



Acta Paulista de Enfermagem

ISSN: 0103-2100

ISSN: 1982-0194

Escola Paulista de Enfermagem, Universidade Federal de São Paulo

Rocha, Vanderlei Amadeu da; Freitas, Patrícia de; Silva, Isília Aparecida; Bueno, Mariana

Biomarcadores salivares na avaliação da dor: revisão integrativa

Acta Paulista de Enfermagem, vol. 35, eAPE003202, 2022

Escola Paulista de Enfermagem, Universidade Federal de São Paulo

DOI: <https://doi.org/10.37689/acta-ape/2022AR03203>

Disponível em: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=307070269042>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais informações do artigo
- Site da revista em redalyc.org

redalyc.org
UAEM

Sistema de Informação Científica Redalyc

Rede de Revistas Científicas da América Latina e do Caribe, Espanha e Portugal

Sem fins lucrativos acadêmica projeto, desenvolvido no âmbito da iniciativa
acesso aberto

Biomarcadores salivares na avaliação da dor: revisão integrativa

Salivary biomarkers in pain assessment: an integrative review

Biomarcadores salivales en la evaluación del dolor: revisión integradora

Vanderlei Amadeu da Rocha¹  <https://orcid.org/0000-0002-1410-7007>

Patrícia de Freitas¹  <https://orcid.org/0000-0002-6049-1732>

Isilia Aparecida Silva¹  <https://orcid.org/0000-0001-55349996>

Mariana Bueno²  <https://orcid.org/0000-0002-1470-1321>

Resumo

Objetivo: Identificar os principais biomarcadores salivares descritos, assim como as técnicas empregadas para coleta das amostras de saliva, em estudos relacionados à avaliação da dor em pacientes submetidos a procedimentos dolorosos ou portadores de patologias dolorosas.

Métodos: Revisão integrativa da literatura, realizada pelas buscas bibliográficas nas bases Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), MEDLINE/PubMed, CINAHL e EMBASE, com recorte temporal de 2009 a 2019 e período de coleta de dados entre outubro e novembro de 2019. Foram utilizados Descritores em Saúde (DeCs) e Medical Subject Headings (MeSH), para responder à pergunta norteadora: Quais são e como são utilizados os biomarcadores salivares na avaliação da dor? Foi realizada uma análise descritiva dos artigos, sendo os dados extraídos e registrados em uma planilha desenvolvida para o presente estudo.

Resultados: Das 126 publicações identificadas, 22 artigos foram incluídos para a análise. Constatou-se que os artigos são, majoritariamente, desenvolvidos com adultos durante realização de procedimentos dolorosos ou portadores de patologias dolorosa. Os principais biomarcadores salivares avaliados foram a alfa-amilase e o cortisol, e as principais técnicas para coleta de saliva foram o Salivette® e a coleta passiva.

Conclusão: Os estudos indicam que a mensuração objetiva da dor é um desafio. Os principais biomarcadores salivares descritos são o cortisol e a alfa-amilase, sendo o Salivette® a principal técnica utilizada para coleta das amostras de saliva. A dosagem das moléculas salivares é incipiente e empregada de forma complementar na avaliação da dor em pacientes de diferentes faixas etárias, submetidos à procedimentos dolorosos ou portadores patologias dolorosas.

Abstract

Objective: To identify the main salivary biomarkers described and the techniques used for saliva sample collection in studies related to pain assessment in patients undergoing painful procedures or experiencing painful diseases

Methods: An integrative literature review was conducted via bibliographic searches in the Virtual Health Library (VHL), MEDLINE/PubMed, CINAHL, and EMBASE databases for the period from 2009 to 2019; data were collected in October and November 2019. The DeCs health descriptors and the Medical Subject Headings (MeSH) were used to answer the guiding question: "Which salivary biomarkers are used in pain assessment and how are they employed?" A descriptive analysis of the articles was performed; data were collected and recorded in a spreadsheet developed for the present study.

Results: Of the 126 published articles identified, 22 articles were included for analysis. The articles were mainly regarding adults undergoing painful procedures or patients experiencing painful diseases. The main salivary biomarkers evaluated were alpha-amylase and cortisol, and the main saliva collection techniques were Salivette® and passive collection.

¹Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

²The Hospital for Sick Children, Toronto, Canadá.

Conflitos de interesse: nada a declarar.

Como citar:
Rocha VA, Freitas P, Silva IA, Bueno M. Biomarcadores salivares na avaliação da dor: revisão integrativa. Acta Paul Enferm. 2022;35:eAPE003203.

DOI

<http://dx.doi.org/10.37689/acta-ape/2022AR03203>



Descritores

Saliva; Medição da dor; Biomarcadores; Técnicas e procedimentos diagnósticos

Keywords

Saliva; Pain measurement; Biomarkers; Diagnostic Techniques and Procedures

Descriptores

Saliva; Dimensión del dolor; Biomarcadores; Técnicas y Procedimientos Diagnósticos

Submetido

23 de Outubro de 2020

Aceito

16 de Junho de 2021

Autor correspondente

Vanderlei Amadeu da Rocha
E-mail: vanrocha@usp.br

Editor Associado (Avaliação pelos pares):

Camila Takao Lopes
(<https://orcid.org/0000-0002-6243-6497>)
Escola Paulista de Enfermagem, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

Conclusion: The studies indicated that objective pain measurement is a challenge. The main salivary biomarkers evaluated were cortisol and alpha-amylase, and the main technique employed for saliva sample collection was Salivette®. The dosage of salivary molecules is emerging for use as a complement in pain assessment in patients of different ages undergoing painful procedures or experiencing painful diseases.

Resumen

Objetivo: Identificar los principales biomarcadores salivales descriptos, así como las técnicas utilizadas para la recolección de las muestras de saliva en estudios relacionados con la evaluación del dolor en pacientes sometidos a procedimientos dolorosos o con patologías dolorosas.

Métodos: Revisión integrativa de la literatura, realizada por medio de búsquedas bibliográficas en las bases Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), MEDLINE/PubMed, CINAHL y EMBASE, con un recorte temporal del 2009 al 2019 con un período de recolección de datos de octubre a noviembre de 2019. Se utilizaron Descriptores en Salud (DeCs) y Medical SubjectHeadings (MeSH), para responder a la pregunta orientadora: ¿Cuáles son los biomarcadores salivales en la evaluación del dolor y cómo se utilizan? Se realizó un análisis descriptivo de los artículos y los datos extraídos y registrados en una planilla desarrollada para el presente estudio.

Resultados: De las 126 publicaciones identificadas, se incluyeron 22 artículos para análisis. Se constató que los artículos están, mayoritariamente, desarrollados con adultos durante la realización de procedimientos dolorosos o con patologías dolorosas. Los principales biomarcadores salivales evaluados fueron alfa-amilasa y cortisol, y las principales técnicas para la recolección de saliva fueron Salivette® y la recolección pasiva.

Conclusión: Los estudios indican que la medición objetiva del dolor es un desafío. Los principales biomarcadores salivales que se describen son el cortisol y la alfa-amilasa y Salivette® la principal técnica utilizada para la recolección de muestras de saliva. La dosificación de las moléculas salivales es incipiente y utilizada de forma complementaria en la evaluación del dolor en pacientes de distintos grupos de edad, sometidos a procedimientos dolorosos o con patologías dolorosas.

Introdução

A dor é definida como uma experiência sensorial e emocional desagradável associada, ou semelhante àquela associada, ao dano real ou potencial ao tecido.⁽¹⁾ A manifestação da dor varia consideravelmente entre indivíduos e produz diversas respostas comportamentais e fisiológicas, que podem ser utilizadas como ferramentas de avaliação clínica.⁽²⁾ Devido à complexidade da avaliação da dor, inúmeros instrumentos foram desenvolvidos e validados para sua avaliação em diferentes faixas etárias e condições clínicas. Alguns desses instrumentos incluem parâmetros comportamentais, fisiológicos e contextuais como indicadores, o que se acredita aumentar a sua especificidade.⁽³⁾

Aspectos como tipo ou causa da dor, idade do paciente e condição clínica devem ser considerados na avaliação da dor, bem como a experiência do profissional de saúde que aplica e interpreta os diferentes instrumentos de avaliação.⁽⁴⁾ Logo, reconhece-se a complexidade da avaliação da dor e a necessidade da utilização de métodos específicos e acurados, principalmente nas populações não verbais, nas quais a dor é frequentemente subestimada e subtratada.⁽³⁾

A despeito dos avanços na compreensão da fisiopatologia da dor e da avaliação da dor em geral, inúmeros aspectos relacionados à avaliação e consequente manejo na prática clínica ainda permanecem

incipientes. Dessa forma, parâmetros adicionais, tais como dosagens de moléculas salivares têm sido explorados como medidas fisiológicas complementares na avaliação a dor.^(5,6) Além da associação com escores de dor, mensurados por escalas para avaliação,⁽⁷⁻¹⁰⁾ as dosagens salivares refletem os níveis plasmático e urinário de diferentes moléculas.⁽¹¹⁾ Entende-se que embora seja clinicamente necessário e promissor, atualmente não há evidências suficientes para apoiar o uso de quaisquer moléculas salivares como medidas “objetivas” isoladas da dor.⁽¹²⁾

Ainda assim, o desenvolvimento e a dosagem de novos biomarcadores é um campo em constante evolução e as moléculas salivares têm recebido atenção especial, principalmente no desenvolvimento de pesquisas clínicas. Isso ocorre porque a obtenção de amostras de saliva se configura como um procedimento simples, não invasivo, livre de estresse e desconforto, características fundamentais para os métodos de avaliação da dor.⁽¹³⁾

Na prática clínica a avaliação e o gerenciamento da dor permanecem inadequados e inconsistentes.⁽¹⁴⁾ A compreensão da experiência multidimensional da dor e o seu manejo são tarefas desafiadoras, visto que a dor repetida e não tratada pode resultar em consequências deletérias em curto, médio e longo prazo.^(15,16) Nesse sentido, ressalta-se a atuação da equipe de enfermagem como imprescindível, envolvendo não somente a avaliação e a reavaliação da dor nos seus múltiplos aspectos (por exemplo, intensi-

dade, qualidade, localização, duração, dentre outros aspectos), mas também o emprego de estratégias de prevenção e alívio da dor, incluindo medidas farmacológicas e não farmacológicas. A ampliação e a apropriação do conhecimento dessa temática pela equipe de enfermagem, bem como a adoção de técnicas inovadoras e o uso de biomarcadores, podem contribuir para o aprimoramento da assistência.

Diante da complexidade de avaliação da dor, a inclusão de parâmetros complementares como a dosagem de biomarcadores salivares poderá auxiliar no delenamento de futuras pesquisas, com vistas a aprimorar a avaliação bem como o manejo da dor, em diferentes cenários. Para tanto, é fundamental a identificação das principais moléculas salivares avaliadas em patologias dolorosas ou durante procedimentos potencialmente dolorosos.

Frente a essas considerações, o presente estudo buscou identificar os principais biomarcadores salivares descritos, assim como as técnicas empregadas para coleta das amostras de saliva, em estudos relacionados à avaliação da dor em pacientes submetidos à procedimentos dolorosos ou portadores de patologias dolorosas.

Métodos

Este estudo se trata de revisão integrativa da literatura, método de pesquisa utilizado na prática baseada em evidências, que permite a incorporação destas evidências na prática clínica. Esse método reúne e resume o conhecimento científico das pesquisas disponíveis sobre uma temática definida, contribuindo para o aprofundamento do conhecimento do tema investigado.⁽¹⁷⁾ Para seu desenvolvimento, as seguintes etapas foram obedecidas: seleção da pergunta norteadora; estabelecimento de critérios para seleção; busca na literatura; definição de informações a serem extraídas dos estudos selecionados; avaliação dos estudos incluídos; interpretação de resultados; e apresentação da revisão.⁽¹⁷⁾

A pergunta norteadora desta revisão foi: Quais são e como são utilizados os biomarcadores salivares na avaliação da dor? Para tanto, foram realizadas buscas bibliográficas na Biblioteca Virtual em Saú-

(BVS) e nas bases eletrônicas MEDLINE/PubMed, CINAHL e EMBASE. Para este estudo, as combinações de descritores e palavras-chave foram adaptadas ao acrônimo PICO,⁽¹⁸⁾ considerando-se:

- P (paciente): adultos, crianças e recém-nascidos;
- I (Intervenção): dosagem de biomarcadores salivares na avaliação da dor;
- C (comparação): cuidado padrão ou de rotina (quando aplicável);
- O (*outcome - desfecho*): avaliação da dor.

Para a busca na BVS, foram utilizados os seguintes Descritores em Saúde (DeCs): ((Pacientes) AND (“biomarcadores”) AND (“saliva”) AND (“avaliação da dor”)). Nas bases CINAHL e PubMed foram utilizados descritores do Medical SubjectHeadings (MeSH): ((“Biomarkers”) AND (Pain) AND (“Saliva”)).

O levantamento foi realizado entre outubro e novembro de 2019 e, como critérios de inclusão foram considerados: artigos disponíveis eletronicamente, com texto integral nos idiomas em inglês, espanhol ou português, publicados entre 2009 e 2019, que abordassem a utilização de biomarcadores salivares, concomitantes à aplicação de instrumento de avaliação da dor em adultos, crianças ou recém-nascidos. Foram estabelecidos como critérios de exclusão comunicações breves (como comentários, cartas ao editor, editoriais), estudos que não apresentassem conteúdo relacionado ao tema, pesquisas em modelos animais e artigos duplicados.

Os títulos e resumos foram analisados por dois autores (VR e PF), de modo independente. Divergências foram discutidas entre os autores e resolvidas por um terceiro pesquisador (MB), se necessário. Em seguida, as citações consideradas relevantes para esta pesquisa foram obtidas e analisadas na íntegra, de modo descritivo. O nível de evidência (NE) foi identificado com base no delineamento do estudo e foi determinado da seguinte forma: Nível I, revisão sistemática ou metanálise; Nível II, ensaio clínico controlado randomizado; Nível III, ensaio clínico controlado sem randomização; Nível IV, estudos de coorte ou caso-controle bem delineados; Nível V, revisão sistemática de estudos qualitativos e descritivos; Nível VI, estudos descritivos ou qualitativos; e Nível VII, opinião de autoridades ou relato de especialistas.⁽¹⁹⁾ Esta hierarquia classifica os níveis

I e II como fortes, III a V como moderados e VI a VII como fracos.⁽¹⁹⁾

As informações de cada publicação foram extraídas e registradas em uma planilha no aplicativo Microsoft Excel (Enterprise/2007), desenvolvida para o presente estudo e previamente testada, incluindo: autor, ano, país, número participantes de indivíduos, faixa etária (adultos, crianças ou recém-nascidos), delineamento do estudo, objetivos, técnicas empregadas para coleta de saliva, biomarcador(es) salivar(es) avaliado(s), escala para avaliação da dor, correlação com escalas de dor ou amostras de sangue e urina, principais resultados e conclusões.

Por tratar-se de uma revisão da literatura, não foi necessária a submissão e apreciação ética do estudo.

Resultados

Foram identificadas 126 citações, incluindo 12 duplicatas. Das 114 citações restantes, após leitura dos títulos e resumos, 67 referências foram excluídas, por não atenderem aos critérios de inclusão. Dos 47 estudos selecionados, após leitura na íntegra, 25 foram excluídos: um por abordar apenas técnicas para a coleta de saliva, um relato de caso, dois estudos experimentais, cinco relacionados ao tratamento de diferentes patologias e 13 abordando fundamentalmente aspectos diagnósticos. Ao final, foram incluídos 22 artigos na revisão (Figura 1).

Todos os artigos foram publicados no idioma inglês, e dentro do recorte temporal analisado não foi encontrada nenhuma revisão. Quatro artigos (18,2%) foram publicados em 2018, três em 2016 (13,6%), três em 2013 (13,6%), três em 2011 (13,6%), dois em 2014 (9,1%), dois em 2012 (9,1%), dois em 2010 (9,1%), um em 2019 (4,5%), um em 2017 (4,5%) e um artigo em 2015 (4,5%).

Quanto aos países de realização dos estudos incluídos nesta revisão, sete (31,8%) foram conduzidos nos Estados Unidos, três (13,6%) no Brasil, dois (9,1%) Turquia, dois (9,1%) na Holanda, um (4,5%) na Coréia do Sul, um (4,5%) no Japão, um (4,5%) na Índia, um (4,5%) Áustria, um (4,5%) na Espanha, um (4,5%) na Austrália, um (4,5%) na Itália e um (4,5%) Suíça (Quadro 1). Em rela-

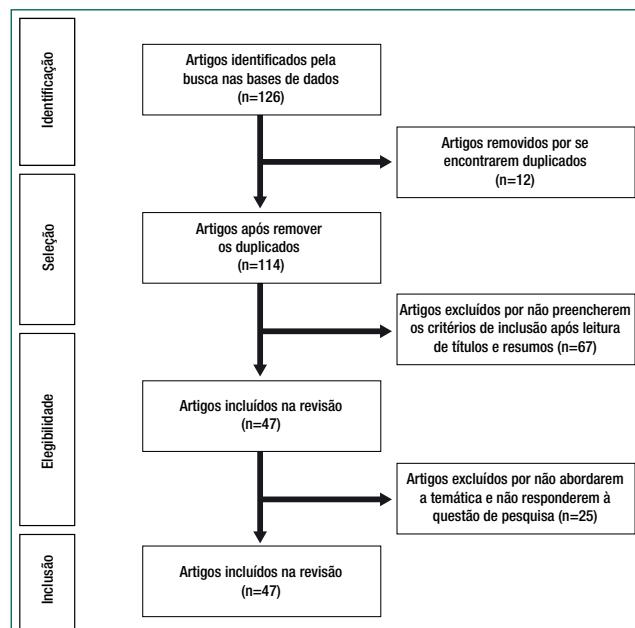


Figura 1. Fluxograma com representação de elegibilidade e inclusão de artigos

ção ao NE, cinco (22,7%) artigos enquadram-se no nível II,⁽²⁰⁻³²⁾ dois (9,1%) no nível III,^(20,22) sete (31,8%) no nível IV^(9,26,30-37) e oito (36,4%) no nível VI^(7,8,10,24,27,28,33-36) (Tabela 1) (Quadro 1). Constatou-se que cinco (22,7%) dos artigos apresentam nível forte de evidência (nível I-II), nove (40,9%) nível moderado (nível III-V) e oito (36,4%) nível fraco (nível VI-VII) (Tabela 1).

Tabela 1. Distribuição dos estudos em relação à classificação do nível de evidência

Nível de evidência	n(%)	Classificação	n(%)
Nível I	0(0)	Forte	5(22,7)
Nível II	5(22,7)		
Nível III	2(9,1)	Moderado	9(40,9)
Nível IV	7(31,8)		
Nível V	0(0)		
Nível VI	8(36,4)	Fraco	8(36,4)
Nível VII	0(0)		

Em relação à população investigada, 14 (63,6%) pesquisas incluíram adultos, seguido por cinco (22,7%) estudos realizados com crianças e três (13,6%) com recém-nascidos. No que se refere à etiologia da dor, nove (40,9%) estudos investigaram a dor orofacial e distúrbios temporomandibu-

lares, dor musculoesquelética, dor abdominal, dor relacionada ao câncer, artrite reumatoide, epilepsia e enxaqueca; a dor relacionada a procedimentos foi avaliada em 13 (59,1%) publicações. Dentre inúmeros instrumentos de mensuração da dor, a Escala Visual Analógica (EVA) foi aplicada em 27,3% dos estudos (Quadro 1). Em relação à coleta de amostras de saliva, 13 (59,1%) estudos utilizaram o Salivette® e sete (31,8%) a coleta passiva. Em outros dois (9,1%) estudos as metodologias de coleta envolveram a aspiração da saliva com sonda de levine, seringa e uso de swab oral (Figura 2A) (Quadro 1).

Quanto aos biomarcadores salivares, sete artigos (31,8%) avaliaram a alfa-amilase, quatro (18,2%) dosaram o cortisol e três estudos (13,6%) avaliaram o cortisol e a alfa-amilase. Além disso, quatro trabalhos (18,2%) analisaram outras moléculas, sendo que um (4,5%) avaliou a Opiorfina, um (4,5%) quantificou as citocinas, as quimiocinas, os hormônios e os neuropeptídeos, um (4,5%) avaliou 8-hidroxi-2-deoxiguanosina (8-OHdG), malondialdeído (MDA) e *total antioxidant status* (TAS) e um (4,5%) analisou a interleucina 1b (IL1b), o fator de necrose tumoral (TNF) e a matriz-metaloproteinase-8 (MMP-8). Já outro estudo (4,5%) avaliou o cortisol, a alfa-amilase, a proteína C reativa, a IL-1be interleucina 6(IL-6), um (4,5%) analisou o cortisol, a alfa-amilase, a imunoglobulina secretora A (slgA), a testosterona e o receptor de fator de necrose tumoral (sTNFRII), um estudo (4,5%) quantificou o cortisol e TNF e um (4,5%) analisou a alfa-amilase e a Cromogranina salivar (sCgA) (Figura 2B; Quadro 1). Por fim, dois (9,1%) estudos que foram incluídos realizaram a dosagem em amostras de sangue em paralelo à dosagem de saliva (Quadro 1).

Ainda em relação aos biomarcadores salivares, 15 artigos (68,2%) identificaram variação do nível da molécula salivar avaliada e quatro estudos (18,2%) constataram correlação positiva entre os níveis das moléculas salivares e os escores de dor (Quadro 1).

Discussão

Um total de 22 artigos foram incluídos nesta revisão e, de modo geral, observou-se ampla variabilidade no que se refere ao delineamento de pesquisa, população estudada, etiologia da dor investigada, escores ou instrumentos de avaliação da dor empregados, bem como a variedade de biomarcadores e métodos de coleta de saliva.

A avaliação da dor é um processo multifatorial, complexo e desafiador⁽³⁸⁾ e a despeito de inúmeros instrumentos de avaliação da dor, seja por autorrelato, seja por observação, é necessário explorar e definir biomarcadores como potenciais medidas objetivas para a avaliação e o manejo da dor. Por isso, observa-se um interesse crescente no diagnóstico salivar, visto que as glândulas salivares estão integradas ao sistema neuroendócrino e contêm uma grande variedade de moléculas que podem desempenhar papéis importantes na fisiopatologia da dor.^(39,40) Muitos constituintes do plasma entram na saliva por difusão passiva, transporte ativo ou ultrafiltração extracelular.⁽⁴¹⁾ Como resultado, a maioria das substâncias encontradas no sangue também estão presentes na saliva e, dessa forma, considera-se a saliva como funcionalmente equivalente ao soro, refletindo o estado fisiológico do organismo.^(13,25,42)

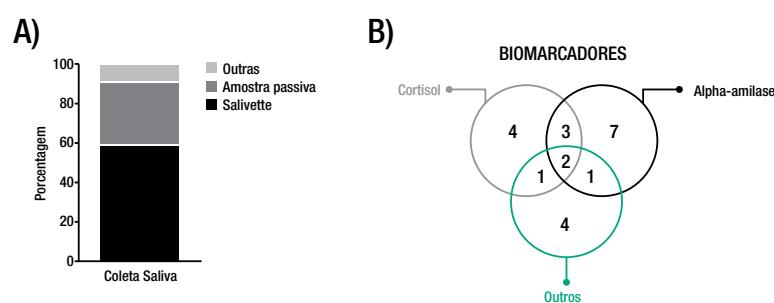


Figura 2. Descrição da produção científica analisada. (A) Técnicas de coleta das amostras de saliva; (B) Biomarcadores salivares avaliados

Quadro 1. Síntese de coleta de dados

Autor/ Ano/ País	Número de participantes/ Faixa etária/ Delineamento do estudo/ nível de evidência	Objetivos	Biomarcadores salivares/ Escala para avaliação da dor	Resultados/ Conclusões
Ozdogan et al., 2019 Turquia ⁽¹⁰⁾	N= 39 Adultos ≥ 18 anos Transversal Nível de evidência: VI	Determinar as concentrações de opiorfina salivar na dor de dente.	Opiorfina Escala Visual Analógica (EVA)	Os níveis de opiorfina na saliva aumentam na dor de dente; observou-se forte correlação entre o nível de dor relatado pelo indivíduo e o nível de opiorfina na saliva. Observou-se que a extensão da inflamação afeta o nível de opiorfina.
Shaw et al., 2018 Índia ⁽²⁰⁾	N= 25 Recém-nascidos 28s à 34s/6d Ensaio clínico não controlado Nível de evidência: III	Avaliar o nível de cortisol antes e após uma sessão de fisioterapia motora em recém-nascidos.	Cortisol Premature Infant Pain Profile (PIPP)	Não houve diferença cortisol salivar após a fisioterapia motora. O escore PIPP foi maior após a fisioterapia motora, mas não houve necessidade de intervenção farmacológica. A fisioterapia motora foi bem tolerada e não resultou em estresse para o recém-nascido.
Silva Andrade et al., 2018 Brasil ⁽⁹⁾	N= 20 Adultos Idade média 17 anos Caso controle, prospectivo Nível de evidência: IV	Avaliar os níveis de biomarcadores salivares relacionados ao estresse em pacientes com aparelhos fixos em tratamento ortodôntico, comparando-os com indivíduos com mastigação normal.	Cortisol e Alfa-amilase (sAA) Escala Visual Analógica (EVA)	Verificou-se que os pacientes ortodonticos exibiram um aumento significativo no estresse emocional, detectado pela atividade da alfa-amilase após colocação do arame, quando os pacientes relataram os maiores escores de dor. O cortisol salivar basal não foi afetado pelo tratamento e o emprego de medidas endócrinas isoladas não são adequadas para prever a dor temporária nos pacientes em tratamento ortodôntico. Nenhum dos biomarcadores relacionados ao estresse foi correlacionado com os relatos de dor.
Jenkins et al., 2018 EUA ⁽²¹⁾	N= 73 Crianças 6 a 18 anos Ensaio clínico randomizado Nível de evidência: II	Avaliar as estratégias de regulação da emoção e afeto positivo em crianças com câncer expostas a procedimento doloroso experimental (cold pressor task).	Alfa-amilase (sAA) Escala de classificação numérica	As estratégias específicas de regulação da emoção, como distração e reavaliação, podem atenuar a resposta ao estresse à dor em pacientes pediátricos com câncer e modular os níveis de alfa-amilase salivar. Aponta-se que os relatos de dor comportamental nem sempre correspondem à resposta fisiológica.
Yennurajalingam et al., 2018 EUA ⁽²²⁾	N= 33 Adultos Ensaio clínico não controlado Nível de evidência: III	Determinar a viabilidade e eficácia da estimulação por eletroterapia craniana na depressão, ansiedade, distúrbios do sono e escores de dor em pacientes com câncer avançado.	Cortisol, alfa-amilase(sAA), proteína C reativa e interleucina-1β e interleucina-6 Inventário Breve de Dor (BPI)	Não houve alteração significativa dos níveis salivares de cortisol, alfa-amilase, PCR, IL-1b e IL-6 após quatro semanas de estimulação por eletroterapia craniana. O emprego da estimulação por eletroterapia craniana está associado a melhora da depressão, escores de ansiedade e gravidade da dor.
Kollmann et al., 2017 Áustria ⁽²³⁾	N= 35 Gestantes ≥ 18 anos indicação de cesárea eletiva; com ≥ 37 semanas de gestação Ensaio clínico randomizado Nível de evidência: II	Investigar o impacto do contato pele a pele precoce após cesariana na adaptação neonatal, bem como na dor materna e na resposta ao estresse.	Cortisol e Alfa-amilase (sAA) Numeric rating scales (NRS)	Descreve-se que os níveis de cortisol e alfa-amilase salivar, bem-estar (relato de náuseas e vômitos intraoperatórios) e a dor materna não diferiram entre os grupos contato pele a pele precoce e tardio.
Sobas et al., 2016 Espanha ⁽²⁴⁾	N= 34 Adultos 30 a 40 anos Observacional Nível de evidência: VI	Avaliar a variabilidade de potenciais biomarcadores para a avaliação da dor.	Cortisol, Alfa-amilase, sIgA, testosterona e sTNFαRII Numeric rating scales (NRS)	Observa-se que a sIgA e o sTNFαRII apresentaram níveis aceitáveis de reprodutibilidade em indivíduos saudáveis e que podem ser utilizados como potenciais biomarcadores salivares para avaliação da dor.
Wittwer et al., 2016 Suíça ⁽²⁵⁾	N= 27 Adultos Ensaio clínico randomizado Nível de evidência: II	Investigar os efeitos da dor aguda pelo calor na atividade da alfa-amilase salivar.	Alfa-amilase (sAA) Questionário Multidimensional de Humor (MDBF)	Constata-se uma correlação positiva dos níveis de alfa-amilase com a intensidade da dor em resposta a estímulo doloroso por calor. Sugere-se que a alfa-amilase seja um indicador fisiológico da percepção dolorosa resultante do calor.
Kim et al., 2016 Coréia do Sul ⁽²⁶⁾	N= 137 Adultos: 94 com artrite reumatoide; 43 saudáveis Caso controle Nível de evidência: IV	Avaliar a ativação do sistema de estresse e o estresse psicológico em pacientes com artrite reumatoide.	Cortisol e Alfa-amilase (sAA) Escala Visual Analógica (EVA)	Os níveis de cortisol foram maiores em pacientes com artrite reumatoide; não houve diferença dos níveis de alfa-amilase. Os resultados sugerem que a depressão é mais prevalente em pacientes com artrite reumatoide em relação ao grupo controle. Isto pode estar relacionado aos sintomas subjetivos de dor, visto que se observou correlação positiva entre os escores do Inventário de Depressão de Beck (BDI) e da escala visual analógica da dor.
Symons et al., 2015 EUA ⁽⁸⁾	N= 10 Crianças não verbais com paralisia cerebral (idade média de 9,2 anos) Observacional prospectivo Nível de evidência: VI	Avaliar a viabilidade da ressonância magnética e imunossais para identificar e comparar biomarcadores salivares relevantes em pacientes pediátricos com paralisia cerebral com e sem dor.	Citocinas, quimiocinas, hormônios e neuropeptídeos. Dalhousie Pain Interview (DPI)	Verificou-se que os níveis da maioria dos metabólitos salivares, neuropeptídeos, citocinas e hormônios foram maiores nas crianças com paralisia cerebral com dor (com base no relatório prévio dos pais) versus sem dor.
Generaal et al., 2014 Holanda ⁽²⁷⁾	N= 1125 Adultos Transversal Nível de evidência: VI	Avaliar se a disfunção no eixo HPA está associada à presença e à gravidade da dor musculoesquelética crônica.	Cortisol Chronic Pain Grade (CPG)	Observou-se hipocortisolismo na dor musculoesquelética crônica. Os autores concluíram que quando a dor crônica é acompanhada de um transtorno depressivo ou de ansiedade há mascaramento dos níveis de cortisol.
Brown et al., 2014 Austrália ⁽⁷⁾	N= 77 Crianças 4 a 13 anos Longitudinal prospectivo Nível de evidência: VI	Estabelecer se o cortisol e a alfa-amilase salivar são sensíveis à detecção de estresse durante os procedimentos de tratamento de feridas por queimaduras.	Cortisol e Alfa-amilase (sAA) Faces Pain Scale-Revised (FPS-R); Visual Analog Scale-Anxiety (VAS-A); Face, Legs, Arms, Cry, Consolability (FLACC) scale; Child Trauma Screening Questionnaire (CTSQ)	O cortisol e a alfa-amilase respondem ao estresse do procedimento para o tratamento de feridas por queimadura. Os níveis de alfa-amilase foram associados à dor e a pontuação elevada no Child Trauma Screening Questionnaire scores. Os autores indicam que o cortisol e a alfa-amilase podem ser utilizados para avaliação de estresse/dor durante a realização de curativos no tratamento de queimaduras.

Continua...

Continuação.

Autor/ Ano/ País	Número de participantes/ Faixa etária/ Delineamento do estudo/ nível de evidência	Objetivos	Biomarcadores salivares/ Escala para avaliação da dor	Resultados/ Conclusões
Cabral et al., 2013 Brasil ⁽²⁸⁾	N= 55 Recém-nascidos 30 a 39s/5d Observacional prospectivo Nível de evidência: VI	Avaliar a resposta do recém-nascido ao estresse durante o a internação na unidade de terapia intensiva neonatal.	Cortisol Neonatal Facial Coding System (NFCS)	Acredita-se que a concentração de cortisol salivar é um indicador estresse neonatal devido a resposta adrenal ao estresse durante os primeiros dias de internação. Durante a análise da atividade facial para avaliação de dor aguda, nenhuma das crianças apresentou sinais de dor, o que não significa que as crianças não estavam sob estresse.
Shibata et al., 2013 Japão ⁽²⁹⁾	N= 47 Recém-nascidos 36s/7d a 41s/3d Ensaio clínico randomizado Nível de evidência: II	Determinar se os biomarcadores salivares podem ser índices objetivos para avaliação da dor em recém-nascidos.	Cromogranina salivar (sCgA) e Alfa-amilase salivar (sAA) Neonatal Infant Pain Escala (NIPS)	Aponta-se uma elevação significativa nos escores NIPS após procedimento doloroso. Apesar das alterações nos biomarcadores salivares (sCgA ou sAA) antes e após a punção do calcânar, observou-se ampla variabilidade inter e intra-sujeitos. Os autores concluíram que estes indicadores biológicos não são adequados para avaliar a dor em recém-nascidos.
Ferrara et al., 2013 Itália ⁽³⁰⁾	N= 23 Crianças 12 com epilepsia e 11 controles (4 a 15 anos) Caso controle Nível de evidência: IV	Avaliar a percepção da dor em crianças epilépticas durante um procedimento invasivo (punção para coleta de sangue venoso) pela determinação da atividade da alfa-amilase salivar (sAA) e compará-la com a de crianças saudáveis.	Alfa-amilase (sAA) Wong-Baker faces pain rating scale; Pediatric Pain Profile (PPP)	Observou-se que crianças com epilepsia apresentam níveis elevados de alfa-amilase e maior sensibilidade à dor em relação ao grupo controle. Verificou-se uma correlação da atividade da sAA com o PPP. Os autores indicaram que a atividade da alfa-amilase pode representar um novo biomarcador, objetivo e não invasivo, para avaliação da percepção da dor em crianças com epilepsia.
Robles et al., 2012 EUA ⁽³¹⁾	N= 76 Adultos 18 a 40 anos Coorte prospectivo Nível de evidência: IV	Explorar o emprego clínico da alfa-amilase salivar (sAA) na avaliação das respostas ao estresse relacionadas à cirurgia oral de remoção eletiva do terceiro molar.	Alfa-amilase (sAA) Pain Catastrophizing Scale (PCS)	Verificou-se que os níveis de alfa-amilase foram menores durante a cirurgia e no acompanhamento pós-cirúrgico em comparação aos níveis verificados antes da remoção. Apesar da alfa-amilase não apresentar a elevação esperada pelos autores, observou-se uma relação entre resposta à dor e os níveis elevados de alfa amilase. Observou-se, ainda, que os escores PCS não foram significativamente relacionados à dor.
Goodin et al., 2012 EUA ⁽³²⁾	N= 24 Adultos 18 a 45 anos Ensaio clínico randomizado Nível de evidência: II	Avaliar se a hipnose influencia diretamente o eixo HPA e a reatividade pró-inflamatória à dor aguda/experimental (cold pressor task -CPT).	Cortisol e TNFa Escala numérica - Pain intensity (PI) e pain unpleasantness (PU)	A hipnose foi associada à redução nos escores de dor comparando-se ao controle; no entanto, não esteve associada a alterações significativas de cortisol e TNFa.
Campos et al., 2011 Brasil ⁽³³⁾	N= 20 Adolescentes e adultos jovens com idade média de 18,5 anos Transversal Nível de evidência: VI	Avaliar a correlação entre os níveis salivares de alfa-amilase e a intensidade da dor relatada pelos pacientes durante o tratamento ortodôntico de colagem de braquete e inserção de fio de arco.	Alfa-amilase (sAA) Escala Visual Analógica (EVA)	Não houve correlação entre as concentrações de alfa-amilase salivar e a intensidade da dor em pacientes em tratamento ortodôntico. Contudo, os pacientes apresentaram aumento significativo e progressivo dos níveis de alfa-amilase durante o período de avaliação que correspondeu a 21 dias, dividido em três fases: pré-tratamento (dias 1 a 7), ligação (dias 8 a 14) e inserção inicial do fio de arco (dias 15 a 21).
Kieft-de Jong et al., 2011 Holanda ⁽³⁴⁾	N= 483 Crianças 14 a 24 meses Coorte prospectivo Nível de evidência: IV	Avaliar se o ritmo diurno de cortisol e a reatividade ao estresse estão associados à constipação funcional e dor abdominal na infância.	Cortisol Abdominal Pain Index	O ritmo cortisol não diferiu entre crianças com e sem constipação e dor abdominal.
Rodríguez de Sotillo et al., 2011 EUA ⁽³⁵⁾	N= 30 Adultos Caso controle Nível de evidência: IV	Determinar se biomarcadores de estresse oxidativo avaliados na saliva e no soro em pacientes com distúrbios temporomandibulares(DTM) podem estar associados ao aumento da dor em comparação com controles saudáveis.	8-OHdG, MDA e TAS Pain intensity score (PI)	Observou-se alteração e correlação dos níveis salivares de 8-OHdG, MDA e TAS com os níveis séricos em pacientes com DTM, quando comparados aos pacientes controle. Além disso, esses biomarcadores salivares foram preditores diagnóstico da gravidade da dor. Observou-se associação significativa entre a dor e os biomarcadores oxidativos na saliva em pacientes com distúrbios temporomandibulares.
Mirrieles et al., 2010 EUA ⁽³⁶⁾	N= 105 Adultos ≥ 18 anos Transversal controlado Nível de evidência: VI	Testar a hipótese de que a artrite reumatoide influencia os níveis de biomarcadores salivares na doença periodontal.	IL1β, TNFα e MMP-8 Escala Visual Analógica (EVA)	Verificou-se os níveis salivares de IL-1β e TNF-α significativamente elevados em pacientes com artrite reumatoide que não receberam terapia com anticorpo anti-TNF-α, em comparação com aqueles que receberam terapia com anti-TNF-α e os controles saudáveis. Concluiu-se que os níveis salivares de IL-1β, MMP-8 e TNF-α são claramente influenciados pelo ambiente periodontal e por uma condição inflamatória sistêmica como a artrite reumatoide.
Bugdayci et al., 2010 Turquia ⁽³⁷⁾	N= 110 Adultos: 50 pacientes com enxaqueca 60 controles Caso controle Nível de evidência: IV	Investigar os níveis de alfa amilase salivar como ferramenta não invasiva para a avaliação da atividade do SNS em pacientes com enxaqueca durante os períodos de ataque, pós-ataque e intervalo de dor de cabeça.	Alfa-amilase (sAA) Escala Visual Analógica (EVA)	Observou-se alterações dos níveis de alfa-amilase em diferentes períodos de enxaqueca. Não houve diferença significativa nos níveis de alfa-amilase salivar entre os períodos do intervalo e o grupo controle. Observou-se que os escores da EVA não se correlacionaram com os valores de sAA realizada durante período de crise da enxaqueca.

Os estudos avaliados indicam, de modo geral, que a obtenção de saliva é fácil e a sua coleta pode ser realizada de forma não invasiva e segura para o manuseio, o que confere vantagens em relação à coleta de sangue. Portanto, existem razões convincentes para explorar o seu potencial como forma de acesso de diagnóstico e prognóstico na pesquisa da dor^(24,40) e no diagnóstico de uma variedade de patologias,^(43,44) em diferentes faixas etárias.⁽³⁹⁾

Outro ponto a ser destacado se refere à coleta das amostras de saliva, visto que o método pode variar de acordo com a faixa etária. Em pacientes adultos, a técnica de coleta está bem estabelecida, com o predomínio da utilização do Salivette®. O Salivette® é constituído por um algodão sintético acondicionado em um tubo plástico. Nesse método, os indivíduos são orientados a colocar o algodão, sob a língua ou mastigá-lo para estimular o fluxo salivar, por um período de 2 a 3 minutos. Após esse período, o paciente remove o algodão da boca e o retorna ao tubo (Salivette®). Contudo, não há um consenso na literatura sobre o melhor método para a coleta de amostras de saliva na população pediátrica, em especial na neonatal.

Observa-se uma variedade de resultados dos estudos incluídos em relação às correlações e associações entre as dosagens das moléculas salivares e os instrumentos para avaliação da dor. Observou-se uma correlação entre a dor relatada e as moléculas salivares em estudos desenvolvidos com crianças e adultos, em que foram avaliados os níveis de alfa-amilase e opiorfina, por exemplo.^(7,10,25,30) Também foi identificada associação significativa entre a dor e os biomarcadores oxidativos.⁽³⁵⁾ Por outro lado, nos demais trabalhos não foram encontradas correlações entre as moléculas salivares avaliadas e os escores de dor.⁽⁹⁾

Nos estudos incluídos, destaca-se a utilização do cortisol e da alfa-amilase para a avaliação da dor. O cortisol é o hormônio mais amplamente utilizado em pesquisas relacionadas à dor.⁽⁴⁵⁾ Já a alfa-amilase, configura-se como uma das enzimas mais importantes presentes na saliva,⁽⁴⁶⁾ que aumenta sob condições estressantes e induz a produção de catecolamina, refletindo a atividade simpática.⁽⁴⁷⁾ Isso faz com que a alfa-amilase seja um potencial biomarcador objetivo e um método não invasivo para a avaliação da dor.⁽³⁰⁾

Os resultados dos artigos incluídos nesta revisão, de modo geral, confirmam haver o aumento dos níveis da maioria dos metabólitos salivares, neuropeptídios, citocinas e hormônios frente ao estímulo potencialmente doloroso.

A alfa-amilase já vem sendo estudada desde 2013 na avaliação da dor em crianças com epilepsia, sendo utilizada como um biomarcador objetivo e não invasivo.⁽³⁰⁾ Em 2018, um estudo também avaliou o nível de alfa-amilase como biomarcador para a avaliação da dor em pacientes pediátricos com câncer, população exposta a inúmeros procedimentos dolorosos.⁽²¹⁾ Além disso, sugere-se que a alfa-amilase pode ser um indicador fisiológico da percepção subjetiva da dor pelo calor.⁽²⁵⁾ Finalmente, a alfa-amilase também pode ser utilizada para a avaliação da dor durante a realização de curativos.⁽⁷⁾

Em relação aos artigos selecionados que avaliam o cortisol salivar, pode-se observar, por exemplo, uma elevação do nível de cortisol em neonatos, como resultado da resposta psicológica e física a diferentes estímulos.⁽²⁸⁾ A correlação linear do cortisol salivar com os níveis plasmático e urinário⁽¹¹⁾ foi empregada na avaliação da dor em pacientes com artrite reumatoide, em um estudo que observou a elevação do nível de cortisol correlacionada com a intensidade da dor nas articulações.⁽²⁶⁾ Vale ressaltar que, embora haja linearidade entre as medidas da saliva, sangue e urina, a quantificação de potenciais biomarcadores salivares pode ser diferente.

Em alguns estudos, por outro lado, verificou-se que não houve correlação entre os níveis de cortisol, alfa amilase, intensidade da dor e escala para a avaliação da dor frente a um procedimento doloroso ou patologia.⁽⁹⁾ Um estudo realizado em 2013 com recém-nascidos mostrou que os estímulos dolorosos não promoveram alterações significativas nas concentrações salivares de cromogranina e alfa-amilase em recém-nascidos. Além disso, também foi identificada uma grande variabilidade inter e intra-sujeito nos níveis salivares desses indicadores biológicos, o que pode ser considerado como dificuldade no uso dessas moléculas salivares na avaliação da dor neonatal.⁽²⁹⁾

Nessa população mais vulnerável, em que exposição a procedimentos dolorosos é inevitável e, na

qual a avaliação da dor depende quase que exclusivamente da observação de aspectos comportamentais, fisiológicos e contextuais, o estabelecimento de coleta padronizada das amostras de saliva e a dosagem de biomarcadores salivares poderia favorecer o aumento da compreensão da dor e facilitar a tomada de decisão em relação à terapêutica.⁽⁸⁾ Ressalta-se que as moléculas salivares possuem potencial não somente para integrar a avaliação multidimensional da dor em recém-nascidos, mas também, para serem exploradas no prognóstico e diagnóstico de diferentes fisiopatologias relacionadas à dor em diferentes faixas etárias.^(13,43)

A introdução desse tipo de método para a avaliação e o manejo da dor pode contribuir para a prática clínica, em especial da equipe de enfermagem.^(48,49) O desenvolvimento e estabelecimento de técnicas e dispositivos consistentes e viáveis para a análise beira leito é necessário, bem como o desenvolvimento de protocolos para padronizar a avaliação das diferentes moléculas salivares que apresentam oscilação ao longo do dia e em resposta a diferentes situações.

No que se refere aos níveis de evidência dos estudos incluídos, foram predominantes os estudos descritivos ou qualitativos (oito artigos) classificados como nível de evidência VI (fracos), seguido por estudos de coorte ou caso controle bem delineados (sete artigos) classificados como nível de evidência IV (moderados); observou-se escassez de estudos de ensaio clínico controlado randomizado (cinco artigos) classificados como nível de evidência II (fortes).⁽¹⁹⁾ Esses achados reforçam a necessidade de estudos adicionais, especialmente ensaios clínicos controlados e randomizados, bem delineados e com amostras representativas, que possam melhor elucidar a relação entre biomarcadores e avaliação da dor em pacientes submetidos à procedimentos dolorosos ou portadores de patologias dolorosas. A condução de estudos adicionais poderá, ainda, fomentar novas revisões de literatura científica, incluindo revisões sistemáticas.

Em relação às limitações para a construção e desenvolvimento do estudo, aponta-se que a variabilidade dos delineamentos de estudo restringiram a exploração e a comparação dos resultados identificados. Do mesmo modo, a variabilidade das situa-

ções dolorosas e dos instrumentos de avaliação de dor não permitiram uma análise mais aprofundada e comparativa dos resultados incluídos nesta revisão.

Finalmente, não há um consenso na literatura sobre o emprego dos biomarcadores salivares para a avaliação da dor e da viabilidade dessa ferramenta de pesquisa a beira leito. Ainda assim, evidencia-se que o presente estudo contribui para a compreensão da avaliação da dor, pela identificação das principais moléculas salivares avaliadas e das técnicas empregadas para coleta da amostra de saliva. Dessa forma, futuras pesquisas para investigar a associação entre a dor e os biomarcadores salivares poderão contribuir para a melhor compreensão das características das condições dolorosas, de modo a apoiar a tomada de decisão no manejo clínico da dor.

Conclusão

Os estudos descritos nesta revisão indicam que a mensuração objetiva da dor ainda é um desafio e que a dosagem das moléculas salivares é incipiente e empregada de forma complementar na avaliação da dor em diferentes faixas etárias de indivíduo submetidos à procedimentos dolorosos ou portadores de patologias dolorosas. Os principais biomarcadores salivares descritos são o cortisol e a alfa-amilase, sendo o Salivette^a principal técnica utilizada para coleta das amostras de saliva.

Agradecimentos

Agradecimentos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro (Processo 308797/2017-5).

Colaborações

Rocha VA, Freitas P, Silva IA e Bueno M colaboraram com a concepção do projeto, análise e interpretação dos dados, redação do artigo, revisão crítica relevante do conteúdo e aprovação da versão final a ser publicada.

Referências

1. Raja SN, Carr DB, Cohen M, Finnerup NB, Flor H, Gibson S, et al. The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. *Pain*. 2020;161(9):1976-82. Review.
2. McGuire DB, Kaiser KS, Haisfield-Wolfe ME, Iyamu F. Pain assessment in noncommunicative adult palliative care patients. *Nurs Clin North Am*. 2016;51(3):397-431. Review.
3. Giordano V, Edobor J, Deindl P, Wildner B, Goerl K, Steinbauer P, et al. Pain and sedation scales for neonatal and pediatric patients in a preverbal stage of development: a systematic review. *JAMA Pediatr*. 2019;173(12):1186-97.
4. Victoria NC, Murphy AZ. Exposure to early life pain: long term consequences and contributing mechanisms. *Curr Opin Behav Sci*. 2016;7:61-68.
5. Baral P, Udit S, Chiu IM. Pain and immunity: implications for host defence. *Nat Rev Immunol*. 2019;19(7):433-47. Review.
6. Krock E, Millecamps M, Anderson KM, Srivastava A, Reihsen TE, Hari P, et al. Interleukin-8 as a therapeutic target for chronic low back pain: upregulation in human cerebrospinal fluid and pre-clinical validation with chronic reparixin in the SPARC-null mouse model. *EBioMedicine*. 2019;43:487-500.
7. Brown NJ, Kimble RM, Rodger S, Ware RS, McWhinney BC, Ungerer JP, et al. Biological markers of stress in pediatric acute burn injury. *Burns*. 2014;40(5):887-95.
8. Symons FJ, ElGhazi I, Reilly BG, Barney CC, Hanson L, Panoskaltsis-Mortari A, et al. Can biomarkers differentiate pain and no pain subgroups of nonverbal children with cerebral palsy? A preliminary investigation based on noninvasive saliva sampling. *Pain Med*. 2015;16(2):249-56.
9. Silva Andrade A, Marcon Szymanski M, Hashizume LN, Santos Mundstock K, Ferraz Goularte J, Hauber Gameiro G. Evaluation of stress biomarkers and electrolytes in saliva of patients undergoing fixed orthodontic treatment. *Minerva Stomatol*. 2018;67(4):172-8.
10. Ozdogan MS, Gungormus M, Ince Yusufoglu S, Ertem SY, Sonmez C, Orhan M. Salivary opioidorphin in dental pain: a potential biomarker for dental disease. *Arch Oral Biol*. 2019;99:15-21.
11. Okamura H, Kinoshita M, Saitsu H, Kanda H, Iwata S, Maeno Y, et al. Noninvasive surrogate markers for plasma cortisol in newborn infants: utility of urine and saliva samples and caution for venipuncture blood samples. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(10):E2020-4.
12. Cowen R, Stasiowska MK, Laycock H, Bantel C. Assessing pain objectively: the use of physiological markers. *Anaesthesia*. 2015;70(7):828-47. Review.
13. Pappa E, Kousvelari E, Vastardis H. Saliva in the "Omics" era: a promising tool in paediatrics. *Oral Dis*. 2019;25(1):16-25. Review.
14. Perry M, Tan Z, Chen J, Weidig T, Xu W, Cong XS. Neonatal pain: perceptions and current practice. *Crit Care Nurs Clin North Am*. 2018;30(4):549-61. Review.
15. Ranger M, Grunau RE. Early repetitive pain in preterm infants in relation to the developing brain. *Pain Manag*. 2014;4(1):57-67. Review.
16. Walker SM, Melbourne A, O'Reilly H, Beckmann J, Eaton-Rosen Z, Ourselin S, et al. Somatosensory function and pain in extremely preterm young adults from the UK EPICure cohort: sex-dependent differences and impact of neonatal surgery. *Br J Anaesth*. 2018;121(3):623-35.
17. Mendes KD, Silveira RC, Galvão CM. Revisão integrativa: método de pesquisa para a incorporação de evidências na saúde e na enfermagem. *Texto Contexto Enferm*. 2008;17(4):758-64.
18. Costa Santos CM, Mattos Pimenta CA, Nobre MR. The PICO strategy for the research question construction and evidence search. *Rev Lat Am Enfermagem*. 2007;15(3):508-11.
19. Melnyk BM, Fineout-Overholt E. Evidence-based practice in nursing & healthcare: a guide to best practice. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2011. v.1, p. 3-24.
20. Shaw SC, Sankar MJ, Thukral A, Agarwal R, Deorari AK, Paul VK. Assisted physical exercise and stress in preterm neonates. *Indian Pediatr*. 2018;55(8):679-82.
21. Jenkins BN, Granger DA, Roemer RJ, Martinez A, Torres TK, Fortier MA. Emotion regulation and positive affect in the context of salivary alpha-amylase response to pain in children with cancer. *Pediatr Blood Cancer*. 2018;65(6):e26973.
22. Yennurajalingam S, Kang DH, Hwu WJ, Padhye NS, Masino C, Dibaj SS, et al. Cranial electrotherapy stimulation for the management of depression, anxiety, sleep disturbance, and pain in patients with advanced cancer: a preliminary study. *J Pain Symptom Manage*. 2018;55(2):198-206.
23. Kollmann M, Aldrian L, Scheuchenegger A, Mautner E, Herzog SA, Urlesberger B, et al. Early skin-to-skin contact after cesarean section: A randomized clinical pilot study. *PLoS One*. 2017;12(2):e0168783.
24. Sobas EM, Reinoso R, Cuadrado-Asensio R, Fernández I, Maldonado MJ, Pastor JC. Reliability of potential pain biomarkers in the saliva of healthy subjects: inter-individual differences and intersession variability. *PLoS One*. 2016;11(12):e0166976.
25. Wittwer A, Krummenacher P, La Marca R, Ehrlert U, Folkers G. Salivary alpha-amylase correlates with subjective heat pain perception. *Pain Med*. 2016;17(6):1131-6.
26. Kim HA, Jeon JY, Koh BR, Park SB, Suh CH. Salivary cortisol levels, but not salivary α -amylase levels, are elevated in patients with rheumatoid arthritis irrespective of depression. *Int J Rheum Dis*. 2016;19(2):172-7.
27. Generaal E, Vogelzangs N, Macfarlane GJ, Geenen R, Smit JH, Penninx BW, et al. Reduced hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in chronic multi-site musculoskeletal pain: partly masked by depressive and anxiety disorders. *BMC Musculoskelet Disord*. 2014;15:227.
28. Cabral DM, Antonini SR, Custódio RJ, Martinelli CE Jr, da Silva CA. Measurement of salivary cortisol as a marker of stress in newborns in a neonatal intensive care unit. *Horm Res Paediatr*. 2013;79(6):373-8.
29. Shibata M, Kawai M, Matsukura T, Heike T, Okanoya K, Myowa-Yamakoshi M. Salivary biomarkers are not suitable for pain assessment in newborns. *Early Hum Dev*. 2013;89(7):503-6.
30. Ferrara P, Bottaro G, Angeletti S, Gatto A, Vitelli O, Battaglia D, et al. Salivary alpha-amylase: a new non-invasive biomarker for assessment of pain perception in epileptic children. *Acta Neurol Belg*. 2013;113(3):279-83.
31. Robles TF, Sharma R, Park KS, Harrell L, Yamaguchi M, Shetty V. Utility of a salivary biosensor for objective assessment of surgery-related stress. *J Oral Maxillofac Surg*. 2012;70(10):2256-63.
32. Goodin BR, Quinn NB, Kronfli T, King CD, Page GG, Haythornthwaite JA, et al. Experimental pain ratings and reactivity of cortisol and soluble tumor necrosis factor- α receptor II following a trial of hypnosis: results of a randomized controlled pilot study. *Pain Med*. 2012;13(1):29-44.
33. Campos MJ, Raposo NR, Ferreira AP, Vitral RW. Salivary alpha-amylase activity: a possible indicator of pain-induced stress in orthodontic patients. *Pain Med*. 2011;12(8):1162-6.

34. Kieft-de Jong JC, Saridjan NS, Escher JC, Jaddoe VW, Hofman A, Tiemeier H, et al. Cortisol diurnal rhythm and stress reactivity in constipation and abdominal pain: the Generation R Study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2011;53(4):394-400.
35. Rodríguez de Sotillo D, Velly AM, Hadley M, Friction JR. Evidence of oxidative stress in temporomandibular disorders: a pilot study. *J Oral Rehabil.* 2011;38(10):722-8.
36. Mirrieles J, Crofford LJ, Lin Y, Kryscio RJ, Dawson DR 3rd, Ebersole JL, et al. Rheumatoid arthritis and salivary biomarkers of periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2010;37(12):1068-74.
37. Buggayci G, Yıldız S, Altunrende B, Yıldız N, Alkoy S. Salivary alpha amylase activity in migraine patients. *Auton Neurosci.* 2010;155(1-2):121-4.
38. Pölkki T, Korhonen A, Laukkala H. Nurses' perceptions of pain assessment and management practices in neonates: a cross-sectional survey. *Scand J Caring Sci.* 2018;32(2):725-33.
39. Hassaneen M, Maron JL. Salivary diagnostics in pediatrics: applicability, translatability, and limitations. *Front Public Health.* 2017;5:83. Review.
40. Jasim H, Ghafouri B, Carlsson A, Hedenberg-Magnusson B, Ernberg M. Daytime changes of salivary biomarkers involved in pain. *J Oral Rehabil.* 2020;47(7):843-50.
41. Pedersen AM, Sørensen CE, Proctor GB, Carpenter GH, Ekström J. Salivary secretion in health and disease. *J Oral Rehabil.* 2018;45(9):730-46. Review.
42. Kaczor-Urbanowicz KE, Martin Carreras-Presas C, Aro K, Tu M, Garcia-Godoy F, Wong DT. Saliva diagnostics - current views and directions. *Exp Biol Med (Maywood).* 2017;242(5):459-42. Review.
43. Zhang CZ, Cheng XQ, Li JY, Zhang P, Yi P, Xu X, et al. Saliva in the diagnosis of diseases. *Int J Oral Sci.* 2016;8(3):133-7. Review.
44. Katsani KR, Sakellari D. Saliva proteomics updates in biomedicine. *J Biol Res (Thessalon).* 2019;26:17. Review.
45. Pourkaviani S, Zhang X, Spear EA, D'Agostino M, Satty RE, Liu SH, et al. Clinical validation of the Neonatal Infant Stressor Scale with preterm infant salivary cortisol. *Pediatr Res.* 2020;87(7):1237-43.
46. Ali N, Nater UM. Salivary alpha-amylase as a biomarker of stress in behavioral medicine. *Int J Behav Med.* 2020;27(3):337-42.
47. Strahler J, Skoluda N, Kappert MB, Nater UM. Simultaneous measurement of salivary cortisol and alpha-amylase: Application and recommendations. *Neurosci Biobehav Rev.* 2017;83:657-77. Review.
48. Salomon RE, Tan KR, Vaughan A, Adynski H, Muscatell KA. Minimally-invasive methods for examining biological changes in response to chronic stress: a scoping review. *Int J Nurs Stud.* 2020;103:103419. Review.
49. Alexander SA, Kalmakis K, Stewart Fahs PS, Groth SW, Chasens ER. Biological markers in nursing research. *J Nurs Meas.* 2017;25(2):275-91. Review.