

## EFEITOS DO ESTRESSE FÍSICO E PSICOLÓGICO JUVENIL SOBRE A GLÂNDULA SUPRARRENAL EM RATOS ADULTOS

### **Kathia Terumi Kato**

Graduanda em Biomedicina pela Universidade Estadual de Maringá (UEM), Brasil.

### **Silvana Regina de Melo**

Doutora em Ciências Biológicas, docente do Programa de Graduação e Pós-graduação em Anatomia da Universidade Estadual de Maringá (UEM), Brasil.

### **Maria Eduarda Gomes Dada**

Graduanda em Biomedicina pela Universidade Estadual de Maringá (UEM), Brasil.

### **Carmem Patrícia Barbosa**

Doutora em Ciências Biológicas, docente do Programa de Graduação e Pós-graduação em Anatomia da Universidade Estadual de Maringá (UEM), Brasil.

**RESUMO:** Estresse é a resposta aos diferentes estímulos que o organismo sofre em busca de adaptação à homeostasia. Devido à sua alta incidência, diversos modelos experimentais estão sendo desenvolvidos para a melhor compreensão de sua inter-relação com outros órgãos. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos em longo prazo do estresse físico e psicológico juvenil agudo sobre as glândulas suprarrenais de ratos, no que se refere aos aspectos morfológicos, pois tais glândulas apresentam relação direta com situações de estresse. Para tanto, as glândulas suprarrenais destes animais foram processadas e análises morfológicas da medula e do córtex foram realizadas por meio de morfometria e quantificação por planimetria. Os resultados obtidos demonstraram que o estresse tanto físico quanto psicológico não provocaram alterações significativas em relação à área de superfície e espessura das suprarrenais, indicando adaptação dos animais aos fatores estressantes aqui estudados.

**PALAVRAS-CHAVE:** Estresse físico; Estresse psicológico; Glândula endócrina; Morfologia.

## EFFECTS OF JUVENILE PHYSICAL AND PSYCHOLOGICAL STRESS ON THE SUPRARRENAL GLAND IN ADULT RATS

**ABSTRACT:** Stress is a response to different stimuli experienced by the organism for its adaption to homeostasis. Due to its high occurrence, several experimental models are being developed to understand better the interrelationships between these organs. Current paper evaluates long-term effects of juvenile physical and psychological stress on the suprarenal glands of rats with regard to morphological aspects. In fact, these glands have a direct relationship with stress conditions. Rats' suprarenal glands were processed and their medulla and cortex were morphologically investigated through planimetry. Results show that physical and psychological stress failed to cause significant changes on the surface area and thickness of the glands. This fact showed adaptation of animals to the type of stress under analysis.

**KEY WORDS:** Physical stress; Psychological stress; Endocrinal gland; Morphology.

### **Autor correspondente:**

Kathia Terumi Kato  
kathiaaterumi@hotmail.com

*Recebido em: 22/08/2019*

*Aceito em: 07/11/2019*

## INTRODUÇÃO

O estresse é reconhecidamente uma resposta complexa do organismo frente a diferentes estímulos considerados ameaçadores, sejam eles externos ou internos, aos quais se busca adaptação<sup>1</sup>. Tais estímulos são processados e percebidos de acordo com a interpretação cognitiva de cada indivíduo<sup>2</sup>, podendo causar e/ou agravar doenças infecciosas oportunistas ou geneticamente programadas, ou mesmo predispor à somatização<sup>3-4</sup>.

A incidência do estresse aumenta a cada dia, tornando este mal a grande preocupação do século. De acordo com a Associação Internacional de Controle do Estresse<sup>5</sup>, o Brasil é o segundo país a sofrer as consequências do estresse. Vários estudos têm demonstrado que a população mais afetada é a dos trabalhadores, pois deles são exigidos resultados satisfatórios e grande responsabilidade, os quais muitas vezes são conseguidos às custas da renúncia ao lazer e ao descanso<sup>6</sup>. E, segundo a Associação Paulista de Medicina do Trabalho<sup>7</sup>, o estresse é, em 46,4% das vezes, a principal causa das notificações de doenças mentais vinculadas ao trabalho no Brasil. Além deste grupo, outra população bastante acometida por tal mal é a dos jovens em função das intensas transformações e pressões relacionadas ao futuro profissional.

No intuito de melhor compreender os mecanismos que envolvem o estresse e suas consequências, vários modelos experimentais têm sido utilizados na pesquisa com o objetivo de intervir na melhoria do bem-estar geral e na promoção da saúde. Dentre eles, destacam-se os modelos de estresse, físico ou psicológico, que apontam para mudanças químicas e estruturais em diversas regiões do cérebro, tais como córtex pré-frontal<sup>8</sup>, corpo amigdalóide e hipocampo<sup>9</sup>.

Sabe-se que ao enfrentar experiência física ou emocional considerada estressante pelo cérebro, a resposta fisiológica envolve atuação do eixo hipotalâmico-hipófise-adrenal (HHA), um conjunto de estruturas responsáveis pelo mecanismo de resposta do corpo a tais situações. O papel da glândula suprarrenal neste mecanismo é induzir à liberação de moléculas como adrenalina e glicocorticoides nas situações consideradas de “luta ou fuga”, sendo, portanto, fundamental nas

respostas ao estresse<sup>10</sup>. Enquanto seu córtex secreta esteroides (hormônios derivados do colesterol, como os mineralocorticoides, glicocorticoides e androgênios), a medula secreta catecolaminas (derivadas de aminoácidos, como norepinefrina e epinefrina)<sup>11</sup>. Tal citoarquitetura pode ser modificada em função do estresse, como recentemente foi comprovado por Tochetto *et al.*<sup>12</sup>, irregularidades no córtex e áreas de vacuolização citoplasmática na camada fasciculada, intercalada com células hipereosinofílicas.

Estudos em animais e humanos têm apontado que o período da infância é particularmente sensível aos efeitos do estresse, promovendo importantes mudanças adaptativas como, por exemplo, maior reatividade ao estresse na vida adulta relacionando-se à ansiedade. Ao mesmo tempo, pesquisas apontam que o estresse vivenciado na infância altera de modo permanente o eixo HHA, o que pode ser considerado prejuízo à plasticidade cerebral, uma vez que a circulação excessiva de cortisol está relacionada à redução da neurogênese do hipocampo, importante área cerebral relacionada à memória, aprendizagem e comportamento<sup>13</sup>. Sendo assim, estudar a morfologia da glândula suprarrenal pode fornecer importantes informações sobre os efeitos do estresse em longo prazo e apontar se há relação entre diferentes tipos de estresse e modificações estruturais em tais glândulas em decorrência das alterações nas concentrações de corticoesteronas e prolactina<sup>14-15</sup>. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi analisar os efeitos tardios do estresse físico e psicológico sobre a morfologia das glândulas suprarrenais de ratos submetidos ao estresse na fase juvenil, servindo de base para estudos futuros.

## METODOLOGIA

### ANIMAIS

Foram utilizados neste estudo 21 ratos *Wistar* machos (*Rattus norvegicus*) com 22 dias de idade provenientes do biotério central da UEM e mantidos no biotério setorial do Departamento de Ciências Morfológicas (DCM) da UEM. Os mesmos foram acondicionados sob condições padrão de alojamento com

ciclo claro/escuro de 12 horas, temperatura ambiente de  $22 \pm 2$  °C, água e alimentação *ad libitum* (ração padrão para roedores - Nuvilab-nuvital). Todo o protocolo experimental foi previamente aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Maringá (UEM), sob parecer número 4993050617.

#### PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Os animais foram aleatoriamente distribuídos em três grupos ( $n = 7$ ): Controle (C), Estresse Físico (EF) e Estresse Psicológico (EP). Enquanto o grupo C permaneceu sem manipulação no biotério setorial do DCM até o 27º dia de idade, os grupos EF e EP foram submetidos aos procedimentos de estresse físico e psicológico entre os 25º e 27º dias conforme metodologias descritas abaixo.

#### Modelo experimental de estresse físico

Foi utilizada a metodologia adaptada de Brydges *et al.*<sup>16</sup>. Os animais foram colocados individualmente em um tubo flexível de PVC (9,5 cm de diâmetro x 3,5 cm de comprimento) com abertura frontal que permitia a respiração, mas provocava imobilização, limitando temporariamente os movimentos. Este procedimento foi realizado em três sessões de 30 minutos cada, com intervalos de 15 minutos entre uma sessão e outra de estresse. Durante os intervalos, os animais voltaram às suas caixas em uma sala diferente da sala experimental, mas com mesma iluminação. Após o último procedimento de estresse, os mesmos voltaram ao biotério setorial do DCM. Tais procedimentos foram realizados por três dias consecutivos.

#### Modelo experimental de estresse psicológico

Foi utilizada a metodologia adaptada de Blanchard *et al.*<sup>17</sup>. Os animais foram colocados individualmente em uma caixa plástica transparente (50 x 20 x 30 cm) com paredes perfuradas a fim de facilitar a olfação. Esta caixa foi posicionada em frente a outra caixa (80 x 80 x 60 cm) com paredes perfuradas a qual continha uma gata adulta e um recipiente contendo 100

ml de urina de gato. Os ratos foram mantidos na referida caixa por 10 minutos e este procedimento foi realizado em duas sessões com intervalos de 5 minutos entre uma sessão e outra de estresse. Durante os intervalos, os animais voltaram às suas caixas em uma sala diferente da sala experimental, mas com mesma iluminação. Após o último procedimento de estresse, os mesmos voltaram ao biotério setorial do DCM. Tais procedimentos foram realizados por três dias consecutivos.

#### PREPARAÇÃO HISTOLÓGICA DA GLÂNDULA SUPRARRENAL

Aos 64 dias de idade os animais de todos os grupos foram anestesiados por meio da infusão intraperitoneal de Tiopental 100 mg + Lidocaína 10 mg/kg (0,1 mL/100 pc). Em seguida, foram pesados, posicionados em mesa cirúrgica e perfundidos com salina 0,9% conforme procedimento usual<sup>18</sup>. Após perfusão por 5 minutos, a solução salina tamponada foi substituída por uma solução de paraformaldeído 4% tamponado (tampão fosfato pH 7,4; 0,1M) à temperatura ambiente a qual foi infundida por um período de 30 minutos a um fluxo de 2 ml/min. Posteriormente, a anestesia foi aprofundada, os animais eutanasiados e a laparotomia realizada para a retirada das glândulas suprarrenais.

As glândulas foram dissecadas para remoção de tecidos adjacentes, lavadas com solução de tampão fosfato salino (PBS; 0,1 M; pH 7,4) e imediatamente pesadas em balança analítica (*Shimadzu*<sup>®</sup>). Posteriormente, foram fixadas em paraformaldeído a 4% por 7 dias e submetidas à rotina de processamento histológico para emblocamento e corte, conforme a metodologia proposta por Góis *et al.*<sup>19</sup>. Assim, foram desidratadas por meio da imersão consecutiva em soluções de álcool e xilol, e emblocadas em parafina granulada (*Synth*<sup>®</sup>) a 58-62 °C.

#### Microtomia

Foram realizados cortes semi-seriados de 10  $\mu$ m de espessura nas glândulas suprarrenais utilizando micrótomo (Leica RM 2255<sup>®</sup>). Para garantir amostragem satisfatória e aleatória, a partir do primeiro corte da glândula onde foi possível visualizar a medula e o córtex,

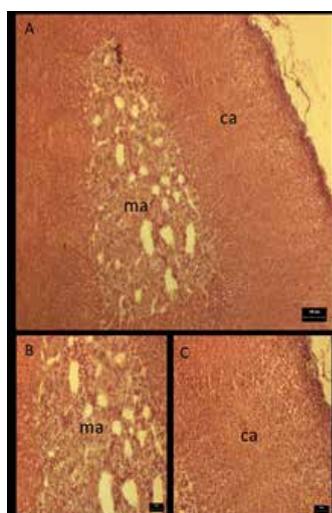
uma a cada 5 secções aleatórias foram distribuídas em lâminas e coradas com hematoxilina-eosina (Figura 1). Foram analisadas 7 secções para cada animal.

### Análise quantitativa

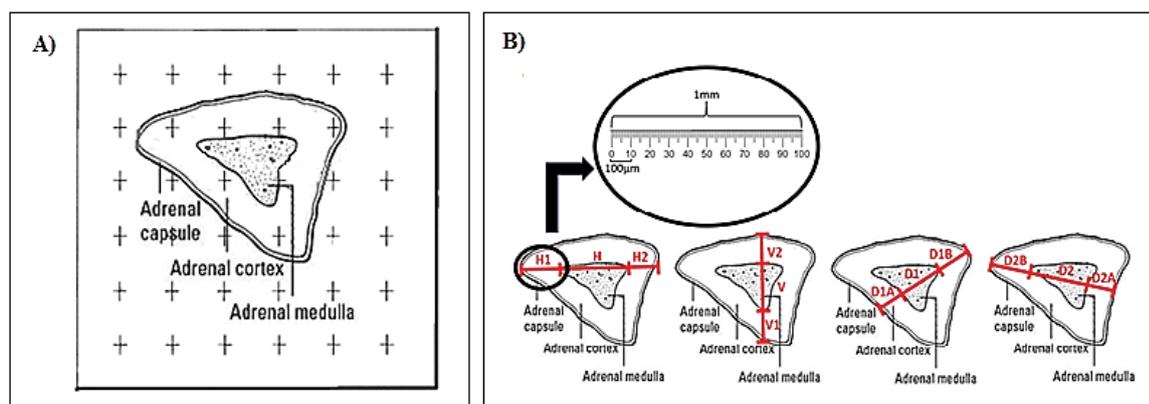
As glândulas suprarrenais foram analisadas por meio de dois procedimentos metodológicos: de planimetria e de morfometria, e os resultados foram expressos em unidades de  $\mu\text{m}$ .

Com o método de planimetria o objetivo foi determinar a área de superfície da região cortical e medular. Utilizou-se um sistema de análise de imagem (Image Pró-Plus 4.0) associado a um microscópio óptico

(MOTIC<sup>®</sup>) equipado com câmara de vídeo. Sobre as imagens da glândula capturadas pelo sistema foi colocado o sistema teste de pontos, que permitiu quantificar os pontos que tocavam a região cortical e medular (Figura 2A). O método de morfometria considerou as medidas obtidas por meio de uma ocular contendo uma régua milimetrada (1 mm de comprimento total) acoplada a microscópio (Olympus), na objetiva de 4x. Para mensurar a espessura cortical e medular foram realizadas medidas correspondentes às dimensões horizontal (H), vertical (V) e diagonal (D) de cada corte (Figura 2B). Os valores encontrados para  $H_1$ ,  $H_2$ ,  $V_1$ ,  $V_2$ ,  $D_{1A}$ ,  $D_{1B}$ ,  $D_{2A}$  e  $D_{2B}$  foram relacionados ao córtex, e os valores encontrados para H, V,  $D_1$  e  $D_2$  foram relacionados à medula. Foram estimadas estas medidas para as secções.



**Figura 1.** A. Fotomicrografias das glândulas suprarrenais coradas com hematoxilina-eosina. Em A o córtex adrenal (ca), em B medula adrenal (ma) e barras com os respectivos aumentos: A = 100 $\mu\text{m}$ , B = 50 $\mu\text{m}$ , C = 50 $\mu\text{m}$ .



**Figura 2.** A. Imagem representativa exemplificando a quantificação, planimetria. B. Imagem representativa exemplificando o método de morfometria.  $H_1$ : Horizontal (córtex 1); H: Horizontal (medular);  $H_2$ : Horizontal (córtex 2);  $V_1$ : Vertical (córtex 1); V: Vertical (medular);  $V_2$ : Vertical (córtex 2);  $D_{1A}$ : Diagonal (córtex  $_{1A}$ );  $D_1$ : Diagonal (medular 1);  $D_{1B}$ : Diagonal (córtex  $_{1B}$ );  $D_{2A}$ : Diagonal (córtex  $_{2A}$ );  $D_2$ : Diagonal (medular);  $D_{2B}$ : Diagonal (córtex  $_{2B}$ ). Adrenal capsule (cápsula suprarrenal), adrenal cortex (córtex suprarrenal), adrenal medulla (medula suprarrenal). Fonte: Adaptado de Kathryn Born<sup>20</sup>.

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

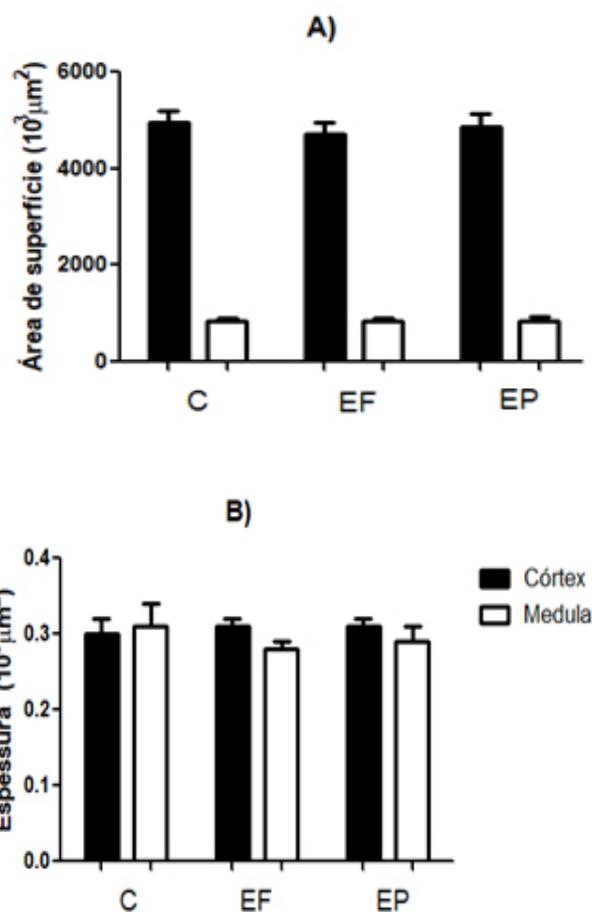
Os dados foram analisados utilizando o teste one-way ANOVA (*GraphPad Prism 5*<sup>®</sup>) e pós-teste de Tukey, apresentados como média  $\pm$  erro padrão e  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo.

## RESULTADOS

Tanto o estresse físico quanto o psicológico não alteraram a morfologia das regiões corticais e medular da glândula suprarrenal.

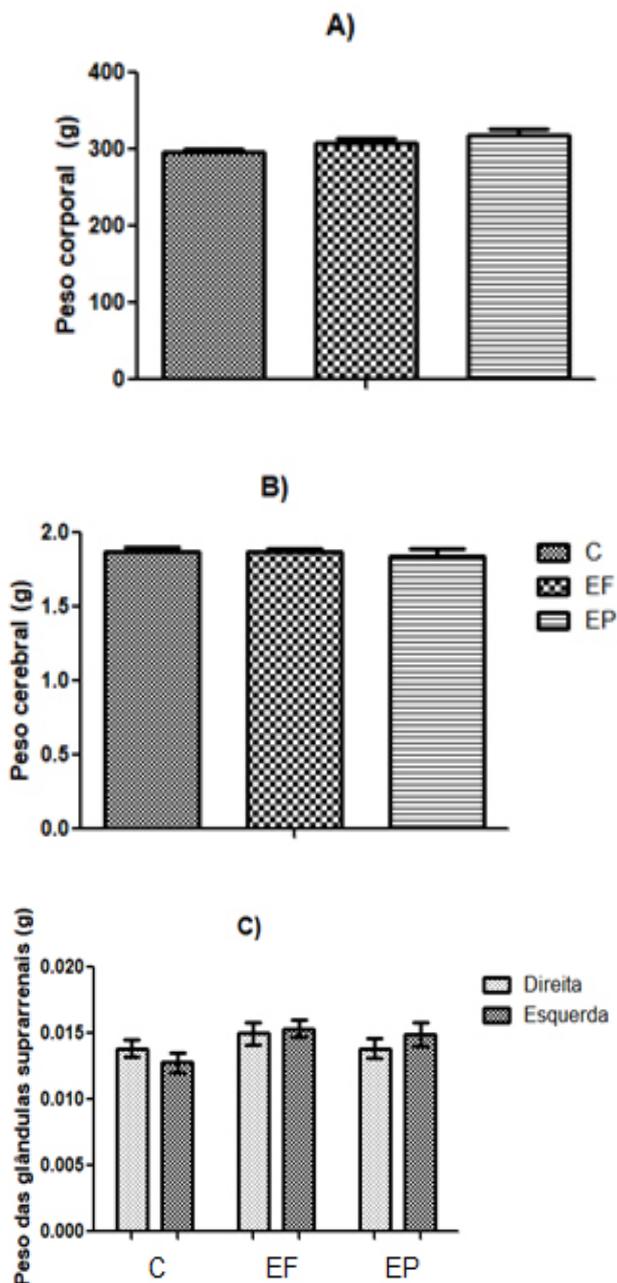
Os resultados obtidos por meio de planimetria (Figura 3A) mostraram que a área de superfície para a região cortical da glândula suprarrenal não foi estatisticamente diferente entre os grupos analisados, onde no grupo C encontrou-se o valor de  $4.969 \times 10^3 \mu\text{m}^2$ , no grupo EF o valor de  $4.704 \times 10^3 \mu\text{m}^2$  e no grupo EP o valor foi de  $4.867 \times 10^3 \mu\text{m}^2$  ( $F_{2,18} = 0,29, p = 0,75$ ). De modo semelhante, não foi encontrada diferença significativa na área de superfície da região medular da glândula suprarrenal entre os diferentes grupos, sendo que para o grupo C encontrou-se  $832 \times 10^3 \mu\text{m}^2$ , para o grupo EF:  $857 \times 10^3 \mu\text{m}^2$  e para o grupo EP a média foi  $847 \times 10^3 \mu\text{m}^2$  ( $F_{2,18} = 0,34, p = 0,96$ ).

Os dados obtidos por meio da morfometria demonstraram (Figura 3B) que os valores de espessura cortical do grupo C ( $0,30 \times 10^3 \mu\text{m}^2$ ), EF ( $0,31 \times 10^3 \mu\text{m}^2$ ) e EP ( $0,31 \times 10^3 \mu\text{m}^2$ ) não apresentaram diferença significativa ( $F_{2,18} = 0,23, p = 0,79$ ). Além disso, também não foi encontrada variação significativa ( $F_{2,18} = 0,59, p = 0,56$ ) entre as medidas de espessura medular dos grupos C ( $0,31 \times 10^3 \mu\text{m}^2$ ), EF ( $0,28 \times 10^3 \mu\text{m}^2$ ) e EP ( $0,29 \times 10^3 \mu\text{m}^2$ ).



**Figura 3.** A. Média  $\pm$  erro padrão da área de superfície cortical e medular da glândula suprarrenal obtida por planimetria. B. Média  $\pm$  erro padrão da espessura cortical e medular da glândula suprarrenal obtida por morfometria. C. Grupo controle; EF. Estresse físico; EP. Estresse psicológico.

A análise do peso corporal ( $F_{2,39} = 2,81, p = 0,72$ ), do peso cerebral ( $F_{2,39} = 0,29, p = 0,74$ ) e do peso das glândulas suprarrenais direitas ( $F_{2,39} = 0,78, p = 0,46$ ) e esquerdas ( $F_{2,39} = 2,97, p = 0,06$ ) não foram significativamente diferentes entre os grupos analisados (Figura 4).



**Figura 4.** Dados referentes à média  $\pm$  erro padrão do peso corporal (A), peso cerebral (B) e peso das glândulas suprarrenais direitas e esquerdas (C). C. Grupo controle; EF. Estresse físico; EP. Estresse psicológico.

## DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou que o estresse físico (por imobilização) e psicológico (por ameaça do predador), aplicados de forma aguda na fase juvenil do desenvolvimento de ratos, não causaram alterações morfológicas e quantitativas importantes nas glândulas suprarrenais destes animais na fase adulta. Isto pôde

ser constatado pelo uso comparativo de dois métodos quantitativos diferentes (planimetria e morfometria) os quais demonstraram que tanto a área de superfície como a espessura das regiões medulares e corticais das glândulas não foram alteradas nestes modelos experimentais de estresse. Além disso, os pesos corporais, cerebrais e das glândulas suprarrenais não foram afetados, ressaltando a coerência entre os resultados encontrados.

As três zonas da região cortical das glândulas suprarrenais (glomerulosa, fasciculada e reticulada) secretam, respectivamente, hormônios mineralcorticoides (que auxiliam no controle da homeostasia eletrolítica), os glicocorticoides (que atuam na resistência ao estresse) e os gonadocorticoides (que agem como androgênios). A medula da glândula secreta catecolaminas (como norepinefrina e epinefrina), pois sua região medular apresenta em sua constituição, além de nervos, tecido conjuntivo, capilares e células ganglionares, as células cromafins que são neurônios modificados. Enquanto uma subpopulação destas células contém grandes vesículas com uma região central densa secretora de norepinefrina, a outra contém vesículas menores secretoras de epinefrina, com efeitos semelhantes aos induzidos pelo sistema nervoso autônomo simpático. Assim, as glândulas suprarrenais estão diretamente envolvidas em situações de “luta e fuga”, pois tanto as catecolaminas quanto os glicocorticoides são de extrema importância para o preparo do corpo ante situações estressoras, modulando a pressão arterial, o calibre dos vasos sanguíneos, a frequência e o débito cardíaco<sup>11</sup>.

Diversos estudos apontam que há relação de dependência entre sexo, idade da exposição ao estresse, tipo e intensidade do estresse, e da resposta cerebral ao mesmo<sup>21-22</sup>. Provavelmente esse princípio se aplica também a outros órgãos além do cérebro, pois é possível que o córtex e a medula da glândula suprarrenal não tenham sido alterados neste estudo em função da intensidade de estresse a qual os animais foram expostos. Além disso, é possível ainda que tal fato se deu em função do tempo decorrido entre a exposição dos animais ao estresse até a vida adulta.

Dados semelhantes foram encontrados por Huzard *et al.*<sup>23</sup> os quais não observaram alterações significativas em relação ao peso das glândulas quando

estresse físico agudo foi aplicado na forma de choque ou quando os animais foram forçados a nadar por 4 dias. Adicionalmente, tais pesquisadores constataram que apesar do ambiente socialmente enriquecido minimizar os efeitos do estresse, ele também pode ser considerado um agente estressor já que pode representar excesso de estímulo e causar competição entre os animais. Ademais, se estímulos excessivos forem aplicados de maneira crônica, pode haver inclusive aumento do peso das glândulas suprarrenais. Ulrich-Lai *et al.*<sup>24</sup> também demonstraram que o estresse crônico pode aumentar o peso das glândulas suprarrenais, afetar os níveis de secreção de corticosterona e induzir comportamento semelhante à depressão.

Antagonicamente aos nossos resultados, experimentos de Díaz-Aguila *et al.*<sup>25</sup> envolvendo estresse físico na forma de contenção aplicada por uma hora diária, em cinco dias consecutivos durante quatro semanas, provocou alterações morfológicas nas glândulas suprarrenais de ratos. Entretanto, o estresse aplicado por tais pesquisadores foi crônico e por longos períodos em relação ao presente estudo. O estresse prolongado também foi pesquisado por Gannouni *et al.*<sup>26</sup> os quais comprovaram que o mesmo induz secreção de cortisol e de adrenalina pelas glândulas suprarrenais, porém pode haver uma resposta adaptativa (*feedback* negativo) que atenua os efeitos do estresse, desde que ocorra nos estágios iniciais do estresse, quando a situação ainda não for crônica.

Um *feedback* negativo adequado do eixo HHA não foi identificado por Wilson *et al.*<sup>27</sup> ao estudarem os efeitos do estresse crônico (por 31 dias) submetendo ratos ao predador e ao estresse psicossocial, mesmo constatando aumento das glândulas suprarrenais e da produção de glicocorticoides. Ademais, Campbell *et al.*<sup>28</sup>, ao estudarem o funcionamento do eixo HHA durante as fases iniciais do estresse, identificaram aumento na concentração de corticoesteróide circulante devido diversas adaptações morfofuncionais das glândulas suprarrenais. Pietrelli *et al.*<sup>29</sup> atribuíram tal fato à adaptação do corpo ao estresse e enfatizaram a maior regulação no período juvenil, visto que o eixo HHA pode sofrer disfunções durante o processo de envelhecimento. Além disso, a resposta fisiológica representada pelo

aumento significativo de cortisol tem sido relacionada às respostas comportamentais consideradas maladaptativas, tais como ansiedade e depressão. Justifica-se que esta adaptação aberrante faz o corpo menos resistente a futuros desafios<sup>30</sup>.

Desta maneira, a ausência de alterações morfológicas em decorrência do estresse infantil tanto físico quanto psicológico na morfologia das glândulas suprarrenais identificadas no presente estudo aponta duas hipóteses: o tempo amenizou os efeitos do estresse promovendo uma boa adaptação e/ou a intensidade do estresse não foi tóxica para provocar danos morfológicos.

## CONCLUSÃO

O presente estudo identificou que o estresse físico e psicológico ocorrido em pequenas quantidades na infância não provocou alterações significativas em longo prazo na morfologia da glândula suprarrenal. Assim, sugere-se que a produção de hormônios glicocorticoides também não sofreu impacto do estresse e o efeito de habituação foi responsável pela ausência de efeitos negativos.

Tal achado pode ser atribuído ao fato de que os modelos de estresse aqui induzidos não apresentaram intensidade e duração para provocar ativação excessiva do eixo HHA e provocar assim alterações estruturais nestas glândulas. Portanto, nossos resultados confirmam que nem toda resposta ao estresse está relacionada a efeitos prejudiciais.

## LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Por se tratar de um projeto inicial para uma linha de pesquisa futura, algumas limitações foram encontradas. A mais importante delas refere-se à escassez de recursos para aquisição de reagentes e equipamentos. No entanto, adequamos este estudo à nossa realidade estrutural e financeira.

**DIRECIONAMENTOS FUTUROS**

Intenciona-se que os resultados obtidos com a presente pesquisa possam ser utilizados como base para estudos futuros no que se refere à avaliação dos efeitos do estresse em dosagens hormonais e análises histopatológicas mais detalhadas da glândula suprarrenal. Suas aplicações práticas são relevantes uma vez que a melhor compreensão de como o corpo reage às diversas situações de estresse pode proporcionar melhorias preventivas e curativas no que tange a seus malefícios.

**AGRADECIMENTOS**

Agradecemos a colaboração do Prof. Ricardo Souza Vasconcelos, do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá.

**REFERÊNCIAS**

1. Yaribeygi H, Panahi Y, Sahraei H, Johnston TP, Sahhebkar A. The impact of stress on body function: A review. *Excli J.* 2017; 21(16): 1057-72.
2. Allywood MA, Gaffey AE, Vergara-Lopez C, Stroud LR. Stress through the mind of the beholder: Preliminary differences in child and maternal perceptions of child stress in relation to child cortisol and cardiovascular activity. *Stress.* 2017; 20 (4): 341-9.
3. Brito LT, Azevedo AKS, Oliveira LCB. Phenomenological-Hermeneutical considerations of somatization in adolescence: a case study. *Revista de Abordagem Gestáltica - Phenomenological Studies.* 2015; 21(2): 213-24.
4. Vasques L. O mundo é tão estressante como nossa percepção dele o é. *Psique.* 2016; 121: 8-13.
5. Sá F. Burnout: mais próximo do setor da saúde do que se imagina. *Fehoesp 360.* 2017; 9: 16-23.
6. Lu Y, Hu XM, Huang XL, Zhuang XD, Guo P, Feng LF, et al. The relationship between job satisfaction, work stress, work-family conflict, and turnover intention among physicians in Guangdong, China: a cross-sectional study. *BMJ Open.* 2017; 7(5): e014894.
7. Associação Paulista de Medicina do Trabalho (APMT). *Transtornos mentais são terceira maior causa de afastamento do trabalho.* São Paulo; 2017 [acesso em 2019 fev. 13]. Disponível em: <https://apmtsp.org.br/transtornos-mentais-sao-terceira-maior-causa-de-afastamento-do-trabalho/>.
8. Bollinger JL, Burns CMB, Wellman CL. Differential effects of stress on microglial cell activation in male and female medial prefrontal cortex. *Brain Behav Immun.* 2016; 52: 88-97.
9. McEwen BS, Nasca C, Gray JD. Stress effects on neuronal structure: hippocampus, amygdala, and prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology.* 2016; 41 (1): 3-23.
10. Zatesko P, Ribas-Silva RC. Eficácia da Acupuntura no Tratamento de Ansiedade e Estresse Psicológico. *Rev Bras Terap e Saúde.* 2016; 6 (2): 7-12.
11. Ross MH, Pawlina W. *Ross Histologia: Texto e Atlas: correlações com a biologia celular e molecular.* 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; c2016. 1452p.
12. Tochetto C, Rosa FB, da Silva TM, Caprioli RA, Fighera RA, Kommers G. Adrenal lesions in 300 dogs. *Pesq Vet Bras.* 2018; 38 (1): 119-28.
13. Lupien SJ, McEwen BS, Gunnar MR, Heim C. Effects of stress throughout the lifespan on the brain behavior and cognition. *Nature Reviews.* 2009; 10: 435-45.
14. Ashworth CJ, George SO, Hogg CO, Lai YT, Brunton PJ. Sex-specific prenatal stress effects on the rat reproductive axis and adrenal gland structure. *Reproduction.* 2016; 151 (6): 709-17.
15. Levine S, Muneyyirci-Delale O. Stress-induced hyperprolactinemia: pathophysiology and clinical approach. *Obstet Gynecol Int.* 2018; 2018: 1-6.
16. Brydges NM, Hall L, Nicolson R, Holmes MC, Hall J. The effect of juvenile stress on anxiety, cognitive bias and decision making in adulthood: a rat model. *PLOS ONE.* 2012; 7 (10): e48143.
17. Blanchard RJ, Nikulina JN, Sakai RR, Mckittrick C,

- Mcewen B, Blanchard C. Behavioral and Endocrine change following chronic predatory stress. *Physiology & Behavior*. 1998; 63: 561-69.
18. Nogueira MI, Barbieri C, Vieira R, Marques ER, Moreno JEH. A practical device for histological fixative procedures that limits formaldehyde deleterious effects in laboratory environments. *J Neurosci Methods*. 1997; 72: 65-70.
19. Góis MB, Hermes-Uliana C, Paltanin A, Pontes W, Araújo EJA, Miranda MHN et al. Morphoquantitative study of *Rattus norvegicus* submucosal plexus by different neuronal evidentiatio histochemical techniques. *Int. J. Morphol*. 2016; 34 (4): 1487-93.
20. Snyder R, Peterson WJ. Basic anatomy of an adrenal gland. United States; 2016 [acesso em 2019 ago. 01]. Disponível em: <https://www.dummies.com/health/diseases/adrenal-fatigue/basic-anatomy-of-an-adrenal-gland>.
21. Takatsuru Y. Early-life stress and life. *Aging (Albany NY)*. 2018; 10 (10): 2535-36.
22. Oyola MG, Handa RJ. Hypothalamic-pituitary-adrenal and hypothalamic-pituitary-gonadal axes: sex differences in regulation of stress responsivity. *Stress*. 2017; 20 (5): 476-94.
23. Huzard D, Mumby DG, Sandi C, Poirier GL, Kooij MAVD. The effects of extrinsic stress on somatic markers and behavior are dependent on animal housing conditions. *Physiology & Behavior*. 2015; 151: 238-45.
24. Ulrich-Lai YM, Figueiredo HF, Ostrander MM, Choi DC, Engeland WC, Herman JP. Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2006; 291: E965-E973.
25. Díaz-Aguila Y, Cuevas-Romero E, Castelán F, Martínez-Gómez M, Rodríguez-Antolín J, Nicolás-Toledo L. Chronic stress and high sucrose intake cause distinctive morphometric effects in the adrenal glands of post-weaned rats. *Biotechnic & Histochemistry*. 2018; 1473-760.
26. Gannouni N, Mhamdi A, El May M, Tebourbi O, Rhouma KB. Morphological changes of adrenal gland and heart tissue after varying duration of noise exposure in adult rat. *Noise Health*. 2014; 16: 416-21.
27. Wilson CB, Mclaughlin LD, Nair A, Ebenezer PJ, Dange R, Francis J. Inflammation and Oxidative Stress Are Elevated in the Brain, Blood, and Adrenal Gland during the Progression of Post-Traumatic Stress Disorder in a Predator Exposure Animal Model. *PLOS ONE*. 2013; 8 (10): e76146.
28. Campbell JE, Rakhshani N, Fediuc S, Bruni S, Riddell MC. Voluntary wheel running initially increases adrenal sensitivity to adrenocorticotrophic hormone, which is attenuated with long-term training. *J Appl Physiol*. 2009; 106: 66-72.
29. Pietrelli A, Nardo MD, Masucci A, Brusco A, Basso N, Matkovic L. Lifelong aerobic exercise reduces the stress response in rats. *Neuroscience*. 2018; 376: 96-107.
30. Suo L, Zhao L, Si J, Liu J, Zhu W, Chai B, et al. Predictable chronic mild stress in adolescence increases resilience in adulthood. *Neuropsychopharmacology*. 2013; 38: 1387-1400.