

UNIVERSIDADE PAULISTA

PROGRAMA DE MESTRADO EM ODONTOLOGIA

**INFLUÊNCIA DA DEPRESSÃO NA
HIPERSENSIBILIDADE
DENTINÁRIA
(em ratos)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para a obtenção do título de Mestre em Odontologia.

FABIANE BRAGA MARTINS BARBOSA

SÃO PAULO

2015

UNIVERSIDADE PAULISTA

PROGRAMA DE MESTRADO EM ODONTOLOGIA

**INFLUÊNCIA DA DEPRESSÃO NA
HIPERSENSIBILIDADE
DENTINÁRIA
(em ratos)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para a obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cintia Helena Coury Saraceni

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Martha Bernardi

FABIANE BRAGA MARTINS BARBOSA

SÃO PAULO

2015

Barbosa, Fabiane Braga Martins.

Influência da depressão na hipersensibilidade Dentinária (em ratos) / Fabiane Braga Martins Barbosa. - 2015.

16 f : il. + CD-ROM.

Dissertação de Mestrado Apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista, São Paulo, 2015.

Área de Concentração: Clínica Odontológica - Dentística.

Orientadora: Prof.^a Dra. Cintia Helena Coury Saraceni.

Coorientadora: Prof.^a Dr^a. Maria Martha Bernardi.

1. Hipersensibilidade dentinária. 2. Depressão. 3. Modelo animal.
I. Saraceni, Cintia Helena Coury (orientadora). II. Bernardi, Maria Martha (coorientadora). III. Título.

FABIANE BRAGA MARTINS BARBOSA

**INFLUÊNCIA DA DEPRESSÃO NA
HIPERSENSIBILIDADE
DENTINÁRIA
(em ratos)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para a obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Profª Drª Cintia Helena Coury Saraceni
Universidade Paulista – UNIP

Profª Drª Maria Martha Bernadi
Universidade Paulista – UNIP

Profª Drª Elizabeth Teodorov
Universidade Federal do ABC – UFABC

DEDICATÓRIA

A minha avó Dirce (in memorian) que em toda sua simplicidade sempre me incentivou e apoiou, dando muito amor e carinho, sempre com uma palavra doce e um bom conselho, pelo exemplo de vida e amor.

Ao meu marido Heitor por ser o grande incentivador em todos os meus projetos, sempre me apoiando e colaborando para que tudo se realize da melhor forma possível, tendo compreensão de minha ausência em muitos momentos.

Ao meu filho Heitorzinho pelo amor, carinho e pela paciência, por entender quando a mamãe não podia brincar porque tinha que estudar.

Aos meus pais Marta e Claro que me deram a vida e condições de realizar esse sonho. Meu pai, por ter sido um exemplo de profissional da saúde que nunca parou de estudar, por sempre ter me incentivado a prosseguir meus estudos .

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Prof^a Dr^a Cintia Helena Coury Saraceni, pela oportunidade e confiança. Por toda paciência e ajuda durante todo esse período, pelo apoio e pelo conhecimento adquirido.

À minha co-orientadora Prof^a Dr^a Maria Martha Bernardi por toda ajuda, apoio e paciência em todos os momentos. Por todo o conhecimento compartilhado e estímulos constantes.

À prof^a Dr^a Sônia Ribeiro pelo conhecimento e pelo incentivo na conquista da bolsa.

À prof^a Dr^a Márcia Ciaramicoli, por toda ajuda no laboratório, apoio e incentivo.

À toda equipe da Dentística, que me recebeu com muito carinho sempre passando experiência e conhecimento.

Aos técnicos do Laboratório Michelle Sanchez e Wilton Pereira dos Santos, pela ajuda, apoio e colaboração. Vocês fazem parte do trabalho.

Ao Danilo Cabral, médico veterinário e mestrando por toda dedicação, colaboração e apoio durante toda a execução do projeto.

À Fernanda da secretaria, sempre atenciosa, prestativa e pronta para ajudar.

Ao Marcos e a Salete da biblioteca por toda ajuda nessa jornada.

À CAPES PROSUP (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de estudos.

À Catarina Bezerra, minha amiga e companheira, sua dedicação, sua doçura e carinho sempre me incentivando e apoiando nos momentos de dificuldade.

Aos professores do programa de Mestrado pelo conhecimento, incentivo e apoio.

À todos os colegas e amigos de mestrado que de forma direta ou indiretamente ajudaram na realização desse sonho.

AGRADECIMENTO



RESUMO

Objetivo: O objetivo deste estudo foi avaliar a interferência da depressão na percepção da dor decorrente de hipersensibilidade dentinária (HD), em ratos. **Material e Método:** Foram utilizados 35 ratos machos Wistar, com peso entre 320-350g. **PARTE 1:** Estabelecimento do modelo animal de depressão por exposição crônica de ratos a estímulos estressores moderados e imprevisíveis: Nesta etapa, 17 animais foram divididos em dois grupos. Inicialmente, os ratos receberam, simultaneamente, dois bebedouros, um contendo água e outro, água + sacarose a 2%. O consumo dos dois líquidos foi avaliado a cada 2 dias, durante 6 dias, para estabelecimento da linha de base. Foram, então, divididos em dois grupos: um controle, sem depressão (C+ND, n=7) e outro, controle com depressão (C+D, n=10). Os animais do grupo controle permaneceram em sua gaiola-moradia recebendo água e ração ad libitum e expostos a um mínimo de situações estressantes, enquanto o grupo experimental foi submetido a um protocolo de estresse crônico moderado e imprevisível (UCMS), por 4 semanas. O peso corporal dos dois grupos foi tomado semanalmente durante todo o procedimento experimental. A seguir, o teste de preferência a sacarose foi repetido e o consumo de água + sacarose foi avaliado por duas horas. Foram realizados testes de hipersensibilidade dentinária (HD) e resposta à manipulação (RM). Os animais de cada grupo foram submetidos à eutanásia, tendo suas mandíbulas retiradas para análise em microscopia eletrônica de varredura (MEV) e seu sangue coletado para dosagem dos níveis de corticosterona. **PARTE 2:** Avaliação da interferência da depressão na percepção da dor dentinária decorrente de hipersensibilidade dentinária (HD). Os outros 18 ratos foram divididos em 2 grupos. Ambos os grupos, após o condicionamento com solução de sacarose, foram submetidos à indução de HD por meio da administração de solução isotônica com pH 2,3, por 30 dias. Um dos grupos não foi induzido à depressão (grupo - HD+ND, n=8) e o outro foi submetido ao UCMS por 4 semanas (grupo - HD+D, n=10). Os animais foram pesados semanalmente, foi realizado o Teste de Preferência à Sacarose (TPS), seguido de Teste de Porsolt e teste de HD. Após a eutanásia, as mandíbulas foram retiradas para análise em microscopia eletrônica de varredura (MEV) e o sangue foi coletado para avaliação dos níveis de corticosterona e TNF-alfa. **Resultados:** Os animais do grupo C+ND não responderam ao teste de HD. Os animais do grupo C+D tiveram baixíssima resposta ao teste de HD e apresentaram perda de peso. Os animais do grupo (HD+D) apresentaram menor tempo de latência e maior tempo de flutuação no teste de Natação Forçada (teste de Porsolt), confirmando o estado depressivo. Os escores de HD e os níveis plasmáticos de corticosterona no grupo HD+D foram mais elevados em relação ao grupo C+D. Os níveis plasmáticos de TNF-alfa aumentaram apenas no grupo HD+ND. A análise da mandíbula confirma o padrão de erosão dental nos grupos HD. **Conclusão:** Com base nos dados apresentados, podemos afirmar que o comportamento depressivo potencializou a resposta à dor e os níveis de corticosterona plasmáticos nos ratos induzidos a hipersensibilidade dentinária.

Palavras-chave: Hipersensibilidade Dentinária. Depressão. Modelo Animal.

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate in rats the effect of the unpredictable chronic mild stress (UCMS) paradigm, a procedure employed to as a classical model of depression, in rats submitted to dentin hypersensitivity (DH) by dental erosion. Thirty-five adult male rats (protocol nº 227/14, CEP/ICS/UNIP) were divided into four groups. Two groups received water and were submitted or not to UMCS (C+D; C+ND). The other two groups received the isotonic solution during 4 weeks (HD) and were submitted or not to UCMS procedure (DH+D; DH+ND). The body weight (BW) was taken weekly. After the end of treatments, the hypersensitivity test, the sucrose preference test and the swimming behavior were performed. After euthanasia, the blood was collected to evaluation of plasmatic TNF-alfa and corticosterone level, the jaws were removed to evaluate dental erosion pattern. After statistical analysis for each experimental test, it was observed that UCMS procedure potentiate the DH. DH+D group showed a higher degree of pain comparing to all groups ($p < 0.001$). DH+ND showed a higher degree of pain that C+ND and C+D ($p < 0.01$). The plasmatic levels of TNF-alfa increased only in the DH+ND group. Conclusion: Based on the results, it can be concluded that the behavior-like depression increased the response to pain and the levels of plasma corticosterone in rats with dentin hypersensitivity.

Keywords: Dentin Hypersensitivity. Depression. Animal Model.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	9
CONCLUSÕES	14
REFERÊNCIAS – INTRODUÇÃO	15

INTRODUÇÃO

A Hipersensibilidade Dentinária (HD) é uma resposta da dentina vital quando exposta a estímulos térmicos, químicos ou táteis produzidos pela ingestão de bebidas com temperatura diferente da bucal e alimentos ácidos, provocando grande desconforto ao paciente (CORRÊA, 2011).

A Teoria da Hidrodinâmica, apresentada por Brännström na década de 1960, continua sendo a melhor explicação para a transmissão dolorosa dentinária. Segundo a Teoria Hidrodinâmica, quando um estímulo é aplicado na dentina, ocorre o deslocamento rápido de fluido dentro dos túbulos, e esse movimento estimula os mecanorreceptores da polpa, que é transmitida como sensação dolorosa (BRÄNNSTRÖM, 1972).

Uma das causas que podem levar à HD é a erosão dentinária, que é definida como a perda irreversível e progressiva de esmalte e dentina causada por um processo químico que envolve a dissolução por ácido, que não envolve bactérias (BARBOR, 2011).

A erosão dentinária é uma doença contemporânea, principalmente por causa da mudança dos padrões alimentares que existem atualmente na sociedade (ALMEIDA e SILVA, 2011). É uma doença multifatorial (HAMASHA, 2014) e altamente influenciada por hábitos. Sua frequência tem aumentado consideravelmente (ALMEIDA e SILVA, 2011) (BARBOR, 2011) (CORRÊA, 2011), sendo um grande desafio para o clínico, em relação a diagnóstico, identificação dos fatores etiológicos, prevenção e tratamento (ALMEIDA e SILVA, 2011).

Quando o pH da cavidade oral fica abaixo de 5,5, ocorre a perda do esmalte, levando à exposição da dentina, que é sujeita a um desgaste ainda mais rápido do que o do esmalte, causando aumento da sensibilidade e/ou dor.

Os ácidos responsáveis pela etiologia da erosão dentária podem ser de origem intrínseca ou extrínseca. O ácido gástrico, que entra em contato frequente com dentes em caso de regurgitação e refluxo, constitui o fator etiológico de origem intrínseca, assim como bulimia e refluxo gastroesofágico (GERD), medicações que causam boca seca e consumo de drogas ilegais (FITZHUGH, 2014).

Os fatores de origem extrínseca são muitos e incluem o consumo regular de alimentos e bebidas ácidas, isotônicos, refrigerantes, nadar em piscinas cloradas, entre outros (LUSSI, 2006; FITZHUGH, 2014).

O que se observa na clínica odontológica é que os pacientes com erosão que relatam HD, apesar de receberem diferentes protocolos clínicos já consagrados para tratamento da HD, nem sempre relatam resolução total da dor, o que sugere haver outras implicações que podem perpetuar o estado doloroso, como alterações emocionais ou qualidade do relacionamento profissional-paciente.

Porém, poucos são os estudos multidisciplinares que comprovam essa correlação. Bergamini et al. (2014), comprovaram que há aumento no grau de ansiedade em ratos com HD e, ainda, que ratos estressados apresentam maior sensibilidade à dor dentinária do que ratos normais.

Em pacientes com HD, Kabadayan et al. (2015), comprovaram haver forte influência do componente emocional do estresse na percepção da dor.

Uma vez comprovadas as correlações entre fatores emocionais e percepção da dor dentinária, torna-se possível a proposta de uma abordagem multidisciplinar para a resolução dolorosa da HD, que abrange um tratamento integral do paciente, técnica e psicologicamente.

Assim como acontece com o estresse, a interferência de outros transtornos emocionais, como a depressão, em dores dentais não está completamente estabelecida.

Modelos animais podem contribuir para melhor elucidação do processo de dor decorrente de HD. Bergamini et al. (2014), validaram modelo para indução de erosão e HD em ratos, por meio da ingestão de uma solução isotônica (Gatorade®, sabor limão, pH-2,3) por 30 dias e, ainda, avaliaram a interferência do estresse na HD.

Este estudo visa validar modelo de depressão em ratos e avaliar se essa alteração comportamental poderia interferir na HD.

Os transtornos de humor são caracterizados por quadros onde há uma predominante perturbação do humor, sendo o mais comum entre esses transtornos a depressão. A depressão é, hoje, a doença mental mais comum do mundo,

afetando mais de 121 milhões de pessoas. Além disso, estima-se que, em aproximadamente uma década, ela se torne a segunda doença responsável pela perda prematura de vida entre todas as idades e sexos (WHO, 2012).

Dentre as diversas formas de depressão, o transtorno depressivo maior (TDM), caracterizado por quadro clínico de episódios isolados ou recorrentes de tristeza e perda de libido por quase todas as atividades habituais, pelo período mínimo de duas semanas, é o mais recorrente (Diagnostic and Statistical Manual for Mental Disorders DSM-IV, 1994). Semelhante às doenças cardiovasculares isquêmicas ou diarreicas, estima-se que o TDM afete 4,4% da população mundial (MANN, 2005), e em populações clínicas a incidência é maior: cerca de 5% a 10% em pacientes ambulatoriais e 9% a 16% em pacientes internados (TENG, HUMES, DEMETRIO, 2005).

Além da alta incidência, a depressão é companheira frequente de quase todas as doenças crônicas clínicas, estando associada ao aumento da morbidade e mortalidade por suicídio e piora do prognóstico de outras doenças (TENG, HUMES, & DEMETRIO, 2005; WHO, 2012). Os custos de saúde, a baixa aderência a tratamentos e recomendações médicas e os dias de incapacitação dos pacientes tendem a aumentar quando a depressão está associada ao quadro clínico inicial (TENG, HUMES & DEMETRIO, 2005).

Em animais, ao menos 18 modelos de depressão já foram descritos, sendo a maioria utilizada em estudos farmacológicos que testam drogas com potencial efeito antidepressivo (WILLNER, 1991). Dentre estes, três modelos fazem a análise das relações funcionais supostamente envolvidas na depressão: (1) separação materna, (2) estresse moderado crônico imprevisível (chronic mild stress-UCMS) e (3) desamparo aprendido.

O modelo de separação (HARLOW & MC KINNEY, 1971; HARLOW & SUOMI, 1974) utiliza principalmente primatas como sujeitos, tendo por base a separação do filhote da sua mãe ou de um macaco adulto do seu meio social, por período prolongado. Os outros modelos apontam na direção contrária, ou seja, para processos que tornam o sujeito menos “reforçável”.

O modelo do desamparo aprendido leva à passividade frente a um estímulo aversivo e inclui o aprendizado de que a situação é incontrolável (PETERSON, 1993; WILLNER, 1991).

O modelo do UCMS envolve a exposição crônica do sujeito a estímulos estressores (aversivos) moderados, sendo seus efeitos analisados sobre a redução da função reforçadora de um estímulo positivo. Na indução da depressão, ratos são expostos a um conjunto de condições geradoras de estresse em ratos, tais como luz estroboscópica, inclinação da gaiola viveiro, ruído intenso, odor estranho, inclusão de outro rato na sua gaiola viveiro, e outras. Essas alterações são feitas durante 6 semanas e podem ter diferentes durações.

Uma das medidas comportamentais utilizadas para avaliar os efeitos desse tratamento envolve uma condição de escolha entre ingerir água ou solução de sacarose, comparando-se o volume de ingestão da sacarose pós-tratamento, um poderoso reforçador positivo, com o obtido na fase de linha de base, antes de qualquer manipulação experimental.

Após a exposição ao UCMS, os mesmos animais mostram reduzido consumo de sacarose, sugerindo uma queda no valor reforçador dessa substância em função da exposição crônica aos estímulos aversivos “moderados”. Esse efeito é denominado “anedonia”, que corresponde à insensibilidade ao reforço ou “perda do prazer” (WILLNER, 1991, WILLNER, MUSCAT, & PAPP, 1992).

O protocolo de estresse crônico foi adaptado por Forbes et al. (1996). Esses estresses foram aplicados de forma aleatória, todos os dias, com a finalidade de tornar sua aplicação imprevisível, com o intuito de induzir a depressão.

Após 4 semanas de exposição ao UCMS, os ratos foram submetidos ao teste de preferência a sacarose para verificar se o UCMS levou à depressão (YAZIR et al., 2012). O teste consiste de uma versão modificada do procedimento de escolha por duas garrafas (EISCH et al., 2003). Após habituação inicial a duas garrafas de água por 3 dias, oferece-se aos ratos a escolha entre uma garrafa com água e uma garrafa com sacarose, por 24 horas. É medido o consumo das garrafas antes do teste e 24 horas depois.

A proposta deste trabalho é avaliar se a depressão interfere na percepção da dor decorrente de hipersensibilidade dentinária (HD) induzida por meio de erosão. Para isso, antes adaptamos o modelo de UCMS para o nosso biotério, validando o modelo.

CONCLUSÕES

Com base nos dados apresentados, podemos afirmar que o comportamento depressivo potencializou a resposta à dor e os níveis de corticosterona plasmáticos, nos ratos induzidos com hipersensibilidade dentinária.

REFERÊNCIAS – INTRODUÇÃO

1. Almeida E Silva, Júnio S.; Baratieri, Luiz Narciso; Araujo, Edson; Widmer, Nicolas. *Journal of Esthetic & Restorative Dentistry*. 2011, Vol. 23 Issue 4, p205-216.
2. Barbour ME, Lussi, A, Shellis, RP. 2011. Screening and prediction of erosive potential. *Caries Res*. 45 Suppl 1, 24-32.
3. Bergamini MR, Bernardi MM, Sufredini IB, Ciaramicoli MT, Kodama RM, Kabadayan F, Saraceni CH. Dentin hypersensitivity induces anxiety and increases corticosterone serum levels in rats. *Life Sci*. 2014 Mar 11;98(2):96-102
4. Bränström M, Astrom A. The hidrodynamic of the dentine: its possible relationship to dentinal pain. *Int Dent J*. 1972;22,219-227.
5. Corrêa MSNP, Corrêa FNPC, Corrêa JPNP, Murakami C, Medeiros FM. Prevalence and associated factors of dental erosion in children and adolescents of a private dental practice. *International Journal of Paediatric Dentistry* 2011; 21: 451-458.
6. Eisch AJ, Bolanos CA, de Wit J, Simonak RD, Pudiak CM, Barrot M, Verhaagen J, Nestler EJ. 2003. Brain-derived neurotrophic factor in the ventral midbrain-nucleus accumbens pathway: a role in depression. *Biol Psychiatry* 54:994-1005.
7. Felicio LF, Florio JC, Sider LH, Cruz-Casallas PE, Bridges RS. Reproductive experience increases striatal and hypothalamic dopamine levels in pregnant rats. *Brain Res Bull*, 40 (4) (1996), p. 253–256.
8. Fitzhugh, Alex C; Dehghan, Mojdeh; Tantbirojn, Daranee; Simon, James F. *Journal of Cosmetic Dentistry*. (2014). Investigative Prevention for Tooth Erosion. Vol. 30 Issue 3, p72-78.
9. Forbes NF, Stewart CA, Matthews K, Reid IC. Chronic mild stress and sucrose consumption: Validity as a model of depression. *Physiology and Behavior*. 1996; 60(6):1481–4.
10. Hamasha, Abed Al-Hadi; Zawaideh, Feda I; Al-Hadithy, Roua Thamer. Risk indicators associated with dental erosion among Jordanian school children aged 12–14 years of age. *International Journal of Paediatric Dentistry*. Jan 2014, Vol. 24 Issue 1, p56-68.
11. Harlow, HF, & Mc Kinney, WT, Jr. (1971). Nonhuman primates and psychoses. *J Autism Child Schizophr*, 1(4), 368-375.

12. Harlow, HF, & Suomi, SJ (1974). Induced depression in monkeys. *Behavioral Biology*, 12(3), 273-296.
13. Kabadayan F, Millan M, Pecorari VGA, Casarin RCV, Bergamini MR, Saraceni, CHC. Dentin hypersensitivity: a randomized clinical study with a multi-disciplinary approach. In: IADR AADR CSDR General Session & Exhibition, 2015, Boston. *Journal of Dental Research*, 2015. v. 94. p. 1-1.
14. Lussi A, Hellwig E, Zero D, Jaeggi T. Erosive tooth wear: diagnosis, risk factors and prevention. *Am. J Dent* 2006; 19: 319-325.
15. Mann, JJ (2005). The medical management of depression. *New England Journal of Medicine*, 353(17), 1819-1834.
16. Peterson C 1993. Helpless behavior. *Behaviour Research and Therapy*, 31(3), 289-295.
17. Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. 1977. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 229:327-336.
18. Teng CT, Humes EC, & Demetrio FN (2005). Depressão e Comorbidades Clínicas. *Rev. Psiq. Clín*, 32(3), 149-159.
19. WHO, World Health Organization, 2012.
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs369/en/>
20. Willner P 1991. Animal models as simulations of depression. *Trends in Pharmacological Sciences*, 12(4), 131-136.
21. Willner P, Muscat R, & Papp M 1992. Chronic mild stress-induced anhedonia: a realistic animal model of depression. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 16(4), 525-534.
22. Yazir Y, T Utkan, and F Aricioglu. 2012. Inhibition of neuronal nitric oxide synthase and soluble guanylate cyclase prevents depression-like behaviour in rats exposed to chronic unpredictable mild stress. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 111(3): 154–160.