

ASSOCIAÇÃO DO CORTISOL SALIVAR COM OS COMPONENTES DA SÍNDROME METABÓLICA

Salivary cortisol and metabolic syndrome component's association

Grasiane Izidorio **GARBELLOTTO**¹, Fernanda Jardim **REIS**¹, Ana Maria Pandolfo **FEOLI**¹, Carla Haas **PIOVESAN**¹,
Andréia da Silva **GUSTAVO**¹, Margareth da Silva **OLIVEIRA**¹, Fabrício Edler **MACAGNAN**¹,
Carlos Alexandre Sanchez **FERREIRA**², Moisés Evandro **BAUER**², Cácio Ricardo **WIETZYCOSKI**¹

Como citar este artigo: Garbellotto GI, Reis FJ, Feoli AMP, Piovesan CH, Gustavo AS, Oliveira MS, Macagnan FE, Ferreira CAS, Bauer ME, Wietzycoski CR. Associação do cortisol salivar com os componentes da síndrome metabólica. ABCD Arq Bras Cir Dig. 2018;31(1):e1351. DOI: /10.1590/0102-672020180001e1351

Trabalho realizado na ¹Faculdade de Enfermagem, Nutrição e Fisioterapia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, ² Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular (PPGBCM) da Faculdade de Biociências da PUCRS, Porto Alegre, RS, Brasil

DESCRIPTORIOS - Obesidade. Síndrome metabólica. Hidrocortisona.

Correspondência:

Grasiane Izidorio Garbellotto
Email: grasigar@hotmail.com

Fonte de financiamento: Totalmente financiado pelo CNPq
Conflito de interesse: não há.

Recebido para publicação: 14/11/2017
Aceito para publicação: 23/01/2018

HEADINGS - Obesity. Metabolic syndrome. Hydrocortisone.

RESUMO - Racional: Atualmente o estilo de vida expõe a população a diversos fatores de risco relacionados a hábitos alimentares e à inatividade física, contribuindo para o surgimento de doenças crônicas. **Objetivo:** Analisar a associação entre o cortisol salivar e os componentes da síndrome metabólica. **Métodos:** Estudo transversal com 28 indivíduos, idade entre 30 e 59 anos apresentando três ou mais dos seguintes achados: circunferência abdominal ≥ 88 cm (mulheres) e ≥ 102 cm (homens); pressão arterial sistólica > 130 mmHg e pressão arterial diastólica > 85 mmHg; glicemia > 100 mg/dl; triglicérideo > 150 mg/dl; lipoproteína de alta densidade < 40 mg/dl (homens) e < 50 mg/dl (mulheres). Foram realizadas coletas do cortisol salivar nos seguintes horários 8 h, 12 h e 20 h e analisadas por radioimunoensaio. **Resultados:** A média de idade foi $51,9 \pm 7,5$ anos, 64,3% eram mulheres e a média do índice de massa corporal foi $33,6 \pm 3,2$ kg/m². O nível de cortisol salivar às 8 h teve média de $18,7 \pm 4,8$ ng/dl. Os indivíduos com glicemia de jejum > 110 mg/dl, apresentaram níveis médios de cortisol significativamente menores que os com glicemia de jejum < 110 mg/dl ($12,8 \pm 5,2$ vs. $17,3 \pm 4,2$). As correlações significativas foram HOMA vs. circunferência abdominal ($r=0,465$; $p<0,005$) e triglicérides ($r=0,473$; $p<0,005$), circunferência abdominal vs. glicemia de jejum ($r=0,446$; $p<0,005$) e índice de massa corporal ($r=0,730$; $p<0,0001$), triglicérides vs. lipoproteína de alta densidade ($r=0,441$ $p<0,005$) e glicemia de jejum ($r=0,440$; $p<0,005$). **Conclusão:** O cortisol salivar pela manhã, em indivíduos com glicemia cronicamente elevada, pode representar uma contraregulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, sendo achado importante e pouco investigado.

ABSTRACT- Background: Actually the lifestyle exposes the population to several risk factors related to alimentary habits and less physical activity that contributes to chronic diseases appearance worldwide. **Aim:** To analyze the association between salivary cortisol and the components of metabolic syndrome. **Methods:** This is a cross-sectional study. As part of it, 28 individuals aged 30-59 years presenting three or more of the following findings: CA: ≥ 88 cm for women and ≥ 102 cm for men; SBP > 130 mmHg and DBP > 85 mmHg; GL > 100 mg/dl; TG > 150 mg/dl; HDL < 40 mg/dl for men and < 50 mg/dl for women. Was performed analysis of salivary cortisol (by radioimmunoassay) from 25 salivary samples collected throughout the day, for evaluating changes in the circadian rhythm of this hormone (8AM, noon and 8PM). **Results:** 28 evaluated individuals had a mean age of 51.9 ± 7.5 years, mostly women (64.3%) and a mean of BMI 33.6 ± 3.2 kg/m². The cortisol level from the 8AM averaged 18.7 ± 4.8 ng/dL. Individuals with FPG > 110 mg/dl, have significantly lower average levels of cortisol than ones with FPG < 110 (12.8 ± 5.2 vs. 17.3 ± 4.2). Significant correlations were HOMA vs. WC ($r=0,465$; $p<0,005$) and TG ($r=0,473$; $p<0,005$), WC vs. FG ($r=0,446$; $p<0,005$) and BMI ($r=0,730$; $p<0,0001$); TG vs. HDL ($r=0,441$ $p<0,005$) and FG ($r=0,440$; $p<0,005$). **Conclusion:** Morning salivary cortisol in subjects with chronically elevated blood glucose can represent a downregulation of the hypothalamic-pituitary adrenal axis. This is an important finding not yet well investigated.

INTRODUÇÃO

O atual estilo de vida expõe a população a diversos fatores de risco relacionados aos hábitos alimentares e à falta de atividade física, contribuindo para o surgimento de doenças crônicas. Dentre estas, as cardiovasculares, diabetes e obesidade têm-se tornado causas comuns de morte prematura¹⁸. A doença cardiovascular é o evento final de várias alterações sistêmicas causadas por outras doenças como hipertensão, obesidade, diabetes e hipercolesterolemia, que compõe a chamada síndrome metabólica (SM)^{9,17}. Ela é um conjunto complexo de fatores de risco cardiovascular, relacionado com a gordura abdominal e à resistência à insulina, com elevada morbimortalidade cardiovascular^{9,17}.

Conforme o The Third Report of the National Cholesterol Education Program - NCEP-ATP III¹⁵, para diagnosticar a SM é necessária a presença de alteração de três dos cinco fatores de risco: obesidade abdominal; circunferência abdominal (CA) ≤ 102 cm

(homens) ou ≤ 88 cm (mulheres); triglicerídeos (TGL) ≥ 150 mg/dl; (HDL) < 40 mg/dl (homens) ou < 50 mg/dl (mulheres), HAS $\geq 130/85$ mmHg e glicemia de jejum ≥ 100 mg/dl, independente da presença de diabetes^{16,22}.

Outro marcador metabólico importante é cortisol salivar, que serve como um barômetro do estresse²⁷. Ele é sintetizado do colesterol e sua produção é estimulada pelo hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) que é regulado pelo fator de liberação de corticotropina e excretado na urina, no plasma sanguíneo e na saliva. A ação do cortisol afeta vários sistemas fisiológicos como a função imunológica, regulação da glicose, tonalidade vascular, e metabolismo ósseo. Sua produção tem ritmo circadiano que depende do ACTH, com níveis máximos pela manhã diminuindo ao longo do dia. ACTH e cortisol são secretados independentemente do ritmo circadiano como reação ao estresse físico e psicológico²⁷. Em indivíduos expostos a agentes estressores crônicos constantes, o excesso de cortisol é muito prejudicial à saúde¹¹.

A relação entre cortisol salivar e os componentes da SM evidenciam marcadores importantes de reação ao estresse do processo inflamatório sistêmico associado a SM e seus componentes.

O presente estudo visa demonstrar os resultados da associação entre o cortisol salivar e os componentes da SM.

MÉTODOS

Todos os participantes selecionados assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e receberam individualmente informações sobre os procedimentos do estudo realizado. Respeitaram-se os requisitos de confidencialidade e sigilo das informações coletadas no estudo conforme a resolução nº 466/2012, que estabelece as diretrizes para pesquisa em seres humanos. O projeto foi aprovado pelo comitê de ética da instituição, sob número: 10/05153. O estudo principal foi cadastrado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos, ReBEC, sob número: RBR-9wz5fc. Os autores comprometeram-se em manter o sigilo dos dados.

Trata-se de um estudo transversal realizado a partir de dados secundários extraídos do estudo sobre efeitos de diferentes intervenções de modificação do estilo de vida sobre aspectos físicos, metabólicos e comportamentais envolvidos na síndrome metabólica através do programa MERC (Grupo de Pesquisa em Modificação do Estilo de Vida e Risco Cardiovascular da PUCRS). A partir deste estudo, foram analisados 28 indivíduos independente de gênero, com idade entre 30-59 anos. Como critério de inclusão eles tiveram que apresentar três ou mais dos seguintes achados que caracterizam a SM⁷: circunferência abdominal de ≥ 88 cm para mulheres e ≥ 102 cm para homens; pressão arterial sistólica ≥ 130 mmHg e diastólica ≥ 85 mmHg; glicose de jejum ≥ 100 mg/dl; triglicerídeos ≥ 150 mg/dl; HDL colesterol < 40 mg/dl para homens e < 50 mg/dl para mulheres. Foram excluídos os que não apresentaram todos os registros necessários na base de dados do estudo principal.

A avaliação contemplou a aferição do peso corporal, da altura e da circunferência abdominal. O peso corporal foi verificado por meio de balança com capacidade para 160 kg, devidamente calibrada, com o paciente descalço e com o mínimo de roupa possível. Para a mensuração da estatura utilizou-se antropômetro vertical. A circunferência abdominal foi avaliada através do perímetro abdominal (cm), aferido no local de máxima extensão da região do abdome¹². O instrumento utilizado foi uma fita milimetrada inelástica com 180 cm de comprimento.

Os valores da pressão arterial sistólica e da pressão arterial diastólica foram aferidos de acordo com as recomendações preconizadas pela V Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial²⁴.

Para a coleta de sangue os voluntários eram previamente instruídos a realizar jejum de 10-12 h. A coleta de saliva era realizada pelo próprio voluntário para posterior entrega ao

grupo de pesquisa. A avaliação do cortisol salivar foi mensurada a partir de amostras coletadas ao longo do dia, para avaliar alterações no ritmo circadiano deste hormônio, sendo as 8 h (C8), ao meio dia (C12) e às 20 h (C20). Todas as coletas foram realizadas antes das refeições. Para elas foram utilizados pequenos rolos de algodão, previamente preparados e esterilizados para uso individual. Quanto ao método de coleta o participante era orientado colocar o rolo de algodão embaixo da língua e deixar por 3 min até que ficasse saturado. Depois retirar o algodão e colocá-lo dentro de uma seringa de 5ml, sem o êmbolo. Após, recolocar o êmbolo na seringa, pressionar o algodão, recolhendo a saliva em um tubo plástico devidamente identificado com o número de estudo, nome e horário da coleta. O volume mínimo de saliva coletada para cada horário era de 0.5 ml. As amostras foram centrifugadas por 5 min a 1000 rpm e mantidas em freezer (-20° C) até o momento da análise, realizada por rádio imunoensaio com alta sensibilidade de 0,09 ng/ml (DBC – DiagnosticsBiochemCanada)^{3,10}.

Os marcadores bioquímicos sanguíneos analisados foram: perfil lipídico (HDL-c, colesterol total (CT), triglicerídeos (TGC) enquanto que a determinação do LDL-c foi realizado de forma indireta – $LDL-c = (TGC/5 + HDL)/CT$), perfil glicêmico (glicose de jejum, insulina de jejum e HOMA). Para a análise dos marcadores bioquímicos foram coletados 10 ml de sangue de cada participante antes e após a intervenção, totalizando 20 ml. Foram separadas alíquotas de soro e plasma para armazenamento em freezer -80° C.

Calculou-se o IMC² conforme recomendação da Organização Mundial da Saúde⁸ para avaliação do estado nutricional. Os pontos de corte para a classificação dos indivíduos quanto ao IMC (kg/m^2) foram: normal $25 kg/m^2$; sobrepeso de $25 - 29,99 kg/m^2$; obeso $\geq 30 kg/m^2$.

Análise estatística

Para verificar a normalidade da distribuição dos dados contínuos foi utilizado o teste Kolmogorov – Smirnov. Os dados foram apresentados de forma quantitativa (média \pm desvio-padrão). Para determinar a relação entre as variáveis contínuas foi utilizado o teste de correlação de Pearson e Qui-quadrado para medir a associação entre as variáveis categóricas/dicotômicas. O teste T de student foi utilizado para avaliar a diferença entre as médias. O nível de significância adotado foi de $p=0,05$ (bi-caudal). Para a análise dos dados foi utilizado o pacote estatístico SPSS, versão 22.0.0.0.

RESULTADOS

Foram avaliados 28 indivíduos com SM, com média de idade de $51,9 \pm 7,5$ anos; a maioria era de mulheres (64,3%) com IMC médio de $33,66 \pm 3,27 kg/m^2$.

O nível de cortisol salivar das 8 h teve média de $16,70 \pm 4,87 ng/ml$; às 12 h média de $10,19 \pm 4,23 ng/ml$ e às 20 h média de $4,74 \pm 2,30 ng/ml$. A queda do cortisol ao longo do dia (“output”) pode ser analisada na Figura 1. O valor de referência do cortisol salivar das 8 h utilizado foi de $13,5 - 23,5 ng/ml$.

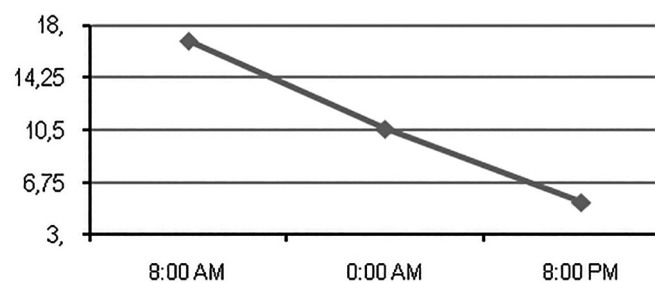


FIGURA 1 – Níveis de cortisol salivar (ng/dl) no período de 24 horas

Os resultados dos dados dos pacientes estudados e variáveis pesquisadas podem ser vistos na Tabela 1.

TABELA 1 - Características da amostra

Variáveis	Média±DP(n=28)
Idade	51,86±7,46
Peso (kg)	91,72±12,34
Índice de massa corporal (kg/m ²)	33,65 ±3,27
Circunferência abdominal (cm)	109,04±8,39
Triglicerídeos (mg/dl)	196,86±94,71
Lipoproteína de alta densidade - HDL(mg/dl)	47,29±11,73
Glicose (mg/dl)	107,57±36,42
Pressão arterial sistólica (mmHg)	133,68±16,06
Pressão arterial diastólica (mmHg)	91,36±13,05

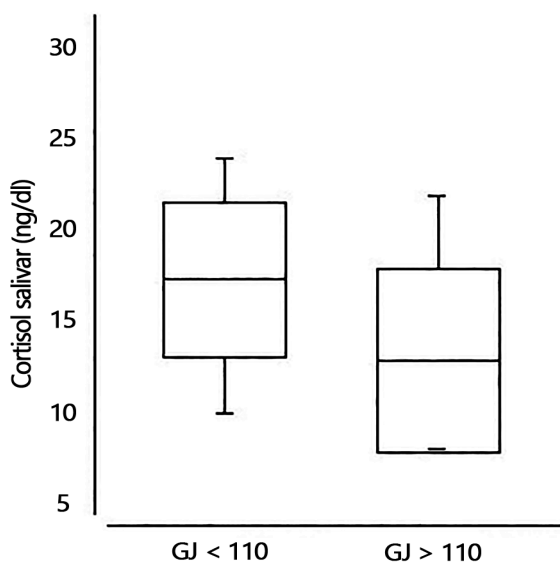
Os resultados quanto à correlação entre o cortisol salivar e os componentes da SM podem ser vistos na Tabela 2.

TABELA 2 - Correlação entre o cortisol salivar e os componentes da síndrome metabólica

Variáveis	Cortisol salivar					
	Coletado às 8h		Coletado às 12h		Coletado às 20h	
	r	p*	r	p*	r	p*
Circunferência abdominal	-0,133	0,499	-0,097	0,624	0,037	0,852
Pressão arterial sistólica	0,108	0,583	-0,140	0,478	-0,186	0,344
Pressão arterial diastólica	0,000	0,997	-0,181	0,356	-0,264	0,174
Lipoproteína de alta densidade - HDL	-0,191	0,331	-0,090	0,647	-0,224	0,252
Triglicerídeos	0,264	0,175	0,054	0,786	0,006	0,997
Glicose	0,052	0,792	-0,203	0,301	-0,197	0,314
Índice de massa corporal	-0,117	0,552	-0,043	0,829	0,048	0,808

*Correlação de Pearson

A Figura 2 mostra a divisão dos pacientes quanto a presença ou ausência de cada componente da SM; desta forma observa-se que os indivíduos com glicemia de jejum > 110 mg/dl, apresentaram níveis médios de cortisol significativamente menores que os com glicemia de jejum < 110 mg/dl.



GJ=glicemia de jejum

FIGURA 2 - Relação do cortisol matinal com a glicemia de jejum (Gráfico boxplot exibindo média±dp, p<0,05)

Medidas de insulina e HOMA estavam disponíveis apenas em um subconjunto do estudo (n=24). A Tabela 3 mostra as diversas variáveis e as correlações entre os componentes da SM, HOMA e cortisol salivar matinal.

TABELA 3 - Correlação entre os componentes da síndrome metabólica e Homestatic Model Assessment (HOMA)

HOMA	Amostra total	r	p
Cortisol	24	-0,049	0,818
Circunferência abdominal	24	0,465	0,022
Triglicerídeos	24	0,473	0,019
Insulina	24	0,910	<0,001
Glicemia de jejum	24	0,678	<0,001
Amostra total		r	p
Circunferência abdominal	28	0,446	0,017
Glicemia de jejum	28	0,375	0,050
Pressão arterial diastólica	28	0,730	<0,001
Índice de massa corporal	28	0,730	<0,001
Amostra total		r	p
Triglicerídeos	28	0,441	0,019
Lipoproteína de alta densidade - HDL	28	0,440	0,019
Glicemia de jejum	28	0,440	0,019

DISCUSSÃO

Ao comparar os componentes da SM com os níveis de cortisol salivar às 8 h, 12 h e 20 h encontra-se relação importante entre glicemia de jejum e o cortisol salivar. Indivíduos com glicemia de jejum >110 mg/dl têm níveis de cortisol salivar significativamente menor que os com glicemia <110 mg/dl².

Atualmente, a relação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e as alterações do metabolismo da glicose tem sido alvo de pesquisas clínicas^{5,6,14,20,21,25}. Uma revisão da literatura recente avaliou seis estudos que correlacionaram o cortisol matinal com a glicose; destes, apenas três demonstraram associação positiva¹. Níveis significativamente mais elevados de cortisol salivar às 10h e cortisol estimulado pela dexametasona foram encontrados em indivíduos com diabetes melito tipo 2 quando comparado aos indivíduos normoglicêmicos. Cortisol salivar às 10 h correlacionou-se significativamente com glicemia de jejum e hemoglobina glicada. Este estudo ainda demonstrou que os indivíduos diabéticos apresentavam nível de estresse e resposta ao estresse, mais elevado que os não diabéticos, medido por questionários-padrão. Vale salientar que este estudo comparou indivíduos normoglicêmicos com diabéticos de diagnóstico recente, podendo-se inferir que a situação de estresse importante devido ao recente diagnóstico do diabetes pode ter levado ao aumento do cortisol como reação ao estresse e não em consequência à glicemia elevada²³.

Considerando os resultados encontrados neste estudo pode-se inferir que o resultado do cortisol salivar mais baixo em indivíduos com glicemia de jejum > 110 mg/dl observado neste estudo pode ser efeito paradoxal. Esse paradoxo poderia ser explicado pelo fato de que os indivíduos apresentavam glicemia de jejum elevadas cronicamente, sendo que o período de estresse agudo já foi superado, existindo possibilidade de "downregulation" dos níveis de cortisol devido à glicemia cronicamente alta. Isto é, a resistência insulínica elevada, glicemia aumentada e estresse oxidativo crônico, fazem contraregulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal a fim de diminuir os níveis de cortisol matinal, na tentativa de retornar à homeostase do metabolismo.

A SM é um cluster de anormalidades metabólicas que aumenta o risco de diabetes melito tipo 2 e doença cardiovascular, que pode ser definida como um estado de distúrbio da homeostase metabólica caracterizada pela combinação de obesidade central, resistência a insulina, dislipidemia e hipertensão¹⁹.

O cortisol salivar é um marcador importante do estresse crônico e um dos vários fatores estressores que podem levar à alterações do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, com alteração da homeostase metabólica do organismo e consequentemente aos distúrbios metabólicos citados acima^{15,23}. Há forte evidência na literatura que reforça a hipótese de que os glicocorticóides liberados em resposta ao estresse crônico induzem acúmulo de gordura visceral que, quando presentes em algumas condições, como excesso de ingestão energética, baixa atividade física e má qualidade da alimentação, será disparado o mecanismo de desenvolvimento da SM¹⁹.

Embora estudos prévios tenham demonstrado claramente a utilidade do cortisol salivar para avaliar o ritmo e a atividade do

eixo hipotálamo hipófise adrenal e também para o diagnóstico de hipercortisolismo¹³, o seu valor clínico como marcador de estresse e das alterações metabólicas do organismo ainda não está claramente definido.

O papel do cortisol na regulação da homeostase metabólica é mesmo controverso, enquanto alguns artigos mostram que ele se eleva nos indivíduos com SM^{1,2,3}, um grande estudo com 726 adultos não encontrou nenhuma associação significativa entre os componentes da SM e as mudanças nos níveis de cortisol salivar ao longo do dia. No entanto, indivíduos com SM tinham cortisol salivar matinal 16% menor que aqueles sem este diagnóstico⁴.

A disfunção do eixo hipotálamo hipófise adrenal está associada com obesidade e SM e, conseqüentemente, IMC; aumento da circunferência abdominal e gordura visceral estão associados com baixos níveis de cortisol salivar pela manhã¹⁹. Neste estudo, a relação dos componentes da SM entre si e sua associação com a resistência insulínica pode ser vista na Tabela 3. Embora não se tenha demonstrado correlação significativa entre a resistência insulínica medida pelo HOMA-IR e o cortisol matinal, outros autores sugerem que o cortisol salivar tem tendência para aumentar com o IMC elevado e se correlacionar com a circunferência do quadril em homens e com a pressão sistólica em mulheres de maneira significativa. Mesmo assim, o estudo concluiu que esses dados não suportam relação forte entre níveis de cortisol e os componentes da SM¹.

Analisando a relação do cortisol salivar com a obesidade, um estudo com 82 indivíduos demonstrou que não houve diferença no nível de cortisol salivar matinal entre indivíduos não obesos, obesos e indivíduos que perderam peso². No entanto homens que perderam peso têm nível menor que os não obesos; esta relação nas mulheres não foi observada. A observação que a perda de gordura visceral pode reduzir a atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal contrasta com os achados demonstrados que a perda de peso associada à restrição da ingestão calórica aumenta a atividade do eixo hipotálamo-hipofisário²⁶. A partir disso pode-se inferir que jejum e perda de peso podem aumentar os níveis circulantes de cortisol, possivelmente para aumentar o apetite na tentativa de "defender-se" da perda de massa corporal.

De fato, a literatura atual mostra relações inconsistentes entre níveis de cortisol e parâmetros metabólicos. Enquanto um estudo mostra tendência a um aumento do cortisol salivar em IMC mais altos¹, outro mostra correlação inversa entre níveis de cortisol salivar matinal². Neste estudo, a correlação do cortisol e IMC não foi significativa, muito provavelmente devido à amostra não ter pacientes com IMC muito elevado (nenhum paciente com IMC >40 kg/m²).

Estudos prévios têm reportado que componentes individuais da SM e atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal estão relacionados; no entanto, poucos estudos têm examinado os componentes individualmente. Especificamente, circunferência do quadril elevada tem sido associada com altas taxas de cortisol matinal e relacionada com a reatividade ao stress bem como decréscimo da variabilidade do cortisol ao longo do dia. Evidências sugerem que a hipertensão está associada com níveis de cortisol matinal e/ou reatividade ao stress pelo cortisol. Estudos da associação do IMC e adiposidade central com cortisol têm sido equivocados com alguns reportando que pessoas com altos índices de IMC e adiposidade têm altas áreas "under curve" de cortisol; mas outros reportam que pessoas com IMC e circunferência abdominal elevados tem baixos níveis de cortisol ao amanhecer e decréscimo na taxa de queda diária dos níveis de cortisol¹⁴.

CONCLUSÕES

O cortisol salivar pela manhã, em indivíduos com glicemia cronicamente elevada, pode representar uma contraregulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, sendo achado importante e pouco investigado.

REFERÊNCIAS

1. Abrahan SB, Rubino D, Sinaii N, Ramsey S, Nieman LK. Cortisol, Obesity, and the metabolic: across-sectional study of obese subjects and review of the literature. *Obesity*. 2013;21(1):105-17.
2. Champaneri S, Xu X, Carnethon MR, Bertoni AG, Seeman T, DeSantis AS, et al. Diurnal salivary cortisol is associated with body mass index and waist circumference: the multiethnic study of atherosclerosis. *Obesity*. 2013;21(1):56-63.
3. Collazoli D, Luz C, Dornelles F, Cruz I, Bauer ME. Psycho neuroendocrine correlates of lymphocyte subsets during healthy ageing. *Mech Ageing Dev*. 2004;125:219-27.
4. De Santis AS, Diez Roux AV, Hajat A, Golden SH, Jenny NS, Sanchez BN, et al. Association of salivary cortisol levels with metabolic syndrome and its components: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(11):3483-92.
5. Duclos M, Gatta B, Corcuff JB, Rachedi M, Pehourcq F, Roger P. Fat distribution in obese women is associated with subtle alterations of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity and sensitivity to glucocorticoids. *Clin endocrinol (Oxf)*. 2001;55:447-54.
6. Duclos M, Marquez Pereira P, Barat P, Gatta B, Roger P. Increased cortisol bioavailability abdominal obesity, and the metabolic syndrome in obese women. *Obes Res*. 2005;13:1157-66.
7. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation*. 2005;112(17):2735-52.
8. Holt R. The Food and Agriculture Organization/World Health Organization expert report on diet, nutrition and prevention of chronic diseases. *Diabetes Obes Metab*. 2003;5(5):354.
9. Huang PL. A comprehensive definition for metabolic syndrome. *Dis Model Mech*. 2009;2(5-6):231-7.
10. Jeckel CM, Lopes RP, Berleze MC, Luz C, Feix L, Argimon II, et al. Neuroendocrine and immunological correlates of chronic stress in 'strictly healthy' populations. *Neuroimmunomodulation*. 2010;17:9-18.
11. Khalsa DS, Stauth CA. Longevidade do cérebro. 4ª ed. São Paulo: Objetiva; 1997. Disponível em: <http://br.librosintinta.in/11-khalsa-ds%2C-stauth-ca-longevidade-do-c%3A9rebre-4%2C%AA-ed-s%3A3o-paulo-objetiva%3B-1997-pdf.html>.
12. Lohman TG, Roche AF, Martorell R. Anthropometric Standardization Reference Manual. 1988 Champaign: Human Kinetics Books.
13. Margaret C, Moreira CA. Salivary cortisol on the evaluation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2003;47(4):358-67.
14. Marin O, Darin N, Amemiya T, Anderson B, Jern S, Bjorntorp P. Cortisol secretion in relation to body fat distribution in obese premenopausal women. *Metabolism*. 1992;41:882-6.
15. National Cholesterol Education Program (NCEP III) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adults Treatment Panel III). Third report of the National Cholesterol Education Program expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults – Adults Treatment Panel III (NCEP-ATP III). Final report. *Circulation*. 2002;106(25):3143-421.
16. National Institutes of Health (NIH). The practical guide to the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults. [capturado em 2015 Mai 6]. Disponível em: http://www.nhlbi.nih.gov/guidelines/obesity/prdtge_c.pdf.
17. National Research Council. Diet and Health: implications for reducing chronic disease risk. Washington, DC: Nacional Academy Press, 1989.
18. Nolte E, McKee M. Caring for people with chronic conditions, a health system perspective. European Observatory on health systems and policies series Open University Press. 2008 [capturado 2015 Mai 2015];1 (primeira publicação):1-290. Disponível em: <http://apsredes.org/site2012/wpcontent/uploads/2012/03/Caringforpeoplewithchronicconditions.pdf#page=87>.
19. Paredes S, Ribeiro L. Cortisol: the villain in metabolic syndrome? *Rev Assoc Med Bras*. 2014;60(1):80-92.
20. Pasquale R, Androsi B, Armanini D, et al. Cortisol and ACTH response to oral dexamethasone and obesity and effects of sex, body fat distribution, and dexamethasone concentration: A dose-response study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:166-75.
21. Pasquale R, Cantobelli S, Casimirri F, et al. The hypothalamic, pituitary – adrenal axis in obese woman with different patterns of body fat distribution. *J Clin Endocrinol Metab*. 1993;77:341-6.
22. Saboya PMHP. Efeito da modificação do estilo de vida nos parâmetros metabólicos e na qualidade de vida de pacientes com síndrome metabólica [tese]. [capturado em 2015 Nov 13]. Disponível em: <http://tede2.pucrs.br/tede2/bitstream/tede/1794/1/464326.pdf>.
23. Siddiqui AB, Madhub SV, Sharmac SB, Desaid NG. Endocrine stress responses and risk of type 2 diabetes mellitus. *Stress*. 2015;15(5):498-506.
24. Sociedade Brasileira de Cardiologia/Sociedade Brasileira de Hipertensão/Sociedade Brasileira de Nefrologia. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. *Arq Bras Cardiol*. 2010;95(1 supl.1):1-51.
25. Steptoe A, Kunz-Ebrecht SR, Brydon L, Wardle J. Central adiposity and cortisol responses to waking in middle-aged man and women. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004;28:1168-73.
26. Therrien F, Drapeau V, Lalonde J, Lupien S, Beaulieu S, Doré J, et al. Cortisol response to the Trier Social Stress Test in obese and reduced obese individuals. *Biol Psychol*. 2010;84:325-9.
27. Willmore JH, Costill DL. Fisiologia do esporte e do exercício. 2ª ed. São Paulo: Manole; 2005. Disponível em: <http://br.librosintinta.in/fisiologia-do-esporte-willmore-pdf.html>.