

**UNIVERSIDADE PAULISTA – UNIP
PROGRAMA DE MESTRADO EM ODONTOLOGIA**

**EFEITO DO ESTRESSE NA PERCEPÇÃO DA DOR DECORRENTE
DA HIPERSENSIBILIDADE DENTINÁRIA APÓS DESAFIO
EROSIVO EM RATOS. VALIDAÇÃO DE MODELO ANIMAL.**

Dissertação apresentada ao Programa de
Mestrado em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP,
para obtenção do título de mestre em Odontologia, sob orientação da
Prof (a). Dr(a). Cintia Helena Coury Saraceni
e co-orientação Prof (a). Dr(a). Maria Martha Bernardi

Marcelo Ribeiro Bergamini

São Paulo
2013

**UNIVERSIDADE PAULISTA – UNIP
PROGRAMA DE MESTRADO EM ODONTOLOGIA**

**EFEITO DO ESTRESSE NA PERCEPÇÃO DA DOR DECORRENTE
DA HIPERSENSIBILIDADE DENTINÁRIA APÓS DESAFIO
EROSIVO EM RATOS. VALIDAÇÃO DE MODELO ANIMAL.**

Marcelo Ribeiro Bergamini

São Paulo
2013

Bergamini, Marcelo Ribeiro.

Efeito do estresse na percepção da dor decorrente da hipersensibilidade dentinária após desafio erosivo em ratos : validação de modelo animal / Marcelo Ribeiro Bergamini - 2013. 60 f. : il. color. + CD-ROM.

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista, São Paulo, 2013.

Área de Concentração: Clínica Odontológica - Dentística.

Orientadora: Profª. Dra. Cintia Helena Coury Saraceni.

Coorientadora: Profª Dra. Maria Martha Bernardi.

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

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA

AGRADECIMENTOS

RESUMO	1
INTRODUÇÃO	4
CONCLUSÃO	7
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS (Introdução)	8

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Marta e Marco por todo apoio que deram durante todos esses anos, por sempre me fazer acreditar nos meus sonhos, pelo exemplo de vida e amor.

Ao meu irmão Marco por sempre me apoiar.

À minha namorada Ariene Bacini pela paciência, compreensão de minha ausência.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Prof^a Dr^a Cíntia Helena Coury Saraceni, agradeço por toda paciência, por toda ajuda nesse período e por todo conhecimento adquirido durante todos esses anos. Agradeço pela oportunidade e confiança. Obrigado, pelo exemplo de profissional e pela amizade.

À minha co-orientadora Prof^a Dr^a Maria Martha Bernardi pela oportunidade de fazer parte desse projeto, por toda sua ajuda e paciência.

À Prof^a Dr^a Ivana Barbosa Sufredini por todos os comentários sempre pertinentes e por toda ajuda.

À Prof^a Dr^a Sônia Maria Ribeiro de Souza pelo incentivo à conquista da bolsa

À Prof^a Dr^a Márcia Tonetti Ciaramicoli, por toda ajuda e fazer o tempo no biotério se tornar menos estressante.

Aos técnicos, do Laboratório de Odontologia Michelle Sanchez e pelo Técnico do Laboratório de Experimentação Animal Wilton Pereira dos Santos por toda ajuda que deram, vocês são parte fundamental desse projeto.

Às funcionárias do programa de Mestrado em Odontologia Andressa Nickel, Fernanda, Márcia Nunes pela atenção, auxílio e disponibilidade.

Aos amigos (Jequitibas) do Programa de Mestrado, por tornarem esse período mais agradável.

À CAPES_PROSUP (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de estudo concedida.

Por fim, meu muito obrigado aos demais professores, colegas amigos de mestrado e à todos que ajudaram de forma direta ou indireta a realização desse projeto.

RESUMO

Artigo 1

Objetivo: Estabelecer um modelo animal para hipersensibilidade dentinária a ser obtida por meio de desafio erosivo, correlacionando dados qualitativos e comportamentais.

Métodos: Trinta e seis ratos Wistar machos foram divididos em quatro grupos (n = 09), dois controle (C30 e C45) e dois experimentais (E30 e E45). Os ratos dos grupos E30 e E45 receberam durante 30 ou 45 dias, respectivamente, como água de bebida, uma solução isotônica (Gatorade®, o sabor de limão, pH 2,7) e os grupos controle (C30 e C45) receberam água potável. No 15º dia de tratamento, dois ratos de cada grupo foram submetidos ao teste de hipersensibilidade, ou seja, um estímulo de água fria, durante 5 segundos, na superfície vestibular de molares. A resposta à dor foi avaliada por meio de escores (0; 0,5; 1; 2 ou 3). Em 30 e 45 dias de tratamento, o teste de sensibilidade foi realizado em todos os ratos e a ansiedade foi observada em um modelo de labirinto em cruz elevado. Semanalmente, os ratos foram pesados. Após a eutanásia, as adrenais foram pesadas, os estômagos foram observados, rim e fígado foram preparados para avaliação histológica e as mandíbulas foram removidas e preparadas para análise em microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Resultados: Em 15, 30 e 45 dias de tratamento, os escores atribuídos à sensibilidade nos grupos controle foram zero. Escores do grupo experimental foram: zero em 15 dias; 2 (0,5-3) nos 30 dias e 2 (1-3) em 45 (p <0,001 teste de Mann-Whitney). A análise em MEV, mostrou que os dentes dos ratos experimentais apresentaram túbulos dentinários totalmente expostos em 30 dias e, em 45 dias, um maior grau de perda estrutural e exposição dentinária foram observados. Nos ratos do grupo controle, os túbulos dentinários estavam obliterados por *plugs* de camada de esfregaço. Os estômagos mostraram padrão de normalidade até o período de 30 dias. No período de 45 dias, foram observadas lesões compatíveis com úlceras gástricas. A avaliação histológica do rim e fígado, não apresentou alterações em nenhum dos períodos avaliados.

Conclusão: A solução isotônica foi capaz de induzir hipersensibilidade dentinária em 30 dias após desafio erosivo e a partir desse período um severo

grau de erosão e hipersensibilidade foram obtidos, com comprometimento dos estômagos. Os resultados permitem-nos concluir que 30 dias é um período de tempo suficiente e adequado para indução de hipersensibilidade dentinária por meio de desafio erosivo, sem que haja comprometimento de outros órgãos.

Artigo 2

Objetivo: Avaliar, em modelo animal, a influência do estresse na percepção da dor decorrente de hipersensibilidade dentinária após desafio erosivo.

Método: Quarenta ratos Wistar machos foram divididos em quatro grupos (n = 10). Os ratos do G1 receberam água potável e não foram induzidos ao estresse, G2 e G3 receberam uma solução isotônica [Gatorade®, sabor limão, pH 2,7] como água de bebida, a fim de induzir a erosão e, conseqüentemente, a hipersensibilidade dentinária. Ratos do G2 não foram induzidos ao estresse, G3 foram submetidos ao estresse por meio da indução por restrição de movimentos (1 h de agitação - stress metrô de Nova York) e G4 receberam água potável e foram induzidos ao estresse. A avaliação do stress foi realizada pelo modelo de campo aberto. O peso corporal de todos os grupos foi tomado semanalmente. Após 30 dias, todos os grupos foram submetidos ao teste de hipersensibilidade avaliada por estímulos de água fria na superfície vestibular dos molares, por 5 segundos e a resposta à dor foi avaliada por meio de escores 0; 0,5; 1; 2 ou 3. O sangue dos animais foi coletado para doseagem dos níveis de corticosterona. Após a eutanásia, as adrenais foram pesadas, os estômagos foram observados e as mandíbulas foram removidas para análise em MEV. O rim e o fígado foram submetidos à avaliação histológica.

Resultados: Os ratos do G2 apresentaram escores mais elevados de hipersensibilidade dentinária do que G1 ($p < 0,05$) e os do grupo G3 apresentaram as maiores pontuações em comparação com o G1 e G2 ($p < 0,001$), confirmando que o estresse aumentou a resposta à dor. Os ratos do grupo G3 tiveram perda de peso corporal e frequência de locomoção reduzidos em comparação com G1 ($p < 0,05$) e os dos grupos G2 e G3 mostraram aumento na duração de imobilidade. Não foram observadas diferenças entre a frequência de *rearing* e defecação. A porcentagem de frequência de locomoção na área periférica do campo aberto foi aumentada no G4 em relação aos outros grupos.

A análise em MEV dos elementos dentários mostrou padrão de erosão com túbulos dentinários expostos nos grupos G2 e G3. Os estômagos apresentaram padrão de normalidade, assim como rins e fígados. Os resultados relativos aos níveis de corticosterona ainda estão sendo tabulados.

Conclusão: Os resultados obtidos mostraram padrão de erosão e hipersensibilidade dentinária em 30 dias e o teste comportamental foi consistente com o grau de erosão. O estresse teve uma influência significativa na hipersensibilidade dentinária revelada por um aumento da resposta ao estímulo térmico, redução de peso corporal e dados comportamentais.

INTRODUÇÃO

A hipersensibilidade dentinária (HD), é definida como uma resposta da dentina vital exposta a estímulos térmicos, táteis ou químicos, o que provoca um desconforto extremo ao paciente. É caracterizada por dor de curta duração, aguda, de intensidade variável. A dor pode ser localizada ou generalizada, pode afetar uma ou várias faces dos dentes e, geralmente, cessa imediatamente após a remoção do estímulo ⁴. A dor resultante da HD é causada pelo movimento rápido do fluido de dentina, que por sua vez, estimula a periferia dos mecanorreceptores da polpa. ³

A prevalência de HD entre os adultos chega a ser alta, 57%, tornando-se, por isso, uma das queixas clínicas mais comuns ¹⁶.

Várias são as causas que podem levar à HD. Normalmente estão associadas às lesões cervicais não cariosas (LCNC), entre elas, a erosão dentária, que é definida como um processo químico que resulta na dissolução do esmalte e dentina provocada por ácido não derivado de bactérias ^{2,13,21}. Muitos fatores comportamentais, biológicos e químicos estão envolvidos na erosão dentária ^{10,14}.

A origem dos ácidos que levam à erosão pode ser extrínseca, proveniente da dieta, ou intrínseca, proveniente do estômago ^{9,15 10,11,16}. Quando não tratada, a erosão é geralmente progressiva, resultando na exposição da dentina e, conseqüentemente, causando a HD.

A etiologia exógena da erosão está associada ao consumo regular de alimentos, bebidas ácidas, refrigerantes e, em especial, isotônicos, cujo

consumo é cada vez mais frequente, tanto nos países desenvolvidos quanto nos em desenvolvimento ^{2,6 12,14} .

Uma vez diagnosticada a HD, uma variedade de tratamentos são propostos na literatura, que nem sempre são bem sucedidos, já que se restringem a obliterar mecanicamente a luz dos túbulos dentinários, a fim de cessar a movimentação do fluído, sem levar em consideração que a percepção da dor é muito subjetiva, dependente de variações no estado emocional do paciente .

Um comportamento emocional positivo e motivado do paciente pode ativar o sistema central de inibição da dor do organismo, o qual controla o estímulo doloroso da periferia, por meio da liberação de endorfinas pelo sistema nervoso central ¹. Por outro lado, é possível que pacientes estressados ou depressivos possam responder desfavoravelmente aos tratamentos propostos.

A literatura relata, ainda, alta incidência de efeito placebo, diretamente relacionada à conduta positiva do profissional em relação à resolução da dor, o que dificulta ainda mais a definição de um protocolo único e abrangente para o tratamento da hipersensibilidade dentinária ^{5,15,16} .

Embora a interferência do estado emocional dos pacientes seja relatada, não se observa na literatura muitas pesquisas que a comprovem. Encontra-se apenas a sugestão de que o aspecto emocional poderia influenciar positiva ou negativamente a resolução dos casos de dor dentinária ⁵.

Uma vez comprovada a relação entre fator emocional e percepção da dor dentinária, será possível indicar uma proposta de protocolo de atendimento que aborde o paciente de forma integral, técnica e psicologicamente, aumentando, assim o índice de sucesso dos tratamentos de HD.

Modelos animais, principalmente em ratos, têm sido utilizados para a elucidação de alterações comportamentais e suas interferências sistêmicas frente à dor ¹⁷.

Acreditamos que o desenvolvimento de um modelo animal para estudo da HD possa ser um meio promissor para o estudo das variáveis emocionais que podem interferir no seu tratamento.

A proposta deste estudo é avaliar, em ratos, o efeito do stress na percepção de dor causada pela HD, decorrente de desafio erosivo. Para tanto, o estudo foi desenvolvido em três fases: validação de desafio erosivo para a obtenção de HD; validação de avaliação comportamental do animal frente à dor dentinária; avaliação da influência do estresse na percepção da dor decorrente da HD.

Conclusões

Artigo 1: A solução isotônica foi capaz de induzir hipersensibilidade dentinária em 30 dias após desafio erosivo e a partir desse período um severo grau de erosão e hipersensibilidade foram obtidos, com comprometimento dos estômagos. Os resultados permitem-nos concluir que 30 dias é um período de tempo suficiente e adequado para indução de hipersensibilidade dentinária por meio de desafio erosivo, sem que haja comprometimento de outros órgãos.

Artigo 2: Os resultados obtidos mostraram padrão de erosão e hipersensibilidade dentinária em 30 dias e o teste comportamental foi consistente com o grau de erosão. O estresse teve uma influência significativa na hipersensibilidade dentinária revelada por um aumento da resposta ao estímulo térmico, redução de peso corporal e dados comportamentais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS (Introdução)

1. Arteche LA, Cesero L. Avaliação esmalte dentário fazer de ratos frente ao ataque de soluções com ácido cítrico e ascórbico contidos em sucos de laranja, Stomatol 2001;7(12):59-66.
2. Barbour ME, Lussi A, Shellis RP. Screening and prediction of erosive potential. Caries Res 2011;45(1): 24-32.
3. Brannstrom M, Astrom A. The hydrodynamics of the dentine: its possible relationship to dentinal pain. Int Dent J. 1972;22:219-227.
4. 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.
5. Curro F A. Tooth hypersensitivity in the spectrum of pain. Dent Clin North Am. 1990;34:429-37.
6. Ehlen LA, Marshall TA, Qian F, Wefel JS, Warren JJ. Acidic beverages increase the risk of in vitro tooth erosion. Nutr Res 2008; 28: 299-303.
7. Fass R, Achem SR, Harding S, Mittal RK, Quigley E. Review article: supra-oesophageal manifestations of gastro-oesophageal reflux disease and the role of night-time gastro-oesophageal reflux. Aliment Pharmacol Ther 2004;20(9): 26-38.
8. Imfeld, T. 1996. Dental erosion. Definition, classification and links. Eur J Oral Sci. 104, 151-5.
9. Lussi A, Jaeggi T, Zero D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. Caries Res 2004;38 (1): 34-44.

10. Lussi A, Hellwig E, Zero D, Jaeggi T. Erosive tooth wear: diagnosis, risk factors and prevention. *Am J Dent* 2006;19: 319-25.
11. Lussi A, Megert B, Shellis RP, Wang X.. Analysis of the erosive effect of different dietary substances and medications. *Br J Nutr* 2011;107:252-62
12. Murakami C, Oliveira LB, Sheiham A, Nahas Pires Correa MS, Haddad AE, Bonecker M. Risk indicators for erosive tooth wear in Brazilian preschool children. *Caries Res* 2011;45:121-9.
13. Ranjitkar S, Kaidonis JA, Smales RJ. Gastroesophageal reflux disease and tooth erosion. *Int J Dent* 2012;479850
14. Scheutzel P. Etiology of dental erosion--intrinsic factors. *Eur J Oral Sci* 1996 104: 178-90.
15. Sgolastra, F., DDS, Petrucci, A., DDS, Gatto, R., MD, DMD, and Monaco A., DDS, Effectiveness of Laser in Dentinal Hypersensitivity Treatment: A Systematic Review, *JOE* — Volume 37, Number 3, March 2011.
16. Terry D A, Cervical Dentin Hypersensitivity: Etiology, Diagnosis, and Management, 2011, http://www.dentalcetoday.com/courses/96/PDF/DTAPRIL_11_136_fnl.pdf.
17. Waterhouse PJ, Auad SM, Nunn JH, Steen IN, Moynihan PJ. Diet and dental erosion in young people in south-east Brazil. *Int J Paediatr Dent* 2008;(18): 353-360.