde a maior até a menor.

Na ESE, avalia-se a chance de cochilar em situações específicas, com a pontuação de 0 a 3, sendo 0 = nenhuma chance de cochilar; 1 = pequena chance de cochilar; 2 = moderada chance de cochilar e 3 = alta chance de cochilar. É baseada em oito situações, a saber: chance de

cochilar sentado e lendo, assistindo televisão; sentado em lugar público (cinema, igreja, sala de espera); como passageiro de trem, carro ou ônibus andando uma hora sem parar; deitando-se para descansar à tarde quando as circunstâncias permitem; sentado e conversando com alguém; sentado calmamente após o almoço (sem álcool) e, finalmente, dirigindo um carro enquanto pára por alguns minutos ao estar num trânsito intenso. A ESE com escore até 10 é considerada dentro da normalidade, acima de 10 é considerada sonolência excessiva diurna⁹⁵ (Anexo C).

Esse questionário foi aplicado no final do período de sono controle e no final do período de privação parcial.

3.3.6. REATIVIDADE VASCULAR VENOSA – “DORSAL HAND VEIN”

O método escolhido para a avaliação funcional da reatividade vascular da camada muscular e do endotélio foi a medida da venodilatação pela técnica de complacência venosa de uma veia do dorso da mão conhecida como “dorsal hand vein”⁷⁷ (Figura 3).

Esta avaliação foi realizada sempre entre 8 e 10 horas da manhã, no Laboratório do Sono do InCor com temperatura controlada em torno de 23°C a 25°C.

Todos os voluntários foram instruídos para não ingerirem bebidas alcoólicas ou cafeinadas no dia anterior ao exame.

Figura 3 - Avaliação da complacência venosa de uma veia do dorso da mão

Durante toda avaliação, os voluntários permaneceram na posição supina, com um dos antebraços em um suporte cômodo, com um ângulo de 30 graus em relação à horizontal.

Uma agulha 23G (butterfly) foi inserida em uma veia do dorso da mão e foi infundida solução fisiológica por uma bomba de infusão Harvard (Harvard Apparatus Inc. South Natick, Mass) durante 30 minutos, a 0,3 ml/min, para possibilitar a recuperação do tônus venoso local após a vasoconstrição causada pela inserção da agulha na veia.

O transdutor capaz de detectar pequenos deslocamentos lineares (TDLV, Shaevitz Engineering, Pennsauken, NJ) foi colocado sobre a superfície dorsal da mão e afixado firmemente à pele. O pino metálico, que desliza através do transdutor, teve uma de suas extremidades colocadas

sobre um ponto da veia a ser estudada a menos de 1 cm da ponta da agulha utilizada para infusões de drogas⁷⁷.

O deslocamento vertical do pino, de acordo com o grau de dilatação ou constrição da veia, gerou um sinal no transdutor, que foi amplificado e registrado em papel milimetrado.

Medidas do calibre da veia foram realizadas após insuflação de um manguito de esfigmomanômetro a 40 mmHg colocado no mesmo braço. As variações no calibre da veia foram calculadas pela diferença percentual a partir do posicionamento do pino metálico e registro gráfico gerado antes e depois da insuflação do manguito (Figura 4).

Figura 4 - Representação esquemática do transdutor capaz de detectar pequenos deslocamentos lineares conforme a mudança do calibre da veia

O sinal do transdutor (TDLV, Shaevitz Engineering, Pennsauken,NJ), capaz de detectar pequenos deslocamento lineares, foi calibrado e aferido periodicamente com lâminas de várias espessuras em milímetros, gerando

uma escala progressiva em papel milimetrado e, com isso, um parâmetro de funcionamento adequado e registro gráfico (Figura 5).

Figura 5 - Transdutor (TDLV, Shaevitz Engineering, Pennsauken, NJ) e aferição da calibração do transdutor.

Depois da administração de soro fisiológico, foi realizada infusão de doses crescentes de fenilefrina a cada 7 minutos, até obter-se 70% de constrição (VC70) em relação ao valor basal ou condição após infusão de soro fisiológico (VC70), estabelecendo uma linha de base para avaliação da resposta vascular venosa. Enquanto fenilefrina foi continuamente infundida, acetilcolina foi infundida simultaneamente em concentrações crescentes a cada 3 minutos, construindo-se uma curva dose-resposta completa para acetilcolina.

Após um período de 30 minutos para o completo desaparecimento dos efeitos da acetilcolina, doses crescentes de nitroprussiato de sódio (NPS) foram infundidas a cada 3 minutos para construção de curva dose-

resposta, sob a mesma condição de pré-constricção utilizada anteriormente (VC70).

3.3.6.1. DROGAS INFUNDIDAS NO ESTUDO DE COMPLACÊNCIA VENOSA

As drogas utilizadas no exame foram as seguintes:

- A) Fenilefrina = cloridrato de fenilefrina (Winthrop Lab, New York, USA)
- B) Acetilcolina (Divisão de Farmácia da Universidade de São Paulo, Brasil)
- C) Nitroprussiato de sódio (Biolab Sanus Farmacêutica Ltda, Brasil)

As drogas e doses foram infundidas em estudos anteriores, em um grande número de voluntários, e são consideradas seguras referente a riscos para os pacientes^{72,82,83,114}

A) Fenilefrina

As doses de fenilefrina foram avaliadas para diminuição do calibre da veia (venoconstricção). As respostas de venoconstricção foram moduladas com doses entre 75 a 25.000 ng/ml, gerando um estado de constricção de 70% em relação ao estado basal (Tabela de diluição - Anexo D e E).

B) Acetilcolina

As 6 doses crescentes de acetilcolina (1,2 a 12.000 ng/ml) foram utilizadas para uma completa curva dose-resposta de venodilatação em veias da mão pré-constritas com fenilefrina (Tabela de diluição - Anexo F).

C) Nitroprussiato de sódio (NPS)

A curva dose-resposta foi construída com 2 doses de NPS (156 a 3.125 ng/ml) em veias da mão pré-constritas com fenilefrina (Tabela de diluição - Anexo G).

3.3.6.2. QUANTIFICAÇÃO DA REATIVIDADE DA VEIA

As variações do diâmetro da veia do dorso da mão foram calculadas por delta percentual do estado de pré-constricção estabelecido e as respostas de venodilatação, tomando-se como referência o grau de dilatação na condição basal, ou seja, durante a infusão de soro fisiológico.

3.3.7 CONTROLE AUTONÔMICO CARDIOVASCULAR EM REPOUSO (MOMENTO BASAL) E DURANTE “*TILT TEST*”

Imediatamente após o término da análise da reatividade vascular, os sujeitos foram encaminhados ao Laboratório da Hipertensão do INCOR, onde foi realizada a avaliação hemodinâmica e autonômica, com a seguinte

seqüência experimental: momento basal (repouso) e teste de inclinação postural (que chamaremos de momento “tilt test”).

O registro das variáveis hemodinâmicas (pressão arterial, frequência cardíaca, débito cardíaco e resistência vascular periférica) foi feito durante registro no momento basal e no momento “tilt test”.

A aferição da pressão arterial foi realizada com o indivíduo deitado (posição supina) após pelo menos 10 minutos de repouso. Foi realizada no membro superior esquerdo através do método auscultatório. Foi utilizado para aferição esfigmomanômetro de coluna de mercúrio devidamente calibrado.

Os registros das variáveis hemodinâmicas (pressão arterial, frequência cardíaca, débito cardíaco e resistência vascular periférica) foram feitos durante todo o protocolo experimental, de maneira contínua, batimento a batimento cardíaco. Os valores de referência para normalidade foram:

PA < 140/90 mmHG e DC = 4 a 7l/min,

RVP terá como unidade MU = medical unit em mmHg.s/ml.

$RVP = p \text{ (pressão)} / q \text{ (fluxo)}$. $RVP = UM = \text{pam/dc} \times 80 = \text{dyn.s/cm}^5$

Valor de Referência = 1,0 mmHg.s/ml.

A monitorização da pressão arterial foi realizada de maneira contínua e não invasiva, com o monitor de pressão FINOMETER (Finometer, FMS, Finapres Medical System BV, Holland).

O equipamento utiliza como princípio básico a técnica de fotopletismografia digital (colocando-se um manguito de pressão circundando a falange média de um dedo da mão esquerda), descrito por Penaz e desenvolvido por Wesseling¹¹⁵ para fornecer curvas de pressão arterial de forma não invasiva e contínua, batimento a batimento. O equipamento é provido de um programa (software BeatScope) que é capaz de gerar dados hemodinâmicos como pressão arterial, frequência cardíaca, débito cardíaco e resistência vascular periférica, tendo como base as curvas de pressão arterial e dados do paciente como idade, sexo, peso e altura.

Ainda que esses valores sejam também indiretos e, portanto, aproximados, existem informações na literatura sobre a validação deste método com medidas diretas e invasivas, demonstrando boa acurácia e valores sobreponíveis¹¹⁶⁻¹¹⁸.

As curvas de pressão arterial obtida com o FINOMETER juntamente com o sinal do ECG, foram registradas simultaneamente em outro computador provido de um sistema de aquisição e conversão de sinais biológicos AT/MCA-CODAS (DATAC Instruments Inc., Akron, Ohio, EUA). A frequência de amostragem dos sinais foi de 1.000Hz. Os sinais armazenados foram posteriormente submetidos a uma rotina de análise para fornecer os valores de variabilidade da frequência cardíaca e da pressão arterial e da sensibilidade espontânea do barorreflexo, que serão descritas a seguir.

Para o registro da frequência cardíaca foram colocados três eletrodos no tórax do indivíduo, nas posições bipolares, para captação de sinal

eletrocardiográfico na derivação CM5. Após esse sinal ser pré-amplificado (General Purpose Amplifier/Stemtech, Inc., GPA-4), ele era convertido de analógico para digital e, em seguida, armazenado para posterior análise.

O momento do “tilt test” foi feito por meio da inclinação (elevação) passiva da maca a um ângulo de 60°, durante 6 minutos, e se os indivíduos não apresentassem sintomas ou se não houvesse nenhuma alteração compatível com a necessidade de interrompê-lo (conforme orientações padronizadas e vigoradas por normas de realização segura deste exame).

O voluntário foi posicionado em decúbito dorsal horizontal em uma maca reclinável e monitorado com os eletrodos para registro do ECG, com o manguito de pressão arterial digital para registro das curvas de pressão no membro superior esquerdo.

Realizou a medida da pressão arterial, com esfigmomanômetro no braço esquerdo para ajuste do FINOMETER. Iniciou o registro das variáveis hemodinâmicas em repouso com o indivíduo respirando espontaneamente (denominado momento BASAL), com a duração de 10 minutos (Figura 6).

Figura 6 - Registro no momento basal

A seguir, a maca era inclinada a 60 graus e o voluntário permanecia nessa posição por 6 minutos (momento do “*tilt test*”). Essa fase era interrompida caso o voluntário apresentasse qualquer tipo de desconforto ou sinais e sintomas de baixo débito cardíaco, bradiarritmias ou mesmo queda dos níveis de pressão arterial que justificassem a interrupção do exame (Figura7).

Após este momento, retornava-se a maca à posição de decúbito dorsal horizontal.

Figura 7 – Registro no momento do “tilt test”

3.4 ANÁLISE DA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA DO INTERVALO (RR) E DA PRESSÃO ARTERIAL (PA)

3.4.1 VARIABILIDADE NO DOMÍNIO DA FREQUÊNCIA (ANÁLISE ESPECTRAL)

Inicialmente se realiza a edição manual dos sinais, através da detecção dos eventos sistólicos no ECG para a análise da frequência dos sinais.

Em seguida, cada batimento cardíaco foi identificado através da utilização de algoritmo especialmente implementado (método de Welch) através do programa Matlab^{MT}, que realizou a detecção automática dos eventos sistólicos da onda de pressão.

A faixa de frequências de interesse para análise espectral no homem encontra-se no intervalo que vai de 0 até em torno de 3Hz. A potência espectral será integrada em três faixas de frequência de interesse:

- frequências altas (HF): entre 0,4 e 0,15 Hz – Parassimpático
- frequências baixas (LF): entre 0,15-0,04 Hz – Simpático
- frequências muito baixas (VLF): menores que 0,04 Hz.
- balanço autonômico: LF/HF

Para análise do sinal de PA, batimento a batimento, foram considerados os eventos sistólicos. O intervalo de pulso (IP) foi estimado pelo intervalo entre sístoles consecutivas. Após inspeção visual de todas as séries obtidas, fez-se a regularização da periodicidade por interpolação

spline cúbica ($f_s=250$ Hz) e, após isto, a redução do número de pontos por decimação (18 vezes).

3.4.2. VARIABILIDADE NO DOMÍNIO DO TEMPO

As séries temporais obtidas pela pressão arterial sistólica (PAS), pressão diastólica (PAD) e IP foram analisadas no domínio do tempo pela média e desvio padrão. As variabilidades dos sinais foram apresentadas pelo desvio padrão.

A análise dos sinais foi realizada respeitando cada momento do protocolo:

Momento Basal: inicialmente foram excluídos os três primeiros minutos do sinal, a fim de se aguardar a estabilização do sinal e então analisá-lo durante cinco minutos de registro contínuo;

Momento do “*tilt test*”: após a inclinação da maca, desprezamos o primeiro minutos do registro, a fim de se aguardar a estabilização do sinal e então, foram analisados os próximos cinco minutos consecutivos, de maneira contínua.

O resultado da análise espectral, como já referido, foi analisado através dos componentes de alta frequência (HF), baixa frequência (LF), relação LF/HF e variância do intervalo (RR); e sua relação (comparação) com as diferentes fases do protocolo (basal e “*tilt test*”).

Nesta pesquisa, não nos interessou o componente de frequência muito baixa (VLF).

Os componentes da variabilidade do RR no domínio da frequência foram analisados na sua forma normalizada (nu), ou seja:

$$\text{LF nu} = \text{potência de LF} / (\text{potência total ms}^2 - \text{VLF}) \times 100$$

$$\text{HF nu} = \text{potência de HF} / (\text{potência total ms}^2 - \text{VLF}) \times 100$$

$$\text{LF/HF} = \text{relação LF ms}^2 / \text{HF ms}^2$$

O componente do RR no domínio do tempo foi analisado através da variância em média do intervalo (RR).

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados aplicando-se o teste de Kolmogorov-Smirnov nas variáveis quantitativas para avaliar descritivamente a distribuição normal.

Estas variáveis foram apresentadas descritivamente em tabelas e gráficos contendo média e desvio padrão.

Utilizamos o teste t-Student para amostras pareadas nas avaliações em dois momentos. Também utilizamos o teste t-Student no delta percentual para avaliação das diferenças no momento basal e “*tilt test*”.

Realizamos análise de medidas repetidas por ANOVA nas curvas dose-resposta mediante regressão linear múltipla.

Para cada variável, consideramos o valores de $p < 0,05$ como sendo significativo .

4. RESULTADOS

Inicialmente foram recrutados 18 voluntários saudáveis para a avaliação inicial e os exames prévios (polissonografia e coleta de sangue). Entretanto, dois indivíduos foram excluídos por apresentarem um índice de apnéia obstrutiva do sono maior que 5, detectada através da polissonografia. Posteriormente, três indivíduos foram excluídos do estudo, pois ultrapassaram o tempo de horas de sono permitido no período de privação parcial, permanecendo 13 indivíduos (Figura 8).

Figura 8 - Diagrama dos indivíduos que permaneceram no protocolo

A amostra deste estudo foi composta por 13 indivíduos do sexo masculino, sendo 6 do período de sono controle/privação e 7 do período de sono privação/controle, com idade entre 31 ± 2 anos, com IMC de $23,7 \pm 0,8$ Kg/m², IAH de $2,3 \pm 0,8$ eventos/hora, PAS de 109 ± 9 mmHg, PAD de 62 ± 5 mmHg, onde demonstramos abaixo juntamente com os valores bioquímicos (Tabela 1).

Tabela 1 - Características demográficas da população estudada

Variáveis	Valores (média $\pm$ desvio-padrão)
Idade (anos)	31 ± 2
IMC (Kg/m ²)	$23,7 \pm 0,8$
IAH (eventos/hora)	$2,3 \pm 0,8$
PAS (mmHg)	109 ± 9
PAD (mmHg)	62 ± 5
Colesterol total (mg/dl)	161 ± 19
HDL-C (mg/dl)	41 ± 3
LDL-C (mg/dl)	90 ± 7
Glicose	80 ± 9

4.1. CARACTERÍSTICAS DO SONO

4.1.1. ESCALA DE SONOLÊNCIA DE EPWORTH (ESE)

Os resultados obtidos da ESE no final do período de sono controle, foram de 3 ± 1 . Já no período de privação parcial, o valor desta escala foi de

6 ± 1 . Demonstrando uma mudança estatística significativa entre os dois períodos ($p < 0,001$).

4.1.2 TEMPO DE SONO

Em relação ao tempo de sono, que foi obtido através dos registros actigráficos (actograma) e do diário de sono, os indivíduos dormiram no período de sono controle $8,0 \pm 0,5$ horas de sono. Durante o período de privação parcial do sono os indivíduos dormiram $4,5 \pm 0,3$ horas de sono (Figura 9), representando uma diferença estatisticamente significativa entre as horas de sono comparando-se os dois períodos ($p < 0,003$).

Figura 9 – Tempo de sono (em horas) no período de sono controle e no período de privação parcial

Para realizar as análises com os dados do sono foram construídas figuras pelo programa AW2, conhecidas como actogramas.

Um exemplo do actograma de um indivíduo durante o período de sono controle está representado nas Figuras 10 e 11.

Figura 10 - Actograma não laudado (5 noites no período de sono controle)

Na figura 10 pode-se observar o actograma não laudado no período de sono controle. Cada linha corresponde ao período de 0:00 às 24:00 horas. A faixa em verde significa a atividade do indivíduo.

Figura 11 - Actograma laudado (5 noites no período de sono controle)

Na figura 11, pode-se observar os dias de acompanhamento do ciclo vigília sono. Cada linha corresponde ao período 0:00 às 24:00 horas. Em verde está registrada a atividade do indivíduo e significa o período acordado. O traço vermelho significa sono, em azul estão os períodos sem a utilização do actígrafo.

Um exemplo do actograma do mesmo indivíduo durante o período de privação parcial do sono, está representado nas Figuras 12 e 13.

Figura 12 - Actograma não laudado (5 noites no período de privação parcial)

Na figura 12 pode-se observar o actograma não laudado no período de privação parcial. Cada linha corresponde ao período de 0:00 às 24:00 horas. O traço em verde significa atividade.

Figura 13 - Actograma laudado (5 noites no período de privação parcial)

Na figura 13, pode-se observar os dias de acompanhamento do ciclo vigília sono. Cada linha corresponde ao período 0:00 às 24:00 horas. Em verde está registrada a atividade do voluntário e significa o período acordado. O traço vermelho significa sono, em azul estão os períodos sem a utilização do actígrafo.

4.2. FUNÇÃO ENDOTELIAL

Os resultados são apresentados quanto às médias de respostas de: venoconstrição (resposta à fenilefrina), venodilatação endotélio dependente (resposta à acetilcolina) e endotélio independente (resposta ao nitroprussiato de sódio) para os períodos de sono controle e de privação parcial do sono, descritos a seguir:

4.2.1. RESPOSTA DE VENOCONSTRIÇÃO INDUZIDA POR FENILEFRINA

A resposta média em porcentagem de venoconstrição à infusão de fenilefrina foi semelhante entre os dois períodos de sono, não havendo diferença estatística significativa $p > 0,05$ (Figura 14).

Figura 14 - Resposta média em porcentagem de venoconstrição a infusão de fenilefrina no período de sono controle e privação

4.2.2. DOSES DE FENILEFRINA PARA CONSTRIÇÃO DE 70%

As doses necessárias à indução da venoconstrição desejada de 70% (VC 70 % em relação a basal) apresentaram valores diferentes no período do sono controle comparado ao período de privação parcial (Figura 15).

Figura 15 - Média das doses para resposta venoconstritora de 70% (VC 70% - venoconstrição de 70 %) no período de sono controle e no período de privação parcial

4.2.3. RESPOSTAS DE VENODILATAÇÃO MÁXIMA E CURVA DOSE-RESPOSTA INDUZIDAS POR ACETILCOLINA

Os voluntários no período de sono controle e privação foram submetidos à avaliação da função endotelial venosa, tendo como ferramenta farmacológica a acetilcolina, para promover a vasodilatação dependente do endotélio.

Analisando as respostas de venodilatação máxima, pudemos demonstrar que todos os indivíduos submetidos à privação parcial do sono apresentaram uma redução estatisticamente significativa desta resposta quando comparados ao período de sono controle (Figura 16).

ENDOTÉLIO - ACETILCOLINA

Figura 16 – Respostas de venodilatação máxima induzida por acetilcolina

Outra forma de avaliar a venodilatação dependente do endotélio é a comparação entre as curvas dose-resposta à acetilcolina.

Os indivíduos no período de privação parcial do sono apresentaram uma menor venodilatação para cada uma das doses utilizadas quando comparada às respostas observadas durante o sono controle (Figura 17).

Figura 17 - Curva dose-resposta da acetilcolina (0,36-3600 ng/min) nos períodos de sono controle e de privação parcial.

4.2.4. RESPOSTA DE VENODILATAÇÃO MÁXIMA INDUZIDA POR NITROPRUSSIATO DE SÓDIO

Todos os voluntários no período de sono controle e de privação foram avaliados quanto à resposta de venodilatação independente do endotélio, tendo como ferramenta farmacológica o nitroprussiato de sódio.

Não foram evidenciadas diferenças significativas entre os períodos de sono controle e privação em relação à venodilatação máxima induzida pelo nitroprussiato de sódio (Figura 18).

ENDOTÉLIO - NITROPRUSSIATO

Figura 18 - Resposta de venodilatação máxima induzida por nitroprussiato de sódio

4.3. VARIÁVEIS HEMODINÂMICAS NOS MOMENTOS: BASAL E “*TILT TEST*” NOS PERÍODOS DE SONO CONTROLE E PRIVAÇÃO PARCIAL DO SONO

4.3.1. NO MOMENTO BASAL

4.3.1.1. COMPARAÇÃO ENTRE O SONO CONTROLE E PRIVAÇÃO

As variáveis hemodinâmicas no momento basal (repouso), apresentaram um comportamento semelhante nos distintos períodos do sono. Não houve diferença significativa entre os períodos do sono controle e de privação parcial (Tabela 2).

Tabela 2 – Valores das variáveis hemodinâmicas no momento basal durante os períodos de sono controle e de privação parcial

Variáveis	Sono Controle (n = 13)	Sono Privação (n = 13)	P
FC (bpm)	65 ± 8	65 ± 8	>0,05
PAS (mmHg)	109 ± 9	113 ± 11	>0,05
PAD (mmHg)	62 ± 5	65 ± 7	>0,05
DC (l/min)	6,11 ± 1,2	6,02 ± 1,04	>0,05
RVP (MU)	0,80 ± 0,14	0,88 ± 0,18	>0,05

FC= frequência cardíaca expressa em batimentos por minuto(bpm), PAS = pressão arterial sistólica (mmHg), PAD = pressão arterial diastólica (mmHg), DC = débito cardíaco (l/min), RVP = resistência vascular periférica (MU)

4.3.2. RESPOSTA À MANOBRA DE “TILT TEST”

Todos os indivíduos completaram o tempo de 6 minutos da manobra do “*tilt test*” sem apresentar sinais ou sintomas para sua interrupção. Os valores hemodinâmicos da PAS, PAD, FC, DC e RVP apresentados na manobra foram os esperados, como o aumento da FC e diminuição da PAS, e estão descritos na Tabela 3, comparando os dois momentos: basal vs “*tilt test*” no período de sono controle.

Tabela 3 - Valores das variáveis hemodinâmicas comparando o momento basal vs “*tilt test*” durante o período de sono controle

Variáveis	Basal	<i>Tilt test</i>	P
PAS (mmHg)	109 ± 9	105 ± 12,6	<0,05 *
PAD (mmHg)	62 ± 5	62 ± 6,6	>0,05
FC (bpm)	65 ± 8	83 ± 12,7	<0,001 *
DC (l/min)	6,11 ± 1,2	6,03 ± 1	>0,05
RVP (MU)	0,80 ± 0,14	0,79 ± 0,1	>0,05

FC= frequência cardíaca expressa em batimentos por minuto(bpm), PAS = pressão arterial sistólica (mmHg), PAD = pressão arterial diastólica (mmHg), DC = débito cardíaco (l/min), RVP = resistência vascular periférica (MU)

* p<0,05 basal vs tilt test

No período de privação parcial do sono, todos os indivíduos também completaram o tempo de 6 minutos da manobra do “*tilt test*” sem apresentarem sinais ou sintomas para interrupção do mesmo. No período privação de sono, observamos também uma resposta de diminuição da PAS e do aumento da FC, (Tabela 4), porém, as alterações mostraram-se exacerbadas comparadas ao período de sono controle.

Tabela 4 - Valores das variáveis hemodinâmicas comparando basal vs “*tilt test*” durante o período de sono privação

Variáveis	Basal	<i>Tilt test</i>	P
PAS (mmHg)	113 ± 10,6	103 ± 12	<0,001 *
PAD (mmHg)	65 ± 7	62 ± 8	>0,05
FC (bpm)	65 ± 8	82 ± 7	<0,001 *
DC (l/min)	6,02 ± 1	5,9 ± 1	>0,05
RVP (MU)	0,88 ± 0,2	0,8 ± 0,1	>0,05

FC= frequência cardíaca expressa em batimentos por minuto(bpm), PAS = pressão arterial sistólica (mmHg), PAD = pressão arterial diastólica (mmHg), DC = débito cardíaco (l/min), RVP = resistência vascular periférica (MU)

* p<0,05 basal vs “*tilt test*”

Analizados os valores percentuais do Delta (basal vs “*tilt test*”) nos períodos de sono controle e privação parcial de sono, encontramos uma diferença estatística significativa ($p < 0,05$) no valor do Δ PAS e nas demais variáveis o mesmo não foi observado (Tabela 5).

Tabela 5 – Valores de Delta percentuais (basal vs tilt test) nos períodos de sono controle e privação parcial

Variáveis	Sono controle	Sono privação	p
Δ PAS (mmHg)	$-3,96 \pm 6,3$	$-9,31 \pm 6,76$	$<0,05^*$
Δ PAD (mmHg)	$0,09 \pm 5,27$	$-3,68 \pm 8,5$	$>0,05$
Δ FC (bpm)	$18,2 \pm 9,2$	$17,04 \pm 6,5$	$>0,05$
Δ DC (l/min)	$-0,08 \pm 0,55$	$-0,15 \pm 0,56$	$>0,05$
Δ RVP (MU)	$-0,02 \pm 0,08$	$-0,08 \pm 0,21$	$>0,05$

Δ =delta

* vs sono controle

4.4. ANÁLISE DA MODULAÇÃO AUTONÔMICA PARA O CORAÇÃO

4.4.1. NO MOMENTO BASAL (REPOUSO)

4.4.1.1. COMPARAÇÃO ENTRE O SONO CONTROLE E PRIVAÇÃO

A privação parcial do sono foi associada a uma diminuição da variabilidade da FC (Tabela 6), em repouso (Figura 19A). A estimativa do balanço autonômico proveniente da variabilidade da FC mostrou que o período de privação parcial do sono, também foi associado a um aumento significativo da relação de LF/HF (Figura 19B), da banda de LF (Figura 19C) e um decréscimo significativo na banda de HF (Figura 19D).

Tabela 6 – Valores basais das variáveis da VFC nos períodos de sono controle e privação parcial

Variáveis	Sono controle	Sono privação	p
SD (ms)	65,7 ± 21,7	55,5 ± 15,9	>0,05
%LF	50,3 ± 14,5	58,6 ± 8,3	<0,05 *
%HF	49,7 ± 14,5	41,4 ± 8,3	<0,05 *
LF/HF	1,17 ± 0,61	1,51 ± 0,56	<0,05 *

* p<0,05 sono controle vs sono privação

Figura 19 - Valores da variabilidade da FC nos períodos de sono controle e de privação na condição basal. Em repouso, diminuição do desvio padrão da FC (Figura 19A), aumento da relação de LF/HF (Figura 19B), aumento na banda de %LF (Figura 19C), e um decréscimo na banda de %HF (Figura 19D)

4.5. ANÁLISE DA MODULAÇÃO AUTONÔMICA PARA O VASO

Com relação à variabilidade da PA, a média e o desvio padrão foram de $6,10 \pm 1,2$ e $6,07 \pm 1,3$ (Figura 20A) após períodos de controle e privação parcial do sono, respectivamente, obtendo $p=0,97$. Por meio da análise espectral da variabilidade da PA demonstrou-se que o componente LF (Figura 20B) aumentou significativamente com a privação de sono, atingindo valores respectivamente de $6,42 \pm 1,83$ e $11,49 \pm 2,7$ para período controle e privação do sono, obtendo $p < 0,001$. Diminuição do alfa LF $13,7 \pm 4,7$ e $10,5 \pm 4,9$, para período de sono controle e privação respectivamente, obtendo um $p > 0,05$. (Figura 20C).

Figura 20 - Valores da variabilidade da PA nos períodos de sono controle e de privação parcial durante o momento basal.

4.6 "TILT TEST"

- **Variabilidade da Frequência cardíaca**

Os dados da manobra de "*tilt test*", comparando o sono controle com o período de privação parcial estão descritos a seguir na tabela 7 e representados na figura 21.

Tabela 7 - Valores de Delta percentual da Frequência cardíaca (basal vs *tilt test*) nos períodos de sono controle e privação parcial

Variáveis	Sono controle	Sono privação	p
Δ SD (ms)	$-12,98 \pm 6,4$	$-1,8 \pm 5,7$	$>0,05$
$\Delta\%$ LF	$28,30 \pm 3,8$	$20,16 \pm 2,2$	$>0,05$
$\Delta\%$ HF	$-28,30 \pm 3,8$	$-20,16 \pm 2,2$	$>0,05$
Δ LF/HF	$3,52 \pm 0,8$	$2,74 \pm 0,4$	$>0,05$

Δ =delta

Figura 21 – Análise do delta ("*tilt test*" vs basal) após o período controle e privação parcial do sono.

• Variabilidade da PA

No entanto, a queda na pressão arterial sistólica foi mais pronunciada após o período de privação parcial do sono do que após o período de sono controle. Não houve diferença no desvio padrão da PA (Figura 22A). Além disso, o aumento da variabilidade da PA na banda LF foi significativamente menor após período de privação parcial de sono (Figura 22B). A diminuição de alfa promovido pela “*tilt test*” também foi significativamente menor após período de privação parcial de sono (Figura 22B). As últimas duas observações sugerem que período de privação parcial de sono promoveu incapacidade para aumentar a atividade simpática diante do desafio representado pelo “*tilt test*”.

Os resultados estão representados na tabela 8.

Figura 22 - Análise do delta da PA em relação ao basal vs “*tilt test*”. Aumento da variabilidade da PA na banda LF sendo menor após período de privação parcial de sono (Figura 22B), a diminuição de alfa promovido pelo “*tilt test*” após período de privação parcial de sono (Figura 22C)

Tabela 8 - Valores de Delta percentual da Pressão Arterial (basal vs tilt test) nos períodos de sono controle e privação parcial

Variáveis	Sono controle	Sono privação	p
Δ SD (ms)	$0,80 \pm 1,80$	$0,58 \pm 2,08$	$>0,05$
Δ LF	$15,98 \pm 10,37$	$4,53 \pm 5,83$	$<0,001^*$
Δ ALFA LF	$-6,80 \pm 2,50$	$-1,60 \pm 2,23$	$<0,001^*$

 Δ =delta* $p < 0,05$ sono controle vs sono privação

4.7 - Variáveis bioquímicas séricas

As variáveis bioquímicas de glicose, colesterol total e frações (HDL, LDL) não apresentaram diferença significativa ao contrário da norepinefrina (Tabela 9).

Quando comparada ao sono controle, a privação parcial do sono foi associada a um aumento estatisticamente significativo dos níveis plasmáticos de norepinefrina (Figura 23).

Tabela 9 - Características bioquímicas nos períodos do sono controle e sono privação

Variáveis	Sono Controle (n = 13)	Sono Privação (n = 13)	P
Glicose (mg/dl)	78 ± 10	81 ± 11	$>0,05$
Colesterol total (mg/dl)	162 ± 20	160 ± 22	$>0,05$
HDL-C (mg/dl)	42 ± 2	43 ± 3	$>0,05$
LDL-C (mg/dl)	92 ± 7	93 ± 6	$>0,05$
Norepinefrina (pg/ml)	119 ± 46	162 ± 58	$<0,01^*$

* vs sono controle

* $p < 0,01$

Figura 23 - Valores de norepinefrina (pg/ml) dos períodos de sono controle e sono privação

5. DISCUSSÃO

5.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

O presente estudo avaliou os efeitos cardiovasculares da restrição do sono, freqüentemente vivida em nossa sociedade.

Os resultados trouxeram elementos que podem ser utilizados para compreender as observações dos estudos epidemiológicos, que têm ligado privação parcial de sono a um aumento do risco de doença cardiovascular.

Neste estudo, a privação parcial do sono causou mudanças significativas em dois importantes mecanismos de regulação da função cardiovascular, que seguramente, têm impacto em mecanismos fisiopatológicos relacionados ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares: disfunção do endotélio, aumento da atividade do sistema nervoso simpático em repouso e alteração no controle autonômico reflexo.

No estudo constata-se que a privação de sono acarreta uma redução da venodilatação máxima e uma redução da curva dose-resposta induzida por acetilcolina indicando uma disfunção do endotélio venoso. Verifica-se maior variabilidade da freqüência cardíaca e da pressão arterial na banda de baixa freqüência em repouso; sugerindo um aumento do tônus simpático para o coração e para a periferia. Observa-se menor capacidade de ajustes

hemodinâmicos durante manobra postural do “*tilt test*” com maior queda da PA, e também, alteração na modulação autonômica para o coração.

A seguir faz-se uma discussão em tópicos, pautada nos principais pontos de nosso estudo.

5.1.1. PROTOCOLO EXPERIMENTAL

A privação parcial de sono é muito comum em nossa sociedade. Estudos epidemiológicos têm sugerido de forma sistemática que indivíduos que dormem menos que 5 horas/dia, tem risco aumentado de desenvolver doença cardiovascular^{17,23}.

A maior parte dos estudos fisiológicos disponíveis na literatura enfoca os efeitos da privação total do sono. Esta promove diferentes reações nas funções cognitivas e fisiológicas, tais como: aumento de sonolência, mudanças no humor, fadiga, irritabilidade, dificuldade de concentração, desorientação, prejuízos na função imune e na atividade autonômica¹⁶⁻²⁰.

Os efeitos da privação parcial de sono foram bem menos estudados do que a privação total. Um dos principais motivos é provavelmente a grande dificuldade experimental. Um estudo citado nessa área específica utilizou um modelo laboratorial, onde os participantes permaneceram no laboratório por 16 noites consecutivas³¹. Esse é um modelo de isolamento com importante ruptura das rotinas dos indivíduos estudados. Outros estudos avaliaram indivíduos sob estresse, por exemplo, antes de provas escolares, onde

existia uma soma de fatores, tornando-se, portanto, impossível isolar os efeitos da privação do sono ¹¹⁹.

Em contraste aos estudos anteriores, o modelo experimental que utilizamos é o que mais se aproxima da realidade comumente vivida em grandes centros urbanos.

Os nossos participantes permaneceram em suas rotinas da vida diária, mantendo seus estilos de vida e hábitos. A utilização simultânea dos dois instrumentos: diários de sono e actígrafo permitiram a obtenção de informações sobre o padrão do ciclo vigília-sono (CVS), como os horários de início e término dos episódios de sono.

Nesse contexto, comparado ao período controle com média de 8,0 horas de sono por 5 noites e com 4,5 horas de sono também por 5 noites, a privação parcial do sono foi aparentemente bem tolerada, embora tenha apresentado alterações nas respostas do questionário de sonolência de Epworth. Cabe destacar que esta não representou sonolência excessiva diurna, uma vez que só é considerada quando o valor da ESE for maior do que 10.

Esses dados reforçam o conceito de que o protocolo é bastante relevante e reflete a realidade de um grande número de indivíduos em centros urbanos, que dormem muito pouco durante os dias da semana e aumentam o tempo de sono nos finais de semana.

A amostra utilizada constou de indivíduos em faixa etária restrita, entre 21 e 40 anos, com o intuito de que as alterações geradas pelo processo de envelhecimento pudessem ser evitadas.

Estudos indicam que a idade afeta significativamente a função endotelial, de forma mais evidente, a partir dos 40 anos, sendo que este processo foi observado no leito arterial¹²⁰.

Com relação ao sexo, estudos sugerem que mulheres têm maior variabilidade na função endotelial do que homens¹²¹ Williams et al.¹²² demonstraram alterações das respostas quanto à vasodilatação arterial durante o ciclo menstrual, redução após a ovulação e aumento durante a fase lútea. Junto a outros estudos Boger et al.¹²³ demonstraram que até mesmo o uso de contraceptivos pode alterar a reatividade dos vasos de mulheres jovens, por isso, optamos apenas por voluntários do sexo masculino.

5.1.2. ENDOTÉLIO VENOSO

O endotélio desempenha um papel fundamental na modulação do tônus vascular por sintetizar e metabolizar substâncias vasoativas, incluindo o óxido nítrico, um potente vasodilator^{40,49,65}. O prejuízo da vasodilatação pode ser medido em artérias e veias pelas mudanças no diâmetro dos vasos como índices na condutibilidade dos vasos e função endotelial. A homogeneidade vascular para efeitos relaxante do NO sobre as artérias e veias foi demonstrada^{57,71,72}.

Do mesmo modo, semelhantes disfunções arteriais e venosas foram relatadas em pacientes com hipertensão⁸² e apnéia obstrutiva do sono⁷⁶. Estudos anteriores sugerem que a privação de sono promove um prejuízo na função endotelial, como foi observado em cardiologistas após 24 horas de plantão na emergência⁷⁴.

Mais recentemente, Takase et al.¹²⁴ encontraram uma diminuição da dilatação mediada pelo fluxo, depois de um período de 4 semanas de exames em estudantes universitários saudáveis do sexo masculino que estavam sob estresse e condições de privação de sono.

No entanto, esses estudos anteriores, não excluíram a apnéia do sono, como sendo uma condição comum que pode alterar a função endotelial e que não foi levada em consideração. Mais importante ainda, os participantes estavam sob estresse significativo, uma bem estabelecida causa da disfunção endotelial⁷³.

No presente estudo, ocorreu uma sensibilização à constrição ao estímulo alfa adrenérgico. As doses de fenilefrina necessárias para desenvolver constrição da veia foram significativamente reduzidas após privação do sono. A observação de aumento de resposta ao estímulo alfa adrenérgico nas veias; foi interpretado, em outro estudo^{114,125}, como maior atividade tônica do simpático para os vasos. No estudo atual, pode-se inferir que a privação do sono também leva ao aumento do tônus simpático para os vasos.

Demonstra-se com nossos resultados que privação parcial do sono está associada a uma redução significativa da venodilatação máxima induzida por acetilcolina, quando comparada ao período de sono controle, o que revela um prejuízo da venodilatação dependente de endotélio. Desta forma, sugerimos haver uma diminuição na biodisponibilidade do NO, no período de privação. Isto corrobora as respostas encontradas na curva dose-resposta de acetilcolina, onde observamos uma diminuição significativa na média das respostas de venodilatação em cada dose de acetilcolina, no período de privação, quando comparados ao período controle.

Este achado no leito venoso está de acordo com estudos realizados no leito arterial onde indivíduos, após privação total do sono, também demonstraram um prejuízo na função edotelial ^{74,126}.

A vasodilatação máxima, independente do endotélio, induzida pela infusão de nitroprussiato de sódio, doador direto de óxido nítrico para a musculatura lisa vascular, não se modificou quando comparado o período de sono controle e de privação parcial, demonstra-se que a resposta do músculo liso vascular não está prejudicada na privação parcial do sono.

5.1.3 VARIÁVEIS HEMODINÂMICAS

Considerando que o sono ocupa mais de 30% do tempo de nossas vidas, a contribuição do sono e a restrição dele no sistema cardiovascular tem sido inadequadamente estudado.

A privação total do sono por uma noite foi mais estudada e provoca aumento da frequência cardíaca (FC) de repouso e da pressão arterial (PA), com vários efeitos sobre a atividade simpática^{11,19,21}. Em contrapartida, existem poucos estudos avaliando os efeitos cardiovasculares da privação parcial do sono.

No nosso estudo a FC e a PA na condição basal não alteraram significativamente após a privação parcial do sono, sugerindo que essas variáveis foram adequadamente mantidas pelo sistema de controle. Dados semelhantes na literatura foram encontrados em relação à manutenção dos valores da FC²⁰ após privação total do sono.

Meier-Ewert¹²⁷ demonstram mudanças na PA na condição basal após privação parcial do sono. No entanto, os autores empregaram um agressivo protocolo de privação parcial do sono em 10 noites em oposição a cinco noites em nosso estudo. Este fato sugere que os efeitos deletérios são proporcionais e adicionais à exposição prolongada e repetitiva da privação do sono.

A variabilidade cardiovascular depende de uma complexa interação entre as variáveis hemodinâmicas, humorais e eletrofisiológicas, integradas por um sofisticado sistema que faz o controle entre as atividades do sistema nervoso autônomo e o sistema nervoso central⁹³.

A atividade simpática, estimada pela variabilidade da FC na condição basal, mostrou que a privação parcial do sono causou um claro aumento da atividade simpática e diminuição da atividade parassimpática, evidenciados

através de um aumento na porcentagem de LF, ou seja, aumento da atividade simpática, uma diminuição da porcentagem de HF, ou seja, diminuição da atividade parassimpática e um aumento na porcentagem de LF / HF, que reflete o balanço simpato-vagal.

Além da variabilidade da FC, a PA também foi monitorada e mostrou um aumento do componente LF da pressão arterial na condição basal que reflete um aumento da atividade simpática. Os resultados obtidos da variabilidade da FC e PA são também consistentes com o achado de aumento da catecolamina plasmática (norepinefrina) em repouso após privação de sono.

Estudos que abordaram privação total do sono por períodos variáveis de noites, também demonstraram resultados semelhantes aos nossos dados, como aumento na atividade simpática cardíaca (LF) e diminuição da parassimpática (HF)¹²⁸.

Takase et al ¹¹⁹ observaram em privação parcial de sono, aumento significativo dos níveis plasmáticos de catecolaminas, corroborando os nossos resultados. Nestes estudos, foi impossível a separação do componente de estresse associado às situações do protocolo, e de seu impacto nas avaliações do sistema nervoso simpático. O destaque do presente trabalho é que estudou jovens normais, livre de co-morbidades, que estavam envolvidos em sua rotina com um modelo relativamente ameno de privação de sono, que foi cuidadosamente monitorizado. O nosso protocolo, portanto, mimetiza os efeitos da redução do sono freqüentemente vivido em nossa sociedade.

No presente estudo, estendeu-se as observações abordadas em outros, pois, além de se avaliar os indivíduos na situação de repouso, foram analisadas as respostas cardiovasculares e autonômicas diante do estresse representado pela manobra postural (*“tilt test”*).

Como esperado, a manobra postural, ou *“tilt test”*, promoveu aumento da atividade simpática, demonstrado por aumento na FC e no componente LF da variabilidade da FC com simultânea diminuição do componente HF da variabilidade da FC. No entanto, esta resposta frente à manobra de *tilt test* foi menor após a restrição do sono. Esta manobra também resultou em queda estatisticamente significativa mais acentuada da PA após a privação de sono. Esses dados demonstram uma importante alteração do controle reflexo da PA frente à uma situação de estresse considerada “fisiológica”, que é a mudança postural.

O impacto negativo sobre o sistema cardiovascular em longo prazo, decorrente do prejuízo do controle reflexo pode ser, portanto, inferido. De uma forma global, os dados sugerem que a privação de sono promove uma disautonomia reflexa em repouso e durante estresse postural. No entanto, o presente estudo não foi desenhado para estudar o mecanismo exato envolvido nesse descontrole.

5.2. LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Este estudo teve algumas limitações. Primeiro, só estudou jovens do sexo masculino, sem co-morbididades e, por conseguinte, os resultados devem ser extrapolados com cautela para outras populações. Em segundo lugar, os efeitos da privação parcial de sono só foram investigados no endotélio venoso.

Apesar dos indícios de semelhanças, estes resultados devem ser extrapolados com cautela ao leito arterial.

Neste, o sono foi monitorado através de actigrafia e diário de sono. Não se realizou confirmação polissonográfica do tempo total de sono. No entanto, este experimento permitiu uma simulação mais próxima da realidade experimentada por muitos indivíduos de nossa sociedade.

5.3 IMPLICAÇÕES CLÍNICAS

Conforme discutido anteriormente, existe evidência de que a privação parcial de sono é endêmica em nossa sociedade. Este estudo vai além de mostrar associações epidemiológicas. Através de um estudo controlado, mostramos que a privação parcial do sono promove alterações significativas no controle autonômico e disfunção endotelial.

Os resultados deste estudo, portanto, apontam para possíveis mecanismos para explicar a alta prevalência de doenças cardiovasculares em indivíduos que dormem menos do que 5 horas por noite.

6. CONCLUSÃO

Concluindo, o estudo demonstrou que uma aparente redução benigna do sono por 5 noites, tão comumente observada em nossa sociedade, foi suficiente para causar aumento significativo da disfunção endotelial venosa, observada pela diminuição da venodilatação endotélio dependente, e da atividade simpática.

Pudemos observar um prejuízo do controle da variabilidade da pressão arterial em repouso e sob efeito da manobra de "*tilt test*".

Observamos ainda, um aumento nos níveis de norepinefrina no plasma com a privação parcial do sono.

No seu conjunto, os resultados encontrados por nós, podem ajudar a explicar o aumento da mortalidade cardiovascular, associado a restrição do sono anteriormente relatados em estudos epidemiológicos.

7. ANEXOS

ANEXO A

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME DO PACIENTE:

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO: M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO: Nº:

APTO.: BAIRRO: CIDADE:

CEP: TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL:

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador, etc.):

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO: M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO: Nº:

APTO.: BAIRRO: CIDADE:

CEP: TELEFONE: DDD (.....)

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA:

PESQUISADOR:

CARGO/FUNÇÃO:

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº:

UNIDADE DO HCFMUSP:

AValiação DO RISCO DA PESQUISA:

SEM RISCO ☐

RISCO MÍNIMO X

RISCO MÉDIO ☐

RISCO BAIXO ☐

RISCO MAIOR ☐

(probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

DURAÇÃO DA PESQUISA:

III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE
OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA,
CONSIGNANDO:

1. justificativa e os objetivos da pesquisa; 2. procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais; 3. desconfortos e riscos esperados; 4. benefícios que poderão ser obtidos; 5. procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo.

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE
GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA:

1. acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas.
2. liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência.
3. salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade.
4. disponibilidade de assistência no HCFMUSP, por eventuais danos à saúde, decorrentes da pesquisa.
5. viabilidade de indenização por eventuais danos à saúde decorrentes da pesquisa.

V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS
RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA
CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES
ADVERSAS

VI. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES

VII . CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

São Paulo, de de 200 .

assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

assinatura do pesquisador
(carimbo ou nome legível)

INSTRUÇÕES PARA PREENCHIMENTO
(Resolução Conselho Nacional de Saúde 196, de 10 outubro 1996)

1. Este termo conterá o registro das informações que o pesquisador fornecerá ao sujeito da pesquisa, em linguagem clara e acessível, evitando-se vocábulos técnicos não compatíveis com o grau de conhecimento do interlocutor.
2. A avaliação do grau de risco deve ser minuciosa, levando em conta qualquer possibilidade de intervenção e de dano à integridade física do sujeito da pesquisa.
3. O formulário poderá ser preenchido em letra de forma legível, datilografia ou meios eletrônicos.
4. Este termo deverá ser elaborado em duas vias, ficando uma via em poder do paciente ou seu representante legal e outra deverá ser juntada ao prontuário do paciente.
5. A via do Termo de Consentimento Pós-Informação submetida à análise da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa -CAPPesq deverá ser idêntica àquela que será fornecida ao sujeito da pesquisa.

Pesquisadora:

Josilene Lopes Dettoni

Rua: Alves Guimarães 643

Fone: (11) 3891-1873

e-mail: josilene@sercomtel.com.br

Orientador:

GERALDO LORENZI-FILHO

Depto. Pneumologia

Hospital Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Fone: (11)3069-5486/ 30643567

e-mail: geraldlorenzi@incor.usp.br

ANEXO B

DIÁRIO DE SONO

Preencher as informações.

Esta folha corresponde a um dia.

hs	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Acordado																								
Dormindo																								

Hora que foi dormir: _____

hora que acordou: _____

tempo de sono: _____

Actigrafo:

Hora que tirou o actigrafo:	Hora que colocou-o novamente:

Anotações:

Anotações:	Anotações

ANEXO C

ESCALA DE SONOLÊNCIA DE EPWORTH

(Quantifica grau de sonolência)

0 - nenhuma chance de cochilar

1 - pequena chance de cochilar

2 - moderada chance de cochilar

3 - alta chance de cochilar

SITUAÇÃO				
Sentado e lendo	0	1	2	3
Assistindo TV	0	1	2	3
Sentado em lugar público (cinema, igreja, sala de espera)	0	1	2	3
Como passageiro de trem, carro ou ônibus, andando uma hora sem parar	0	1	2	3
Deitando-se para descansar à tarde, quando as circunstâncias permitem	0	1	2	3
Sentado e conversando com alguém	0	1	2	3
Sentado calmamente após o almoço (sem álcool)	0	1	2	3
Dirigindo um carro, enquanto pára por alguns minutos ao pegar um trânsito intenso	0	1	2	3

Resultados: até 10 = normal;

>10 = sonolência excessiva diurna.

ANEXO D

Diluição de fenilefrina

Diluição	Fenilefrina	SORO FISIOL.	ng/ml	ng/min	Sequência de infusão
1a	0.5 ml. frasco	19.5 ml	500000		
2a	0.1 AP + 0.9 S. FISIOL.	19 ml	2500	750	6
JP	0.3 EP + 0.7 S. FISIOL.	9 ml	75	25	1
IP	0.6 EP + 0.4 S. FISIOL.	9 ml	150	50	2
HP	1.2 EP + 0.8 S. FISIOL.	8 ml	300	100	3
GP	2.4 EP + 0.6 S. FISIOL.	7 ml	600	200	4
FP	5 EP	5 ml	1250	416.6	5
DP	0.2 AP + 0.8 S. FISIOL.	19 ml	5000	1666.6	7
CP	0.4 AP + 0.6 S. FISIOL.	19 ml	10000	3333.3	8
BP	1 AP	19 ml	25000	8333.3	9

ANEXO E

Concentração de fenilefrina diluída nas concentrações de acetilcolina e nitroprussiato de sódio para manter o estado de venoconstrição (ED70)

Diluição	ng/ml	ml/diluição	ACh/ml e NPS/ml
JP	75	0.25 EP	7 ml
IP	150	0.5 EP	7
HP	300	1.0 EP	7
INTERM	450	1.5 EP	7
GP	600	1.0 DP	7
INTERM	925	1.5 DP	7
FP	1250	1.0 CP	7
INTERM	1850	1.5 CP	7
EP	2500	0.8 BP	7
INTERM	3750	1.2 BP	7
DP	5000	1.6 BP	7
INTERM	7500	2.4 BP	7
CP	10000	3.2 BP	7
INTERM	18750	0.3 AP	7
BP	25000	0.4 AP	7

ANEXO F

Doses de acetilcolina utilizadas no protocolo de complacência de uma veia do dorso da mão.

Acetilcolina Frasco 3 mg

	Stock	Soro fisiol.	ng/ml	ng/min	Seqüência infusão
MAE	3mg	10	300.000		
ACH A	0.4 ml /mãe + 0.6 ml S. Fisiol..	9	12.000	3600	7
ACH B	0.2 ml/mãe + 0.8 ml S. Fisiol.	9	6.000	1800	6
ACH C	2.0 ml A	8	2.400	720	5
ACH D	2.0 ml B	8	1.200	360	4
ACH E	0.2 ml B + 0.8 ml S. Fisiol.	9	120	36	3
ACH F	1.0 ml E	9	12	3.6	2
ACH G	1.0 ml F	9	1.2	0.36	1

ANEXO G

Doses de nitroprussiato de sódio utilizadas no protocolo de complacência de uma veia do dorso da mão .

NITROPRUSSIATO DE SÓDIO
FRASCO 100 mg

	Stock	Soro fisiol.	ng/ml	ng/min	Sequência infusão
MÃE	100 mg	4 ml	25mg/ml		
NPSA	0.1 ml/ mãe + 0.9 S.GLIC.	19	125000	39625	
NPSB	1 ml/ A	19	6250	1981.2	
NPSC	0.5 ml/ A + 0.5 S. GLIC.	19	3125	990.6	3
NPSD	0.25 ml/ A + 0.75 S.GLIC.	19	1562.5	495.3	2
NPSE	2 ml / D	18	156.2	49.5	1

8. REFERÊNCIAS

- 1 Waeckerle JF. Circadian rhythm, shiftwork, and emergency physicians. *Ann Emerg Med* 1994;24(5):959-62.
- 2 Gaspar S, Moreno C, Menna-Barreto L. Os plantões médicos, o sono e a ritmicidade biológica. *Rev Ass Méd Brasil*. 1998;44(3):239-45.
- 3 Guo YF, Stein PK. Circadian rhythm in the cardiovascular system: Chronocardiology. *Am Heart J* .2003;145:779-86.
- 4 Valck E, Cluydts R. Slow-release caffeine as a countermeasure to driver sleepiness induced by partial sleep deprivation. *J.Sleep Res*. 2001; 10:203-209.
- 5 Drummond SPA, Brown G.. The effects of total sleep deprivation on cerebral responses to cognitive performance. *Neuropsychopharmacology* 2001;25(5)68-73.
- 6 Terman LM, Hocking A. The sleep of school children: its distribution according to age and its relation to physical and mental efficiency. *J Educ Psychol*.1913;4:138-147.
- 7 Dales RJ. Afternoon sleep in a group of nursery-school children. *J Genet Psychol*. 1941;58:161-180.

-
- 8 Boberly A. *Secrets of Sleep*, Basic Books, New York, USA, 1986.
 - 9 Manaceine M. Quelques observations experimentales sur l'influence de l'insomnie absolue. *Arch Ital Biol.* 1894;21:322-325.
 - 10 Patrick GTW, Gilbert JA. On the effect of loss of sleep. *Psychol Rev.* 1896;3:469-483.
 - 11 Murphy K, Delanty N. Sleep deprivation: A Clinical Perspective. *Sleep and Biological Rhythms.* 2007; 5: 2-14.
 - 12 Carskadon MA, Dement WC. Normal human sleep-an overview. In: Kryger M, Roth T, Dement WC, eds. *Principle and practice of sleep medicine*. Philadelphia: Sanders; 2000. p.15-25.
 - 13 Rechtschaffen A, Bergmann BM, Everson CA, Kushida CA, Gilliland MA. Sleep deprivation in the rat: X. Integration and discussion of the findings, 1989. *Sleep.* 2002;25:68-87.
 - 14 National Sleep Foundation. *National Sleep Foundation Sleep Survey*. Washington, DC: National Sleep Foundation; 2001.
 - 15 National Sleep Foundation. *National Sleep Foundation Sleep Survey*. Washington, DC: National Sleep Foundation; 2004.
 - 16 Kuhs H, Tolle R. Sleep deprivation therapy. *Biol Psychiatry.* 1991;29:1129-1148.

-
- 17 Ayas NT, White DP, Manson J, Stampfer MJ, Speizer FE, Malhotra A, Frank B. A prospective study of sleep duration and coronary heart disease in women. *Arch Intern Med.* 2003;163(2):205-207.
 - 18 Fiorica V, Higgins EA, Iampiero PF, Latecola MT, Davis AW. Physiological responses of men during sleep deprivation. *Journal of Applied Physiology.* 1968;2(24):167-176.
 - 19 Taskar V, Hirshkowitz M. Health Effects of Sleep Deprivation. *Clin Pulm Med.* 2003;10(1):47-61.
 - 20 Kato M, Phillips BG, Sigurdsson G, Narkiewicz K, Pesek CA, Somers VK. Effects of sleep deprivation on neural circulatory control. *Hypertension.* 2000;35:1173-1175.
 - 21 Wolk R, Gami A S, Touchard A, Somers V. Sleep and cardiovascular disease. *Curr Probl Cardiol.* 2005;30:625-662.
 - 22 Ganwisch JE. et al. Short sleep duration as a risk factor for Hypertension. Analyses of the First National Health and Nutrition Examination Survey. *Hypertension.* 2006;47:1-7.
 - 23 Verdecchia P, Angeli F, Borgioni C, Gattobigio R, Reboldi G. Ambulatory blood pressure and cardiovascular outcome in relation to perceived sleep deprivation. *Hypertension.* 2007;49:1-7.

-
- 24 Lusardi P, Mugellini A. et al. Effects of a restricted sleep on ambulatory blood pressure monitoring in normotensive subjects. *Am J Hypertens*. 1996;9:503-5.
 - 25 Miró E, Cano MC, Buela-Casal G. Effects of total sleep deprivation on cardiovascular parameters: an absence of biologically significant findings? *Journal of Psychophysiology*. 2002;16:119-126.
 - 26 Rozanski A, Blumenthal JA, Kaplan J. Impact of psychological factors on the pathogenesis of cardiovascular disease and implications for therapy. *Circulation*. 1999;99:2192-2217.
 - 27 Hartmann G, Tschop M, Fischer R. et al. High altitude increase circulating interleukin-6, interleukin-1 receptor antagonist and C-reactive protein. *Cytokine*. 2000;12:246-52.
 - 28 Vgontzas AN, Papanicolaou DA, Bixler EO et al. Circadian interleukin-6 secretion and quantity and depth of sleep. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84:2603-7.
 - 29 Ridker PM. High-sensitivity C-reactive protein: potential adjunct for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease. *Circulation*. 2001;103:1813-8.

-
- 30 Daneh J, Whincup P, Walker M. et al. Low grade inflammation and coronary and coronary heart disease: prospective study and updated meta-analyses. *BMJ*. 2000;321:199-204.
 - 31 Spiegel K, Leproult R, Van Cauter E. Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function. *Lancet*. 1999;354:1435-9.
 - 32 Gonzalez-Ortiz M, Martinez-Abundis E. et al. Effect of sleep deprivation on insulin sensitivity and cortisol concentration in healthy subjects. *Diabetes Nutr Metab*. 2000;13:80-3.
 - 33 Scherrer U, Sartori U. Insulin as a vascular and sympathoexcitatory hormone: implications for blood pressure regulation, insulin sensitivity, and cardiovascular morbidity. *Circulation*, 1997;96:4104-14.
 - 34 Vane JR.; Anggård EE.; Botting RM. Mechanisms of disease: regulatory functions of the vascular endothelium. *N Eng J Med* 1990;323:27-36.
 - 35 Luz PL, Laurindo FRM, Chagas ACP. Endotélio e doenças cardiovasculares. São Paulo: Atheneu Editora; 2003. p.17-19.
 - 36 Domonik B, Ganz P. Endothelial function: from vascular biology to clinical applications. *Am J Cardiol*. 2002;90(suppl)40L-48L.
 - 37 Simionescu M, Simionescu N, Palade GE. Segmental differentiations of cell junctions in the vascular endothelium. The microvasculature. *J Cell Biol*. 1975;67:863-85.

-
- 38 Renkin EM. Multiple pathways of capillary permeability. *Circ Res.* 1977;41:735-43.
 - 39 Laurindo FRM LP, Pileggi F. Endotélio:funções normais e papel na aterosclerose. *Socesp Cardiologia Atualização e Reciclagem.* Atheneu Editora; 1994. p.245-254.
 - 40 Luscher TF, Barton M. Biology of the endothelium. *Clin Cardiol.* 1997;20:II-3-10.
 - 41 Moncada S, Higgs EA, Vane JR. Human arterial and venous tissues generate prostacyclin (prostaglandin x), a potent inhibitor of platelet aggregation. *Lancet.* 1977;1:18-20.
 - 42 Gimbrone MA Jr., Alexander RW. Angiotensin II stimulation of prostaglandin production in cultured human vascular endothelium. *Science.* 1975;189:219-20.
 - 43 Jaffe EA, Hoyer LW, Nachman RL. Synthesis of antihemophilic factor antigen by cultured human endothelial cells. *J Clin Invest.* 1973;52:2757-64.
 - 44 WU K. Endothelial prostaglandin and nitric oxide synthesis in atherosclerosis and thrombosis. *J Formos Med Assoc.* 1996;95:661-6.

-
- 45 Mattssen EKT, Vergil S. Gene expression of nitric oxide synthase increases and intimal hyperplasia regress with increased blood flow in baboons. *J Vasc Res.* 1996;33:256.
- 46 Kubes P, Suzuki M, Granger DN. Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88:4651-5.
- 47 De Caterina R, Libby P, Peng HB, Thannickal VJ, Rajavashisth TB, Gimbrone MA, Jr., et al. Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. Nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines. *J Clin Invest.* 1995;96:60-8.
- 48 Walpole PL, Gotlieb AI, Cybulsky MI, Langille BL. Expression of ICAM-1 and VCAM-1 and monocyte adherence in arteries exposed to altered shear stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995;15:2-10.
- 49 Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature.* 1980;288:373-6.
- 50 Irigoyen M, Consolim-Colombo FM, Krieger EM. Controle cardiovascular: regulação reflexa e papel do sistema nervoso simpático. *Rev Bras Hipertens.* 2001;85:55-62.

-
- 51 Ignaro LMF. Nitric oxide: biochemistry, molecular biology, and therapeutic implications. *Advances In Pharmacology*. New York: Academic Press; 1995.
 - 52 Murad F. The 1996 Albert Lasker Medical Research Awards. Signal transduction using nitric oxide and cyclic guanosine monophosphate. *JAMA*. 1996;276:1189-92.
 - 53 Dattilo JB, Makhoul RG. The role of nitric oxide in vascular biology and pathobiology. *Ann Vasc Surg*. 1997;11:307.
 - 54 Zatz R, Baylis C. Chronic nitric oxide inhibition model six years on. *Hypertension*. 1998;32:958-64.
 - 55 Kiely JM, Cybulsky MI, Luscinskas FW, Gimbrone MA, Jr. Immunoselective targeting of an anti-thrombin agent to the surface of cytokine-activated vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995;15:1211-8.
 - 56 Vanhoutte P. Hypercholesterolaemia, atherosclerosis and release of endothelium-derived relaxing factor by aggregating platelets. *Eur Heart J*. 1999;12:25-32.
 - 57 Vanhoutte P. The other endothelium-derived vasoactive factor(s). *Circulation*. 1993;87:v9-v17.
 - 58 Fung HL. Do nitrates differ? *Br J Clin Pharmacol*. 1992;34:5S-9S.

-
- 59 Loscalzo J. Antiplatelet and antithrombotic effects of organic nitrates. *Am J Cardiol.* 1992;70:18B-22B.
- 60 Wu KK, Thiagarajan P. Role of endothelium in thrombosis and hemostasis. *Annu Rev Med.* 1996;47:315-31.
- 61 Mombouli JV, Bissiriou I, Agboton V, Vanhoutte PM. Endothelium-derived hyperpolarizing factor: a key mediator of the vasodilator action of bradykinin. *Immunopharmacology.* 1996;33:46-50.
- 62 Hamberg M, Svensson J, Samuelsson B. Thromboxanes: a new group of biologically active compounds derived from prostaglandin endoperoxides. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1975;72:2994-8.
- 63 Mehta J, Roberts A. Human vascular tissues produce thromboxane as well as prostacyclin. *Am J Physiol.* 1983;244:R839-44.
- 64 Ge T, Hughes H, Junquero DC, Wu KK, Vanhoutte PM, Boulanger CM. Endothelium-dependent contractions are associated with both augmented expression of prostaglandin H synthase-1 and hypersensitivity to prostaglandin H₂ in the SHR aorta. *Circ Res.* 1995;76:1003-10.
- 65 Masaki T. Possible role of endothelin in endothelial regulation of vascular tone. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1995;35:235-55.

-
- 66 Shimizu S, Ishii M, Yamamoto T, Kawanishi T, Momose K, Kuroiwa Y. Bradykinin induces generation of reactive oxygen species in bovine aortic endothelial cells. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*. 1994;84:301-14.
- 67 Rubanyi GM, Vanhoutte PM. Oxygen-derived free radicals, endothelium, and responsiveness of vascular smooth muscle. *Am J Physiol*. 1986;250:H815-21.
- 68 Mombouli JV, Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction: from physiology to therapy. *J Mol Cell Cardiol*. 1999;31:61-74.
- 69 Anderson TJ. Nitric oxide, atherosclerosis and the clinical relevance of endothelial dysfunction. *Heart Fail Rev*. 2003;8:71-86.
- 70 Boulanger CM. Secondary endothelial dysfunction: hypertension and heart failure. *J Mol Cell Cardiol*. 1999;31:39-49.
- 71 Li H, Forstermann U. Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease. *J Pathol*. 2000;190:244-54.
- 72 Moreno HJr, Chalon S. et al . Endothelial dysfunction in human hand is rapidly reversible after smoking cessation. *Am J Physiol*. 1998;275(3 part 2): H1040-1045.

-
- 73 Ghiadoni L, Donald AE, Cropley M, Mullen MJ, Oakley G, Taylor M, Betteridge J, Klein N. Mental stress induces transient endothelial dysfunction in humans. *Circulation*. 2000;102:2473-2478.
- 74 Garcia-Fernandes R, Garcia Perez-Velasco J, Peixoto GA, Garcia-Barreto D. Endothelial dysfunction in cardiologists after 24 hours on call. *Rev Esp Cardiol* 2002;55(11): 1202-1204.
- 75 Kato M, Philips BG, Haynes WG, Winniski M, Accurso V, Somers VK. Impairment of endothelium-dependent vasodilation os resistance vessels in patients with obstructive sleep apnea. *Circulation*. 2000;102(21):2607-2610.
- 76 Ducha HW, Guilleminault C, Stoohs RA, Faul JL, Moreno H, Hoffman BB. Vascular reactivity in obstructive sleep apnea syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000;161:187-191.
- 77 Aellig WH. A new technique for recording compliance of human hand veins. *Br J Clin Pharmacol*. 1981;11:237-243.
- 78 Aellig WH. Clinical pharmacology, physiology and pathophysiology of superficial veins--2. *Br J Clin Pharmacol*. 1994;38:289-305.
- 79 Aellig WH. Clinical pharmacology, physiology and pathophysiology of superficial veins--1. *Br J Clin Pharmacol*. 1994;38:181-96.

-
- 80 Pang CCY. Measurement of body venous tone. J Pharmacol and Toxicol Methods. 2000;44:341-360.
- 81 Alexander RW, Dzau VJ. Vascular Biology - The Past 50 Years. Circulation. 2000;102:IV-112-IV-116.
- 82 Rubira MC, Consolim-Colombo FM. Venous or arterial endothelium evaluation for early cardiovascular dysfunction in hypertensive patients? J Clin Hypertens. 2007;9:(11) 1-8.
- 83 Chalon S, Moreno H Jr., Hoffman BB, Blaschke TF. Angiotensin-converting enzyme inhibition improves venous endothelial dysfunction in chronic smokers. Clin Pharmacol Ther. 1999;65:295-303.
- 84 Tangphao O, Chalon S, Moreno H, Jr., Hoffman BB, Blaschke TF. Pharmacokinetics of L-arginine during chronic administration to patients with hypercholesterolaemia. Clin Sci (Lond). 1999;96:199-207.
- 85 Michelini L. Regulação neuro-humoral da pressão arterial. In: Ayres MM, Fisiologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999. p.473-88.
- 86 Kaplan NM. Primary hypertension: pathogenesis. In: Kaplan NM. Clinical Hypertension. Baltimore: Williams & Wilkins, 1998. p.41-99.
- 87 Gilmore JP, Zucker IH. Reflex control of the nd atrioventricular nodal conduction. Chapter 3. 67-101 Circulation. 1991. Autonomic Nervous System Control of Heart Rate.

-
- 88 Krieger EM, Irigoyen MC, Krieger JE. Fisiopatologia da hipertensão SOCESP. 1999; 9:1-7.
- 89 Yrigoyen MC, Krieger EM. Baroreflex control of sympathetic activity in experimental hypertension. *Braz J Med Biol Res* 1998;31:1213-1220.
- 90 Esler M. The sympathetic nervous system and catecholamine release and plasma clearance in normal blood pressure control, in aging and hypertension. In: Laragh JH, Brenner BM, eds. *Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis and Management*, 2 ed. New York: Raven Press; 1995.
- 91 Yu S-M, Tsai S-Y, Guh J-H e cols. Mechanism of catecholamine induced proliferation of vascular smooth muscle cells. *Circulation*. 1996;94:547-554.
- 92 Di Marco GS, Naffah-Mazzacoratti MD, Mda G, Vio CP, Dos Santos OF, Schor N, Casarini DE. Mesangial cells are able to produce catecholamines in vitro. *J Cell Biochem*. 2003;89(1):144-51.
- 93 Task Force: Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. *Eur Heart J*. 1996;17:354-381.
- 94 Kaplan NM. Measurement of blood pressure. In: Kaplan NM. *Clinical hypertension*. Baltimore: Williams & Wilkins; 1998. p. 25 -55.

-
- 95 Mancia G, Parati G, Hennig M, et al. Ambulatory blood pressure variability and carotid artery damage. *Hypertension*. 2000;36:684.
 - 96 Sander D, Kukla C, Klingelhofer J. et al. Relationship between circadian blood pressure patterns and progression of early carotid atherosclerosis. *Circulation*. 2000; 102:1536-1541.
 - 97 Kikuya M, Hozawa A, Ohokubo T. et al. Porgnostic significance of blood pressure and heart rate variabilities. *Hypertension*. 2000;36:901-906.
 - 98 Wolf MM, Varigos GA, Hunt D, Sloman JG. Sinus arrhythmia in acute myocardial infarction. *Med J Aust*. 1978;2: 52-53.
 - 99 Kleiger RC, Miller JP, Bigger JT, Moss AJ, and the Multicenter Post-Infarction Research acute myocardial infarction. *Am J Cardiol*. 1987;59: 256-262.
 - 100 Malik M, Farrell T, Cripps T, Camm AJ. Heart rate variability in relation to prognosis after myocardial infarction: selection of optimal processing techniques. *Eur Heart J*. 1989;10:1060-1074.
 - 101 Bigger JT, Fleiss JL, Steinman RC, Rolnitzky LM, Kleiger RE, Rottman JN. Frequency domain measures of heart period variability and mortality after myocardial infarction. *Circulation*. 1992; 85:164-171.
 - 102 American Diabetes Association: Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care*. 2005;28:S4-36.

-
- 103 Report of a WHO Consultation on Obesity. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Geneva, World Health Organization, 2000 (WHO Technical Report Series, No. 894).
- 104 National Sleep Foundation. National Sleep Foundation Sleep Survey. Washington, DC: National Sleep Foundation; 2006.
- 105 ASDA (American Sleep Disorders Association) Atlas Task Force – EEG Arousals: Scoring Rules and Examples. *Sleep*. 1992;15(2):174-84.
- 106 Silva RS. Introdução à técnica de polissonografia. *Braz J Epilep Clin Neurophysiol*. 1995;1(1):23-32.
- 107 Redline S, Sanders MH, Lind BK, Quan SF, Iber C, Gottlieb DJ, Bonekat WH, Rapoport DM, Smith PL, Kiley JP. Methods for obtaining and analyzing unattended polysomnography data for a multicenter study. *Sleep*. 1998;21(7):759-67.
- 108 Butkov N. Polysomnography. In: Ashland OR. vol 2. *Synapse Medice*. 1996;63:286-301.
- 109 AASM (American Academy of Sleep Medicine) Task Force – Sleep-Related Breathing Disorders in Adults: Recommendations for Syndrome Definition and Measurement Techniques in Clinical Research. *Sleep*. 1999;22(5):667-89.

-
- 110 Ancoli-Israel S, Cole R, Alessi C, Pollak CP. The role of actigraphy in the study of sleep and circadian rhythms. *Sleep*. 2003;26(3):342-392.
- 111 Standards of Practice Committee A. An American Sleep Disorders Association Report: Practice parameters for use of actigraphy in the clinical assessment of sleep disorders. *Sleep*. 1995;18:285-287.
- 112 Cole RJ, Kripke DF, Gruen W, Gillin JC. Autonomic sleep/wake identification from wrist activity. *Sleep*. 1992;15(5):461-469.
- 113 Sadeh A, Alster J, Urbach D, Lavie P. Actigraphically based autonomic bedtime sleep-wake scoring: validity and clinical applications. *J Ambul Monit*. 1989;2(3):209-216.
- 114 Schindler C, Grossmann M, Kirch W. Reproducibility of dorsal hand vein responses to phenylephrine and prostaglandin f_2 using the dorsal hand vein compliance method. *J Clin Pharmacol*. 2005;43:228-236.
- 115 O'Brien E, Mee F, Atkins N, O'Malley K. Inaccuracy of the random zero sphygmomanometer. *The Lancet*. 1990;336:1465-1468.
- 116 AAMI: American national Standard ANSI/AAMI SP10-1992: Electronic or automated sphygmomanometers. Arlington, VA: Association for the Advancement of Medical Instrumentation; 1993.
- 117 Bos WJW, van Goudoever J, van Montfrans GA, van den Meiracker AH, Wesseling KH. Reconstruction of brachial artery pressure from

- noninvasive finger pressure measurement. *Circulation*. 1996;94:1870-1875.
- 118 Imholz BPM, Wieling W, van Montfrans GA, Wesseling FH: Fifteen years experience with finger arterial pressure monitoring: assessment of the technology. *Cardiovasc Res*. 1998;38:605-616.
- 119 Takase B, Akima T, Satomura K, et al. Effects of chronic sleep deprivation on autonomic activity by examining heart rate variability, plasma catecholamine, and intracellular magnesium levels. *Biomed Pharmacother*. 2004;58(suppl 1):S35-9.
- 120 Taddai S, Virdis A, Ghiadoni L, Versari D, Salvetti A. Endothelium, aging and hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2006;8:84-9.
- 121 Walters WA, Shields L. Venous distensibility during the menstrual cycle. *Br J Obstet Gynaecol*. 1977;84:697-700.
- 122 Willians MR, Westerman RA, Kingwell BA, Komesaroff PA. Variations in endothelial function and arterial compliance during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:5389-95.
- 123 Boger RH, Bode-Boger SM, Thiele W, Frolich JC. Biochemical evidence for impaired nitric oxide synthesis in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Circulation*. 1997;95:2068-74.

-
- 124 Takase B, Akima T, Ohsuzu F, Kurita A. Effects of cronic stress and sleep deprivation on both flow-mediated dilatation in the brachial artery and the intracellular magnesium level in humans. *Clin Cardiol.* 2004;27:223-227.
- 125 Schulte KL, Laber E, Meyer-Sabelle WA, Gotzen R. Specific alpha-adrenoceptor-mediated vasoconstriction in human veins and interaction with the calcium entry bloklers nifedipine and diltiazem. *J Hypertens.* 1985; (Supl): S239-41.
- 126 Amir O, Alroy S, Asmir I, Flugelman MY, Lewis BS. Brachial artery endothelial function in residents and fellows working night shifts. *Am J Cardiol.* 2004;93:947-949.
- 127 Meier-Ewest HK, Ridker PM, Rifai N, Mullington JM. Effect of sleep loss on C-reactive protein, an inflammatory marker of cardiovascular risk. *J Am Coll Cardiol.* 2004;43:678-83.
- 128 Zhong X, Hilton J, Gates GJ, Basner RC. Increased sympathetic and decreased parasympathetic cardiovascular modulation in normal humans with acude sleep deprivation. *J Appl Physiol.* 2005;98:2024-2032.