

Impacto no desempenho acadêmico de calouros do curso de enfermagem: relação dos níveis de estresse, cortisol e alfa-amilase salivar no ensino da anatomia humana

Impact on academic performance of freshmen of the nursing course: relationship of stress levels, cortisol and salivary alpha-amylase in the teaching of human anatomy

Impacto en el rendimiento académico de estudiantes de primer grado de enfermería: relación de los niveles de estrés, cortisol y alfa-amilasa salival en la enseñanza de la anatomía humana

Recebido: 30/01/2023 | Revisado: 07/02/2023 | Aceitado: 08/02/2023 | Publicado: 13/02/2023

Júlio César do Carmo Ferreira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4733-676X>
Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Brasil
E-mail: julio.carmo12@yahoo.com

Odival Seabra

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0918-5414>
Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Brasil
E-mail: odival.seabra@uftm.edu.br

Aline Araujo Martins Ferreira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1003-7750>
Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Brasil
E-mail: martinsferreira.aline@outlook.com

Lucas Pereira da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4252-0907>
Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Brasil
E-mail: lucasp178kz@gmail.com

Ana Paula Espindula

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9282-4482>
Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Brasil
E-mail: ana.espindula@uftm.edu.br

Fabrizio Antonio Gomide Cardoso

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7520-2879>
Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Brasil
E-mail: fabrizio.cardoso@uftm.edu.br

Fernando Seiji da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6373-8817>
Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Brasil
E-mail: fernando.silva@uftm.edu.br

Luciano Gonçalves

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1668-668X>
Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Brasil
E-mail: luciano.goncalves@uftm.edu.br

Leonardo Augusto Lombardi

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9735-8804>
Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Brasil
E-mail: leonardo.lombardi@uftm.edu.br

Daniel Ventura Dias

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8113-8228>
Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Brasil
E-mail: daniel.dias@uftm.edu.br

Renata Pereira Alves

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2411-614X>
Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Brasil
E-mail: renata.pereira@uftm.edu.br

Sanívia Aparecida de Lima Pereira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0293-2587>
Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Brasil
E-mail: Sanivia.pereira@uftm.edu.br

Rodrigo César Rosa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3157-0826>
Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Brasil
E-mail: rodrigo.rosa@uftm.edu.br

Resumo

O objetivo do estudo foi avaliar os níveis de Cortisol e Alfa-amilase salivar, relacionando-os com o nível de estresse e desempenho acadêmico de calouros do curso de Enfermagem, durante a primeira avaliação prática da disciplina de Anatomia Humana. Os procedimentos de coleta de saliva foram realizados antes e após a aplicação da avaliação prática de Anatomia Humana. As concentrações de Cortisol e Alfa-amilase salivar foram avaliadas pelo método ELISA. Foi utilizada a versão reduzida do questionário de Avaliação de Estresse em Estudantes de Enfermagem. Resultados: Foi observado que a concentração média de cortisol salivar foi de $0,421 \pm 0,076 \mu\text{g/dL}$ e final de $0,572 \pm 0,096 \mu\text{g/dL}$, caracterizando aumento significativo de 35,8% ($p < 0,0001$). Semelhantes resultados foram observados para as concentrações de alfa-amilase salivar (Inicial: $100,70 \pm 7,37 \text{ U/mL}$ e Final: $135,64 \pm 10,85 \text{ U/mL}$), com aumento significativo de 34,7% da concentração ($p < 0,0001$). O índice de avaliação, possibilitou identificar três fatores explicativos (comportamentais, estressores e organizacionais) Assim, foi detectado em 67% da amostra, nível leve de estresse para o fator explicativo comportamental). Para o fator explicativo estressor foi observado nível moderado em 53% da amostra. Ainda, foi observado nível elevado de estresse quanto ao fator explicativo organizacional em 80%. Foi observado pico médio de cortisol de $36,5 \pm 9,6\%$ (Final - Inicial %) e percentual de desempenho acadêmico de $75,9 \pm 16,4\%$, que demonstra influencia negativa do percentual dos níveis de estresse no desempenho dos participantes. Conclusão: A ansiedade perante exames de avaliação gera resultados negativos no desempenho dos acadêmicos.

Palavras-chave: Cortisol; Alfa-amilase salivar; Estresse psicológico; Desempenho acadêmico.

Abstract

The objective of the study was to evaluate the levels of salivary Cortisol and Alpha-amylase, relating them to the level of stress and academic performance of freshmen of the Nursing course, during the first practical evaluation of the Human Anatomy discipline. Saliva collection procedures were performed before and after the application of the practical assessment of Human Anatomy. Salivary Cortisol and alpha-amylase concentrations were evaluated by the ELISA method. The short version of the Stress Assessment Questionnaire in Nursing Students was used. Results: It was observed that the mean concentration of salivary cortisol was $0.421 \pm 0.076 \mu\text{g/dL}$ and the final one was $0.572 \pm 0.096 \mu\text{g/dL}$, characterizing a significant increase of 35.8% ($p < 0.0001$). Similar results were observed for salivary alpha-amylase concentrations (Initial: $100.70 \pm 7.37 \text{ U/mL}$ and Final: $135.64 \pm 10.85 \text{ U/mL}$), with a significant increase of 34.7% in the concentration ($p < 0.0001$). The evaluation index made it possible to identify three explanatory factors (behavioral, stressors and organizational). For the explanatory stressor factor, a moderate level was observed in 53% of the sample. Furthermore, a high level of stress regarding the organizational explanatory factor was observed in 80%. An average peak of cortisol of $36.5 \pm 9.6\%$ (Final - Initial %) and percentage of academic performance of $75.9 \pm 16.4\%$ were observed, which demonstrates the negative influence of the percentage of stress levels on the performance of the participants. Conclusion: Anxiety before evaluation exams generates negative results in the performance of academics.

Keywords: Cortisol; Salivary alpha-amylase; Stress psychological; Academic achievement.

Resumen

El objetivo del estudio fue evaluar los niveles de Cortisol salival y Alfa-amilasa, relacionándolos con el nivel de estrés y rendimiento académico de los ingresantes de la carrera de Enfermería, durante la primera evaluación práctica de la disciplina de Anatomía Humana. Se realizaron procedimientos de recolección de saliva antes y después de la aplicación de la evaluación práctica de Anatomía Humana. Las concentraciones de Cortisol salival y alfa-amilasa fueron evaluadas por el método ELISA. Se utilizó la versión corta del Cuestionario de Evaluación del Estrés en Estudiantes de Enfermería. Resultados: Se observó que la concentración media de cortisol salival fue de $0,421 \pm 0,076 \mu\text{g/dL}$ y la final de $0,572 \pm 0,096 \mu\text{g/dL}$, caracterizándose un aumento significativo del 35,8% ($p < 0,0001$). Resultados similares se observaron para las concentraciones de alfa-amilasa salival (Inicial: $100,70 \pm 7,37 \text{ U/mL}$ y Final: $135,64 \pm 10,85 \text{ U/mL}$), con un aumento significativo del 34,7% en la concentración ($p < 0,0001$). El índice de evaluación permitió identificar tres factores explicativos (conductuales, estresores y organizacionales). Para el factor estresor explicativo se observó un nivel moderado en el 53% de la muestra. Además, se observó un alto nivel de estrés con respecto al factor explicativo organizacional en el 80%. Se observó un pico promedio de cortisol de $36,5 \pm 9,6\%$ (Final - Inicial %) y porcentaje de rendimiento académico de $75,9 \pm 16,4\%$, lo que demuestra la influencia negativa del porcentaje de niveles de estrés en el rendimiento de los participantes. Conclusión: La ansiedad ante los exámenes de evaluación genera resultados negativos en el rendimiento académico.

Palabras clave: Cortisol; Alfa-amilasa salival; Estrés psicológico; Logro académico.

1. Introdução

As reações de estresse nos seres vivos tornam possíveis a sobrevivência e a adaptação aos inúmeros estímulos ambientais, aos quais estamos expostos constantemente. Entretanto, quando este estímulo é muito intenso e/ou mantido por

longos períodos, o processo de adaptação pode não ocorrer. Assim, surge a fase de exaustão da reação ao estresse, podendo ser aguda ou crônica, em que o organismo se torna mais susceptível ao surgimento de distúrbios funcionais e/ou doenças (Selve, 1936).

Evidências científicas têm apontado relação entre as alterações de origem crônica e o estresse das atividades acadêmicas, sendo observado principalmente altos níveis de ansiedade em alunos de graduação e profissionais atuantes na área de saúde (Costa *et al.*, 2017; Costa *et al.*, 2018), este fenômeno parece ter início durante a formação acadêmica (Berzin, 2007; Silva *et al.*, 2016).

Substâncias como o cortisol e a alfa-amilase são considerados biomarcadores, e podem indicar alterações fisiológicas relacionadas com alterações emocionais e níveis de estresse (Fries; Hellhammer, Hellhammer, 2005). As alterações do nível de estresse interferem diretamente na ativação do eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal (eixo HHA), o que acarreta a produção de hormônios, sendo o cortisol um dos principais produtos (Ramli *et al.*, 2018). Esse eixo exerce uma importante participação na manutenção da homeostase, na ativação da resposta inflamatória e da resistência à dor, bem como dos estímulos proprioceptivos, reflexos e cognitivos (Średniawa *et al.*, 2019). Todavia, apesar da ativação do eixo HHA ser essencial para garantir a homeostase corporal, o excesso de estresse pode acarretar efeitos negativos tanto para a saúde física como mental. Os potenciais efeitos negativos do estresse agudo, na memória por exemplo, têm sido relacionados, em parte, a concentrações aumentadas de cortisol como também catecolaminas, que podem afetar a excitabilidade neuronal e alterar os mecanismos cerebrais envolvidos na memória de trabalho (ou seja, função do córtex pré-frontal) (Barsegyan *et al.*, 2010; Shields *et al.*, 2016). Assim, alguns achados da literatura mostram que o estresse excessivo e recorrente, pode estar associado ao desenvolvimento de algumas doenças, principalmente a depressão (Costa *et al.*, 2017).

O cortisol é um glicocorticoide predominante nos seres humanos, que desempenha diversas funções fisiológicas essenciais à homeostasia do organismo. A sua principal finalidade é regular o processo de gliconeogênese a partir de aminoácidos e a deposição de glicogênio hepático. Essa regulação é essencial para a manutenção e liberação de fontes energéticas do organismo, como para o enfrentamento de situações estressoras (Yosetake *et al.*, 2018). Esse hormônio também se relaciona com processos de aprendizado, memória e emoções no sistema nervoso central, bem como em funções no sistema imune, como na maturação de linfócitos (Wu *et al.*, 2018). Além disso, está relacionado à secreção de catecolaminas, como adrenalina e noradrenalina, que atuam no receptor β -1 aumentando a frequência cardíaca e a força de contração muscular; e sobre o receptor α -1 gerando vasoconstricção, fatores que provocam elevação na pressão arterial (Costa *et al.*, 2018).

A enzima alfa-amilase (AA) foi identificada como um biomarcador de estresse físico (Ehlert *et al.*, 2006; Zamroni *et al.*, 2018). Produzida principalmente pelas glândulas parótidas, essa enzima, que possui função digestiva, atua também como um importante biomarcador das alterações do sistema nervoso simpático (Souza *et al.*, 2013). Por conseguinte, alterações na quantidade e ação da AA, apresentam relação com diversas doenças psicossomáticas, como: a esquizofrenia, a depressão, doenças orais, distúrbios cardiovasculares, diabetes mellitus tipo II, insuficiência renal, síndrome de Down, câncer oral, alcoolismo crônico, caxumba, parotidite, além do uso como indicador de estresse físico/psicológico (Della Ventura *et al.*, 2017; Wu *et al.*, 2018). De acordo com a literatura, foi demonstrado que, para o estresse físico há um pico de produção da enzima AA logo após o início do agente estressor, seguida por regressão para os níveis basais após 30 a 60 minutos (Mostafavian *et al.*, 2018). Apesar de essa alteração ter sido evidenciada em casos de estresse físico, esse pico de produção de alfa-amilase também tem sido associado com estressores psicológicos (Adiele *et al.*, 2018). Assim, o aumento do nível de concentração de AA salivar é considerado uma resposta frente às situações de ansiedade, estresse físico e psicológico (BOSCH *et al.*, 1996), uma vez que o sistema nervoso autônomo estimula as glândulas parótidas a secretarem esta enzima em resposta a estímulos estressores agudos (Costa *et al.*, 2017).

As concentrações de cortisol e alfa-amilase apresentam variações no organismo ao longo do dia, em decorrência do

ciclo circadiano (Abouammoh *et al.*, 2020). Esse ciclo é representado por altos níveis desses hormônios ao despertar, com gradual declínio, até seu nível mais baixo, no período noturno, na hora de dormir (Juster *et al.*, 2011). O pico do cortisol ao despertar é definido como Resposta do Cortisol ao Despertar, ou Cortisol Awakening Response (CAR) (Reddy *et al.*, 2018). Estudos apontam que o CAR é um excelente preditor da resposta do eixo HHA, demonstrando uma relação positiva entre variações normais da concentração do cortisol e a presença de doenças e distúrbios psíquicos, podendo ser empregado como um biomarcador destes processos (Hellhammer, *et al.*, 2009). Ainda, o estresse psicossocial, crônico ou agudo, até mesmo subclínico, está relacionado com a redução da amplitude da curva diurna do cortisol, o que acarreta redução nos níveis desse hormônio durante o dia (Mantella *et al.*, 2008). Neste contexto, estudos apresentam importantes evidências da relação entre o aumento dos níveis de cortisol no período da tarde e depressão severa. Todavia, os resultados divergem quanto aos níveis de cortisol matinal (Reddy *et al.*, 2018). Apesar da presença de fortes evidências da relação entre aumento do nível de cortisol circulante, em situações negativas, os achados são incapazes de determinar até que ponto esta associação relaciona-se com as diferenças individuais estáveis ou flutuações transitórias de humor (Polk *et al.*, 2005; Costa *et al.*, 2018; Abouammoh *et al.*, 2020). Assim, mesmo não estando totalmente elucidados os fatores relacionados, há um consenso da relevância das mudanças dos níveis de cortisol em decorrência de alterações dos níveis de estresse (Abouammoh *et al.*, 2020).

O cortisol e a alfa-amilase podem ser dosados por diferentes métodos bioquímicos, podendo ser quantificados em diferentes amostras (Stalder *et al.*, 2012). A presença de covariáveis age diretamente sobre o ciclo circadiano, e são divididas das seguintes formas: as influenciadas pelos antecedentes pessoais no dia da coleta, as quais compreendem a hora que acordou, diferenças no tempo de sono entre dias de semanas e fins de semana (Kudielka; Kischbaum, 2005), estilo de vida, tabagismo (Średniawa *et al.*, 2019), etilismo (Anuradha *et al.*, 2017), personalidade, temperamento e a prática de exercícios físicos (Engert *et al.*, 2011), uso de antidepressivos e glicocorticoides, além do intervalo entre a coleta e a última refeição (Fries, Hellhammer, Hellhammer, 2005); aquelas que não possuem relação com o dia da coleta, como gênero (Rohleder *et al.*, 2001; Della Ventura *et al.*, 2017), idade (Abouammoh *et al.*, 2020), puberdade (Silva *et al.*, 2016) e fatores socioeconômicos (Cohen *et al.*, 2006); as covariáveis que estão relacionadas com as condições de saúde dos indivíduos representam doenças mentais e físicas, índice de massa corporal (Reddy *et al.*, 2018), a fase lútea do período menstrual (Rohleder *et al.*, 2001), gravidez (Lindsay; Nieman, 2005), uso de contraceptivos orais (Kischbaum *et al.*, 1999) e utilização de esteroides e corticoides (Fries, Hellhammer, Hellhammer, 2005). Entretanto, algumas covariáveis podem estar relacionadas ou não com alterações do cortisol, como gênero (Yosetake *et al.*, 2018), ingestão de caféina e chá (Steptoe *et al.*, 2007) e suporte social (Chawla e Sachdeva, 2018). Por fim, há um consenso na literatura sobre as variáveis que são consideradas como fatores de exclusão em pesquisas de cortisol salivar e sanguíneo, com destaque à utilização de esteroides, estar no último trimestre da gravidez, estar enfermo no dia da coleta, e possuir distúrbio endócrino comprovado (Ramli *et al.*, 2018).

Nesta perspectiva, a hipótese do estudo está fundamentada na premissa que o aumento do nível de estresse em calouros do curso de Enfermagem interfere negativamente no desempenho acadêmico, durante a primeira avaliação prática de Anatomia Humana, pressupondo haver relação entre os níveis de estresse e as concentrações de cortisol e alfa-amilase salivar. Assim este estudo objetivou avaliar os níveis de Cortisol e Alfa-amilase salivar, relacionando-os com o nível de estresse e desempenho acadêmico de calouros do curso de Enfermagem, durante a primeira avaliação prática da disciplina de Anatomia Humana.

2. Metodologia

O estudo consiste em uma pesquisa analítica, quantitativa e observacional do tipo transversal, com a participação de discentes voluntários do curso de Enfermagem da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), devidamente aprovado

pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFTM conforme parecer nº. 4.492.091.

Foram recrutados 32 voluntários, de ambos os sexos, na faixa etária de 18 a 29 anos, sendo 22 do sexo feminino e 10 do sexo masculino. Como critério de inclusão os voluntários deveriam ser calouros e estar cursando a disciplina de Anatomia Humana. Ainda, deveriam aceitar participar da pesquisa, mediante assinatura de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Logo, os voluntários assumiram compromisso de acatar as recomendações e orientações e seguir criteriosamente as condições de restrições alimentares nas 12 horas precedentes às coletas de saliva. Tal medida foi instituída com a finalidade de garantir a homogeneidade e confiabilidade dos dados.

Na sequência, foram agendadas a entrevista e a avaliação física. O formulário de avaliação abrange dados pessoais, condição psicológica e psiquiátrica, uso de medicamentos, qualidade do sono, hábitos de vida diária, histórico familiar e da moléstia progressiva.

A avaliação do nível de estresse foi realizada mediante a aplicação de Versão reduzida do Instrumento de Avaliação de Estresse em Estudantes de Enfermagem (Costa *et al.*, 2017), que possui 30 itens organizados em três fatores explicativos: Comportamentais - relações interpessoais e experiência acadêmico-profissional (itens 2-5), Estressores - excesso de atividades, responsabilidades, desempenho e rotina (itens 1, 10-16 e 18), Organizacional - atividades acadêmico-profissionais e gestão de conflitos (itens 6, 7, 9, 17 e 19).

O número de participantes foi determinado ao final das entrevistas, em que foi adotado como critério de exclusão a presença de doenças neurológicas, reumatológicas, crônicas, metabólicas, distúrbios do sono, comportamentais e psiquiátricas. Assim, não poderiam fazer uso de prednisona, dexametasona e outros esteróides administrados via oral ou via intravenosa. No caso de eventual presença de lesão oral, com sangramento ativo ou potencial, não foram realizadas as coletas e os dados foram desconsiderados do estudo; como nos casos de abandono e de descumprimento das orientações e/ou recomendações.

Doze horas antes das coletas não poderia fazer uso bebidas energéticas; refrigerantes a base de cola; chocolates e achocolatados, bem como de chá preto, chá verde. Ainda, os participantes foram orientados a realizar a assepsia da cavidade oral por meio de leves bochechos com água.

A avaliação prática de anatomia humana foi aplicada no formato de gincana em fluxo intercalado, ou seja, com uma pausa, um acento de descanso, entre as bancadas. Portanto, o acadêmico tinha um minuto para responder cada questão prática e igual tempo de pausa. Esta estratégia foi adotada com o objetivo de reduzir o estresse dos discentes e garantir um melhor desempenho acadêmico.

Os participantes realizaram as coletas de saliva com o auxílio de um profissional previamente treinado, com uso de tubos Salivette. As coletas de saliva foram realizadas antes e após a aplicação da avaliação prática, sendo identificadas com uso de letras e números, para garantir o anonimato dos participantes.

Inicialmente, foi orientada a lavagem previamente das mãos, retirada do Swab (algodão estéril) do tubo Salivette, introdução na cavidade oral e a mastigação por 60 segundos, para estimular a salivação. Os profissionais realizaram a coleta do Swab, com uso de uma pinça estéril, acondiciono-os adequadamente no interior dos tubos Salivette.

As amostras foram centrifugadas, com a coleta de alíquotas do sobrenadante, sendo armazenadas em freezer -20°C. Alíquotas foram descongeladas apenas no momento das dosagens.

As concentrações de cortisol e alfa-amilase salivar foram avaliadas pelo método ELISA, utilizando kits da marca Salimetrics.

A dosagem de Cortisol possui sensibilidade analítica < 0,007 µg/dl e Alpha-Amilase Elisa Kit Salivar 0,4 U/ml. Os coeficientes de variação intra e interensaio foi <7% e <11%, respectivamente. Os ensaios das dosagens de cortisol não apresentam reatividade cruzada como, por exemplo, a prednisona e a 17-hidroxiprogesterona (17OHP). Porém, apresenta 0,56% de reatividade com prednisolona e 19,2% com DMS.

O valor de referência do método às 23h para adultos, segundo o fornecedor, é até 0,12 µg/dL para o Cortisol e 18 U/mL para Alpha-Amilase. Estes valores de referência foram checados mediante a determinação do Cut-off, calculado pela média do controle negativo, mais três desvios padrão. Assim, o cálculo do Cut-off para Cortisol = $0,0468 + (3 \times 0,025)$, sendo aproximadamente 0,12 µg/dL. Enquanto, que o Cut-off para a alfa-amilase = $9,23 + (3 \times 2,93)$, ou seja, aproximadamente 18 U/mL.

A preparação da amostra foi realizada mediante o revestimento das placas com anticorpos monoclonais anticortisol e antialfa-amilase (anticorpo fase sólida). Na sequência, foi adicionado 25 µL de amostras padrão e controles, 25 µL de diluente no poço zero e no poço com NSB (ligante não específico). Em seguida, foi adicionado 200 µL de conjugado diluído 1:1600 (15 µL de conjugado para 24 ml de diluente). As placas foram, então, homogeneizadas por 5 minutos a 500 rpm e incubadas por mais 55 minutos à temperatura ambiente. Posteriormente, foram realizadas 4 lavagens com tampão 1X. Assim, foi adicionado 200 µL de solução TMB (tetrametilbenzidina) homogeneizada por 5 minutos e incubada no escuro por mais 25 minutos. Ao final, foi adicionada à solução stop 50 µL. As leituras das absorbâncias foram realizadas após 10 minutos da adição de solução stop em leitora de ELISA em 450 nm. Toda a reação foi realizada em temperatura ambiente.

A análise estatística dos dados foi realizada por meio do programa GraphPad Prism®, versão 5.0. A distribuição normal dos dados foi verificada pelo método de Kolmogorov-Smirnov, seguida de teste *t Student*. Ainda, foi utilizado o teste de correlação de Pearson. As diferenças estatísticas foram consideradas significante quanto a probabilidade (p) foi menor que 5% ($p < 0,05$).

3. Resultados

Foram recrutados 32 voluntários, após a aplicação dos critérios de exclusão e com a descontinuidade do estudo por alguns voluntários o estudo terminou com 15 participantes do sexo feminino. A média de idade foi de $20,1 \pm 4,3$ anos, altura de $1,63 \pm 0,05$ metros, massa corpórea de $58,25 \pm 14,48$ kg, IMC de $21,95 \pm 5,27$ kg/m². Dentre as participantes 13% apresentaram taxa de sobrepeso e 87% massa corpórea ideal.

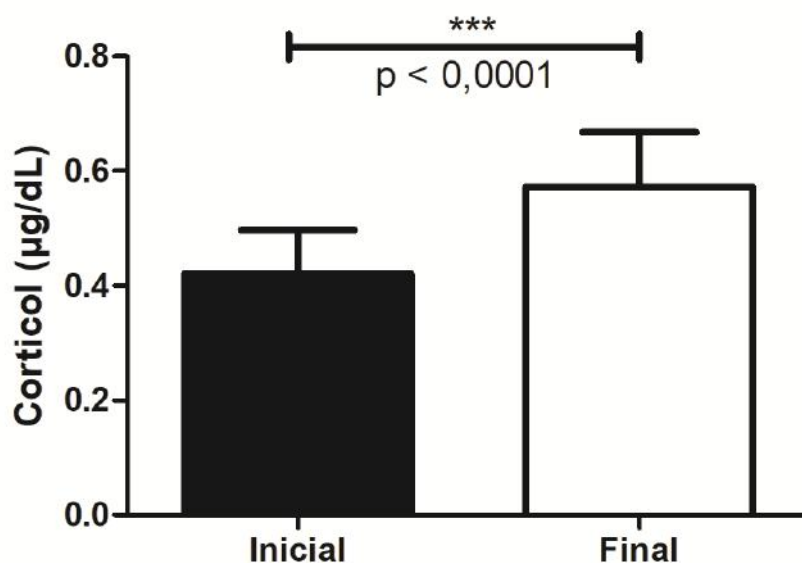
Um total de 53% se autodeclararam brancas, 20% negras e 27% pardas. Com relação à atividade física, 80% realizavam atividade regular (3 vezes na semana) e 20% sedentárias. Em relação ao uso de álcool, 60% das estudantes declararam fazer uso regular, com consumo de mais de 5 doses por semana e uma relatou ser fumante.

Dentre a principal história de doenças progressas familiares se destacam o câncer de próstata e mama, hipertensão arterial, diabetes mellitus, infarto e AVC. Com relação à história clínica, houve relatos de casos de internação em 60% das participantes, decorrente de virose, ansiedade, cálculos renais, doenças respiratórias, infecções intestinais e pequenos procedimentos. Destas, 33% realizaram procedimentos cirúrgicos: cesariana, fístula retal e colecistectomia. Nenhuma participante apresentava doenças autoimunes e infecciosas. 27% relataram apresentar quadro de enxaqueca crônica de origem psicossomática. Ainda, 46% relataram ter problemas psicológicos, em que uma realizava acompanhamento psicológico e outra realizava tratamento psiquiátrico.

Os medicamentos mais utilizados foram: anticoncepcional, vitaminas, corticoides e anti-inflamatórios. A média de sono semanal foi de 32 horas e 17 horas aos fins de semana. E do total de participantes 66% informaram ter religião e ser praticante.

Em relação à concentração de cortisol salivar, foi observado média inicial (antes da avaliação) de $0,421 \pm 0,076$ µg/dL e final (logo após a avaliação) de $0,572 \pm 0,096$ µg/dL, caracterizando aumento significativo de 35,8% ($p < 0,0001$) (Figura 1).

Figura 1 - Gráfico da concentração de cortisol Salivar. Inicial: Antes do estresse acadêmico; Final: Após estresse acadêmico.

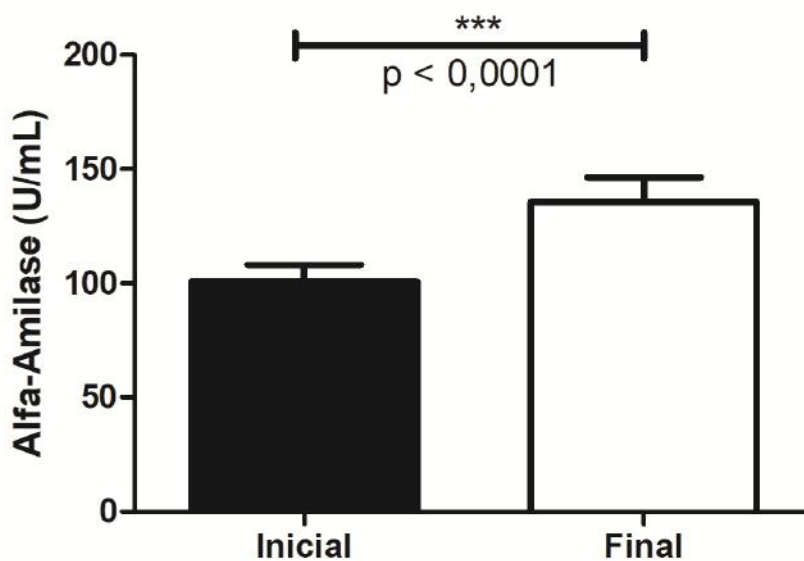


Fonte: Autores.

Semelhantes resultados foram observados para as concentrações de alfa-amilase salivar inicial de $100,70 \pm 7,37$ U/mL e final de $135,64 \pm 10,85$ U/mL, com aumento significativo de 34,7% da concentração ($p < 0,0001$) (Figura 2), durante a aplicação da primeira avaliação prática de Anatomia Humana do curso de Enfermagem.

O índice de avaliação determinado pela Versão reduzida do Instrumento de Avaliação de Estresse em Estudantes de Enfermagem (Costa *et al.*, 2017), possibilitou identificar três fatores explicativos (comportamentais, estressores e organizacionais), com base nos escores relatados pelas participantes. Assim, foi detectado em 67% das participantes, nível leve de estresse para o fator explicativo comportamental (questões 2-5), relacionamento a questão interpessoal e vivência acadêmico-profissional. Para o fator explicativo estressor foi observado nível moderado em 53% das participantes (questões 1,10-16 e 18), no que se refere ao excesso de atividades, responsabilidades, desempenho e rotina. Ainda, foi observado nível elevado de estresse quanto ao fator explicativo organizacional em 80% das discentes (questões 6, 7, 9,17 e 19), com relação as atividades acadêmico-profissionais e gestão de conflitos.

Figura 2 - Gráfico da concentração de alfa-amilase Salivar. Inicial: Antes do estresse acadêmico; Final: Após estresse acadêmico.



Fonte: Autores.

Foi observado pico médio de cortisol de $36,5 \pm 9,6$ % e percentual de desempenho acadêmico de $75,9 \pm 16,4$ %, na primeira avaliação prática de Anatomia Humana. Entretanto não foi observada correlação do percentual dos níveis de estresse no desempenho dos participantes, ($R^2= 0,01352$; $p=0,6799$). Semelhantes achados foram observados na correlação da média do pico de cortisol (Média: $0,151 \pm 0,037$) e o índice de estresse detectado pelo questionário de avaliação (Média Escore: $38,13 \pm 4,98$), considerando que o escore pode variar entre 0 e 57, em que na análise do percentual das médias não foi detectada correlação ($R^2= 0,1586$; $p=0,1415$), com percentual de estresses de $66,9 \pm 8,7$ %. Portanto, não foi possível relacionar os achados dos níveis de cortisol com o desempenho acadêmico e os dados de estresse detectado pelo questionário de avaliação em estudantes de enfermagem.

Não foi observada correlação entre o pico de alfa-amilase e o desempenho acadêmico das participantes ($R^2= 0,09599$; $p=0,3837$). Entretanto, em média foi observado pico de alfa-amilase de $34,9 \pm 7,7$ %, sendo que os calouros apresentaram desempenho acadêmico médio de $79,9 \pm 11,5$ %. Achados semelhantes foram observados na correlação do pico de alfa-amilase e o nível estresse detectado pelo questionário de avaliação (Média Escore: $38,13 \pm 4,98$), considerando que o escore pode variar entre 0 e 57, em que na análise do percentual das médias não foi detectada correlação ($R^2= 0,1586$; $p=0,1415$), com a média do percentual de estresses de $66,9 \pm 8,7$ %. Portanto, não foi possível relacionar os achados dos níveis de alfa-amilase com o desempenho acadêmico e os dados de estresse detectado pelo questionário de avaliação em estudantes de enfermagem.

4. Discussão

Esta é uma pesquisa sobre impacto no desempenho acadêmico de calouros do curso de enfermagem em que se relacionam os níveis de estresse, cortisol e alfa-amilase salivar no ensino da anatomia humana, e como a maioria dos estudos já publicados, este estudo, utiliza escalas psicométricas para suas análises. Porém, além dessas escalas, esta pesquisa utilizou marcadores biológicos que podem identificar a intensidade do estresse fisiológico via cortisol salivar e alfa amilase. Essa metodologia tem sido amplamente aplicada em estudos recentes (Booth *et al.*, 2015; Schakel, 2019).

Estresse, ansiedade e depressão entre calouros foram relatados em vários estudos, o percentual de estresse em torno de

40% é considerado alto (Greff *et al.*, 2019). Muitas são as causas do estresse nesse período de transição (Sauve *et al.*, 2007); entretanto, os domínios Pessoal e Interpessoal foram mais influenciados na presença desses elementos, ou seja, os alunos menos adaptados ao nível pessoal e interpessoal tinham tendência para apresentar sintomas o que corrobora com nossos achados (Russell *et al.*, 2012). Estudos recentes mostram o quanto esses fatores são importantes para a adaptação do aluno sobre as características do estabelecimento de relacionamentos com seus pares e a influência de adaptação acadêmica conforme nossos achados, onde encontramos três fatores explicativos (comportamentais, estressores e organizacionais) (Russell *et al.*, 2012). Assim como relatam Patias *et al.*, 2016, que observaram que os alunos acreditam que os colegas contribuem para um melhor desempenho acadêmico ao fornecer apoio instrumental e afetivo, auxiliando no processo de aprendizagem e no convívio com a universidade.

Em relação à concentração de cortisol salivar houve um aumento significativo de 35,8% ($p < 0,0001$) que de acordo com Carnuta *et al.*, 2015 e Harris *et al.*, 2017, a desregulação do eixo HPA, reflete nos níveis de cortisol na reatividade ao estresse ou na produção basal, e que tem sido associada a inúmeras doenças como por exemplo estresse, ansiedade e depressão. Estudos anteriores, como Rohleder *et al.*, 2001 e Elanin, *et al.*, 2014, observaram o papel do gênero, na sintomatologia depressiva e que os níveis de estresse apresentados pelos estudantes podem ser importantes durante a transição para o ensino superior, reforçam nossa pesquisa.

Níveis elevados de cortisol durante a prova, relacionados a maiores escores de carreira, mostram que há maior resposta em momentos de estresse entre aqueles que tinham vocação para a profissão, justificada pela responsabilidade de tirar boas notas. Segundo Bamuhair *et al.*, 2015, embora o estresse possa ser definido como um esforço para realizar uma tarefa além de sua capacidade adaptativa ou tolerância, pode ser considerado um fator de estímulo e, portanto, pode ser a resposta na busca do bom desempenho acadêmico.

Nosso estudo possibilitou identificar três fatores explicativos (comportamentais, estressores e organizacionais), com base nos escores relatados pelas participantes através do índice de avaliação determinado pela Versão reduzida do Instrumento de Avaliação de Estresse em Estudantes de Enfermagem (Costa *et al.*, 2017), que foi leve, moderado e elevado respectivamente, que segundo Mayer *et al.*, (2018) e Boesch *et al.*, (2015), aumentos nos níveis de cortisol e alfa-amilase, está associado à experiência do(s) evento(s) ou condição(ões) estressante(s) em si, mas não à percepção geral do estresse.

Em nosso trabalho evidenciamos significativo aumento do estresse acadêmico e dos níveis de cortisol, mas não foi possível relacionar os achados dos níveis de cortisol com o desempenho acadêmico e os dados de estresse detectado pelo questionário de avaliação em estudantes de enfermagem. Nossas descobertas são consistentes com trabalhos anteriores que sugerem uma ligação mais forte entre aumento nos níveis de cortisol e alfa-amilase e a ocorrência de eventos estressantes em si, em vez da percepção geral de estresse (Stalder *et al.*, 2012). Esse padrão não é exclusivo do estresse crônico; Campbell e Ehlert, (2012) observam uma associação fraca e inconsistente entre as respostas subjetivas ao estresse e a reatividade do eixo HPA, por exemplo, cortisol salivar, ao estresse agudo do laboratório, assim como outros pesquisadores em relação aos estudos de campo (Hjortskov *et al.*, 2004). Se a resposta aguda do Hipotálamo-Pituitária-Adrenal é fracamente prevista pela reação emocional a um estressor padronizado baseado em laboratório, então não é de todo surpreendente que fora do laboratório, a atividade cumulativa do HPA não esteja associada a avaliações subjetivas.

O estudo dos fatores que influenciam a adaptação dos estudantes ao ensino superior é recente. O comportamento, o estilo e a qualidade de vida dos alunos ainda são temas pouco discutidos. Porém, com o conhecimento produzido até o momento, a Instituição de Ensino Superior tem grande responsabilidade no processo de adaptação dos alunos e, conseqüentemente, na diminuição dos índices de reprovação e evasão.

5. Conclusão

As reações complexas do organismo ao estresse psicológico, como o estresse acadêmico entre estudantes, envolvem vários fatores endócrinos e imunológicos, alguns dos quais podem ser facilmente medidos na saliva e usados como biomarcadores de estresse. De acordo com estudos anteriores, a medição dos níveis de estresse por biomarcadores salivares (cortisol salivar, IgA, alfa-amilase salivar, cromogranina A, lisozima, melatonina e outros) é uma maneira simples, não invasiva e confiável de coletar amostras e obter dados sobre a influência de eventos estressantes sobre os alunos. Alguns desses biomarcadores também podem ser úteis para medir ansiedade ou depressão e podem até ajudar a identificar alunos propensos a alto estresse associado a exames ou estudos, incluindo aqueles com alto risco de sofrer influências especificamente negativas do estresse em sua capacidade de estudar. Também poderia ajudar a identificar os alunos que precisam de maior ajuda para lidar com o estresse em geral, reduzindo assim o risco de desenvolvimento de condições influenciadas por fatores estressantes, por exemplo, cardiovascular, autoimune, câncer. Esses dados podem ser uma base para a implementação potencial de outras medidas antiestresse na prática e podem levar à organização de melhores cursos acadêmicos que permitam aos alunos aprender de forma mais eficaz ou gerenciar melhor as demandas do trabalho acadêmico. Como os alunos são propensos ao estresse mesmo após a formatura, esses resultados podem ajudar a diminuir o impacto do estresse no organismo também durante a transição para a vida profissional. Mais pesquisas devem ser feitas neste campo em amostras maiores de estudantes para coletar dados mais específicos sobre biomarcadores salivares associados ao estresse.

Pesquisas futuras serão necessárias para descrever essas características nos mesmos grupos de alunos em diferentes universidades.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade de Uberaba (UNIUBE); Cefores/Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM); Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES); Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

Referências

- Abouammoh, N., Irfan, F., & Alfaris, E. (2020). Stress coping strategies among medical students and trainees in Saudi Arabia: A qualitative study. *BMC Medical Education*, 20, 124.
- Adiele, D., Judith, C. A., Morgan, G. P., Catherine, B., & Carolyne, L. M. (2018). Association of academic stress, anxiety and depression with social-demographic among medical students. *International Journal of Social Science Studies*, 6, 27–32.
- Anuradha, R., Dutta, R., Raja, J. D., Sivaprakasam, P., & Patil, A. B. (2017). Stress and stressors among medical undergraduate students: A cross-sectional study in a private medical college in Tamil Nadu. *Indian Journal of Community Medicine*, 42, 222–225.
- Bamuhair, S. S., Al Farhan, A. I., Althubaiti, A., Agha, S., Rahman, S., & Ibrahim, N. O. (2015). Sources of stress and coping strategies among undergraduate medical students enrolled in a problem-based learning curriculum. *J Biomed Educ*, 2015(575139):8. 10.1155/2015/575139.
- Barsegyan, Areg et al. (2010). Glucocorticoids in the prefrontal cortex enhance memory consolidation and impair working memory by a common neural mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(38), 16655-16660.
- Berzin, M G R. (2007). Características da formação profissional, prática clínica e perfil biopsicossocial de cirurgiões-dentistas e médicos que atuam na área de dor orofacial. 125p. Tese (doutorado) - *Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba*. Campinas, SP.
- Boesch, M., Sefidan, S., Annen, H., Ehlert, U., Roos, L., Van Uum, S., Russell, E., Koren, G. & La Marca R. (2015). Hair cortisol concentration is unaffected by basic military training, but related to sociodemographic and environmental factors. *Stress*, 18:1, 35-41. 10.3109/10253890.2014.974028
- Booth, J., Connelly, L., Lawrence, M., et al. (2015). Evidence of perceived psychosocial stress as a risk factor for stroke in adults: A meta-analysis. *BMC neurology*, 15(1):233.
- Bosch, Jos A. et al. (1996). Psychological stress as a determinant of protein levels and salivary-induced aggregation of *Streptococcus gordonii* in human whole saliva. *Psychosomatic medicine*, 58(4), 374-382.

- Campbell, J., & Ehlert, U. (2012). Acute psychosocial stress: does the emotional stress response correspond with physiological responses? *Psychoneuroendocrinology*. 37(8):1111-34. 10.1016/j.psyneuen.2011.12.010.
- Carnuta, M., Crisan, L. G., Vulturar, R., Opre A., & Miu A. C. (2015). Emotional non-acceptance links early life stress and attenuated cortisol reactivity to social threat. *Psychoneuroendocrinology*. 51, 176 - 187.
- Chawla, K., & Sachdeva, V. (2018). Domains of stress and coping strategies used by 1st year medical students. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology*. 8, 366–369.
- Cohen, S et al. (2006). Socioeconomic Status, Race, and Diurnal Cortisol Decline in the Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) Study. *Psychosomatic Medicine*. 68(1), 41-50.
- Costa, A. L. S., Silva, R. M., Mussi, F. C., Serrano, P. M., Graziano, E. S., & Batista, K. M. (2017). Versão reduzida do “instrumento de avaliação de estresse em estudantes de enfermagem” na realidade brasileira. *Rev. Latino-Am. Enfermagem*. 25(e2976), 1-7.
- Costa, C. R. B.; Maynard, W. H. C., Oliveira, L. B., Albuquerque, M. C. S., & Correia, D. S. (2018). Estresse entre estudantes de graduação em enfermagem. *Revista Saúde e Pesquisa*. 11(3), 475-482
- Della Ventura, B., Sakac, N., Funari, R., & Velotta, R. (2017). Flexible immunosensor for the detection of salivary α -amylase in body fluids. *Talanta*. Nov 1;174:52-58.
- Ehlert, U., Erni, K., Hebisch, G., & Nater, U. R. S. M. (2006). Salivary α -amylase levels after yohimbine challenge in healthy men. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 91(12), 5130-5133.
- Elanihw Allison P. J., Ritu, A., Kumar, R. A., Mancini, L., Lambrou, A., & Bedos, C. A. (2014). Systematic review of stressin Dental students. *J. Dent Educ*. 78(2): 226-42.
- Engert et al. (2011). Investigation into the cross-correlation of salivary cortisol and alpha-amylase responses to psychological stress. *Psychoneuroendocrinology*. 36(9), 1294-302.
- Fries, E., Hellhammer, J., & Hellhammer, D. H. (2005). A new view on hypocortisolism. *Psychoneuroendocrinology*. 30(10), 1010-1016.
- Greff, M. J. E., Levine, J. M., Abuzgaia, A. M., Elzagallaai, A. A., Rieder, M. J., & Van Uum, S. H. M. (2019). Hair cortisol analysis: An update on methodological considerations and clinical applications. *Clinical Biochemistry*. 63, 1-9
<https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2018.09.010>
- Harris, M. A., Cox, S. R., Brett, C. E., Deary I. J., & Maclulich, A. M. (2017). Stress in childhood, adolescence and early adulthood and cortisol levels in old age Stress. 1-9.
- Hellhammer, D. H., Wust, S., & Kudielka, B. M. (2009). Salivary cortisol as a biomarker in stress research. *Psychoneuroendocrinology*. 34(2), 163-71.
- Hjortskov, N., Garde, A. H., Orbaek, P. & Hansen, Å. M. (2004). Evaluation of salivary cortisol as a biomarker of self-reported mental stress in field studies. *Stress and Health*. 20: 91-98. <https://doi.org/10.1002/smi.1000>
- Juster et al. (2011). A clinical allostatic load index is associated with burnout symptoms and hypocortisolemic profiles in healthy workers. *Psychoneuroendocrinology*. 36(6), 797-805.
- Kischbaum, C., Kudielka, B. M., Gaab, J. C., Schommer, M. C., & Helhammer, D. H. (1999). Impact of Gender, Menstrual Cycle Phase, and Oral Contraceptives on the Activity of the Hypothalamus-Pituitary-Adrenal Axis. *Psychosomatic Medicine*. 61(2), 154-162.
- Kudielka, B. M., Kischbaum, C. (2005). Sex differences in HPA axis responses to stress:a review. *Biological Psychology*. 69, 113–132.
- Lindsay, J. R., & Nieman, L. K. (2005). The Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis in Pregnancy: Challenges in Disease Detection and Treatment. *Endocrine Reviews*. 26(6), 775–799.
- Mantella et al. (2008). Salivary cortisol is associated with diagnosis and severity of late-life generalized anxiety disorder. *Psychoneuroendocrinology*. 33(6), 773-81.
- Mayer, C., Hafemeister, C., Bandler, R. (2018). Developmental diversification of cortical inhibitory interneurons. *Nature*. 555, 457–462.
<https://doi.org/10.1038/nature25999>
- Mostafavian, Z., Farajpour, A., Ashkezari, S. N., & Shaye, Z. A. (2018). Academic burnout and some related factors in medical students. *Journal of Ecophysiology and Occupational Health*. 18, 1–5.
- Patias, N. D., Machado, W. D. L., Bandeira, D. R., & Dell'aglio, D. D. (2016). Depression Anxiety and Stress Scale (DASS-21) - Short Form: Adaptação e Validação para Adolescentes Brasileiros. *Psico-usf*, 21(Psico-USF 21(3)). [tps://doi.org/10.1590/1413-82712016210302](https://doi.org/10.1590/1413-82712016210302)
- Polk, Deborah E. et al. (2005). State and trait affect as predictors of salivary cortisol in healthy adults. *Psychoneuroendocrinology*. 30(3), 261-272.
- Ramli, N. H. H., Alavi, M., Mehrinezhad, S. A., & Ahmadi, A. (2018). Academic stress and self-regulation among university students in Malaysia: Mediator role of mindfulness. *Behavioral Sciences*. 8, 12.
- Reddy, J. K., Karishmarajanmenon, M. S., & Thattil, A. (2018). Academic stress and its sources among university students. *Biomedical & Pharmacology Journal*. 11, 531–537.

- Rohleder, NICOLAS et al. (2001). Sex differences in glucocorticoid sensitivity of proinflammatory cytokine production after psychosocial stress. *Psychosomatic medicine*. 63(6), 966-972.
- Russell, E., Koren, G., Rieder, M., & Van Uum, S. (2012). Hair cortisol as a biological marker of chronic stress: Current status, future directions and unanswered questions. *Psychoneuroendocrinology*. 37(5), 589-601. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2011.09.009>.
- Schakel, L., Veldhuijzen, D. S., Crompvoets, P. I., et al. (2019). Effectiveness of stress-reducing interventions on the response to challenges to the immune system: A meta-analytic review. *Psychotherapy and psychosomatics*. 88(5):274-286.
- Selve, H. (1936). Thymus and Adrenals in the Response of the Organism to Injuries and Intoxications. *Br J Exp Pathol*. 17(3), 234-248.
- Shields, G. S., Sazma, M. A., & Yonelinas, A. P. (2016). The effects of acute stress on core executive functions: A meta-analysis and comparison with cortisol. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 68, 651-668.
- Silva, A. R. S., Bezerra, M. P. M., Mendes, M. L. M., & Santos, I. N. (2016). Estudo do estresse na graduação de enfermagem: revisão integrativa de literatura. *Ciências biológicas e da saúde*. 2(3):75-86.
- Souza, R. M., Lehn, C. N., & Denardin, O. V. P. (2013). Níveis sérico e salivar de imunoglobulina A em portadores de câncer da boca e orofaringe. *Rev Assoc Med Bras*. 49(1), 40-4.
- Średniawa, A., Drwiła, D., Krotos, A., Wojtaś, D., Kostecka, N., & Tomasik, T. (2019). Insomnia and the level of stress among students in Krakow, Poland. *Trends Psychiatry Psychother*. 41(1):60-68.
- Stalder, T., Steudte, S., Alexander, N., Miller, R., Gao, W., Dettenborn, L., & Kirschbaum, C. (2012). Cortisol in hair, body mass index and stress-related measures. *Biological Psychology*. 90(3), 218-223.
- Stephens, A. (2007). Cortisol awakening response. In: Fink G, editor. *Encyclopedia of stress*. 2. Vol. 1. Oxford: Academic Press; 649-653.
- Wu, L., Farquhar, J. M. A. J., & Vidyarthi, A. R. (2018). Understanding Singaporean medical students' stress and coping. *Singapore Medical Journal*. 59, 172-176.
- Yosetake, A. L., Camargi, I. M. L., Luchesi, L. B., Gherardi-Donato, E. C. S., & Teixeira, C. A. B. (2018). Estresse percebido em graduando de enfermagem. SMAD, Rev. *Eletrônica Saúde Mental Álcool Drog*. 14(2): 117-124.
- Zamroni, H. N., Ramli, M., & Hambali, I. M. (2018). Prevalence of academic stress among medical and pharmaceutical students. *European Journal of Education Studies*. 4, 256-267.