



ConScientiae Saúde

ISSN: 1677-1028

ISSN: 1983-9324

conscientiaesaude@uninove.br

Universidade Nove de Julho

Brasil

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

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

ConScientiae Saúde, vol. 17, núm. 4, 2018, Octubre-Diciembre, pp. 395-401

Universidade Nove de Julho

São Paulo, Brasil

DOI: <https://doi.org/10.5585/ConsSaude.v17n4.8547>

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=92958955004>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica Redalyc

Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso
abierto

Existe associação entre α -amilase salivar, escala hospitalar de ansiedade e depressão e autorrelato em estudantes com sintomas de ansiedade?

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

Caroline de Castro Moura¹; Erika de Cássia Lopes Chaves²; Ana Carolina Vieira Bemfica³; Isadora Victorino da Silva³; Carla Rodrigues Gama Ribeiro²; Leonardo Cesar Carvalho^{3,4}; Denise Hollanda Iunes^{2,3,4}; Adriana Teresa Silva Santos^{3,4}; Andréia Maria Silva Vilela Terra^{3,4}

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

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

³ Instituto de Ciências da Motricidade - UNIFAL-MG. Alfenas, MG - Brasil.

⁴ 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 Efigênia 30130-100 - Belo Horizonte, Minas Gerais [Brasil]
carol_castro_m@hotmail.com

Resumo

Objetivo: Verificar se existe associação entre a α -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 α -amilase salivar por meio do dispositivo Cocoro Meter®. Os dados foram analisados por meio do teste de qui-quadrado. **Resultados:** Não houve associação entre α -amilase salivar e a Escala Hospitalar de Ansiedade e Depressão ($p=0,51$), nem entre a α -amilase salivar e o autorrelato de ansiedade ($p=0,51$), o que indica que o biomarcador não produz resposta dessas duas variáveis ao mensurar a ansiedade. **Conclusão:** O biomarcador α -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 α -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 α -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 α -amylase and the Hospital Anxiety and Depression Scale ($p = 0.51$), and neither between the salivary α -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 α -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-amylases; Students; Universities.

Introdução

A ansiedade pode ser considerada como uma reação emocional normal a determinadas situações da vida¹, que envolve componentes psicológicos e fisiológicos², 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 transtorno³. Atinge cerca de 3,6% da população mundial e 9,3% da população brasileira⁴.

Devido às profundas transformações sociais, econômicas e culturais ocorridas nos últimos anos, a ansiedade tem se tornado cada mais frequente^{5,6}. 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 outros².

Os estudantes universitários são um exemplo de população em que a ansiedade está presente em médios e altos níveis⁷. 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 tratamento⁸.

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 utilizado⁸, em vários contextos, como no ambiente universitário⁹, 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 físicas⁹.

A utilização de marcadores biológicos também auxilia na maior fidedignidade da avaliação da ansiedade. Dentre estes, evidencia-se a enzima α -amilase salivar, que tem sido proposta como um marcador de estresse psicológico¹⁰. Em situações de estresse agudo, o sistema nervoso autônomo estimula a secreção dessa enzima, pelas glândulas salivares, diretamente na boca¹¹, o que possibilita sua mensuração imediata.

Atualmente, um equipamento utilizado para realizar a mensuração da α -amilase salivar em pessoas com alterações de humor é o Cocoro Meter® (Nipro Co., Osaka, Japan)¹²⁻¹⁴. 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 α -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 Saúde¹⁵.

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 ≥ 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 etilistas¹⁶, praticantes de atividade física há seis meses¹⁷, 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 α -amilase salivar, pelo Cocoro Meter® (Nipro Co., Osaka, Japan).

A HAD¹⁸ foi validada em cenário brasileiro em vários contextos¹⁹⁻²². 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 ≥ 12 pontos para classificar a presença de ansiedade nos estudantes. Essa escala é um instrumento muito utilizado⁸, já testado em ambiente universitário⁹.

Como a ansiedade também possui uma natureza subjetiva, com várias características afetivas, como angústia, apreensão, desamparo, incerteza, irritabilidade, medo, nervosismo, dentre outras², 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 α -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 α -amilase salivar. Destaca-se que a concentração de α -amilase salivar aumenta quanto maior o nível de estresse²³. Foram considerados valores maiores que 30 kU/l para indivíduos com ansiedade²³.

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 α -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
Tratamento	Elevado	22,4
	Sim	14,92
Tipo de tratamento	Não	85,07
	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 α -amilase salivar, expressas em porcentagem. Observa-se que não houve diferença estatística entre os percentu-

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

A tabela 3 apresenta a associação entre o autorrelato de ansiedade e a α -amilase salivar, expressas em percentagem. 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 destaca⁷. 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 universitário⁹. 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 α -amilase, que representa a atividade do sistema nervoso autônomo simpático^{10,24-25}. Contudo, no presente estudo, a α -amilase salivar mensurada pelo

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

α -AMILASE			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 α -amilase salivar. Alfenas, Brasil, 2018. (n=67)

α -AMILASE			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[®] não produziu resposta semelhante às outras variáveis mensuradas.

De fato, no presente estudo, a α -amilase salivar, mensurada pelo Cocoro Meter[®], 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[®] (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 transversal⁹ 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 α -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 α -amilase salivar também foi elevado (valores maiores que 30)²³, 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 perigo². Somente o paciente conhece o quanto 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 estudo⁵, 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 clínica²⁶. Assim, como a α -amilase salivar não foi equiparável aos resultados da autoavaliação, pode-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 α -amilase salivar foi feita uma única vez; alguns pesquisadores sugerem de três a quatro medições consecutivas antes, durante e após a ocorrência do evento estressante¹⁴.

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 α -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

1. Rosen JB, Schulkin J. From Normal Fear to Pathological Anxiety. *Psychol Rev.* 1998;105(2):325-50.
2. Herdman TH, Kamitsuru S (org). Diagnósticos de Enfermagem da NANDA: definições e classificações 2018-2020. 11 ed. Porto Alegre: Artmed, 2015, 488p.
3. 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.
4. World Health Organization (WHO). Depression and Other Common Mental Disorders: Global Health Estimates. Geneva, 2017.
5. Bandelow B, Michaelis S. Epidemiology of Anxiety Disorders in the 21st Century. *Dialogues Clin Neurosci.* 2015;17(3):327-35.
6. Pinto JC, Martins P, Pinheiro TB, Oliveira AC. Ansiedade, depressão e estresse: um estudo com jovens adultos e adultos portugueses. *Psic Saúde e Doenças.* 2015;16(2):148-63. DOI: 10.15309/15psd160202.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. 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
12. Vineetha R, Pai K-M, Vengal M, Gopalakrishna K, Narayananakurup 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
13. Koibuchi, E, Suzuki Y. Exercise Upregulates Salivary Amylase in Humans (Review). *Exp Ther Med.* 2014;7:773-7. DOI:10.3892/etm.2014.1497
14. 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.
15. 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.
16. 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.
17. Lopes AP, Rezende MM. Ansiedade e consumo de substâncias psicoativas em adolescentes. *Estud. Psicol.* 2013;30(1):49-56. DOI:10.1590/S0103-166X2013000100006.
18. 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.
19. Zigmond AS, Snaith RP. The Hospital Anxiety and Depression Scale. *Acta Psychiatr Scand Suppl.* 1983;67(6):361-70.
20. 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
21. Botega NJ, Ponde MP, Medeiros P, Lima MG, Guerreiro CAM. Validação da escala hospitalar de ansiedade e depressão (HAD) em pacientes epilépticos 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. Anestesiol.* 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 Anestesiol.* 2007;57(1): 52-62.
24. Jafari A, Pouramir M, Shirzad A, Motallebnejad 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, Tantra AJ. The Comparison of Salivary 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.