

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO
Curso de Biomedicina

Nicole Possani Castelli
Sabrina Yumi Hori

RI-07

**Teste rápido para avaliação do estresse: desenvolvimento de um aparelho
acessível**

São Paulo
2024

Nicole Possani Castelli
Sabrina Yumi Hori

**Teste rápido para avaliação do estresse: desenvolvimento de um aparelho
acessível**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Biomedicina do Centro Universitário São Camilo, orientado pelo Prof. Dr. Ronaldo Luis da Silva como requisito parcial à obtenção do título de conclusão do curso de Biomedicina.

São Paulo
2024

DEDICATÓRIA

Nicole Possani Castelli

Dedico este trabalho a todos que caminharam ao meu lado ao longo desta jornada, oferecendo apoio, carinho e dedicação. À minha mãe, que, com sua luz e amor, coloriu até os momentos mais cinzentos, sendo meu refúgio e força em todos os instantes. Ao meu pai, cujo exemplo de perseverança e sabedoria me inspira a buscar a melhor versão de mim dia após dia. À minha família, minha base, que me sustentou com carinho em cada dificuldade enfrentada. E claro, aos meus amigos: aos de longa data, por serem meu porto seguro todos os dias, e aos colegas de faculdade, que tornaram esses últimos quatro anos ainda mais especiais com muita alegria e parceria. A todos vocês, meu mais sincero agradecimento. Eu não poderia ser mais grata por tê-los em minha vida.

Sabrina Yumi Hori

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, que me fortaleceu ao longo dessa jornada, iluminando meu caminho e me guiando nos momentos de dificuldade. Sem sua presença constante, eu não teria alcançado este objetivo. Aos meus pais, pelo amor incondicional, apoio e ensinamentos que me moldaram e me fizeram ser quem sou hoje. Este trabalho é apenas uma parte de tudo que vocês me proporcionaram, e sou eternamente grata por serem meu alicerce. À minha família, pelo carinho e compreensão, ter vocês na minha vida é um privilégio. Às minhas melhores amigas, por cada palavra de incentivo, por me ouvirem quando eu mais precisava e por acreditarem no meu potencial, não haveria pessoas mais incríveis ao meu lado. E, por fim, a todos que me motivaram ao longo desse trabalho, meu mais sincero agradecimento.

AGRADECIMENTOS

A realização deste Trabalho de Conclusão de Curso não teria sido possível sem o apoio de várias pessoas, às quais manifestamos nossos sinceros agradecimentos. Primeiramente, agradecemos ao Professor Doutor Ronaldo Luis da Silva, pela orientação, paciência e dedicação ao longo de todo o processo de elaboração deste trabalho. Sua expertise, conselhos e incentivo foram fundamentais não apenas para o nosso crescimento acadêmico e pessoal, mas também para a construção deste projeto.

Gostaríamos também de expressar nossa profunda gratidão ao Centro Universitário São Camilo e a todos os professores do curso de Biomedicina, que, ao longo dos quatro anos de graduação, nos proporcionaram muito mais do que conhecimento técnico. Foram eles que nos inspiraram, motivaram e nos prepararam para os desafios da profissão, permitindo que chegássemos até aqui com confiança e competência.

RESUMO

Castelli, N. P.; Hori, S. Y. **Teste rápido para avaliação do estresse: desenvolvimento de um aparelho acessível**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biomedicina) – Centro Universitário São Camilo. São Paulo, p. XX. 2024.

O presente trabalho de conclusão de curso aborda a relevância do estresse na saúde mental e física, destacando suas consequências e a importância da identificação precoce de seus sinais. Embora o estresse seja uma resposta fisiológica normal, sua cronicidade pode gerar uma série de problemas de saúde, devido à complexa interação com diversos sistemas, como o sistema imunológico, o sistema nervoso autônomo e o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Essas interações podem impactar negativamente no bem-estar do indivíduo quando não equilibradas. Neste contexto, o projeto propõe o desenvolvimento de um teste rápido de avaliação do estresse, que se destaca como um recurso inovador e acessível, com o objetivo de fomentar o autoconhecimento do público leigo sobre o seu estado de estresse. Além disso, o teste pode servir como um coadjuvante na avaliação clínica. Assim, o objetivo deste trabalho foi criar um dispositivo que permite uma avaliação rápida da presença ou ausência de estresse, utilizando biomarcadores amplamente reconhecidos e estudados, associados ao estresse agudo ou crônico. A primeira etapa do projeto consistiu em identificar, por meio de uma revisão de literatura baseada em 113 revisões publicadas entre 2008 e 2023, os biomarcadores comumente ligados ao estresse. Durante esse levantamento, foram identificados oito biomarcadores principais: cortisol, glicose, interleucina 6, interleucina 1 β , noradrenalina, fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), dehidroepiandrosterona (DHEA) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α). Posteriormente, foram definidos os valores de referência para cada biomarcador com base nos estudos revisados, diferenciando os valores observados em pessoas saudáveis daqueles com níveis elevados de estresse. Nessa etapa, os biomarcadores BDNF e DHEA foram excluídos devido à escassez de informações consistentes na literatura. Por fim, para a montagem do dispositivo, optou-se pelo uso de um teste de fluxo lateral, por ser um método rápido, eficaz e capaz de atender aos requisitos dos biomarcadores selecionados. Embora sejam necessárias outras etapas para a futura comercialização do produto, este trabalho representa uma iniciativa que busca criar um teste que auxilie no autodiagnóstico de estresse para o público leigo e que, simultaneamente, possa complementar em uma avaliação clínica para promoção da saúde pública. Assim, espera-se contribuir para a prevenção de doenças relacionadas ao estresse e para uma confiabilidade maior no diagnóstico clínico.

Palavras-chaves: Estresse; Biomarcadores; Teste rápido; eixo HPA

ABSTRACT

Castelli, N. P.; Hori, S. Y. **Rapid Test for Stress Assessment: Development of an Accessible Device**. Bachelor's Thesis (Biomedical Sciences) – São Camilo University Center. São Paulo, p. XX. 2024.

This final project addresses the relevance of stress to mental and physical health, highlighting its consequences and the importance of early identification of its signs. Although stress is a normal physiological response, its chronicity can generate a series of health problems, due to the complex interaction with several systems, such as the immune system, the autonomic nervous system and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. These interactions can negatively impact the individual's well-being when not balanced. In this context, the project proposes the development of a rapid stress assessment test, which stands out as an innovative and accessible resource, with the objective of promoting self-knowledge of the lay public about their state of stress. In addition, the test can serve as an adjunct in clinical evaluation. Thus, the objective of this work was to create a device that allows a rapid assessment of the presence or absence of stress, using widely recognized and studied biomarkers, associated with acute or chronic stress. The first stage of the project consisted of identifying, through a literature review based on 113 reviews published between 2008 and 2023, the biomarkers commonly linked to stress. During this survey, eight main biomarkers were identified: cortisol, glucose, interleukin 6, interleukin 1 β , norepinephrine, brain-derived neurotrophic factor (BDNF), dehydroepiandrosterone (DHEA) and tumor necrosis factor alpha (TNF- α). Subsequently, reference values for each biomarker were defined based on the reviewed studies, differentiating the values observed in healthy individuals from those with high levels of stress. At this stage, the biomarkers BDNF and DHEA were excluded due to the lack of consistent information in the literature. Finally, to assemble the device, it was decided to use a lateral flow test, as it is a fast, effective method capable of meeting the requirements of the selected biomarkers. Although further steps are needed for the future commercialization of the product, this work represents an initiative that seeks to create a test that assists in the self-diagnosis of stress for the lay public and that, simultaneously, can complement a clinical evaluation to promote public health. Thus, it is expected to contribute to the prevention of stress-related diseases and to greater reliability in clinical diagnosis.

Keywords: Stress; Biomarkers; Rapid Test; HPA Axis

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	CONTEXTO DO PROJETO	13
3	OBJETIVOS	17
3.1	Objetivo Geral	17
3.2	Objetivos Específicos	17
4	JUSTIFICATIVA.....	18
5	ETAPAS DO PROJETO	19
5.1	Etapa 1.....	19
5.1.1	Objetivo da Etapa 1	19
5.1.2	Desenvolvimento da Etapa 1	19
5.1.3	Considerações e reflexões da Etapa 1	20
5.1.4	Citações da bibliografia da Etapa 1	20
5.2	Etapa 2.....	32
5.2.1	Objetivo da Etapa 2	32
5.2.2	Desenvolvimento da Etapa 2.....	32
5.2.3	Considerações e reflexões da Etapa 2	32
5.3	Etapa 3.....	33
5.3.1	Objetivo da etapa.....	33
5.3.2	Desenvolvimento da Etapa 3.....	33
5.3.3	Considerações e reflexões da Etapa 3	35
5.3.4	Citações da bibliografia da Etapa 3	35
5.4	Etapa 4.....	38
5.4.1	Objetivo da Etapa 4	38
5.4.2	Desenvolvimento da Etapa 4.....	38
5.4.3	Considerações e reflexões da Etapa 4	40
5.4.4	Citações da bibliografia da Etapa 4	40
5.5	Etapa 5.....	42
5.5.1	Objetivo da Etapa 5	42
5.5.2	Desenvolvimento da Etapa 5.....	42
5.5.3	Considerações e reflexões da Etapa 5	43
5.5.4	Citações da bibliografia da Etapa 5	44

5.6	Perspectiva de Desenvolvimento Futuro.....	45
5.6.1	Objetivo	45
5.6.2	Desenvolvimento	45
5.6.3	Considerações e reflexões	46
5.6.4	Citações da bibliografia	46
6	PRODUTO FINAL	48
7	CONCLUSÃO	49
	REFERÊNCIAS	50

1 INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) o termo estresse pode ser definido como um estado de preocupação ou tensão mental causado por uma situação difícil. É uma resposta humana natural que nos leva a enfrentar desafios e a forma como respondemos é um diferencial para o nosso bem-estar¹. A introdução do termo na biologia foi realizada por Hans Selye, um renomado médico e pesquisador austro-húngaro, reconhecido amplamente como o pioneiro da pesquisa sobre estresse. Nascido em 1907, Selye dedicou grande parte de sua vida ao estudo dos efeitos do estresse no corpo humano e foi o próprio quem cunhou o termo "estresse" em sua forma moderna e desenvolveu a teoria da "Síndrome Geral de Adaptação", que descreve as respostas fisiológicas do organismo diante de estímulos estressantes. Sua pesquisa revolucionária lançou as bases para uma compreensão mais profunda dos mecanismos biológicos do estresse e suas implicações para a saúde. A teoria da Síndrome Geral de Adaptação descreve três fases pelas quais o organismo passa em resposta ao estresse. A primeira fase é a de alarme, onde as defesas do corpo são ativadas para lidar com o estímulo estressante recém-detectado. Em seguida, na fase de resistência, o organismo se adapta ao estresse contínuo, mantendo suas defesas em níveis elevados para enfrentar a demanda persistente. Por fim, na fase de exaustão, os recursos do corpo são esgotados devido à exposição prolongada ao estresse, aumentando o risco de doenças e diminuindo a capacidade de adaptação².

Em uma reportagem realizada pela emissora Globo e publicada no site da G1, 2020, período em que se deu início a pandemia da COVID-19, foi o ano com maior índice de estresse nos últimos 15 anos, já que a doença resultou em perda de emprego, diminuição do salário, perda de pessoas e por isso houve o aumento de sentimentos como: preocupação, tristeza e raiva durante esse período³. Esse ano, 2024, a revista VEJA também publicou uma matéria referente ao estresse intitulada "A revolta do estresse", que aborda o fato de estarmos condicionados ao estresse diário. Logo, durante uma pausa para descanso nosso corpo não sabe como reagir ao excesso de adrenalina e cortisol que estava sendo produzida, e por isso tendemos a ficar doentes⁴. Outra reportagem feita pela CNN Brasil descreve o que todos deveriam saber sobre o estresse, de acordo com a Dra. Leana Wen, médica de emergência e

professora associada adjunta da Universidade George Washington: - “Quando as pessoas vivenciam algo percebido como uma ameaça, uma variedade de hormônios liberados faz o coração bater mais rápido e aumentar a pressão arterial e o açúcar no sangue. Esses hormônios também desviam a energia de outras partes do corpo, como o sistema imunológico e o sistema digestivo [...]”. O problema surge quando a resposta do corpo ao estresse é contínua. Um estado perpétuo de ‘lutar ou fugir’ pode levar a muitos problemas crônicos. Os indivíduos podem sentir ansiedade, depressão e outras doenças relacionadas à saúde mental. Eles também podem ter dores de cabeça, tensão muscular, dor abdominal, distúrbios do sono, diminuição da imunidade a infecções e problemas de memória e concentração”⁵.

O estresse pode manifestar-se de forma aguda ou crônica, dependendo da intensidade e duração. O estresse agudo surge como uma resposta imediata a uma ameaça percebida, desencadeando uma resposta fisiológica temporária que, geralmente, é seguida por um período de relaxamento após o evento, com duração de minutos a horas. Fisiologicamente, são observadas alterações como aumento da frequência cardíaca e respiratória, ativação do sistema imunológico, maior fluxo sanguíneo cerebral e aumento da utilização de glicose, além de vasoconstrição. Em contrapartida, no estresse crônico, esses sintomas persistem por dias, semanas ou meses, o que pode resultar no desenvolvimento de outras doenças a longo prazo⁶.

A resposta fisiológica ao estresse está intimamente ligada à ativação do eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal (HHA) e do Sistema Nervoso Autônomo Simpático (SNA). A ativação do eixo HPA se inicia com a transmissão de impulsos nervosos originados pelo estresse até o hipotálamo, atuando imediatamente sobre o sistema nervoso autônomo para que haja uma reação contra o agente estressor. Em resposta, o hipotálamo secreta o hormônio liberador de corticotrofina (CRH), que percorre o sistema porta-hipotálamo-hipofisário até a hipófise anterior, estimulando a liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) na corrente sanguínea. O ACTH atinge o córtex adrenal e induz a secreção de glicocorticoides, como cortisol e aldosterona, dando destaque ao cortisol que desempenha um papel fundamental no aumento da glicose sanguínea por meio da gliconeogênese, além de atuar no catabolismo de proteínas⁷.

A ativação do SNA resulta na secreção de acetilcolina, que estimula a medula adrenal a liberar epinefrina e norepinefrina na corrente sanguínea. Essas catecolaminas, em conjunto, promovem o aumento da frequência cardíaca, aumento do fluxo sanguíneo para os músculos, e a também elevação da glicemia, contribuindo para a melhora do desempenho físico e mental durante situações de estresse, especialmente em um cenário de "luta ou fuga". Enquanto a ativação do SNA proporciona uma resposta adaptativa imediata, o eixo HPA oferece uma resposta mais lenta e prolongada⁷.

Já foi descrito na literatura que a hiperatividade do eixo HPA em pacientes com depressão maior, por exemplo, possui um aumento nas concentrações de cortisol no plasma, na urina e no fluido cefalorraquidiano (LCR), resposta exagerada de cortisol após estimulação com hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e aumento tanto da hipófise como das glândulas adrenais⁸.

A finalização da resposta ao estímulo estressor, denominada em inglês como *recovery*, no estresse agudo, ocorre por meio do controle do eixo HPA através de mecanismos de retroalimentação negativa. Caso essa estimulação do eixo não seja interrompida a longo prazo, algumas patologias podem se desenvolver, exemplos incluem: doenças cardiovasculares, ansiedade, depressão e até mesmo uma maior suscetibilidade a infecções e outras doenças, devido à imunossupressão, como fora mencionado anteriormente⁹.

Além do eixo HPA e do SNA, outro sistema relacionado ao estresse que vale a pena mencionar é o sistema alostático, responsável pela capacidade do organismo de manter a estabilidade interna por meio de adaptações às mudanças. Esse sistema é crucial para a resposta ao estresse, ajustando os sistemas fisiológicos para lidar com as demandas impostas pelo estressor. No entanto, quando o corpo não consegue retornar à homeostase após um evento estressante, ele fica exposto à chamada "carga alostática". A sobrecarga desse sistema pode resultar em danos à saúde. Quando o agente estressor permanece ativo, o organismo tende a aumentar sua resistência, adaptando-se à sobrecarga para alcançar um novo estado de equilíbrio. No entanto, com esse novo nível de equilíbrio alterado, uma situação que anteriormente demandava pouco do organismo pode agora provocar uma resposta mais intensa¹⁰.

É perceptível que diariamente situações estressantes cercam a vida de milhões de pessoas, e esse estresse deixa marcas que muitas vezes podem ser confundidas por apenas uma péssima noite de sono, pela cefaléia matinal ou o “almoço estragado” que causou desconfortos abdominais com início de gastrites. Estes são, muitas vezes, os primeiros sinais do estresse crônico que pode impactar profundamente a saúde física e mental se não for diagnosticado antecipadamente e tratado adequadamente.

A saúde mental, durante muito tempo, foi estigmatizada na sociedade devido à dificuldade de compreensão e diagnóstico, os quais são subjetivos e requerem uma avaliação multidimensional. Hoje, sabemos que o estresse é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de transtornos mentais e outras patologias. Dado o conhecimento acumulado sobre biomarcadores específicos para o estresse, por que não investir em sua identificação e quantificação de forma mais sistemática?

2 CONTEXTO DO PROJETO

Atualmente, pautas sobre saúde mental são de alta relevância na sociedade, sendo cada vez mais reconhecidas como fundamentais para o bem-estar pleno. Nesse contexto, nosso trabalho de conclusão de curso é dedicado à elaboração de um teste rápido capaz de avaliar o estresse. Conforme abordado na introdução, as consequências dessa resposta fisiológica a longo prazo podem acarretar futuros transtornos mentais como ansiedade e depressão. Como futuras biomédicas, sentimos a responsabilidade de pesquisar e desenvolver soluções que ajudem a sociedade a evitar ou minimizar danos à saúde.

Embora já existam outros métodos de avaliação do estresse, como questionários, dosagem de cortisol e dosagem de metabólitos urinários de catecolaminas, o teste proposto busca se destacar por ser mais acessível, prático e rápido. Nosso dispositivo utiliza um teste de fluxo lateral, que é um método de fácil interpretação, permitindo que indivíduos leigos obtenham um diagnóstico mais confiável para o estresse sem necessidade de equipamentos laboratoriais complexos. Além disso, ele combina múltiplos biomarcadores, ampliando a sensibilidade e a precisão do diagnóstico já que o teste considera diferentes aspectos fisiológicos do estresse para sua avaliação.

O teste também apresenta o diferencial de poder ser usado em ambientes variados, como por exemplo em empresas, para monitorar e gerenciar o estresse dos funcionários, já que ambientes de trabalho que passam a realizar essa monitoração tendem a ser locais mais saudáveis e produtivos. Ao reduzir os níveis de estresse, é possível aumentar a satisfação e o bem-estar dos colaboradores, promovendo maior motivação, criatividade e eficiência. Dessa forma, o teste proposto é adequado para diversos contextos além do uso individual.

Diante disso, o teste avaliará o estresse de forma qualitativa e quantitativa, por meio dos biomarcadores mais investigados na atualidade. A princípio foram selecionados 8 biomarcadores mais prevalentes dentre todas as revisões e estudos lidos, sendo eles: cortisol, glicose, interleucina 6, interleucina 1 β , noradrenalina, TNF - α , hormônio BDNF (Fator neurótico derivado do cérebro) e por fim hormônio DHEA

(Desidroepiandrosterona), cada um deles possuindo uma participação em nosso organismo durante uma situação de estresse.

Durante a ruptura da homeostase, recapitulando o que fora abordado na introdução, os neurônios do núcleo paraventricular do hipotálamo aumentam a liberação do fator liberador de corticotrofina (CRF), que estimula a Hipófise a produzir e liberar o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) na corrente sanguínea. O ACTH, por sua vez, induz a síntese de glicocorticoides pelas glândulas adrenais, entre eles o cortisol, um dos principais biomarcadores que utilizaremos no teste e conhecido como hormônio do estresse. O eixo HPA também apresenta um importante mecanismo de regulação chamado retroalimentação negativa, o qual o ACTH inibe a produção de CRH, enquanto o cortisol inibe tanto o CRH quanto o ACTH, controlando seus próprios níveis no organismo. Isso é essencial para evitar a ativação excessiva da resposta ao estresse e garantir o equilíbrio fisiológico. Quando a retroalimentação negativa falha ou é ineficiente, há maiores chances de ocorrer desequilíbrios que resultam em danos¹¹.

Além disso, a ativação do sistema nervoso autônomo simpático (SNAs) leva as glândulas adrenais a secretarem noradrenalina, que, juntamente com a adrenalina, estimula as células hepáticas a liberarem glicose para fornecer energia¹².

Esse mecanismo é particularmente importante, pois já foi demonstrado que pacientes deprimidos frequentemente apresentam hiperinsulinemia e hiperglicemia, devido ao aumento exacerbado de glicose, consequência da ativação excessiva deste sistema. De forma semelhante, foi visto em modelos murinos, o estresse psicológico agudo desencadeia intolerância aguda à insulina e glicose, além de resistência hepática à insulina^{13,14,15}.

No organismo humano, as atividades fisiológicas e os padrões de secreção hormonal seguem um ritmo circadiano bem definido. O “relógio biológico”, situado no núcleo supraquiasmático do hipotálamo, regula esse ciclo, sendo altamente sensível às variações de luz e escuridão no ambiente. Ele orchestra tanto o ciclo sono/vigília quanto as variações na secreção de hormônios, como o cortisol, com o seu pico de secreção ocorrendo próximo ao momento do despertar, enquanto seus níveis mais baixos são registrados no início da noite. Indivíduos que possuem sono leve ou que, naturalmente, dormem pouco tendem a apresentar níveis elevados de cortisol. Da

mesma maneira, pacientes que sofrem de insônia frequentemente apresentam hipercortisolemia^{16,17}.

Estes dados indicam que o aumento dos níveis de cortisol desempenha um papel fundamental no processo de despertar e no término do ciclo do sono, sendo crucial para a ativação do organismo ao fim do período de descanso.

Esse sistema circadiano, além de controlar o ritmo do sono, também sofre influência direta dele, formando um ciclo de retroalimentação. Paralelamente, a interação entre o eixo HPA e o sono é profunda e independente. Alterações nos níveis de hormônios do eixo HPA, por causa do estresse, podem modificar o padrão do sono, e mudanças no ciclo podem afetar a secreção hormonal, mostrando a complexa e dinâmica relação entre esses sistemas fisiológicos.

Ademais, a ativação do eixo HPA e do SNAs modulam um terceiro sistema: o sistema imunológico. Nesse processo citocinas exercem um efeito estimulatório tanto no SNA quanto no eixo HPA, onde os hormônios como o cortisol, em uma situação de exposição prolongada do mesmo pode acarretar no aumento das interleucinas 1 e 6, além do fator de necrose tumoral (TNF- α)¹⁸. A interleucina 1- β é responsável por estimular a produção da interleucina 6 e uma revisão robusta sobre citocinas durante situações de estresse demonstrou o aumento significativo de ambos os biomarcadores, corroborado por outros estudos. Durante o estresse, as citocinas também podem ser hipersecretadas, o que pode levar a uma coexistência de concentrações elevadas de cortisol e citocinas circulantes. Esse fenômeno pode ser decorrente de um defeito no mecanismo de feedback negativo do cortisol, tanto nos receptores glicocorticoides centrais, que deveriam prevenir a liberação excessiva de CRF, quanto nos receptores glicocorticoides, que limitariam a secreção exacerbada de citocinas¹⁹.

Já o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) também foi outro biomarcador mencionado dentre os estudos sobre estresse e foi relatado um papel crítico na ocorrência de doenças mentais como depressão e ansiedade²⁰. Foi visto que após o tratamento do transtorno de depressão maior os níveis de BDNF aumentaram quando comparado com os níveis no começo do tratamento, pois o BDNF está relacionado a neuroplasticidade e durante a estimulação do eixo HPA, o aumento de cortisol acarreta um feedback negativo da produção de BDNF^{21,22}.

Por fim, a dehidroepiandrosterona (DHEA) é um esteroide também secretado pelas glândulas suprarrenais, que estimulam a síntese e secreção de catecolaminas como a noradrenalina e adrenalina. Atua também como modulador do sistema imunológico, metabolismo, e possui também propriedades antioxidantes e neuroprotetoras. É possível afirmar que o DHEA e o cortisol são antagonistas, dado que estudos mostram que o aumento do cortisol contribui para a diminuição do DHEA²³.

Consideramos então a realização de um teste para avaliação do estresse um recurso inovador por trazer a possibilidade de uma investigação prévia do estado de estresse do indivíduo, seja ele agudo ou crônico, em diversos contextos. Para o público leigo, oferece uma oportunidade de autoconhecimento sobre o funcionamento do próprio organismo. Em ambientes corporativos, pode ser utilizado para monitorar os níveis de estresse dos funcionários, auxiliando na implementação de estratégias de suporte e bem-estar. Além disso, o teste pode atuar como um coadjuvante no acompanhamento médico e terapêutico, aplicável em uma ampla variedade de quadros clínicos e ambulatoriais. Assim, o teste proposto se destaca pela versatilidade e alinhamento às necessidades de diferentes cenários, contribuindo significativamente para a promoção da saúde mental e física.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

O objetivo principal do projeto é construir o referencial teórico para a criação de um aparelho de avaliação rápida da ocorrência ou não de estresse, baseado em biomarcadores validados ou amplamente investigados e associados ao estresse agudo ou crônico de uso individual.

3.2 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos desse projeto são:

1. Selecionar os principais biomarcadores associados ao estresse crônico ou agudo na literatura científica internacional;
2. Determinar os valores de referência para cada biomarcador selecionado, buscando definir os valores normais e patológicos;
3. Investigar modelos de testes rápidos adequados aos biomarcadores selecionados;
4. Definir os parâmetros de utilização do aparelho de medição.

Esse trabalho buscou construir o referencial teórico considerando os diferentes estados de estresse e suas particularidades, como o estado de cronicidade. A montagem do aparelho, no entanto, não constituiu um objetivo direto deste trabalho em função da necessidade de etapas suplementares, tais como a análise de campo e de custos, as quais demandariam um tempo de execução superior àquele disponível para realização deste trabalho.

4 JUSTIFICATIVA

Segundo dados publicados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) na “Revisão Mundial de Saúde Mental”, o estresse atinge cerca de 90% da população mundial. Em 2019, em média 1 bilhão de pessoas viviam com um transtorno mental, situação está que foi agravada nos anos seguintes devido a pandemia do COVID-19, que aumentou em 25% o número de pessoas com ansiedade e transtorno depressivo maior devido ao estresse²⁴. Além disso, é sempre importante novamente frisar que o estresse implica diretamente na saúde física.

Atualmente, a avaliação do estresse ainda é predominantemente subjetiva, baseada em questionários e autoavaliação, o que pode levar a diagnósticos imprecisos e intervenções inadequadas. Outrossim, sintomas de determinadas doenças podem ser atribuídos erroneamente ao estresse, o que pode retardar diagnósticos mais graves e gerar consequências ao indivíduo, uma vez que a verdadeira causa de sintomas físicos é ignorada enquanto o estresse é indevidamente apontado como responsável.

O avanço da ciência nos oferece uma oportunidade única: a possibilidade de avaliar o estresse de forma objetiva e mensurável através de um teste rápido, permitindo um diagnóstico mais preciso e o monitoramento em tempo real do estado de saúde do paciente. Sendo assim, propomos neste trabalho de conclusão de curso o desenvolvimento de um teste rápido acessível com base em biomarcadores presentes no organismo que se alteram quando o indivíduo está em situação de estresse obtendo um diagnóstico mais fidedigno.

Portanto, investir neste projeto significa apostar em uma abordagem inovadora para melhorar a saúde pública, oferecer uma ferramenta de diagnóstico revolucionária e proporcionar intervenções mais eficazes e preventivas. Além disso, o teste auxiliaria na identificação de casos em que o estresse pode estar mascarando patologias graves, permitindo um tratamento adequado e oportuno dessas condições subjacentes.

5 ETAPAS DO PROJETO

5.1 Etapa 1

A etapa 1 consistiu na revisão de literatura para obtenção dos biomarcadores presentes no estresse.

5.1.1 Objetivo da Etapa 1

O objetivo foi levantar por meio de revisões sistemáticas e meta-análises quais são os biomarcadores mais comumente associados ao estresse e sua relação com a fisiopatologia do estresse.

5.1.2 Desenvolvimento da Etapa 1

A primeira etapa foi a busca bibliográfica na base de dados “Pubmed”, com o pesquisar sendo: "chronic stress" AND biomarkers NOT "oxidative stress" com os filtros para selecionar meta-análises, revisões e revisões sistemáticas de 2008 – 2023. Diante disso, foram lidas 113 revisões para a curadoria dos biomarcadores de estresse abordados em cada uma das revisões. Em seguida, foi criada uma tabela no Excel para organizar todos os biomarcadores identificados nas revisões, incluindo: cortisol capilar, cortisol sérico, dehidroepiandrosterona (DHEA), hormônio liberador de corticotrofina (CRH), glicose, fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), noradrenalina, α -amilase, dehidroepiandrosterona sulfato (DHEA-S), prolactina, glutamato, adrenalina, corticosterona, aldosterona, leptina, dopamina, serotonina, ocitocina, lactato, albumina, interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interferon-gama (IFN- γ), interleucina 1- β (IL-1 β), cetamina, cortisol salivar e imunoglobulina A (IgA) (Fig 1).

A tabela foi configurada para registrar a frequência com que cada biomarcador apareceu nas revisões, além de indicar se os resultados foram positivos, negativos, inconclusivos ou inconsistentes. Também foram aplicados critérios de exclusão, como revisões em idiomas diferentes de inglês, português ou espanhol, e trabalhos que não estavam alinhados com o tema proposto.

RESULTADOS		DESCARTES - RAZÃO						28	13	7	3	6	5	3	5	3	3	3	2	
N	+	-	↔	IDIOMA	DISTÂNCIA	NÃO ENCONTRADO	RESULTADO INCONSISTENTE	cortisol	cortisol capilar (CHC)	DHEA	CRH (hormônio liberador de corticotrofina)	glicose	BDNF (fator neurotrófico derivado do cérebro)	ACTH	noradrenalina	alfa-amilase	carga alostática	DHEA-S	protectina	
1	x																			
2	x																			
3							revisão solicitada													
4								x												
5	x							x		x						x				x
6	x							x							x					
7							x													
8	x							x		x				x	x	x				
9					x															
10	x									x										
11					x															
12						x														
13							x													
14							revisão solicitada													
15					x			x												
16	x							x			x	x				x				
17	x							x												
18							revisão solicitada													
19		x						x			x									
20																				
21					x															
22	x							x					x				x			x
23	x																			
24	x							x		x										
25	x							x					x						x	x
26						x														
27																				
28																				
29																				
27		x																		

Figura 1. Imagem referente a uma seção da tabela elaborada para a primeira etapa do estudo, que consiste no registro dos biomarcadores identificados e a frequência com que cada um foi citado nas revisões.

5.1.3 Considerações e reflexões da Etapa 1

Após a leitura de 113 revisões, observou-se que vários biomarcadores foram mencionados, com alguns aparecendo de forma mais recorrente em estudos sobre estresse em comparação a outros. Essa diferença motivou o desenvolvimento da segunda etapa do projeto.

5.1.4 Citações da bibliografia da Etapa 1

- E1-1. LI, Y. *et al.* Disease diagnosis and application analysis of molecularly imprinted polymers (MIPs) in saliva detection. *Talanta*. 2024 Mar 1;269:125394. doi: 10.1016/j.talanta.2023.125394.
- E1-2. CIUBUC-BATCU, MT. *et al.* A mitochondrial nexus in major depressive disorder: Integration with the psycho-immune-neuroendocrine network. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2024 Feb;1870(2):166920. doi: 10.1016/j.bbadis.2023.166920.
- E1-3. GALLAS-LOPES, M. *et al.* Systematic review and meta-analysis of 10 years of unpredictable chronic stress in zebrafish. *Lab Anim (NY)*. 2023 Oct;52(10):229-246. doi: 10.1038/s41684-023-01239-5.

- E1-4. MÉSZARÓS CROW, E. *et al.* Psychosocial interventions reduce cortisol in breast cancer patients: systematic review and meta-analysis. *Front Psychol.* 2023 Jun 27;14:1148805. doi: 10.3389/fpsyg.2023.1148805.
- E1-5. SONINO, N. *et al.* Allostatic Load and Endocrine Disorders. *Psychother Psychosom.* 2023;92(3):162-169. doi: 10.1159/000530691.
- E1-6. KANES, Stephen J.; DENNIE, Lara; PERERA, Philip. Targeting the Arginine Vasopressin V_{1b} Receptor System and Stress Response in Depression and Other Neuropsychiatric Disorders. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2023 Apr 12;19:811-828. doi: 10.2147/NDT.S402831.
- E1-7. PAGEAU, L.M. *et al.* Associations between hair cortisol and blood pressure: a systematic review and meta-analysis. *J Hypertens.* 2023 Jun 1;41(6):875-887. doi: 10.1097/HJH.0000000000003412.
- E1-8. BAUMER, Y. *et al.* By what molecular mechanisms do social determinants impact cardiometabolic risk? *Clin Sci (Lond).* 2023 Mar 31;137(6):469-494. doi: 10.1042/CS20220304.
- E1-9. SUDI, S. *et al.* The Pleiotropic Role of Extracellular ATP in Myocardial Remodelling. *Molecules.* 2023 Feb 23;28(5):2102. doi: 10.3390/molecules28052102.
- E1-10. LI, Y. *et al.* Associations between chronic stress and hair cortisol in children: A systematic review and meta-analysis. *J Affect Disord.* 2023 May 15;329:438-447. doi: 10.1016/j.jad.2023.02.123.
- E1-11. TRUTER, Nina; MALAN, Leoné; ESSOP, M. Faadiel. Glial cell activity in cardiovascular diseases and risk of acute myocardial infarction. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, v. 324, n. 4, p. H373-H390, abr. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00332.2022>.
- E1-12. RUAN, J. *et al.* Vulnerability to chronic stress and the phenotypic heterogeneity of presbycusis with subjective tinnitus. *Frontiers in Neuroscience*, 21 dez. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.1046095>.
- E1-13. SWANBERG, K. M. *et al.* Proton magnetic resonance spectroscopy in post-traumatic stress disorder: updated systematic review and meta-analysis. *Chronic Stress (Thousand Oaks)*, v. 6, eCollection 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/24705470221128004>.
- E1-14. BARRETT, M. *et al.* Bearing allostatic load: insights into a more equitable future within cardio-oncology. *Trends in Molecular Medicine*, v. 28, n. 12, p. 1040-1049, dez. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2022.09.006>.
- E1-15. DECARO, Jason A.; HELFRECHT, Courtney. Applying minimally invasive biomarkers of chronic stress across complex ecological contexts. *American Journal of*

- Human Biology, v. 34, n. 11, e23814, nov. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ajhb.23814>.
- E1-16. SEELEY, Kathryn E.; PROUDFOOT, Kathryn L.; EDES, Ashley N. The application of allostasis and allostatic load in animal species: a scoping review. PLoS ONE, v. 17, n. 8, e0273838, 30 ago. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0273838>.
- E1-17. ATAALLAHI, Mohammad; GHASSEMI NEJAD, Jalil; PARK, Kyu-Hyun. Selection of appropriate biomatrices for studies of chronic stress in animals: a review. Journal of Animal Science and Technology, v. 64, n. 4, p. 621-639, jul. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.5187/jast.2022.e38>.
- E1-18. LAROSA, Amanda; WONG, Tak Pan. The hippocampus in stress susceptibility and resilience: reviewing molecular and functional markers. Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry, v. 119, p. 110601, 20 dez. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2022.110601>.
- E1-19. GUPTA, Sudhiranjan; GULERIA, Rakeshwar S. Involvement of nuclear factor- κ B in inflammation and neuronal plasticity associated with post-traumatic stress disorder. Cells, v. 11, n. 13, p. 2034, 27 jun. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/cells11132034>.
- E1-20. REZAE, Zeinab; MARANDI, Sayed Mohammad; ALAEI, Hojjatallah. Molecular mechanisms of exercise in brain disorders: a focus on the function of brain-derived neurotrophic factor - a narrative review. Neurotoxicology Research, v. 40, n. 4, p. 1115-1124, ago. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12640-022-00527-1>.
- E1-21. MURKEY, J. A. *et al.* Disparities in allostatic load, telomere length and chronic stress burden among African American adults: a systematic review. Psychoneuroendocrinology, v. 140, p. 105730, jun. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2022.105730>.
- E1-22. FINLAY, S. *et al.* Adverse childhood experiences and allostatic load: a systematic review. Neuroscience & Biobehavioral Reviews, v. 136, p. 104605, mai. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2022.104605>.
- E1-23. HYLANDER, Bonnie L.; REPASKY, Elizabeth A.; SEXTON, Sandra. Using mice to model human disease: understanding the roles of baseline housing-induced and experimentally imposed stresses in animal welfare and experimental reproducibility. Animals (Basel), v. 12, n. 3, p. 371, 3 fev. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ani12030371>.
- E1-24. KOKKA, L. *et al.* Measuring adolescent chronic stress: a review of established biomarkers and psychometric instruments. Hormone Research in Paediatrics, v. 96, n. 1, p. 74-82, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000522387>.

- E1-25. NOUSHAD, S. *et al.* Physiological biomarkers of chronic stress: a systematic review. *International Journal of Health Sciences (Qassim)*, v. 15, n. 5, p. 46-59, set.-out. 2021.
- E1-26. ALARIO, Alexandra A.; NICIU, Mark J. Biomarkers of ketamine's antidepressant effect: a clinical review of genetics, functional connectivity, and neurophysiology. *Chronic Stress (Thousand Oaks)*, v. 5, eCollection 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/24705470211014210>.
- E1-27. WALSH, Catherine P.; BOVBJERG, Dana H.; MARSLAND, Anna L. Glucocorticoid resistance and β 2-adrenergic receptor signaling pathways promote peripheral pro-inflammatory conditions associated with chronic psychological stress: a systematic review across species. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 128, p. 117-135, set. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.06.013>.
- E1-28. JONES, Reo; TARTER, Robin; ROSS, Amy Miner. Greenspace interventions, stress and cortisol: a scoping review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 18, n. 6, p. 2802, 10 mar. 2021. DOI: 10.3390/ijerph18062802.
- E1-29. DOAN, Stacey N. Allostatic load: developmental and conceptual considerations in a multi-system physiological indicator of chronic stress exposure. *Developmental Psychobiology*, v. 63, n. 5, p. 825-836, jul. 2021. Disponível em: 10.1002/dev.22107.
- E1-30. SINNAEVE, R. *et al.* Investigating the stress-related fluctuations of level of personality functioning: a critical review and agenda for future research. *Clinical Psychology & Psychotherapy*, v. 28, n. 5, p. 1181-1193, set. 2021. DOI: 10.1002/cpp.2566.
- E1-31. SHINOHARA, Ryota; AGHAJANIAN, George K.; ABDALLAH, Chadi G. Neurobiology of the rapid-acting antidepressant effects of ketamine: impact and opportunities. *Biological Psychiatry*, v. 90, n. 2, p. 85-95, 15 jul. 2021. DOI: 10.1016/j.biopsych.2020.12.006.
- E1-32. IMANI, M. M. *et al.* Associations between morning salivary and blood cortisol concentrations in individuals with obstructive sleep apnea syndrome: a meta-analysis. *Frontiers in Endocrinology (Lausanne)*, v. 11, p. 568823, 19 jan. 2021. DOI: 10.3389/fendo.2020.568823.
- E1-33. SCHAAFSMA, F. G. *et al.* The potential of using hair cortisol to measure chronic stress in occupational healthcare: a scoping review. *Journal of Occupational Health*, v. 63, n. 1, p. e12189, jan. 2021. DOI: 10.1002/1348-9585.12189.
- E1-34. CHEN, Minhui; SINGH, Anurag K.; REPASKY, Elizabeth A. Highlighting the potential for chronic stress to minimize therapeutic responses to radiotherapy through increased immunosuppression and radiation resistance. *Cancers (Basel)*, v. 12, n. 12, p. 3853, 20 dez. 2020. DOI: 10.3390/cancers12123853.

- E1-35. ZEFFERINO, Roberto; DI GIOIA, Sante; CONESE, Massimo. Molecular links between endocrine, nervous and immune system during chronic stress. *Brain and Behavior*, v. 11, n. 2, p. e01960, fev. 2021. DOI: 10.1002/brb3.1960.
- E1-36. PHILLIPS, R. *et al.* Human nail cortisol as a retrospective biomarker of chronic stress: a systematic review. *Psychoneuroendocrinology*, v. 123, p. 104903, jan. 2021. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2020.104903.
- E1-37. COATES, Christopher J.; SÖDERHÅLL, Kenneth. The stress-immunity axis in shellfish. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 186, p. 107492, nov. 2021. DOI: 10.1016/j.jip.2020.107492.
- E1-38. WON, Eunsoo; KIM, Yong-Ku. Neuroinflammation-associated alterations of the brain as potential neural biomarkers in anxiety disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21, n. 18, p. 6546, 7 set. 2020. DOI: 10.3390/ijms21186546.
- E1-39. D'AMICO, Danielle; AMESTOY, Maya E.; FIOCCO, Alexandra J. The association between allostatic load and cognitive function: a systematic and meta-analytic review. *Psychoneuroendocrinology*, v. 121, p. 104849, nov. 2020. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2020.104849.
- E1-40. DATTILO, V. *et al.* The emerging role of SGK1 (serum- and glucocorticoid-regulated kinase 1) in major depressive disorder: hypothesis and mechanisms. *Frontiers in Genetics*, v. 11, p. 826, 5 ago. 2020. DOI: 10.3389/fgene.2020.00826. eCollection 2020.
- E1-41. GUIDI, J. *et al.* Allostatic load and its impact on health: a systematic review. *Psychotherapy and Psychosomatics*, v. 90, n. 1, p. 11-27, 2021. DOI: 10.1159/000510696.
- E1-42. MARTINS, R. C. *et al.* Effects of parenting interventions on child and caregiver cortisol levels: systematic review and meta-analysis. *BMC Psychiatry*, v. 20, n. 1, p. 370, 15 jul. 2020. DOI: 10.1186/s12888-020-02777-9.
- E1-43. AVERILL, L. A. *et al.* Chronic stress pathology and ketamine-induced alterations in functional connectivity in major depressive disorder: an abridged review of the clinical evidence. *Advances in Pharmacology*, v. 89, p. 163-194, 2020. DOI: 10.1016/bs.apha.2020.04.003.
- E1-44. KHAN, A. R. *et al.* Stress-induced morphological, cellular and molecular changes in the brain: lessons learned from the chronic mild stress model of depression. *Cells*, v. 9, n. 4, p. 1026, 21 abr. 2020. DOI: 10.3390/cells9041026.
- E1-45. PALUMBO, M. L. *et al.* Chronic stress and glucocorticoid receptor resistance in asthma. *Clinical Therapeutics*, v. 42, n. 6, p. 993-1006, jun. 2020. DOI: 10.1016/j.clinthera.2020.03.002.

- E1-46. GHURA, S. *et al.* Bidirectional associations among nicotine and tobacco smoke, neuroHIV, and antiretroviral therapy. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, v. 15, n. 4, p. 694-714, dez. 2020. DOI: 10.1007/s11481-019-09897-4.
- E1-47. HINOJOSA, C. A. *et al.* Cingulate subregions in posttraumatic stress disorder, chronic stress, and treatment. *Handbook of Clinical Neurology*, v. 166, p. 355-370, 2019. DOI: 10.1016/B978-0-444-64196-0.00020-0.
- E1-48. DESPLATS, P. *et al.* Microglial memory of early life stress and inflammation: susceptibility to neurodegeneration in adulthood. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 117, p. 232-242, out. 2020. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2019.10.013.
- E1-49. BROWNLOW, B. N. *et al.* Sex differences in the impact of racial discrimination on mental health among Black Americans. *Current Psychiatry Reports*, v. 21, n. 11, p. 112, 4 nov. 2019. DOI: 10.1007/s11920-019-1098-9.
- E1-50. ROWLAND, Neil E.; TOTH, Linda A. Analytic and interpretational pitfalls to measuring fecal corticosterone metabolites in laboratory rats and mice. *Comparative Medicine*, v. 69, n. 5, p. 337-349, 1 out. 2019. DOI: 10.30802/AALAS-CM-18-000119.
- E1-51. IOB, Eleonora; STEPTOE, Andrew. Cardiovascular disease and hair cortisol: a novel biomarker of chronic stress. *Current Cardiology Reports*, v. 21, n. 10, p. 116, 30 ago. 2019. DOI: 10.1007/s11886-019-1208-7.
- E1-52. KALLIOKOSKI, Otto; JELLESTAD, Finn K.; MURISON, Robert. A systematic review of studies utilizing hair glucocorticoids as a measure of stress suggests the marker is more appropriate for quantifying short-term stressors. *Scientific Reports*, v. 9, n. 1, p. 11997, 19 ago. 2019. DOI: 10.1038/s41598-019-48517-2.
- E1-53. LEE, C. M.; WATSON, R. E. B.; KLEYN, C. E. The impact of perceived stress on skin ageing. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, v. 34, n. 1, p. 54-58, jan. 2020. DOI: 10.1111/jdv.15865.
- E1-54. MATOS, Tatiane Martins; DE SOUZA-TALARICO, Juliana Nery. How stress mediators can cumulatively contribute to Alzheimer's disease: an allostatic load approach. *Dementia & Neuropsychologia*, v. 13, n. 1, p. 11-21, jan.-mar. 2019. DOI: 10.1590/1980-57642018dn13-010002.
- E1-55. VAN DER HORN, H. J. *et al.* An integrated perspective linking physiological and psychological consequences of mild traumatic brain injury. *Journal of Neurology*, v. 267, n. 9, p. 2497-2506, set. 2020. DOI:10.1007/s00415-019-09335-8.
- E1-56. VETTORI, A. *et al.* Genetic background, nutrition and obesity: a review. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, v. 23, n. 4, p. 1751-1761, fev. 2019. DOI: 10.26355/eurrev_201902_17137.

- E1-57. FURUYASHIKI, Tomoyuki; AKIYAMA, Satoshi; KITAOKA, Shiho. Roles of multiple lipid mediators in stress and depression. *International Immunology*, v. 31, n. 9, p. 579-587, 23 ago. 2019. DOI: 10.1093/intimm/dxz023. Acesso em: 15 jan. 2024.
- E1-58. REIVE, Carol. The biological measurements of mindfulness-based stress reduction: a systematic review. *Explore: Journal of Science and Healing*, v. 15, n. 4, p. 295-307, jul.-ago. 2019. DOI: 10.1016/j.explore.2019.01.001.
- E1-59. LIU, Cindy H.; DOAN, Stacey N. Innovations in biological assessments of chronic stress through hair and nail cortisol: conceptual, developmental, and methodological issues. *Developmental Psychobiology*, v. 61, n. 3, p. 465-476, abr. 2019. DOI: 10.1002/dev.21830.
- E1-60. TORRES-BERRIO, A. *et al.* Interaction between stress and addiction: contributions from Latin-American neuroscience. *Frontiers in Psychology*, v. 9, p. 2639, 21 dez. 2018. DOI: 10.3389/fpsyg.2018.02639. eCollection 2018.
- E1-61. JONSDOTTIR, Ingibjörg H.; SJÖRS DAHLMAN, Anna. Endocrine and immunological aspects of burnout: a narrative review. *European Journal of Endocrinology*, v. 180, n. 3, p. R147-R158, 1 mar. 2019. DOI: 10.1530/EJE-18-0741.
- E1-62. AERTS, Johan. Quantification of a glucocorticoid profile in non-pooled samples is pivotal in stress research across vertebrates. *Frontiers in Endocrinology (Lausanne)*, v. 9, p. 635, 23 out. 2018. DOI: 10.3389/fendo.2018.00635. eCollection 2018.
- E1-63. STAPELBERG, N. J. C. *et al.* Health, pre-disease and critical transition to disease in the psycho-immune-neuroendocrine network: are there distinct states in the progression from health to major depressive disorder? *Physiology & Behavior*, v. 198, p. 108-119, 1 jan. 2019. DOI: 10.1016/j.physbeh.2018.10.014.
- E1-64. HEIMBÜRGE, Susen; KANITZ, Ellen; OTTEN, Winfried. The use of hair cortisol for the assessment of stress in animals. *General and Comparative Endocrinology*, v. 270, p. 10-17, 1 jan. 2019. DOI: 10.1016/j.ygcen.2018.09.016.
- E1-65. RIDOUT, K. K. *et al.* Adverse childhood experiences run deep: toxic early life stress, telomeres, and mitochondrial DNA copy number, the biological markers of cumulative stress. *BioEssays*, v. 40, n. 9, p. e1800077, set. 2018. DOI: 10.1002/bies.201800077.
- E1-66. KIM, Yong-Ku; AMIDFAR, Meysam; WON, Eunsoo. A review on inflammatory cytokine-induced alterations of the brain as potential neural biomarkers in post-traumatic stress disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, v. 91, p. 103-112, 20 abr. 2019. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2018.06.008.
- E1-67. ABDALLAH, C. G. *et al.* The neurobiology of depression, ketamine and rapid-acting antidepressants: is it glutamate inhibition or activation? *Pharmacology & Therapeutics*, v. 190, p. 148-158, out. 2018. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2018.05.010.

- E1-68. STALEY, M. *et al.* Linking stress and immunity: immunoglobulin A as a non-invasive physiological biomarker in animal welfare studies. *Hormones and Behavior*, v. 102, p. 55-68, jun. 2018. DOI: 10.1016/j.yhbeh.2018.04.011.
- E1-69. ROSS, Jennifer A.; REYES, Beverly A. S.; VAN BOCKSTAELE, Elisabeth J. Amyloid beta peptides, locus coeruleus-norepinephrine system and dense core vesicles. *Brain Research*, v. 1702, p. 46-53, 1 jan. 2019. DOI: 10.1016/j.brainres.2018.03.009.
- E1-70. JOHNSON, Sarah C.; CAVALLARO, Francesca L.; LEON, David A. A systematic review of allostatic load in relation to socioeconomic position: Poor fidelity and major inconsistencies in biomarkers employed. *Social Science & Medicine*, v. 192, p. 66-73, nov. 2017. DOI: 10.1016/j.socscimed.2017.09.025.
- E1-71. WIRTZ, Petra H.; VON KÄNEL, Roland. Psychological stress, inflammation, and coronary heart disease. *Current Cardiology Reports*, v. 19, n. 11, p. 111, 20 set. 2017. DOI: 10.1007/s11886-017-0919-x.
- E1-72. HIRSHLER, Yafit; DORON, Ravid. Neuroplasticity-related mechanisms underlying the antidepressant-like effects of traditional herbal medicines. *European Neuropsychopharmacology*, v. 27, n. 10, p. 945-958, out. 2017. DOI: 10.1016/j.euroneuro.2017.07.008.
- E1-73. MAENG, Lisa Y.; MILAD, Mohammed R. Post-Traumatic Stress Disorder: The Relationship Between the Fear Response and Chronic Stress. *Chronic Stress (Thousand Oaks)*, v. 1, p. 1-8, 27 jun. 2017. DOI: 10.1177/2470547017713297.
- E1-74. POTIER, Florence; DEGRYSE, Jean-Marie; DE SAINT-HUBERT, Marie. Impact of caregiving for older people and pro-inflammatory biomarkers among caregivers: a systematic review. *Aging Clinical and Experimental Research*, v. 30, n. 2, p. 119-132, fev. 2018. DOI: 10.1007/s40520-017-0765-0.
- E1-75. KEREMI, B. *et al.* Stress and salivary glands. *Current Pharmaceutical Design*, v. 23, n. 27, p. 4057-4065, 30 out. 2017. DOI: 10.2174/1381612823666170215110648.
- E1-76. BAKUSIC, J. *et al.* Stress, burnout and depression: a systematic review on DNA methylation mechanisms. *Journal of Psychosomatic Research*, v. 92, p. 34-44, jan. 2017. DOI: 10.1016/j.jpsychores.2016.11.005.
- E1-77. ALLEN, Andrew P. *et al.* A systematic review of the psychobiological burden of informal caregiving for patients with dementia: Focus on cognitive and biological markers of chronic stress. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 73, p. 123-164, fev. 2017. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2016.12.006.
- E1-78. KARHSON, D. S.; HARDAN, A. Y.; PARKER, K. J. Endocannabinoid signaling in social functioning: an RDoC perspective. *Translational Psychiatry*, v. 6, n. 9, p. e905, set. 2016. DOI: 10.1038/tp.2016.169.

- E1-79. BELYAEV, I. *et al.* EUROPAEM EMF Guideline 2016 for the prevention, diagnosis and treatment of EMF-related health problems and illnesses. *Reviews on Environmental Health*, v. 31, n. 3, p. 363-397, set. 2016. DOI: 10.1515/reveh-2016-0011.
- E1-80. AN, K. *et al.* Salivary biomarkers of chronic psychosocial stress and CVD risks: a systematic review. *Biological Research for Nursing*, v. 18, n. 3, p. 241-263, maio 2016. DOI: 10.1177/1099800415604437.
- E1-81. WRIGHT, K. D. *et al.* Hair cortisol analysis: a promising biomarker of HPA activation in older adults. *Gerontologist*, v. 55, supl. 1, p. S140-S145, jun. 2015. DOI: 10.1093/geront/gnu174.
- E1-82. GOLBIDI, Saeid; FRISBEE, Jefferson C; LAHER, Ismail. Chronic stress impacts the cardiovascular system: animal models and clinical outcomes. *American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology*, v. 308, n. 12, p. H1476-H1498, jun. 2015. DOI: 10.1152/ajpheart.00859.2014.
- E1-83. AMIHĂESEI, Ioana Cristina; CHELARU, Liliana. Metabolic syndrome: a widespread threatening condition; risk factors, diagnostic criteria, therapeutic options, prevention and controversies: an overview. *Revista Medico-Chirurgicală a Societății de Medici și Naturaliști din Iași*, v. 118, n. 4, p. 896-900, out.-dez. 2014.
- E1-84. LEE, Do Yup; KIM, Eosu; CHOI, Man Ho. Technical and clinical aspects of cortisol as a biochemical marker of chronic stress. *BMB Reports*, v. 48, n. 4, p. 209-216, abr. 2015. DOI: 10.5483/bmbrep.2015.48.4.275.
- E1-85. PEREZ, D. L. *et al.* An integrative neurocircuit perspective on psychogenic nonepileptic seizures and functional movement disorders: neural functional unawareness. *Clinical EEG and Neuroscience*, v. 46, n. 1, p. 4-15, jan. 2015. DOI: 10.1177/1550059414555905.
- E1-86. KOZLOV, A. I.; KOZLOVA, M. A. Cortisol as a marker of stress. *Fiziologiya Cheloveka*, v. 40, n. 2, p. 123-136, Mar.-Apr. 2014. DOI: 10.1134/S0362119714020091
- E1-87. MATUS, Soledad *et al.* ER dysfunction and protein folding stress in ALS. *International Journal of Cell Biology*, v. 2013, p. 674751, 2013. doi: 10.1155/2013/674751.
- E1-88. BIZIK, G. *et al.* Allostatic load as a tool for monitoring physiological dysregulations and comorbidities in patients with severe mental illnesses. *Harvard Review of Psychiatry*, v. 21, n. 6, p. 296-313, nov.-dez. 2013. doi: 10.1097/HRP.0000000000000012.
- E1-89. WOSU, A. C. *et al.* Correlates of cortisol in human hair: implications for epidemiologic studies on health effects of chronic stress. *Annals of Epidemiology*, v. 23, n. 12, p. 797-811.e2, dez. 2013. doi: 10.1016/j.annepidem.2013.09.006.

- E1-90. SUBNIS, U. B. *et al.* Psychosocial therapies for patients with cancer: a current review of interventions using psychoneuroimmunology-based outcome measures. *Integrative Cancer Therapies*, v. 13, n. 2, p. 85-104, mar. 2014. doi: 10.1177/1534735413503548. Epub 7 out. 2013.
- E1-91. NATER, Urs M.; SKOLUDA, Nadine; STRAHLER, Jana. Biomarkers of stress in behavioural medicine. *Current Opinion in Psychiatry*, v. 26, n. 5, p. 440-445, set. 2013. doi: 10.1097/YCO.0b013e328363b4ed.
- E1-92. VAN ANDEL, H. W. H. *et al.* Salivary cortisol: a possible biomarker in evaluating stress and effects of interventions in young foster children? *European Child & Adolescent Psychiatry*, v. 23, n. 1, p. 3-12, jan. 2014. doi: 10.1007/s00787-013-0439-1.
- E1-93. HOSTINAR, Camelia E.; GUNNAR, Megan R. Future directions in the study of social relationships as regulators of the HPA axis across development. *Journal of Clinical Child & Adolescent Psychology*, v. 42, n. 4, p. 564-575, jul. 2013. doi: 10.1080/15374416.2013.804387.
- E1-94. LU, Xiao-Ting; ZHAO, Yu-Xia; ZHANG, Yun; JIANG, Fan. Psychological stress, vascular inflammation, and atherogenesis: potential roles of circulating cytokines. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, v. 62, n. 1, p. 6-12, jul. 2013. doi: 10.1097/FJC.0b013e3182858fac.
- E1-95. BAUER, M. E. *et al.* Psychoneuroendocrine interventions aimed at attenuating immunosenescence: a review. *Biogerontology*, v. 14, n. 1, p. 9-20, fev. 2013. doi: 10.1007/s10522-012-9412-5.
- E1-96. FRIES, G. R. *et al.* Staging and neuroprogression in bipolar disorder. *Current Psychiatry Reports*, v. 14, n. 6, p. 667-675, dez. 2012. doi: 10.1007/s11920-012-0319-2.
- E1-97. SILVERMAN, Marni N.; STERNBERG, Esther M. Glucocorticoid regulation of inflammation and its functional correlates: from HPA axis to glucocorticoid receptor dysfunction. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1261, p. 55-63, jul. 2012. doi: 10.1111/j.1749-6632.2012.06633.x.
- E1-98. MYERS, Dean A.; DUCASAY, Charles A. Adrenocortical and adipose responses to high-altitude-induced, long-term hypoxia in the ovine fetus. *Journal of Pregnancy*, v. 2012, p. 681306, 2012. doi: 10.1155/2012/681306.
- E1-99. VANAELST, B. *et al.* Epidemiological approaches to measure childhood stress. *Paediatric and Perinatal Epidemiology*, v. 26, n. 3, p. 280-297, maio 2012. doi: 10.1111/j.1365-3016.2012.01258.x.

- E1-100. GERBER, M. *et al.* Concerns regarding hair cortisol as a biomarker of chronic stress in exercise and sport science. *Journal of Sports Science and Medicine*, v. 11, n. 4, p. 571-581, dez. 2012.
- E1-101. MARTEL, C. *et al.* Non-alcoholic steatohepatitis: new insights from OMICS studies. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, v. 13, n. 5, p. 726-735, abr. 2012. DOI: 10.2174/138920112799857558.
- E1-102. RUSSELL, E. *et al.* Hair cortisol as a biological marker of chronic stress: current status, future directions and unanswered questions. *Psychoneuroendocrinology*, v. 37, n. 5, p. 589-601, mai. 2012. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2011.09.009.
- E1-103. GLEICHMANN, U.; GLEICHMANN, U-S.; GLEICHMANN, S. From cardiovascular prevention to anti-aging medicine: influence on telomere and cell aging. *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, v. 136, n. 38, p. 1913-1916, set. 2011. DOI: 10.1055/s-0031-1286363.
- E1-104. BIRDER, L. A. *et al.* Cystitis, co-morbid disorders and associated epithelial dysfunction. *Neurology and Urodynamics*, v. 30, n. 5, p. 668-672, jun. 2011. DOI: 10.1002/nau.21109.
- E1-105. SALMINEN, A. *et al.* Astrocytes in the aging brain express characteristics of senescence-associated secretory phenotype. *European Journal of Neuroscience*, v. 34, n. 1, p. 3-11, jul. 2011. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2011.07738.x. Epub 7 jun. 2011.
- E1-106. YOSHIMURA, R. *et al.* [Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and mood disorder]. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi*, v. 30, n. 5-6, p. 181-4, nov. 2010.
- E1-107. GOW, R. *et al.* An assessment of cortisol analysis in hair and its clinical applications. *Forensic Science International*, v. 196, n. 1-3, p. 32-7, mar. 2010. DOI: 10.1016/j.forsciint.2009.12.040.
- E1-108. JUSTER, Robert-Paul; McEWEN, Bruce S.; LUPIEN, Sonia J. Allostatic load biomarkers of chronic stress and impact on health and cognition. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 35, n. 1, p. 2-16, set. 2010. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2009.10.002.
- E1-109. DOWD, Jennifer B.; SIMANEK, Amanda M.; AIELLO, Allison E. Socio-economic status, cortisol and allostatic load: a review of the literature. *International Journal of Epidemiology*, v. 38, n. 5, p. 1297-1309, out. 2009. DOI: 10.1093/ije/dyp277.
- E1-110. CALABRESE, Francesca; MOLTENI, Raffaella; RACAGNI, Giorgio; RIVA, Marco A. Neuronal plasticity: a link between stress and mood disorders. *Psychoneuroendocrinology*, v. 34, Suppl 1, p. S208-16, dez. 2009. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2009.05.014.
- E1-111. DE VRIENDT, T.; MORENO, L. A.; DE HENAUW, S. Chronic stress and obesity in adolescents: scientific evidence and methodological issues for epidemiological

- research. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, v. 19, n. 7, p. 511-519, set. 2009. DOI: 10.1016/j.numecd.2009.02.009.
- E1-112. ARIAS, M. [Is fibromyalgia a neurological disease?]. *Neurologia*, v. 23, n. 9, p. 593-601, nov. 2008.
- E1-113. LOGAN, Jeongok G.; BARKSDALE, Debra J. Allostasis and allostatic load: expanding the discourse on stress and cardiovascular disease. *Journal of Clinical Nursing*, v. 17, n. 7B, p. 201-208, abr. 2008. doi: 10.1111/j.1365-2702.2008.02347.x.

5.2 Etapa 2

A etapa 2 constituiu na análise da tabela criada e seleção dos biomarcadores mais frequentemente estudados no estresse.

5.2.1 Objetivo da Etapa 2

Dentre todos os biomarcadores identificados, o objetivo desta etapa foi selecionar apenas aqueles que apareceram com maior frequência e, conseqüentemente, demonstraram uma relação mais significativa com o estresse.

5.2.2 Desenvolvimento da Etapa 2

A partir da análise sistemática da tabela, foram selecionados os biomarcadores com maior índice de correlação com o estresse, a fim de dar continuidade ao estudo individual de cada um deles. Inicialmente, foram selecionados: cortisol sérico, glicose, interleucina-6 (IL-6), interleucina 1 β (IL-1 β), noradrenalina, BDNF, DHEA e TNF- α .

5.2.3 Considerações e reflexões da Etapa 2

Com a tabela que criamos foi fácil analisar quais biomarcadores tiveram mais aparições. Logo percebemos que o cortisol apareceu 28 vezes, seguido pelo TNF- α e IL-6, ambos com 9 aparições. O DHEA foi registrado 7 vezes, enquanto a glicose apareceu 6 vezes. Já IL-1 β , noradrenalina e BDNF foram mencionados em 5 revisões cada. Diante disso, conseguimos obter os biomarcadores mais mencionados em relação ao estresse para serem incluídos no teste e então prosseguimos para a próxima etapa.

5.3 Etapa 3

A etapa 3 consistiu na pesquisa de estudos e artigos para determinar o valor de referência de cada biomarcador, comparando os valores em uma pessoa saudável e uma em estado de estresse

5.3.1 Objetivo da etapa

O objetivo dessa etapa foi pesquisar artigos e estudos que abordassem um valor de referência para cada biomarcador com intuito de utilizar no teste.

5.3.2 Desenvolvimento da Etapa 3

Nesta etapa, realizou-se a busca bibliográfica nas bases de dados “Pubmed” e “Scielo”, com foco em estudos que incluíssem os oito biomarcadores selecionados. Foram identificados valores de referência baseados em amostras de sangue descritas nas metodologias desses estudos. Para cada biomarcador, selecionamos, em média, de dois a três artigos, que serviram de base para definir um valor de referência para indivíduos saudáveis, conforme os limites considerados normais pelos pesquisadores. Para indivíduos sob estresse, estabeleceu-se um valor de referência com uma margem de segurança de 20% acima do considerado normal. Os valores foram organizados em uma segunda tabela (Fig. 2).

No caso do cortisol, o principal biomarcador no estresse, há uma elevada produção após ativação do eixo HPA. Nos estudos encontrados a média dos valores em uma pessoa normal foi de 100 a 600 nmol/ L ou 36,246 - 217,476 pg/mL sendo avaliado no período da tarde, pois o pico de cortisol como já foi descrito ocorre ao acordar, logo não se pode considerar os níveis de cortisol pela manhã, então ao ultrapassar o valor de 720 nmol consideraremos que o indivíduo se apresenta em estresse.

Em relação à glicose, diversos fatores em uma situação estresse faz com que haja um aumento, consideraremos dentro da normalidade em estado de jejum valores inferiores a 100 mg/dL, já após 2h pós-prandial consideraremos valores inferiores a

140 mg/dL. Foi descrito na literatura que em situações estressantes ocorre um aumento de 20-40 mg/dL, portanto em jejum consideraremos níveis elevados a partir de 120 mg/dL e 2h pós prandial acima de 168 mg/dL.

Para noradrenalina, o valor controle será até 500 pg/mL. Valores acima de 600 pg/mL serão considerados níveis elevados. Para a interleucina 1- β o valor controle será de 3 a 300 pg/mL, níveis elevados a partir de 360 pg/mL e para a interleucina 6 o máximo visto em pessoas saudáveis foi de 43,5 pg/mL então identificaremos como estresse níveis acima de 52,2 pg/mL, sabendo que a maioria dos estudos apontam valores de 1-5 pg/mL são encontrados na maioria das pessoas saudáveis.

Por fim, os valores do TNF- α consideraremos para pessoas saudáveis valores abaixo de 10 pg/mL, pois na literatura o limite seria de 8,1 pg/mL. Sendo assim valores acima de 9,72 pg/mL será positivo para estresse.

Por motivos de escassez de literatura com valores de referência concretos optamos por excluir os biomarcadores DHEA e BDNF da montagem do teste.

	A	B	C	D
1	Biomarcadores	Artigos	Valor de referência encontrado	Situação específica
2	CORTISOL	DOI: 10.1093/ICVTS/IVS292	normal: 100-600 nmol	crianças com baixo débito cardíaco
3		doi: 10.3390/medicina57060602	normal; 177-578 nmol/L às 7h e <434 às 16h	pacientes com infarto agudo do miocárdio
4				
5				
6				
7	TNF ALPHA	doi: 10.21037/atm-20-6608	<8,1 pg/mL para TNF- α	Pacientes internados em UTI
8		doi.org/10.1590/1806-9282.65.3.361	6,15 pg/mL	Controle x Depressão resistente
9				
10				
11				
12	IL-6	https://doi.org/10.1002/jmv.26654	4-5 pg/ml (máx 43,5 em pessoas saudáveis)	Pacientes saudáveis
13		doi: 10.1186/s12879-019-4618-7	11,2–43,5 pg/ml	Pacientes com sepse e choque séptico
14		doi: 10.21037/atm-20-6608	<3,4 pg/mL para IL-6	Pacientes internados em UTI
15		doi: 10.21037/atm-20-6608	< 5 pg/ml (quase não detectado em pessoas saudáveis)	Pacientes com câncer avançado
16				
17	GLICOSE	doi.org/10.1590/S0004-27302002000100004	<110 mg/dl	controle x diabetes mellitus
18		doi.org/10.1590/S0021-75572008000200008	média 86 mg/dl	adolescentes saudáveis
19		DOI: 10.1136/archdischild-2015-308336	3,5 - 5.5 mmol/L	crianças e adultos

Figura 2. Imagem referente a uma parte da tabela montada para registrar os estudos sobre os biomarcadores e quais valores de referência fora achado.

5.3.3 Considerações e reflexões da Etapa 3

Nessa etapa enfrentamos uma dificuldade em identificar valores de referência confiáveis. A disparidade entre valores em alguns estudos exigiu uma análise criteriosa para selecionar dados que garantissem a confiabilidade e a aplicabilidade dos parâmetros no contexto do teste desenvolvido. Adicionalmente, notamos a escassez de estudos que forneçam valores de referência bem definidos, por isso retiramos o BDNF e DHEA do teste, esse ponto trouxe um obstáculo extra para a elaboração de uma faixa de normalidade precisa. Apesar dos desafios, foi possível estabelecer valores de referência para seis biomarcadores e, assim, dar continuidade à escolha do método para a montagem do teste.

5.3.4 Citações da bibliografia da Etapa 3

Citações bibliográficas utilizadas para definir o valor de referência de cada biomarcador.

Cortisol:

- E3-1. ARINAMI, H. *et al.* Serum cortisol and insulin-like growth factor 1 levels in major depressive disorder and schizophrenia. *Sci Rep* **13**, 1148 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-28449-8>
- E3-2. MOUTHAN, J. *et al.* The role of acute cortisol and DHEAS in predicting acute and chronic PTSD symptoms, *Psychoneuroendocrinology*, 45, 2014, pp. 179-186, <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2014.04.001>
- E3-3. VERWEIJ, E. J. *et al.* Serum cortisol concentration with exploratory cut-off values do not predict the effects of hydrocortisone administration in children with low cardiac output after cardiac surgery, *Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery*, 15 (4), October 2012, Pages 685–689, <https://doi.org/10.1093/icvts/ivs292>

Glicose:

- E3-4. YITSHAK-SADE, M. *et al.* The association between an increase in glucose levels and armed conflict-related stress: A population-based study. *Sci Rep* **10**, 1710 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58679-z>

- E3-5. GROSS, J. L. *et al.* (2002). Diabetes Melito: Diagnóstico, Classificação e Avaliação do Controle Glicêmico. *Arquivos Brasileiros De Endocrinologia & Metabologia*, 46(1), 16–26. <https://doi.org/10.1590/S0004-27302002000100004>

Noradrenalina:

- E3-6. SMARTLABIS. (n.d.). Guia de exames: catecolaminas plasmáticas. Retrieved August 22, 2024, from <https://www.smartlabis.com.br/guia-de-exames-1/catecolaminas-plasmaticas>
- E3-7. LABCONOUS. (2017, January 10). Valores de referência: modificação do método. Retrieved August 22, 2024, from https://blog-pt.labconous.com/2017/01/valores-de-referencia-modificacao_10.html
- E3-8. MSD MANUAL. (n.d.). Exames de sangue: valores normais. Retrieved August 22, 2024, from <https://www.msmanuals.com/pt-br/profissional/recursos/valores-laboratoriais-normais/exames-de-sangue-valores-normais>

Interleucina 1 β :

- E3-9. LI, H. *et al.* Elevated Plasma Levels of Mature Brain-Derived Neurotrophic Factor in Major Depressive Disorder Patients with Higher Suicidal Ideation. *Brain Sciences*. 2023; 13(8):1223. <https://doi.org/10.3390/brainsci13081223>
- E3-10. DURSUN, E. *et al.* (2015). The interleukin 1 alpha, interleukin 1 beta, interleukin 6 and alpha-2-macroglobulin serum levels in patients with early or late onset Alzheimer's disease, mild cognitive impairment or Parkinson's disease. *Journal of Neuroimmunology*, 283, 50-57. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2015.04.014>

Interleucina 6:

- E3-11. SAID, E. A. *et al.* (2021). Defining IL-6 Levels in Healthy Individuals: A Meta-Analysis. 93(6). <https://doi.org/10.1002/JMV.26654>
- E3-12. MAGGIO, M. *et al.* (2006). Interleukin-6 in aging and chronic disease: A magnificent pathway. *The Journals of Gerontology: Series A*, 61(6), 575-584. <https://doi.org/10.1093/gerona/61.6.575>

TNF- α :

- E3-13. MAES, M., *et al.* The effects of psychological stress on humans: increased production of pro-inflammatory cytokines and Th1-like response in stress-induced anxiety. *Journal of Psychosomatic Research*, v. 43, n. 2, p. 213-223, 1998.
- E3-14. STEPTOE, Andrew; HAMER, Mark; CHIDA, Yoichi. The effects of acute psychological stress on circulating inflammatory factors in humans: A review and meta-analysis. *Brain, Behavior, and Immunity*, v. 21, n. 7, p. 901-912, 2007.

- E3-15. MONTEIRO, C. M. C. *et al.* Association between stress and inflammatory markers in patients with systemic lupus erythematosus. *Revista da Associação Médica Brasileira*, São Paulo, v. 65, n. 3, p. 361-366, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1806-9282.65.3.361>.

5.4 Etapa 4

A etapa 4 consistiu em investigar modelos de testes rápidos adequados aos biomarcadores selecionados.

5.4.1 Objetivo da Etapa 4

O objetivo desta etapa foi investigar os possíveis testes para a avaliação quantitativa e qualitativa dos biomarcadores selecionados e, com base nisso, propor um protótipo de teste capaz de identificar se o indivíduo está em situação de estresse ou não.

5.4.2 Desenvolvimento da Etapa 4

Após uma análise detalhada de diferentes métodos, como o glicosímetro, o teste toxicológico multiplex e o teste de fluxo lateral, concluímos que a melhor opção para o desenvolvimento do projeto seria o teste de fluxo lateral. Esse método se destaca por ser rápido, fácil de usar e portátil, o que facilita a aplicação em diferentes contextos, incluindo ambientes clínicos e domiciliares.

O glicosímetro não foi viável para nosso projeto, pois, embora seja eficaz para medir glicose, a quantificação de outros biomarcadores é mais complexa e pode levar a resultados imprecisos. Além disso, a necessidade de calibração frequente e a variação de resultados com diferentes amostras tornam esse método inadequado para nosso objetivo. Ademais, o teste toxicológico multiplex também foi descartado devido à dificuldade de coletar amostras de sangue. O procedimento demandaria que o indivíduo realizasse múltiplas perfurações no dedo para a obtenção de amostras em cada tira do teste, o que, além de aumentar o desconforto do paciente, poderia comprometer a integridade e a qualidade da amostra biológica coletada. Assim, propomos um teste de fluxo lateral para a avaliação do estresse, no qual todos os seis biomarcadores identificados serão incorporados ao método.

O intuito deste teste além de demonstrar a presença de tais biomarcadores qualitativamente em pessoas com estresse agudo e crônico, também tem o objetivo de quantificá-los e por isso será montado em forma de um dispositivo.

O primeiro passo na montagem do teste é selecionar uma membrana de nitrocelulose adequada, que servirá como a base onde ocorrerão as reações necessárias para a detecção dos biomarcadores. A membrana é posicionada no dispositivo, que também é composto por pads de amostra e de conjugado. No pad da amostra será aplicado o material do indivíduo o qual escolhemos ser o sangue e por isso no kit do teste terá uma lanceta, já no pad de conjugado, são depositados anticorpos específicos, conjugados com partículas que facilitarão a detecção.

Anticorpos específicos para cada um dos seis biomarcadores relacionados ao estresse são preparados e conjugados com partículas que possam ser detectadas por sensores, como nanopartículas magnéticas. Esses anticorpos serão utilizados para capturar os biomarcadores presentes na amostra. Na zona de teste da membrana, os anticorpos específicos são fixados em linhas, cada uma correspondente a um dos biomarcadores. A zona de controle contém um anticorpo secundário que se liga ao conjugado de anticorpos independentemente da presença dos biomarcadores, garantindo que o teste está funcionando corretamente.

Um sensor óptico ou eletroquímico é integrado à zona de teste para detectar e quantificar a reação entre os biomarcadores e os anticorpos. Esse sensor é capaz de medir a intensidade da cor ou a mudança na corrente elétrica, que é proporcional à quantidade de biomarcador presente.

O microprocessador é conectado ao sensor para receber os dados detectados. Ele processa essas informações e compara os níveis dos biomarcadores com valores de referência preestabelecidos, realizando uma análise quantitativa de cada biomarcador. Um algoritmo embutido analisa se todos os biomarcadores estão acima dos níveis normais.

Se todos os biomarcadores estiverem com níveis elevados, o microprocessador classifica o teste como positivo para estresse. Caso contrário, o teste é considerado negativo. Os resultados são então exibidos em um display integrado, permitindo uma leitura prática e imediata.

Finalmente, o teste é validado com amostras controle para garantir sua precisão e confiabilidade. Se necessário, ajustes são feitos para calibrar o sensor e o microprocessador, garantindo que o dispositivo funcione corretamente em diferentes condições. A Figura 3 ilustra o conceito e as etapas desse método.

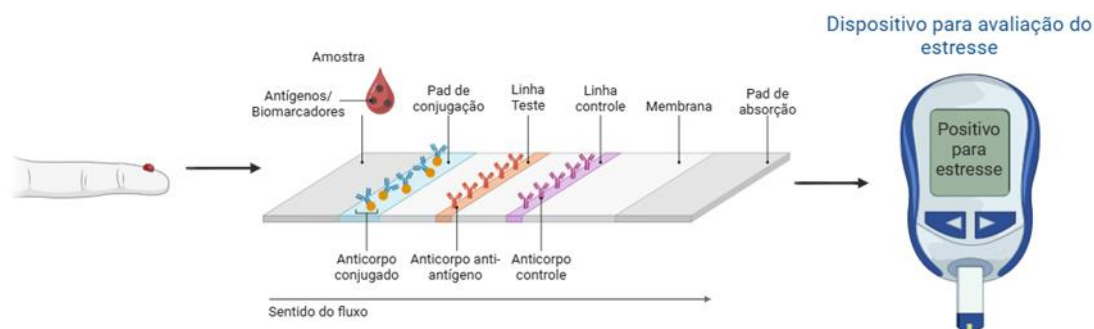


Figura 3. Esquema representativa do teste de fluxo lateral inserido em um dispositivo para quantificação dos biomarcadores e revelação do resultado no display integrado.

5.4.3 Considerações e reflexões da Etapa 4

Ao concluir esta pesquisa, refletimos sobre a complexidade envolvida na escolha de um método capaz de analisar todos os biomarcadores propostos. O método de fluxo lateral, que foi estudado durante a graduação, acabou sendo selecionado, pois oferece praticidade, portabilidade e eficiência em um único dispositivo. Essa familiaridade prévia com o método direcionou nossa pesquisa e nos ajudou a comparar os prós e contras de outros métodos considerados, que foram descartados devido a dificuldades de coleta ou limitações em relação aos biomarcadores. Outro ponto de reflexão foi a inclusão de um microprocessador, possibilitando diferenciar os níveis normais e elevados dos biomarcadores de forma rápida.

5.4.4 Citações da bibliografia da Etapa 4

Artigos que exploram o método de fluxo lateral na avaliação qualitativa e quantitativa de substâncias específicas.

- E4-1. WU, Y. *et al.*(2022). Quantitative brain-derived neurotrophic factor lateral flow assay for point-of-care detection of glaucoma. *Lab on a Chip*, 22(16), 3521-3532. <https://doi.org/10.1039/D2LC00431C>
- E4-2. LEI, R. *et al.* Ultra-Sensitive and Semi-Quantitative Vertical Flow Assay for the Rapid Detection of Interleukin-6 in Inflammatory Diseases. *Biosensors (Basel)*. 2022 Sep 14;12(9):756. doi: 10.3390/bios12090756.
- E4-3. TANG, J. *et al.* Development of quantum dot-based fluorescence lateral flow immunoassay strip for rapid and quantitative detection of serum interleukin-6. *J Clin Lab Anal*. 2021 May;35(5):e23752. doi: 10.1002/jcla.23752.
- E4-4. OMIDFAR, Kobra; RIAHI, Fatemeh; KASHANIAN, Soheila. Lateral Flow Assay: A Summary of Recent Progress for Improving Assay Performance. *Biosensors* 2023, 13, 837. <https://doi.org/10.3390/bios13090837>

5.5 Etapa 5

Definição dos parâmetros de utilização do aparelho de medição.

5.5.1 Objetivo da Etapa 5

O objetivo de fazer um manual com instruções de uso para o Medstress é fornecer informações claras, precisas e compreensíveis sobre o teste para os pacientes e profissionais de saúde. As instruções detalham como deve ser usado de maneira segura e eficaz.

5.5.2 Desenvolvimento da Etapa 5

O manual com as instruções de uso do dispositivo de avaliação do estresse foi elaborado para orientar o usuário no uso adequado do teste. Durante seu desenvolvimento, baseamo-nos no formato das bulas de medicamentos, como a do paracetamol, que, assim como outros medicamentos e produtos na área da saúde, possuem manuais informativos. Esses manuais são essenciais para fornecer todas as instruções e informações necessárias para o uso seguro e eficaz do produto.

O manual apresenta diversas seções importantes, começando pela descrição do dispositivo, também esclarece para quais finalidades o teste é indicado, detalhando sua aplicação na avaliação de biomarcadores relacionados ao estresse. Instruções completas sobre como realizar o teste estão incluídas, apresentando um passo a passo que abrange desde a coleta até a interpretação dos resultados.

Quanto às contraindicações, o teste não é indicado para pessoas com diabetes descompensado, infecções, Síndrome de Cushing, Síndrome de Nelson, Doença de Addison ou qualquer outra condição que interfira diretamente nos níveis de cortisol. Também não deve ser utilizado por pessoas com condições inflamatórias crônicas, como artrite reumatoide ou doenças autoimunes, incluindo Lúpus, Doença de Crohn e esclerose múltipla. Indivíduos com problemas na função renal ou hepática devem consultar um médico antes de usar o dispositivo. O teste é contraindicado para pessoas que fazem uso de medicações como corticosteroides, antidepressivos e

imunossupressores, uma vez que esses medicamentos podem interferir diretamente nos resultados obtidos. Além disso, é contraindicado realizar alguma atividade física momentos antes de fazer o teste.

Por fim, o manual aborda as advertências e precauções necessárias para evitar erros de uso ou leituras incorretas. Esse conteúdo foi cuidadosamente estruturado para fornecer um guia claro e abrangente, permitindo que o usuário utilize o teste de forma consciente, responsável e segura.

INSTRUÇÕES DE USO MEDSTRESS

APRESENTAÇÕES

O MedStress é um dispositivo destinado à avaliação do estresse em indivíduos através da medição de biomarcadores específicos no corpo. Ele utiliza amostras biológicas (sangue) para quantificar os níveis de glicose, cortisol, interleucina-1 beta, interleucina-6, noradrenalina e TNF-alpha, que são indicativos de estresse.

USO ADULTO

COMPOSIÇÃO

O MedStress é composto por um aparelho eletrônico portátil, tiras de teste para amostras de sangue, e um software para análise de dados e visualização dos resultados. O kit também inclui lancetas, um dispositivo de coleta da amostra de sangue.

PARA QUE ESSE TESTE É INDICADO?

O MedStress é indicado para indivíduos saudáveis ou com suspeita de condições relacionadas ao estresse. Ademais, para avaliação de estresse em ambientes clínicos, de pesquisa ou de trabalho.

COMO DEVO USAR O TESTE?

1. Higienize a área de coleta de amostra (dedo);
2. Utilize a lanceta para perfurar o dedo;

3. Coloque a amostra de sangue na tira de teste conforme indicado;
4. Aguarde até que o dispositivo processe a amostra e forneça uma leitura.

O teste não pode ser realizado no período da manhã, somente no período da tarde

O teste deve ser feito em jejum ou após 2h da última refeição

LEITURA DOS RESULTADOS:

Os resultados serão exibidos na tela do dispositivo ou no aplicativo de software associado, como "positivo para estresse" ou "negativo para o estresse".

QUAIS SÃO AS CONTRAINDICAÇÕES?

O dispositivo não é indicado para pessoas com diabetes descompensado, infecções, Síndrome de Cushing, Síndrome de Nelson, Doença de Addison ou qualquer outra que interfira diretamente nos níveis de cortisol; pessoas com condições inflamatórias crônicas como artrite reumatoide ou doenças autoimunes (Lúpus, Doença de Crohn, esclerose múltipla); pessoas com problemas na função renal ou hepática devem consultar médico. O teste é contraindicado para pessoas em uso de medicação como corticosteroides, antidepressivos e medicamentos imunossupressores. Além disso, é contraindicado a realização de atividades físicas momentos antes de fazer o teste.

QUAIS SÃO AS ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES?

Uso Pessoal: O MedStress é destinado ao uso pessoal ou profissional. Cada dispositivo deve ser usado por um único indivíduo para evitar contaminação cruzada.

Condições de Armazenamento: Armazene o dispositivo e as tiras de teste em um local seco, protegido da luz solar direta e em temperatura ambiente.

Validade das Tiras de Teste: Verifique a validade das tiras de teste antes de cada uso. Não utilize tiras vencidas.

O MedStress não substitui uma avaliação médica completa.

QUAIS OS MALES QUE ESTE TESTE PODE ME CAUSAR?

Não aplicável.

INTERAÇÕES:

Para indivíduos em tratamento medicamentoso, é recomendável consultar um médico antes de utilizar o MedStress.

Data de Fabricação e Validade e Número do Lote: vide embalagem

Figura 3. Manual com as instruções de uso do teste rápido para avaliação do estresse denominado MEDSTRESS.

5.5.3 Considerações e reflexões da Etapa 5

Assim como em um teste real, consideramos essencial incluir instruções de uso, garantindo que o usuário esteja plenamente informado antes da utilização. Nos inspiramos na bula tradicional do medicamento paracetamol para a estruturação do manual, atendendo também à formatação exigida pela ANVISA. Durante o desenvolvimento, dedicamos uma atenção especial ao tópico de contraindicações, considerando que, por se tratar de um teste de avaliação de estresse, muitas variáveis podem influenciar o resultado.

Considerando a função e o objetivo do teste, nomeamos o produto como "Medstress", um trocadilho que combina "med" (referente à medicina) e "stress" (palavra em inglês para estresse). O nome reflete claramente a proposta: medir o nível de estresse com embasamento científico. Sentimos a necessidade de criar um manual de instruções para que todos possam ter acesso ao uso correto do teste, podendo assim evitar a interpretação equivocada do resultado.

5.5.4 Citações da bibliografia da Etapa 5

Referências obtidas no site da ANVISA sobre as diretrizes de formatação exigidas para bulas e a bula do paracetamol.

- E5-1. ANVISA. Bulas de medicamentos. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/medicamentos/bulas-rotulos-e-nome-comercial/bulas-de-medicamentos>.
- E5-2. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). (n.d.). *Bulário: Paracetamol*. Disponível em: <https://consultas.anvisa.gov.br/#/bulario/q/nomeProduto=PARACETAMOL>:

5.6 Perspectiva de Desenvolvimento Futuro

Validação do produto

5.6.1 Objetivo

Avaliar a efetividade do protótipo do teste Medstress, comparando seus resultados com os obtidos por meio de um estudo psicológico realizado com os participantes

5.6.2 Desenvolvimento

Para registrar o Medstress como um dispositivo médico, ele será classificado como um teste rápido point-of-care. Dependendo do país, o processo pode variar. No Brasil, por exemplo, o teste será registrado na ANVISA como um dispositivo de diagnóstico in vitro (IVD), e o grau de risco determinará a complexidade do registro. Será necessário apresentar um dossiê técnico contendo dados de validação clínica e analítica, demonstrando que o teste é seguro e eficaz para detectar o estresse de forma rápida e precisa.

Para a aprovação, pesquisas em humanos serão realizadas para verificar a precisão do dispositivo na detecção e avaliação de biomarcadores de estresse. Agências como a FDA e ANVISA exigem esses estudos antes de aprovar novos dispositivos de diagnóstico. O Medstress também precisará de certificações específicas, como a ISO 13485, para garantir que cumpre normas internacionais de qualidade no desenvolvimento e fabricação. Além disso, será necessário seguir regulamentações para testes rápidos, como obter a marca CE para comercialização na União Europeia.

Cada país onde o teste for comercializado pode exigir registros sanitários locais e revisões periódicas. Quanto aos aspectos legais, é importante definir claramente que o Medstress é um "auxílio na detecção de biomarcadores relacionados ao estresse", para evitar que seja visto como um diagnóstico definitivo. Instruções claras

para o consumidor também serão elaboradas, recomendando a consulta médica caso o resultado aponte altos níveis de estresse.

A estratégia de marketing será voltada tanto para o público geral quanto para profissionais de saúde, destacando a facilidade de uso e a rapidez dos resultados. A distribuição do Medstress será feita por meio de farmácias, clínicas e e-commerce. Após o lançamento, o dispositivo será monitorado para garantir que continua funcionando corretamente no uso diário, e relatórios periódicos sobre sua performance serão enviados aos reguladores.

5.6.3 Considerações e reflexões

Decidimos realizar esta etapa com uma visão voltada para o futuro, considerando os próximos passos que poderão ser tomados caso o teste evolua além do protótipo, pois reconhecemos seu grande potencial e impacto na saúde pública e na sociedade. Assim, refletimos que os próximos passos envolverão a validação do produto por meio de pesquisas clínicas, nas quais serão comparados os resultados do teste desenvolvido com uma escala de estresse psicológico e posteriormente seguiríamos com o registro e aprovação conforme as normas e diretrizes relativas a dispositivos médicos para diagnóstico.

5.6.4 Citações da bibliografia

Exemplo de ensaio clínico para avaliação psicológica do estresse.

- E6-1. Luft, C. D. B. *et al.* (2007). Versão brasileira da Escala de Estresse Percebido: tradução e validação para idosos. *Revista de Saúde Pública*, 41(4), 1-8. <https://doi.org/10.1590/S0034-89102007000400015>

Fontes com informações necessárias para registro e aprovação de um novo dispositivo médico.

- E6-2. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). (n.d.). Solicitar registro de dispositivo médico. Disponível em: <https://www.gov.br/pt-br/servicos/solicitar-registro-de-dispositivo-medico>
- E6-3. International Organization for Standardization (ISO). (2016). ISO 13485:2016 - Medical devices -- Quality management systems -- Requirements for regulatory purposes. Disponível em: <https://www.iso.org/standard/59752.html>

6 PRODUTO FINAL

Como produto final desse trabalho de conclusão de curso, procedemos à seleção dos potenciais biomarcadores para a detecção de estresse, fundamentada em uma revisão abrangente da literatura científica. A partir dessa seleção, foi sugerido um protótipo de teste qualitativo e quantitativo, destinado a identificar a presença de estresse, tanto em sua forma aguda quanto crônica (Fig. 4). Esse teste visa auxiliar os profissionais de saúde na distinção entre os sintomas relacionados ao estresse e aqueles associados a outras condições patológicas, proporcionando uma ferramenta de suporte ao diagnóstico. Além disso, ao obterem resultados positivos, os indivíduos poderão ser incentivados a buscar intervenção precoce, prevenindo assim a progressão do estresse para condições mais graves, como depressão, ansiedade e outros transtornos psicossomáticos.

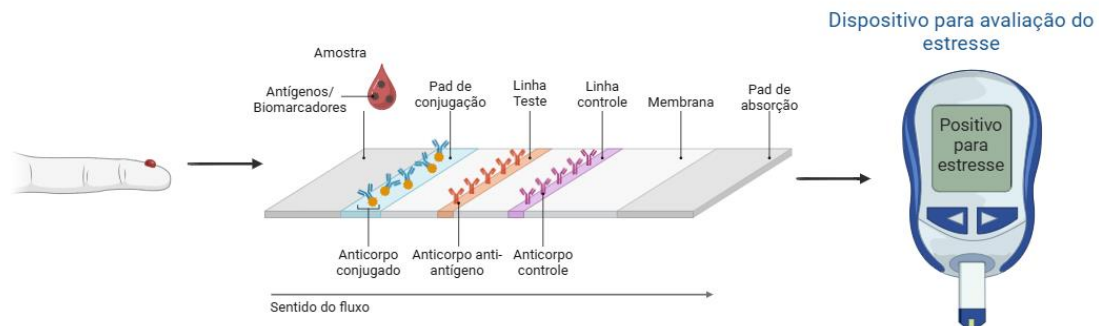


Figura 4. Imagem representativa dos materiais que irão compor o teste, iniciando pela amostra de sangue colhida pela lanceta e após isso a amostra será depositada na membrana de nitrocelulose que através da capilaridade fluirá pelo pad de conjugação, pela linha teste e pela linha controle. Diante disso, a reação dos anticorpos com os biomarcadores será quantificada e enviada para um microprocessador para comparação dos níveis dos biomarcadores. Finalmente, o resultado será mostrado no display acoplado no teste.

7 CONCLUSÃO

Os objetivos deste projeto foram plenamente alcançados, apesar das dificuldades iniciais encontradas na obtenção de algumas informações relevantes na literatura, conseguimos superar esses desafios e seguir em frente. Além disso, incorporamos uma etapa que oferece uma perspectiva para o futuro. Caso o teste seja implementado, acreditamos que será um passo decisivo para validar o protótipo e aplicar os resultados na prática.

Por ser um projeto inovador, enfrentamos desafios significativos ao longo do processo, o que exigiu flexibilidade e esforço por parte da equipe. No entanto, ao final, obtivemos resultados que consideramos não apenas satisfatórios, mas também promissores. Esses achados abrem novas possibilidades para futuras investigações e aplicações práticas, reafirmando o potencial de um teste de avaliação para o estresse como uma contribuição relevante para a sociedade.

REFERÊNCIAS

1. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Stress. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/stress>.
2. SELYE H. Estresse e a síndrome de adaptação geral. *Br Med J*. 1950 17 de junho; 1(4667):1383-92. DOI: 10.1136/bmj.1.4667.1383.
3. G1. (2020, dezembro 1). 2020 foi um ano recorde de estresse, aponta pesquisa. Viva você. Disponível em: <https://g1.globo.com/viva-voce/noticia/2020/12/01/2020-foi-um-ano-recorde-de-estresse-aponta-pesquisa.ghtml>.
4. VEJA. (2020). A revolta do estresse. Abril. Disponível em: <https://veja.abril.com.br/saude/a-revolta-do-estresse/>.
5. CNN Brasil. (2020). O que você deveria saber sobre estresse, segundo uma médica. Disponível em: <https://www.cnnbrasil.com.br/saude/o-que-voce-deveria-saber-sobre-estresse-segundo-uma-medica/>.
6. Rohleder Nicolas. (2019). Stress and inflammation - The need to address the gap in the transition between acute and chronic stress effects. *Psychoneuroendocrinology*, 105, 164–171. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2019.02.021>
7. KNEZEVIC, E. et al. (2023). The Role of Cortisol in Chronic Stress, Neurodegenerative Diseases, and Psychological Disorders. *Cells*, 12(23), 2726. <https://doi.org/10.3390/cells12232726>
8. JURUENA, Mário F.; CLEARE, Anthony J.; PARIANTE, Carmine M. O eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, a função dos receptores de glicocorticóides e sua importância na depressão. *Brazilian Journal of Psychiatry*, São Paulo, v. 26, n. 3, p. 189-201, set. 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1516-44462004000300009>.
9. FLORES-KANTER, Pablo E.; MORETTI, Luciana; MEDRANO, Leonardo A. “A narrative review of emotion regulation process in stress and recovery phases.” *Heliyon* vol. 7,6 e07218. 8 Jun. 2021, doi:10.1016/j.heliyon.2021.e07218
10. SOUSA, Maria Bernardete Cordeiro de; SILVA, Hélderes Peregrino A.; GALVÃO-COELHO, Nicole Leite. Resposta ao estresse: I. Homeostase e teoria da alostase. *Estudos de Psicologia (Natal)*, Natal, v. 20, n. 1, p. 2-11, jan./mar. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.5935/1678-4669.20150002>.
11. ARANDA, Bruna Coelho Lopes; FERNANDES, Mariana Domingues Cardoso; PARREIRA, João Gilberto. Estresse e bem-estar no trabalho: uma revisão de literatura. 2022. Disponível em: <https://scielosp.org/article/sausoc/2022.v31n1/e200735/pt/>.
12. van der Kooij, Michael A. (2020). The impact of chronic stress on energy metabolism. *Molecular and cellular neurosciences*, 107, 103525. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2020.103525>.
13. MUSSER, E. D. *et al.* Insulin resistance after oral glucose tolerance testing in patients with major depression. *American Journal of Psychiatry*, 2014. Disponível em: <https://ajp.psychiatryonline.org/doi/10.1176/appi.ajp.2013.13070921>.

14. KUMAR, A. *et al.* Diabetes induzido por estresse: uma revisão. PubMed Central (PMC), 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4590815/>.
15. PATEL, B.; *et al.* Hiperglicemia induzida pelo estresse. British Journal of Hospital Medicine, 2019. Disponível em: <https://www.magonlinelibrary.com/doi/full/10.12968/hmed.2019.80.8.C118>.
16. BORN, J. *et al.* Timing the end of nocturnal sleep. Nature, Londres, v. 397, n. 6714, p. 29-30, 7 jan. 1999. DOI: 10.1038/16166.
17. STEIGER, A. Sleep and the hypothalamo-pituitary-adrenocortical system. Sleep Medicine Reviews, [s.l.], v. 6, n. 2, p. 125-138, abr. 2002. DOI: 10.1053/smr.2001.0159.
18. CONNOR, Thomas J.; LEONARD, Brian E. Depression, stress and immunological activation: The role of cytokines in depressive disorders. Life Sciences, v. 62, n. 7, p. 583-606, 1998. DOI: 10.1016/S0024-3205(97)00990-9.
19. SLAVICH, George M.; IRWIN, Michael R. From stress to inflammation and major depressive disorder: a social signal transduction theory of depression. Psychol Bull. 2014 May;140(3):774-815. doi: 10.1037/a0035302.
20. CASTILLO-NAVARRETE, Juan-Luis; GUZMÁN-CASTILLO, Alejandra; BUSTOS, Claudio; ROJAS, Romina. Peripheral brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and salivary cortisol levels in college students with different levels of academic stress: study protocol. PLOS ONE, v. 18, n. 2, e0282007, 22 fev. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0282007>.
21. KAREGE, F. *et al.* Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels in major depressed patients. Psychiatry Research, v. 109, n. 2, p. 143-148, 15 mar. 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0165-1781\(02\)00005-7](https://doi.org/10.1016/S0165-1781(02)00005-7).
22. BRUNONI, André Russowsky; LOPES, Mariana; FREGNI, Felipe. A systematic review and meta-analysis of clinical studies on major depression and BDNF levels: implications for the role of neuroplasticity in depression. International Journal of Neuropsychopharmacology, v. 11, n. 8, p. 1169-1180, dez. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S1461145708009309>
23. QIAO, S. *et al.* Hair measurements of cortisol, DHEA, and DHEA to cortisol ratio as biomarkers of chronic stress among people living with HIV in China: known-group validation. PLOS ONE, 17 jan. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169827>.
24. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Revisão mundial da saúde mental: transformar saúde mental para todos. Genebra: Organização Mundial da Saúde, 2022. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240049338>.