

# Existe associação entre $\alpha$ -amilase salivar, escala hospitalar de ansiedade e depressão e autorrelato em estudantes com sintomas de ansiedade?

*Is there an association between salivary  $\alpha$ -amylase, hospital scale of anxiety and depression and self-report in students with anxiety symptoms?*

Caroline de Castro Moura<sup>1</sup>; Erika de Cássia Lopes Chaves<sup>2</sup>; Ana Carolina Vieira Bemfica<sup>3</sup>; Isadora Victorino da Silva<sup>3</sup>; Carla Rodrigues Gama Ribeiro<sup>2</sup>; Leonardo Cesar Carvalho<sup>3,4</sup>; Denise Hollanda Iunes<sup>2,3,4</sup>; Adriana Teresa Silva Santos<sup>3,4</sup>; Andréia Maria Silva Vilela Terra<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-graduação em Enfermagem - Escola de Enfermagem - Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG. Belo Horizonte, MG - Brasil.

<sup>2</sup>Programa de Pós-graduação em Enfermagem - Escola de Enfermagem - Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG. Alfenas, MG - Brasil.

<sup>3</sup>Instituto de Ciências da Motricidade - UNIFAL-MG. Alfenas, MG - Brasil.

<sup>4</sup>Programa de Pós-graduação em Ciências da Reabilitação - Instituto de Ciências da Motricidade - Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG. Alfenas, MG - Brasil.

**Endereço para correspondência:**

Caroline de Castro Moura  
Escola de Enfermagem da Universidade Federal de Minas Gerais  
Av. Professor Alfredo Balena, 190, Santa Efigência  
30130-100 - Belo Horizonte, Minas Gerais [Brasil]  
carol\_castro\_m@hotmail.com

**Resumo**

**Objetivo:** Verificar se existe associação entre a  $\alpha$ -amilase salivar, a escala hospitalar de ansiedade e a depressão e autorrelato de estudantes universitários com sintomas da ansiedade. **Métodos:** Estudo observacional, realizado com 67 estudantes de uma universidade pública. Para a coleta de dados, foram utilizada a Escala Hospitalar de Ansiedade e Depressão, o autorrelato de ansiedade e a aferição da  $\alpha$ -amilase salivar por meio do dispositivo Cocoro Meter®. Os dados foram analisados por meio do teste de qui-quadrado. **Resultados:** Não houve associação entre  $\alpha$ -amilase salivar e a Escala Hospitalar de Ansiedade e Depressão ( $p=0,51$ ), nem entre a  $\alpha$ -amilase salivar e o autor-relato de ansiedade ( $p=0,51$ ), o que indica que o biomarcador não produz resposta dessas duas variáveis ao mensurar a ansiedade. **Conclusão:** O biomarcador  $\alpha$ -amilase salivar não possui a mesma capacidade em mensurar a ansiedade quando associado com a Escala Hospitalar de Ansiedade de Depressão e ao autorrelato em estudantes universitários com sintomas de ansiedade.

**Descritores:** Ansiedade; Alfa-amilases; Estudantes; Universidades.

**Abstract**

**Objective:** Verifying if there is an association between the salivary  $\alpha$ -amylase biomarker, the hospital scale of anxiety and depression, and a self-report of university students with anxiety symptoms. **Methods:** An observational study carried out with 67 students from a public university. For the data collection, the Hospital Anxiety and Depression Scale, the self-reported anxiety, and the salivary  $\alpha$ -amylase measurement were carried out with the Cocoro Meter® device. The data were analyzed by using the chi-square test. **Results:** There is no association between salivary  $\alpha$ -amylase and the Hospital Anxiety and Depression Scale ( $p = 0.51$ ), and neither between the salivary  $\alpha$ -amylase and the self-reported anxiety ( $p = 0.51$ ), which indicates that the biomarker does not produce any response of these two variables when measuring anxiety. **Conclusion:** The salivary  $\alpha$ -amylase biomarker does not have the same ability to measure anxiety when associated with the Hospital Anxiety and Depression Scale and with the self-report in university students with anxiety symptoms.

**Keywords:** Anxiety; Alpha-amilases; Students; Universities.

## Introdução

A ansiedade pode ser considerada como uma reação emocional normal a determinadas situações da vida<sup>1</sup>, que envolve componentes psicológicos e fisiológicos<sup>2</sup>, de acordo com as experiências do indivíduo. Quando vai além de situações reais ou é desproporcional à situação que a originou e tem prolongamento extenso, torna-se um transtorno<sup>3</sup>. Atinge cerca de 3,6% da população mundial e 9,3% da população brasileira<sup>4</sup>.

Devido às profundas transformações sociais, econômicas e culturais ocorridas nos últimos anos, a ansiedade tem se tornado cada mais frequente<sup>5,6</sup>. Diante disso, torna-se importante investigá-la no meio científico e assistencial, uma vez que ela pode impactar negativamente na vida das pessoas, desencadeando sintomas como aumento da tensão e da transpiração, tremores, alterações no padrão respiratório, na pressão sanguínea e na frequência cardíaca, boca seca, diarreia, dor abdominal, fadiga, náusea, urgência urinária, dentre outros<sup>2</sup>.

Os estudantes universitários são um exemplo de população em que a ansiedade está presente em médios e altos níveis<sup>7</sup>. As situações vivenciadas no ambiente acadêmico, como por exemplo, os períodos de realização de provas, podem agravar o quadro ansioso o qual está relacionado à ansiedade aguda. Portanto, a avaliação desse fenômeno, particularmente nessa população, torna-se essencial, uma vez que o diagnóstico adequado melhora o prognóstico dos pacientes e amplia as possibilidades de tratamento<sup>8</sup>.

Diante desse cenário, as escalas comportamentais de mensuração da ansiedade auxiliam na avaliação e no estabelecimento do diagnóstico adequado. Dentre essas medidas, a Escala Hospitalar de Ansiedade e Depressão (HAD) é um instrumento muito utilizado<sup>8</sup>, em vários contextos, como no ambiente universitário<sup>9</sup>, uma vez que é de fácil aplicação, possui boa sensibilidade e especificidade e diminui a influência das patologias somáticas e/ou sintomas de ansiedade ou depressão relacionados a outras doenças físicas<sup>9</sup>.

A utilização de marcadores biológicos também auxilia na maior fidedignidade da avaliação da ansiedade. Dentre estes, evidencia-se a enzima  $\alpha$ -amilase salivar, que tem sido proposta como um marcador de estresse psicológico<sup>10</sup>. Em situações de estresse agudo, o sistema nervoso autônomo estimula a secreção dessa enzima, pelas glândulas salivares, diretamente na boca<sup>11</sup>, o que possibilita sua mensuração imediata.

Atualmente, um equipamento utilizado para realizar a mensuração da  $\alpha$ -amilase salivar em pessoas com alterações de humor é o Cocoro Meter® (Nipro Co., Osaka, Japan)<sup>12-14</sup>. Contudo, ainda carece verificar se existe associação dessa variável com instrumentos consistentes de avaliação da ansiedade. Diante disso, o objetivo do presente estudo consiste em verificar se existe associação do biomarcador  $\alpha$ -amilase salivar com escala hospitalar de ansiedade e de depressão e o autorrelato de estudantes universitários com sintomas de ansiedade.

## Material e métodos

Trata-se de um estudo observacional, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNIFAL-MG sob CAAE nº 44567415.2.0000.5142 (ano de aprovação: 2015), que segue os princípios estabelecidos na Resolução 466/12 do Ministério da Saúde<sup>15</sup>.

Foram convidados para participar 103 estudantes dos 3º, 5º e 7º períodos do curso de fisioterapia de uma universidade federal localizada no Sul de Minas Gerais, nos primeiros semestres de 2015 e 2016, que constituiu a população do estudo. Como critérios de elegibilidade, foram estabelecidos: idade  $\geq$  18 anos, matrícula regular no curso e presença em sala de aula no momento da coleta de dados. Foram excluídos os estudantes que eram tabagistas e etilistas<sup>16</sup>, praticantes de atividade física há seis meses<sup>17</sup>, e aqueles que se recusaram em participar de alguma etapa da pesquisa. A amostra por conveniência do presente estudo foi constituída, então, por 67 estudantes. Após concordância em parti-

cipar do estudo, todos assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Para a coleta de dados, foi utilizada a Escala Hospitalar de Ansiedade e Depressão (HAD), o autorrelato de ansiedade e a aferição da  $\alpha$ -amilase salivar, pelo Cocoro Meter® (Nipro Co., Osaka, Japan).

A HAD<sup>18</sup> foi validada em cenário brasileiro em vários contextos<sup>19-22</sup>. É um instrumento constituído por 14 questões intercaladas de ansiedade e de depressão. Seu escore varia de 0 a 21 para cada subescala, sendo que os participantes com escores menores que 7 são considerados sem sinais clínicos significativos para ansiedade/depressão; entre 8 e 11, com sintomas possíveis e, acima de 12, com sintomas sugestivos de distúrbio. Destaca-se que, no presente estudo, foi utilizada somente a sub-escala de ansiedade (questões 1, 3, 5, 7, 9, 11 e 13); foi considerado o escore  $\geq 12$  pontos para classificar a presença de ansiedade nos estudantes. Essa escala é um instrumento muito utilizado<sup>8</sup>, já testado em ambiente universitário<sup>9</sup>.

Como a ansiedade também possui uma natureza subjetiva, com várias características afetivas, como angústia, apreensão, desamparo, incerteza, irritabilidade, medo, nervosismo, dentre outras<sup>2</sup>, o autorrelato deste fenômeno também foi avaliado no momento da coleta de dados (ausência de ansiedade; baixo nível de ansiedade; elevado nível de ansiedade).

O sistema utilizado para a coleta e análise da  $\alpha$ -amilase salivar foi constituído por uma fita de teste descartável e por um analisador portátil, o Cocoro Meter® (Nipro Co., Osaka, Japan). A fita de coleta foi posicionada na região sublingual do indivíduo durante 20 segundos e, em seguida, colocada no analisador portátil para a identificação do nível de  $\alpha$ -amilase salivar. Destaca-se que a concentração de  $\alpha$ -amilase salivar aumenta quanto maior o nível de estresse<sup>23</sup>. Foram considerados valores maiores que 30 kU/l para indivíduos com ansiedade<sup>23</sup>.

Para a caracterização dos sujeitos, foram investigadas características socio-demográficas (sexo, idade e estado civil), e terapias re-

lacionadas à ansiedade (farmacológicas e não farmacológicas).

A análise dos dados foi precedida pela elaboração de um banco de dados, utilizando-se o aplicativo *Microsoft Office Excel* (2013), que teve a sua consistência interna testada. Utilizou-se o programa estatístico *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 23,0, para análise dos dados; foi aplicada a estatística descritiva; o teste qui-quadrado foi utilizado para a comparação entre as variáveis categóricas qualitativas.

## Resultados

Participaram do estudo 67 estudantes, sendo 91,04% do sexo feminino, e todos solteiros. A média de idade foi de 21 anos, com desvio padrão de 1,84. A HAD apresentou média e desvio padrão de  $9,10 \pm 4,27$  pontos e a  $\alpha$ -amilase salivar de  $31,01 \pm 24,50$  kU/l. A tabela 1 apresenta a caracterização da amostra quanto ao autorrelato de ansiedade e o tipo de tratamento para essa condição clínica.

Tabela 1: Caracterização da amostra autorrelato de ansiedade. Alfenas, Brasil, 2018. (n=67).

| Autorrelato de ansiedade | Porcentagem |       |
|--------------------------|-------------|-------|
| Presença de ansiedade    | Sim         | 79,10 |
|                          | Não         | 20,89 |
| Nível de ansiedade       | Nenhum      | 3,0   |
|                          | Baixo       | 55,2  |
|                          | Elevado     | 22,4  |
| Tratamento               | Sim         | 14,92 |
|                          | Não         | 85,07 |
| Tipo de tratamento       | Medicamento | 11,9  |
|                          | Psicológico | 20,9  |
|                          | Homeopatia  | 1,5   |

Fonte: Do autor.

A tabela 2 apresenta a análise de associação entre a HAD e a  $\alpha$ -amilase salivar, expressas em porcentagem. Observa-se que não houve diferença estatística entre os percentu-

ais, indicando que a HAD e a  $\alpha$ -amilase não produzem resposta ao mensurar o mesmo fenômeno.

A tabela 3 apresenta a associação entre o autorrelato de ansiedade e a  $\alpha$ -amilase salivar, expressas em porcentagem. Da mesma forma, não houve diferença entre os percentuais, indicando que também não produzem resposta ao mensurar o mesmo fenômeno.

## Discussão

Os estudantes universitários constituem uma população propensa a desenvolver alterações emocionais, dentre as quais, a ansiedade se destaca<sup>7</sup>. De fato, no presente estudo, os estudantes apresentaram alto nível de ansiedade segundo a HAD, sendo que 79,1% da amostra relataram presença de ansiedade. A escala HAD tem sido um importante instrumento utilizado para investigar sintomas sugestivos de ansiedade em ambiente universitário<sup>9</sup>. Além disso, quase 15% dos estudantes avaliados no presente estudo relataram fazer algum tipo de tratamento para essa condição, em que o acompanhamento psicológico prevaleceu. Diante disso, mensurar a ansiedade por meio de vários recursos pode auxiliar no estabelecimento do diagnóstico adequado e no planejamento de intervenções efetivas, bem como determinar os métodos de mensuração mais confiáveis para essa população.

As alterações emocionais, como a ansiedade e o estresse, têm sido relacionadas à produção de biomarcadores salivares, como a  $\alpha$ -amilase, que representa a atividade do sistema nervoso autônomo simpático<sup>10,24-25</sup>. Contudo, no presente estudo, a  $\alpha$ -amilase salivar mensurada pelo

**Tabela 2: Associação entre as variáveis categóricas qualitativas HAD e  $\alpha$ -amilase salivar. Alfenas, Brasil, 2018. (n=67)**

| $\alpha$ -AMILASE | HAD           |               | Total      | Qui-quadrado | Valor p |
|-------------------|---------------|---------------|------------|--------------|---------|
|                   | Sem Ansiedade | Com Ansiedade |            |              |         |
| Sem Ansiedade     | 34            | 11            | 45 (67,2%) | 0,06         | 0,51    |
| Com Ansiedade     | 16            | 6             | 22 (32,8%) |              |         |
| Total             | 50 (74,6%)    | 17 (25,4%)    | 67 (100%)  |              |         |

Fonte: Do autor.

**Tabela 3: Associação entre as variáveis categóricas qualitativas do autorrelato e  $\alpha$ -amilase salivar. Alfenas, Brasil, 2018. (n=67)**

| $\alpha$ -AMILASE | HAD           |               | Total      | Qui-quadrado | Valor p |
|-------------------|---------------|---------------|------------|--------------|---------|
|                   | Sem Ansiedade | Com Ansiedade |            |              |         |
| Sem Ansiedade     | 9             | 36            | 45 (67,2%) | 0,06         | 0,51    |
| Com Ansiedade     | 5             | 17            | 22 (32,8%) |              |         |
| Total             | 53 (79,1%)    | 14 (20,9%)    | 67 (100%)  |              |         |

Fonte: Do autor.

Cocoro Meter<sup>®</sup> não produziu resposta semelhante às outras variáveis mensuradas.

De fato, no presente estudo, a  $\alpha$ -amilase salivar, mensurada pelo Cocoro Meter<sup>®</sup>, não produziu resposta semelhante com HAD (valor p = 0,51).

Esses dados confirmam que a HAD tem sido um importante instrumento para a avaliação da ansiedade, principalmente no contexto universitário. Diante disso, como o Cocoro Meter<sup>®</sup> (Nipro Co., Osaka, Japan) não apresentou associação com a HAD, ao mensurar a ansiedade no presente estudo, pode-se inferir que este não é um equipamento viável para mensurar um marcador biológico do organismo liberado em condições ansiogênicas, nesta população.

Um estudo de corte transversal<sup>9</sup> realizado com 234 estudantes de medicina, com o objetivo de determinar a prevalência de sintomas de ansiedade e depressão, encontrou que, em relação à ansiedade, o escore médio da HAD foi de

6,7 (DP:  $\pm 3,4$ ), com 34,3% dos estudantes apresentando sintomas falso-positivos de ansiedade e 19,7%, manifestando sintomas sugestivos do transtorno.

Outro fato é sobre a resposta verbal também não se associar com o instrumento de  $\alpha$ -amilase salivar medido através do Cocoro Meter® (Nipro Co., Osaka, Japan). De fato, nos estudantes que relataram verbalmente a sensação de ansiedade, o nível de  $\alpha$ -amilase salivar também foi elevado (valores maiores que 30)<sup>23</sup>, e, o contrário também foi verdadeiro, uma vez que o valor de *p* não foi significativo (0.51).

A ansiedade pode ser definida como um vago e incômodo sentimento de desconforto ou temor, ou de apreensão causada pela antecipação do perigo<sup>2</sup>. Somente o paciente conhece o quão intenso e perturbador é seu sentimento de apreensão ou temor, de forma que a avaliação da ansiedade deve ser baseada também no auto relato e nos descritores comumente usados pelos pacientes para descreverem esta condição.

Em um outro estudo<sup>5</sup>, um terço da população é afetada por um transtorno de ansiedade, sendo mais comum em mulheres de meia-idade. Esses distúrbios estão associados a um grau considerável comprometimento, alta utilização de serviços de saúde e enorme ônus econômico para a sociedade. Existem tratamentos eficazes, tanto psicológicos quanto farmacológicos, para transtornos de ansiedade; entretanto uma alta porcentagem não é diagnosticada corretamente ou não é oferecido tratamento de última geração. Não há evidências de que as taxas de prevalência mudaram nos últimos anos.

Assim, quando o processo de mensuração está mais relacionado aos sintomas, como é o caso dos fenômenos subjetivos, como a ansiedade e a dor, do que aos resultados físicos ou laboratoriais, que são mais palpáveis, a autoavaliação e o autor-relato são considerados os indicadores mais confiáveis da existência da condição clínica<sup>26</sup>. Assim, como a  $\alpha$ -amilase salivar não foi equiparável aos resultados da autoavaliação, pôde-se constatar que ela não represen-

tou, nesta investigação, um importante marcador fisiopatológico dessa condição clínica.

Embora o presente estudo tenha apontado resultados interessantes e inéditos para a literatura nacional, algumas limitações merecem ser destacadas. Primeiramente, o pequeno número da amostra pode ter limitado os achados. Em segundo lugar, a mensuração da  $\alpha$ -amilase salivar foi feita uma única vez; alguns pesquisadores sugerem de três a quatro medições consecutivas antes, durante e após a ocorrência do evento estressante<sup>14</sup>.

É consenso o grande desafio de mensurar fenômenos subjetivos, e ainda encontrar marcadores produzidos pelo organismo que possam caracterizá-los. Estima-se, então, que esta seja a primeira investigação a nível nacional que buscou verificar a associação um equipamento de mensuração de parâmetros biológicos da ansiedade em estudantes universitários.

## Conclusão

O presente estudo concluiu a inexistência de associação entre biomarcador  $\alpha$ -amilase salivar com escala hospitalar de ansiedade e depressão e autorrelato de estudantes universitários com sintomas de ansiedade. Tal fato não quer dizer que os estudantes não sejam sintomáticos para a ansiedade, mas, sim, que o uso conjunto dos referidos instrumentos de avaliação não possui associação para os sintomas de ansiedade. A avaliação desse fenômeno, não somente com medidas subjetivas, mas também com biomarcadores, pode viabilizar o estabelecimento de diagnósticos mais precisos para a ansiedade, de forma rápida, segura e eficaz, bem como propor intervenções viáveis para preveni-la e para controlá-la, porém a análise associada dos presentes instrumentos pode não representar a realidade sintomática de estudantes com a ansiedade. Há, todavia, a necessidade de realizar estudos com amostras maiores, em diferentes populações, para confirmar os resultados encontrados na presente investigação.



## Agradecimento

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio financeiro (Edital - Demanda Universal - APQ-00349-15 e APQ-02828-16).

## Referências

- Rosen JB, Schulkin J. From Normal Fear to Pathological Anxiety. *Psychol Rev.* 1998;105(2):325-50.
- Herdman TH, Kamitsuru S (org). *Diagnósticos de Enfermagem da NANDA: definições e classificações 2018-2020*. 11 ed. Porto Alegre: Artmed, 2015, 488p.
- Goyata SLT, Avelino CCV, Santos SVM, Souza Junior DI, Gurgel MDSL, Terra FS. Effects from Acupuncture in Treating Anxiety: Integrative Review. *Rev. Bras. Enferm.* 2016;69(3):602-9. DOI: 10.1590/0034-7167.2016690325i.
- World Health Organization (WHO). *Depression and Other Common Mental Disorders: Global Health Estimates*. Geneva, 2017.
- Bandelow B, Michaelis S. Epidemiology of Anxiety Disorders in the 21st Century. *Dialogues Clin Neurosci.* 2015;17(3):327-35.
- Pinto JC, Martins P, Pinheiro TB, Oliveira AC. Ansiedade, depressão e stress: um estudo com jovens adultos e adultos portugueses. *Psic Saúde e Doenças.* 2015;16(2):148-63. DOI: 10.15309/15psd160202.
- Chaves ECL, Iunes DH, Moura CC, Carvalho LC, Silva AM, Carvalho EC. Anxiety and Spirituality in University Students: a Cross-sectional Study. *Rev. Bras. Enferm.* 2015; 68(3):504-9. DOI: 10.1590/0034-7167.2015680318i.
- Desousa DA, Moreno LA, Gauer G, Manfro GG, Koller SH. Revisão sistemática de instrumentos para avaliação de ansiedade na população brasileira. *Aval. Psicol.* 2013;12(3):397-410.
- Vasconcelos TC, Dias BRT, Andrade LR, Melo GF, Barbosa L, Souza E. Prevalência de Sintomas de Ansiedade e Depressão em Estudantes de Medicina. *Rev. Bras. Educ. Med.* 2015;39(1):135-42. DOI: 10.1590/1981-52712015v39n1e00042014.
- Tzira D, Prezerakou A, Papadatos I, et al. Salivary Biomarkers May Measure Stress Responses in Critically ill Children. *SAGE Open Medicine.* 2018;6:1-10. DOI: 10.1177/2050312118802452.
- Nater UM, Rohleder N. Salivary Alpha-amylase as a Non-invasive Biomarker for the Sympathetic Nervous System: Current State of Research. *Psychoneuroendocrinology.* 2009;34(4):486-96. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2009.01.014
- Vineetha R, Pai K-M, Vengal M, Gopalakrishna K, Narayanakurup D. Usefulness of Salivary Alpha Amylase as a Biomarker of Chronic Stress and Stress Related Oral Mucosal Changes – a Pilot Study. *J Clin Exp Dent.* 2014; 6(2):132-7. DOI: 10.4317/jced.51355
- Koibuchi, E, Suzuki Y. Exercise Upregulates Salivary Amylase in Humans (Review). *Exp Ther Med.* 2014;7:773-7. DOI:10.3892/etm.2014.1497
- Hohashi N, Kobayashi K. The effectiveness of a forest therapy (shinrin-yoku) program for girls aged 12 to 14 years: A crossover study. *Stress Science Research.* 2013;28(2013):82-9.
- Tivatansakul S, Ohkura M. Healthcare System Focusing on Emotional Aspect using Augmented Reality - Relaxation Service. *Transactions of Japan Society of Kansei Engineering.* 2014;13(1):191-201.
- Brasil. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP. Resolução nº 466: sobre pesquisa envolvendo seres humanos. Brasília, dez. 2012.
- Lopes AP, Rezende MM. Ansiedade e consumo de substâncias psicoativas em adolescentes. *Estud. Psicol.* 2013;30(1):49-56. DOI:10.1590/S0103-166X2013000100006.
- Ribeiro VB, Kogure GS, Reis RM, Tourinho Filho H. Variabilidade da frequência cardíaca em atletas e não atletas saudáveis - Diferenças e alterações provocadas pelo treinamento físico de endurance. *Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício.* 2015;9(54):446-56.
- Zigmond AS, Snaith RP. The Hospital Anxiety and Depression Scale. *Acta Psychiatr Scand Suppl.* 1983;67(6):361-70.
- Botega NJ, Bio MR, Zomignani MA, Garcia JR C, Pereira WAB. Transtornos do humor em enfermaria de clínica médica e validação de escala de medida (HAD) de ansiedade e depressão. *Rev. Saúde Pública.* 1995;29(5):355-63. DOI:10.1590/S0034-89101995000500004
- Botega NJ, Ponde MP, Medeiros P, Lima MG, Guerreiro CAM. Validação da escala hospitalar de ansiedade e depressão (HAD) em pacientes epiléticos ambulatoriais. *J. Bras. Psiquiatr.* 1998;6(47):285-9.

22. Castro MMC, Quarantini L, Batista-Neves S, Kraychete DC, Daltro C, Miranda-Scippa A. Validity of the Hospital Anxiety and Depression Scale in Patients with Chronic Pain. *Rev. Bras. Anesthesiol.* 2006; 56(5):470-7. DOI:10.1590/S0034-70942006000500005
23. Marcolino JAM, Mathias LAST, Piccinini Filho L, Guaratini AA, Suzuki FM, Alli LAC. Hospital Anxiety and Depression Scale: A Study on the Validation of the Criteria and Reliability on Preoperative Patients. *Rev Bras Anesthesiol.* 2007;57(1): 52-62.
24. Jafari A, Pouramir M, Shirzad A, Motalebnejad M, Bijani A, Moudi S, Abolghasem-Zade F, et al. Evaluation of Salivary Alpha Amylase as a Biomarker for Dental Anxiety. *Iranian Journal of Psychiatry and Behavioral Sciences.* 2018. In Press. DOI: 10.5812/ijpbs.9350.
25. Lisal ST, Azis U, Thioritz W, Idrus MF, Tanra AJ. The Comparison of Salivar Alpha Amylase Enzym Level Between Anxiety Patients and Depression patients. 2017;36(5):334-344.
26. Schumacher S, Kirschbaum C, Fydrich T, Ströhle A. Is Salivary Alpha-amylase an Indicator of Autonomic Nervous System Dysregulations in Mental Disorders? A Review of Preliminary Findings and the Interactions with Cortisol. *Psychoneuroendocrinology.*2013;38(6):729-43. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2013.02.003.

