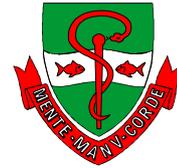




UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



Efeito da ansiedade experimental sobre as concentrações salivares de
imunoglobulina A e cortisol

Eduardo Haruki Ozera

Piracicaba

2010

Eduardo Haruki Ozera

Efeito da ansiedade experimental sobre as concentrações salivares de
imunoglobulina A e cortisol

Monografia apresentada ao curso de
Odontologia da Faculdade de
Odontologia e Piracicaba – Unicamp,
para obtenção do Diploma de
Cirurgião- Dentista.

Orientadora: Prof. Dra.Fernanda Klein Marcondes

Co-Orientadora: Patrícia Oliveira de Lima

Piracicaba

2010

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**
Bibliotecária: Elis Regina Alves dos Santos – CRB-8ª. / 8099

Oz3e Ozera, Eduardo Haruki.
Efeito da ansiedade experimental sobre as concentrações salivares de imunoglobulina A e cortisol / Eduardo Haruki Ozera. -- Piracicaba, SP: [s.n.], 2010.
25f. : il.

Orientadores: Fernanda Klein Marcondes, Patrícia Oliveira de Lima.
Monografia (Graduação) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Fisiologia odontológica. 2. Estresse. I. Marcondes, Fernanda Klein. II. Lima, Patrícia Oliveira de. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título.

(eras/fop)

Dedico este trabalho,

Aos meus pais, Elizabeth e Pedro,
pelo amor, apoio e dedicação.

A minha namorada, Caroline,
pelo carinho e companheirismo.

Agradecimentos,

Aos colegas da Graduação da FOP-Unicamp do ano de 2007, pela amizade, companheirismo, convivência e por todas novas amizades.

À Profa. Dra Fernanda Klein Marcondes pela paciência e apoio para a realização deste trabalho.

À Cirurgiã-dentista Patrícia Oliveira de Lima por ter ajudado na Iniciação Científica e relatórios.

RESUMO

A ansiedade pode ser definida como um estado emocional de um sentimento de apreensão desagradável, vago, acompanhado de sensações físicas, tais como o vazio no estômago, pressão no peito, aumento da frequência e dos batimentos cardíacos, dor de cabeça, falta de ar, tremores e transpiração. Estes sintomas são decorrentes da ativação do Sistema Nervoso Simpático (SNS). Além disso, sabe-se que o estado de ansiedade e o estresse estimulam a secreção do hormônio corticosteróide cortisol pelo córtex da glândula supra-renal, em consequência da ativação do eixo Hipotálamo – Hipófise – Adrenal.

O estresse foi definido por Selye (1936) como um conjunto de defesas orgânicas contra qualquer forma de estímulo nocivo podendo ser de ordem física, psicológica ou psicossocial.

No campo da Odontologia, a ansiedade e o estresse têm sido associados a reações alérgicas, inflamações bucais e úlcera aftosa recorrente.

Tem sido proposta a utilização das concentrações salivares de hormônios, citocinas e outras substâncias como biomarcadores do estresse (Sôo-Quee & Choon-Huat, 2007). A quantificação de cortisol na saliva tem se demonstrado bastante eficaz para medir o estresse e a ansiedade (Jessop et al., 2007). Há uma relação direta entre os níveis de alguns hormônios e medicamentos na saliva e no sangue. Além disso, em vários estudos a quantificação de cortisol salivar tem sido utilizada devido a sua eficácia e simplicidade evitando procedimentos invasivos.

Neste contexto, as proteínas salivares são essenciais para estabelecimento da homeostasia bucal. Dentre elas, destaca-se a imunoglobulina A secretória (sIgA), um dos principais componentes do sistema imune presente na saliva, que também tem sido considerada em vários estudos como um marcador de estresse.

A ansiedade foi induzida pelo Stroop Color-Word Test (SCWT), desenvolvido por John Ridley Stroop (1935), com o propósito de se estudar a

percepção e o processamento de duas formas distintas de estímulos visuais: a palavra escrita e a cor. Callil et al, (2006) relataram que o VRSCWT induziu, em um grupo de homens, saudáveis sistêmica e oralmente, aumento de frequência cardíaca e pressão arterial sistólica que são indicadores da ativação simpática, confirmando que o teste utilizado representava uma situação ansiogênica.

O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito da ansiedade experimental, e do gênero do avaliador sobre as produções salivares de IgA secretória e cortisol, como marcadores bioquímicos do estresse, em indivíduos saudáveis (homens).

ABSTRACT

Anxiety can be defined as an emotional state of an unpleasant feeling of apprehension, accompanied by physical sensations such as emptiness in the stomach, chest tightness, increased frequency and heartbeat, headache, shortness of breath, shivering and sweating. These symptoms are due to activation of the sympathetic nervous system (SNS). Moreover, it is known that anxiety and stress stimulate the secretion of corticosteroid hormone cortisol by the cortex of the adrenal gland as a result of activation of the Hypothalamus-Pituitary-Adrenal.

Stress was defined by Selye (1936) as a set of body defenses against any form of noxious stimulus that may be physical, psychological or psychosocial. In the field of Dentistry, anxiety and stress have been associated with allergic reactions, inflammation and oral aphthous ulcer recurring. It has been proposed the use of salivary concentrations of hormones, cytokines and other substances as biomarkers of stress (Soo-Quee & Choon-Huat, 2007). In this context, the quantification of cortisol in saliva has proven quite effective for measuring the stress and anxiety (Jessop et al., 2007). There is a direct relationship between levels of some hormones and drugs in saliva and blood. Moreover in several studies salivary cortisol has been used due to its simplicity and effectiveness avoiding invasive procedures.

In this context, the salivary proteins are essential for oral homeostasis. Secretory immunoglobulin A (sIgA), a key component of the immune system present in saliva has been considered in several studies as a marker of stress.

Anxiety was induced by the Stroop Color-Word Test (SCWT), developed by John Ridley Stroop (1935), with the purpose of studying the perception and processing of two distinct forms of visual stimuli: the written word and color. Callil et al, (2006) reported that VRSCWT induced in a group of men, systemic and oral health, increased heart rate and blood pressure are indicators of sympathetic activation, confirming that the test was an anxiogenic situation.

The objective of this work was to study the effect of experimental anxiety, and gender of the evaluator on the production of salivary secretory IgA and cortisol, as biochemical markers of stress, in healthy individuals (men).

PALAVRAS CHAVE : cortisol, estresse, IGA salivar, CSV

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	10
REVISÃO DE LITERATURA	12
PROPOSIÇÃO	16
MATERIAL E MÉTODOS	17
RESULTADOS	20
DISCUSSÃO	25
CONCLUSÃO	28
REFERÊNCIAS	29
ANEXO	33

INTRODUÇÃO

No campo da Odontologia, a ansiedade e o estresse têm sido associados a reações alérgicas, inflamações bucais, úlcera aftosa recorrente (Fábián & Fábián, 2000), doenças periodontais e halitose (Queiroz et al., 2002).

Tem sido proposta a utilização das concentrações salivares de hormônios, citocinas e outras substâncias como biomarcadores do estresse. Neste contexto, a quantificação de cortisol na saliva tem se demonstrado bastante eficaz para medir o estresse e a ansiedade (Jessop et al., 2007), pois ambos estimulam a secreção do cortisol pelo córtex da glândula supra renal. E, como há uma relação direta entre os níveis de alguns hormônios e medicamentos na saliva e no sangue, em vários estudos a quantificação de cortisol salivar tem sido utilizada devido a sua eficácia e simplicidade sem métodos invasivos. Foi demonstrado por Miller et al. (1995) que o estresse, avaliado pelos níveis plasmáticos de cortisol, associado à extração dentária, em adultos, foi maior do que o relacionado com os demais procedimentos odontológicos.

As proteínas salivares são importantes para a homeostasia bucal, e dentre elas a imunoglobulina A que é responsável pela inibição de enzimas microbianas envolvidas na colonização de microorganismos (Gregory et al., 1990). O seu aumento também foi relacionado ao estresse (Yu Shan Fa et al., 2008).

O Stroop Color-Word Test (SCWT) foi desenvolvido por John Ridley Stroop (1935) com o propósito de se estudar a percepção e o processamento de duas formas distintas de estímulos visuais: a palavra escrita e a cor. Em 1999, Leite et al. verificaram a eficiência do Vídeo Recorded Stroop Color Word Test (VRSCWT) como um modelo experimental para indução de ansiedade em humanos, mostrando-se efetivo em aumentar o estado de ansiedade em indivíduos normais. Este efeito foi bloqueado pela administração do agente ansiolítico Diazepam. É esta versão que foi usada em nosso trabalho. O teste de ansiedade consiste em apresentar ao sujeito experimental uma prancha contendo 100 palavras designativas de cores (azul, amarelo, vermelho, verde e violeta), dispostas em uma matriz 10x10. Cada palavra é pintada de uma cor

diferente de seu significado e apresentada em ordem aleatória. O sujeito deve mencionar, na seqüência apresentada, a cor visualizada sem se importar com a palavra escrita. A tarefa deve ser realizada em 2 minutos, e cada erro é sinalizado com o toque de uma campainha. Toda situação do teste é monitorada por uma vídeo-câmera e apresentada simultaneamente ao sujeito, em um monitor de TV, enquanto ele realiza a tarefa. As instruções para o teste serão reproduzidas em uma fita cassete, imediatamente antes de seu início.

Calil & Marcondes (2006) observaram que o VRSCWT induziu, em um grupo de homens, saudáveis sistêmica e oralmente, aumento de frequência cardíaca e pressão arterial sistólica que são indicadores da ativação simpática, confirmando que o teste utilizado representava uma situação estressante.

Diante disso, nossa proposta foi estudar o efeito da ansiedade experimental e do gênero do avaliador em indivíduos saudáveis (homens) sobre as produções salivares de IgA secretória e cortisol, como marcadores bioquímicos do estresse.

REVISÃO DE LITERATURA

A ansiedade pode ser definida como um estado emocional de um sentimento de apreensão desagradável, vago, acompanhado de sensações físicas como o vazio no estômago, opressão no peito, palpitações, aumento dos batimentos cardíacos, tremores, sintomas decorrentes da ativação do sistema simpático, ou um sentimento de insegurança, causado pela expectativa de algum perigo, no qual a fonte é incerta, desconhecida (Graeff & Brandão, 1999).

Segundo Spielberger (1972), Spielberger & Sarason (1975), Spielberger, Gorsuch & Lushene (1979) e Maffei (1992), a ansiedade como um processo, refere-se a uma complexa seqüência de eventos cognitivos, afetivos e comportamentais que são despertados por qualquer estímulo estressor. O indivíduo percebe e interpreta a situação causada por este estímulo estressor de acordo com as experiências já vivenciadas.

Um trabalho investigativo feito por Kanegane et al (2003) demonstrou que a história prévia de trauma mostrou-se importante para o desenvolvimento da ansiedade em relação ao atendimento odontológico.

O estresse foi definido por Selye (1936) como um conjunto de defesas orgânicas contra qualquer forma de estímulo nocivo podendo ser de ordem física, psicológica ou psicossocial. Segundo Ferreira et al (2001) o estresse é o conjunto de reações do organismo a agressões de origens diversas, capazes de perturbar-lhe o equilíbrio interno.

O trabalho de Cardoso et al (2005) relata que em crianças com comportamento pouco socializados, com elevadas manifestações de estresse, ocorreu uma maior dificuldade na aceitação do tratamento odontológico, em comparação com crianças que apresentaram sinais de maior socialabilidade e com menores indicadores de estresse.

Alterações emocionais, como o estresse e a ansiedade, têm sido correlacionadas com a produção de vários biomarcadores salivares.

Neste contexto, avaliações salivares constituem um bom método de análise pelo método de coleta não ser invasivo, sendo melhor aceito pelos pacientes. Além disso tem sido proposta a utilização de concentrações salivares de hormônios, citocinas e outras substâncias como biomarcadores de

estresse já que suas concentrações na saliva poderiam refletir, em tempo real, suas concentrações sanguíneas (Sôo-Quee Koh & Choon-Huat Koh, 2007).

Dentre elas, destaca-se a imunoglobulina A secretória (slgA) como o principal componente do sistema imune presente na saliva e tem sido utilizada em outros estudos como marcador de estresse, por ser considerada um indicador do estado imune, porém os dados disponíveis são conflitantes. Apesar de haver estudos mostrando que o estresse psicossocial crônico está associado à diminuição na produção de slgA, favorecendo a ocorrência de doenças do trato respiratório superior (Cohen et al, 1991; Totman et al., 1980), estudos com estressores psicofisiológicos agudos, como falar em público (Evans et al., 1994), apresentações orais (Bristow et al., 1997) e testes mentais aritméticos (Willemsen et al., 1998) estão associados a aumentos na produção de slgA. Por outro lado, estudos envolvendo estresse agudo por avaliação acadêmica não evidenciaram alterações nas concentrações de slgA (Ng et al., 2003; Lowe et al., 2000).

Outro método que tem se mostrado bastante eficaz para medir o estresse e a ansiedade, é a quantificação de cortisol na saliva. Sabe-se que o estado de ansiedade e o estresse estimulam a secreção do hormônio corticosteróide cortisol pelo córtex da glândula supra-renal. Como há uma relação direta entre os níveis de alguns hormônios e medicamentos na saliva e no sangue, em vários estudos a dosagem salivar de cortisol tem sido utilizada devido à simplicidade na coleta da amostra e sensibilidade do método. Ao contrário, a coleta de sangue requer profissionais especializados e gera maior estresse devido à apreensão gerada pelo medo da agulha (Akyuz et al., 1996). McCartan et al. (1996) encontraram correlação positiva entre ansiedade e a concentração de cortisol salivar. Além disso, Miller et al. (1995) demonstraram que o estresse, avaliado pelos níveis plasmáticos de cortisol, associado à extração dentária, em adultos, foi maior do que o relacionado com os demais procedimentos odontológicos.

Um estudo conduzido por Hucklebridge et al., 1998, observou que a slgA salivar apresenta um padrão de produção diurno, com pico 30 minutos após o despertar, estando próximo ao padrão de secreção do cortisol salivar, o qual também é diurno. Mas ainda não está claro se a variação diurna na secreção de slgA salivar ocorre em resposta à secreção do cortisol ou a outro

mecanismo de controle que também tenha maior intensidade diurna. Diante disso, são válidos estudos comparativos entre as produções de sIgA e cortisol e os comportamentos destes diante situações de estresse.

Na clínica odontológica, é muito difícil a determinação das causas que induzam ansiedade e estresse, já que fatores sociais, econômicos e familiares não podem ser excluídos, e somam-se àqueles diretamente relacionados ao tratamento dental. Assim, é evidente a importância do desenvolvimento de protocolos experimentais que permitam a padronização da qualidade e intensidade do estímulo ansiogênico, assim como o seu papel no desenvolvimento de sintomas psicopatológicos e manifestações bucais. O Stroop Color-Word Test (SCWT) foi desenvolvido por John Ridley Stroop (1935) com o propósito de se estudar a percepção e o processamento de duas formas distintas de estímulos visuais: a palavra escrita e a cor. Em 1978, Nakano et al. propuseram pela primeira vez, o uso do efeito Stroop para induzir ansiedade em voluntários normais a fim de avaliar atividade ansiolítica de drogas. Com base nisso, Andreatini (1999) e Leite et al. (1999), a fim de eliciar a ansiedade em indivíduos, acrescentaram ao SCWT, com sinalização e limitação de tempo, a gravação da situação de teste em vídeos, batizando essa nova versão de Vídeo-Recorded Stroop Color-Word Test (VRSCWT). É esta versão que será usada em nosso trabalho.

A situação eliciadora de ansiedade consiste em se apresentar ao sujeito experimental uma prancha contendo 100 palavras designativas de cores (azul, amarelo, vermelho, verde e violeta), dispostas em uma matriz 10x10. Cada palavra é pintada de uma cor diferente de seu significado e apresentada em ordem aleatória. O sujeito deve mencionar, na seqüência apresentada, a cor visualizada sem se importar com a palavra escrita. A tarefa deve ser realizada em 2 minutos, e cada erro é sinalizado com o toque de uma campainha. Toda situação do teste é monitorada por uma vídeo-câmera e apresentada simultaneamente ao sujeito, em um monitor de TV, enquanto ele realiza a tarefa. As instruções para o teste serão reproduzidas em uma fita cassete, imediatamente antes de seu início.

O VRSCWT induziu, em um grupo de homens, saudáveis sistêmica e oralmente, aumento de frequência cardíaca e pressão arterial sistólica que são indicadores da ativação simpática, confirmando que o teste utilizado

representava uma situação estressante (Calil & Marcondes, 2006).

O fator estresse muitas vezes está relacionado com a possível associação a algumas enfermidades que afetam a cavidade bucal.

Segundo Curvello et al (2008) é provável que a existência de uma desregulação do sistema imunológico originada por estresse possa levar ao surgimento da ulcera recorrente aftosa.

Rohrmann, Hennig e Netter (2000) constataram que os baixos níveis de Imunoglobulina A (IgA) na saliva de pacientes em condições de estresse podem estar associados às doenças da cavidade oral, como cárie, gengivite, estomatite e UAR, além de amidalite, faringite e bronquite. Estudos realizados por Junior et al (2009) concluíram que pacientes com maior nível de estresse apresentaram maior severidade de destruição periodontal, representadas por maior prevalência de sítios com perda de inserção superior a 3mm.

Segundo Genco et al (1988), indivíduos com maiores dificuldades em lidar com os estímulos estressantes apresentaram também maior risco de perda de inserção severa do que indivíduos submetidos ao mesmo estímulo e nível geral de estresse porém com melhor capacidade de enfrentamento do estresse.

Compreender os mecanismos envolvidos na relação entre ansiedade e alterações bucais pode auxiliar no aprimoramento de medidas profiláticas e terapêuticas.

O objetivo desse estudo foi estudar o efeito da ansiedade experimental e do gênero do avaliador sobre as produções salivares de IGA secretória e cortisol, como marcadores bioquímicos do estresse, em indivíduos saudáveis (homens).

PROPOSIÇÃO

Estudar o efeito da ansiedade experimental e do gênero do avaliador sobre as produções salivares de IGA secretória e cortisol, como marcadores bioquímicos do estresse, em indivíduos saudáveis (homens).

MATERIAL E MÉTODOS

Considerações éticas

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, CEP - FOP, UNICAMP, em dezembro de 2007, sob o número de protocolo 108/2007. Após a aprovação, e foi iniciado a participação na pesquisa, e o certificado do Comitê de Ética em Pesquisa foi complementado com a inclusão dos mesmos (Anexo).

Após a seleção, os voluntários receberam um material informativo contendo a explicação dos procedimentos que foram utilizados, as recomendações para o dia do teste, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Neste termo, foram explicados os objetivos e as justificativas para a realização do estudo, os riscos e benefícios aos quais estariam expostos, e demais itens descritos nas Diretrizes do Conselho Nacional de Saúde (Resolução 196/96). Foi também garantido ao voluntário o direito de se recusar em participar do estudo em qualquer momento, sem nenhum prejuízo, e lhe foi informado o telefone das pesquisadoras para a solução de quaisquer dúvidas que pudessem surgir posteriormente. Após a leitura do documento, foram esclarecidas todas as dúvidas dos voluntários, que posteriormente assinaram duas vias do termo. O voluntário recebeu uma das vias e a outra foi arquivada pela pesquisadora

Seleção de Voluntários

Foram selecionados 21 voluntários do sexo masculino, os quais estavam cursando o 2º ou o 3º ano de Graduação do curso de Odontologia da FOP/UNICAMP.

Os voluntários foram submetidos à anamnese e exame clínico minuciosos para averiguar uso de medicamentos e que não apresentavam cáries, doenças periodontais, língua saburrosa, próteses, aftas, ulcerações. Um voluntário foi excluído por apresentar hipertensão arterial (alteração sistêmica) e um interrompeu a participação no estudo. Assim, os dados obtidos referem-se a 19 indivíduos.

Foi realizada uma padronização da creme dental (Sorisso©™) para todos os voluntários, para evitar variações de dados devido ao uso de diferentes cremes dentais.

Para realização dos testes os voluntários eram solicitados a se apresentarem em jejum sem ter realizado nenhuma higiene bucal e na ausência de ingestão de alimentos condimentados no dia anterior, e a aplicação de perfume, colônias e outros derivados alcoólicos no dia anterior ao experimento. Os experimentos foram realizados às 07h00min para que não houvesse complicações na grade curricular, com duração de 30 minutos para cada voluntário.

As avaliações não foram realizadas em dias de provas, seminários e outras atividades que pudessem alterar o nível de ansiedade basal dos voluntários.

Avaliação do Nível Basal de Ansiedade

No dia do experimento, antes da primeira mensuração dos CSV e coleta de saliva foi aplicado um questionário que tem a finalidade de revelar o nível basal de ansiedade dos voluntários. O *Beck Anxiety Inventory* é um instrumento de auto-relato, que mede a intensidade dos sintomas de ansiedade. É composto por 21 itens descritos na forma de comportamentos característicos e sentimentos que um sujeito com um estado de ansiedade alterado provavelmente está sentindo, numa escala de avaliação de quatro pontos: absolutamente não, levemente, moderada e gravemente.

Determinação da Pressão Arterial

A determinação da pressão arterial foi feita utilizando-se um monitor digital (Digital Blood Pressure Monitor, *Pro Check*). Esta avaliação foi realizada como medida complementar para avaliar o nível de estresse dos voluntários, já que a ativação simpática desencadeada por estímulos estressores resulta em aumento da atividade cardíaca e da resistência periférica. Foram determinados os valores de frequência cardíaca, pressão arterial média, sistólica e diastólica.

Medida do Fluxo Salivar

Foi realizada a coleta de saliva não estimulada, de acordo com Tárzia (2003). O voluntário foi orientado a deglutir a saliva, que se encontrava na

boca, e em seguida depositar no frasco toda a saliva que fosse secretada durante os cinco minutos seguintes. O volume obtido foi dividido por cinco e o resultado, apresentado em mL/ min. A saliva coletada foi centrifugada, e o sobrenadante foi armazenado em recipientes plásticos esterilizados, e colocados em gelo para sua conservação durante o transporte até a - 70°C).

Dosagens Bioquímicas

As concentrações salivares de cortisol e IgA foram determinadas por ensaio imunoenzimático (ELISA), utilizando-se o Kit DSL ACTIVE® (Read et al., 1990; Calil *et al.*, 2008) e Assay Diagnostics, respectivamente. O coeficiente de variação dos ensaios foi menor que 10%.

Análise Estatística

Os dados foram analisados por Análise de Variâncias Bifatorial, seguida de teste de Tukey, com nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Para análise estatística foram considerados os seguintes fatores: gênero do avaliador e efeito do teste de ansiedade sobre os voluntários.

No início da fase do experimento foi aplicado, para cada voluntário, o questionário da escala de Beck (Beck Anxiety Inventory – BAI) para avaliar se os voluntários foram expostos a situações estressantes prévias, ou durante semana ou um dia antes ao experimento.

A finalidade da aplicação deste questionário tinha o intuito de evitar que houvesse influência de uma situação prévia estressante durante a condição basal e foi aplicado antes do teste de ansiedade (*Vídeo Recorded Stroop Color Word Test*). Os resultados desta avaliação estão apresentados na Tabela 1. Não foram detectadas alterações nos níveis de ansiedade dos indivíduos, já que todos apresentaram um grau mínimo ou leve (*Beck et al.*, 1993), e desta forma o passo seguinte que foi a avaliação do efeito da ansiedade experimental pôde ser avaliada sem influência de outros fatores estressantes.

Tabela 1. Nível de ansiedade dos voluntários, de acordo com o Beck Anxiety Inventory, na situação basal, quando avaliados por um homem e por uma mulher.

Gênero do Avaliador		
Grau de ansiedade	Homem	Mulher
N	19	19
Mínimo	68,4%	73,7%
Leve	31,6%	26,3%

Os resultados referentes às variáveis de respostas relacionadas aos parâmetros cardiovasculares estão expostos na Tabela 2. A pressão sistólica apresentou maiores valores na situação basal quando os voluntários foram avaliados por uma avaliadora mulher comparado a quando os voluntários homens foram avaliados por um avaliador do sexo masculino. A aplicação do

teste de ansiedade aumentou a pressão arterial sistólica, e este efeito foi maior quando os voluntários foram avaliados por uma avaliadora mulher.

Antes da aplicação do STROOP teste, os valores da pressão diastólica e média não foram influenciados pelo gênero do avaliador. Da mesma forma, depois de aplicado o teste eliciador de ansiedade, a pressão diastólica e média aumentou significativamente, sem influência do gênero do avaliador, sem diferença nos valores de frequência cardíaca.

Tabela 2. Parâmetros cardiovasculares de homens, quando avaliados por uma pessoa do mesmo gênero e do gênero oposto, antes e após a aplicação do Vídeo Recorded Stroop Color Word Teste (VRSCWT).

Parâmetros Cardiovasculares		Gênero do Avaliador	
		Homem	Mulher
Pressão Arterial Sistólica (mmHg)	Antes	115 ± 2	118 ± 2#
	Depois	121 ± 2*	129 ± 3* #
Pressão Arterial Diastólica (mmHg)	Antes	75 ± 1	76 ± 2
	Depois	80 ± 2*	83 ± 3*
Pressão Arterial Média (mmHg)	Antes	88 ± 1	90 ± 1
	Depois	93 ± 1*	98 ± 3*
Frequência cardíaca (bpm)	Antes	75 ± 2	74 ± 3
	Depois	75 ± 2	73 ± 3

*Significância estatística entre a ansiedade (antes e depois). # Significância estatística entre o gênero do avaliador (homem e mulher) ($p < 0,05$).

Matthews et al. (2003) realizaram um estudo relacionando a reação cardiovascular com o estresse psicológico, e sugeriram que a pressão do sangue aumenta em reação a respostas de estresse como uma entrevista a emprego e testes, levando a um aumento nos valores de pressão arterial. Estes resultados parecem estar de acordo com os de nosso estudo, em que uma situação estressante elicia um aumento nos valores de pressão arterial sistólica e diastólica nos voluntários.

Os resultados mostraram que durante a situação basal não apresentou diferença na concentração de cortisol em relação ao gênero do avaliador e após a aplicação do teste ansiogênico não apresentaram diferença significativa, independentemente do gênero do avaliador (Figura 1; $p > 0,05$).

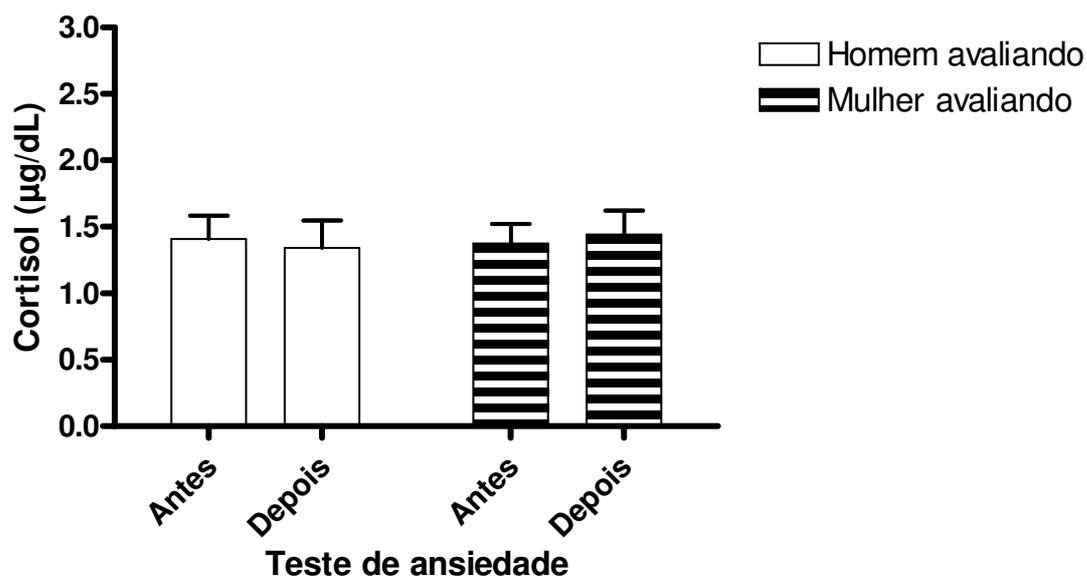


Figura 1. Cortisol salivar de antes e após a aplicação do Vídeo Recorded Stroop Color Word Test (VRSCWT), quando avaliados por uma pessoa do sexo masculino (barras brancas) e do sexo feminino (barras hachuradas). N= 19.

Os valores do fluxo salivar mostraram que quando avaliados por um homem não houve alteração devido ao teste de ansiedade (Figura 2). Entretanto quando avaliados por uma mulher, foi observado que o teste de ansiedade induziu aumento do fluxo salivar (Figura 2; $p < 0,05$).

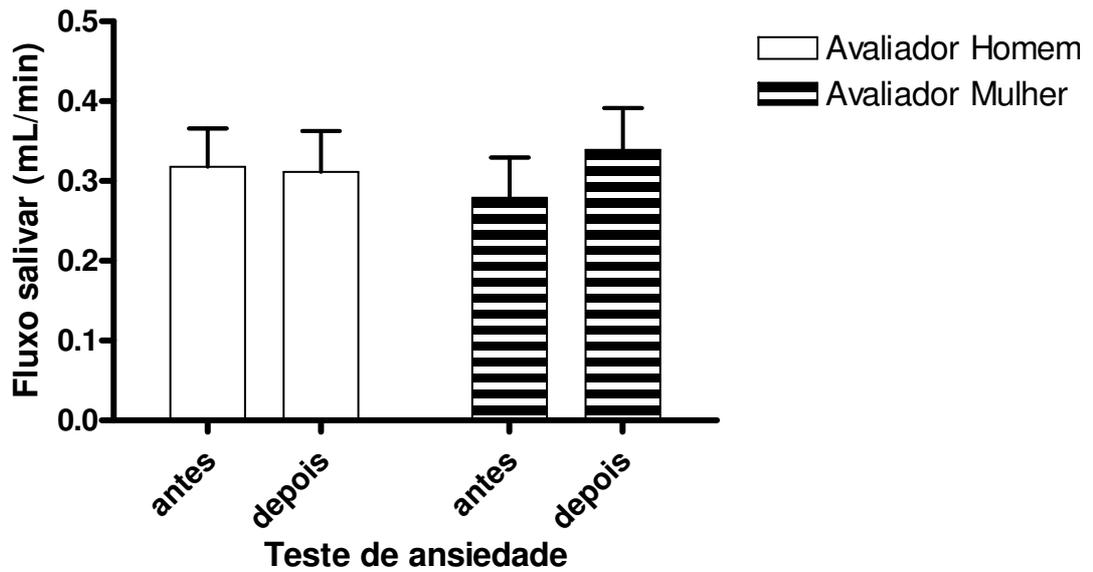


Figura 2. Fluxo salivar de antes e após a aplicação do Vídeo Recorded Stroop Color Word Test (VRSCWT), quando avaliados por uma pessoa do sexo masculino (barras brancas) e do sexo feminino (barras hachuradas). N= 19.

Os resultados sobre a IgA salivar (Fig. 3) e proteínas totais (Fig. 4) demonstraram que não houve alteração relacionada ao gênero do avaliador ou ao teste de ansiedade.

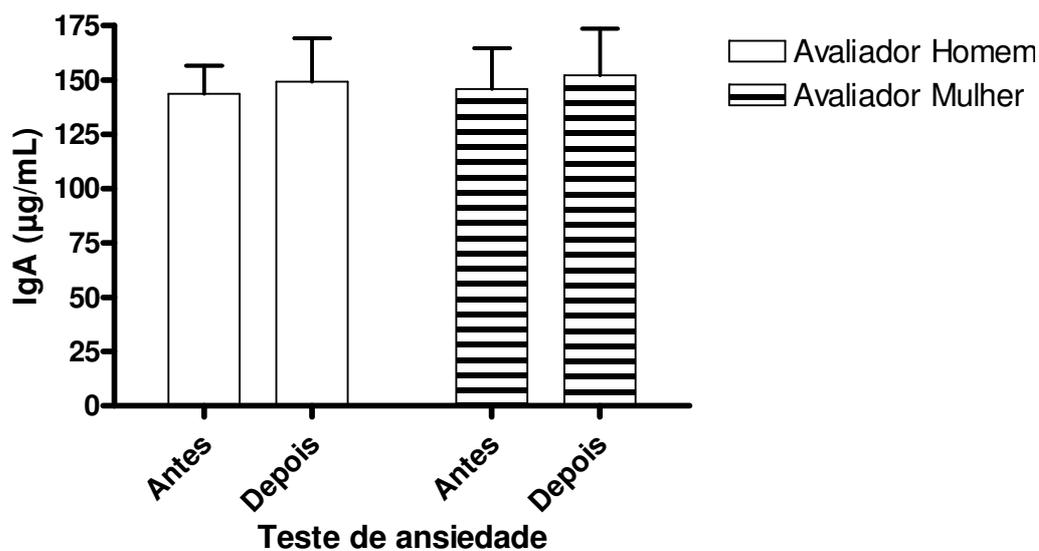


Figura 3. Concentração de IgA antes e após a aplicação do Vídeo Recorded Stroop Color Word Test (VRSCWT), quando avaliados por uma pessoa do sexo masculino (barras brancas) e do sexo feminino (barras hachuradas). N= 19 homens

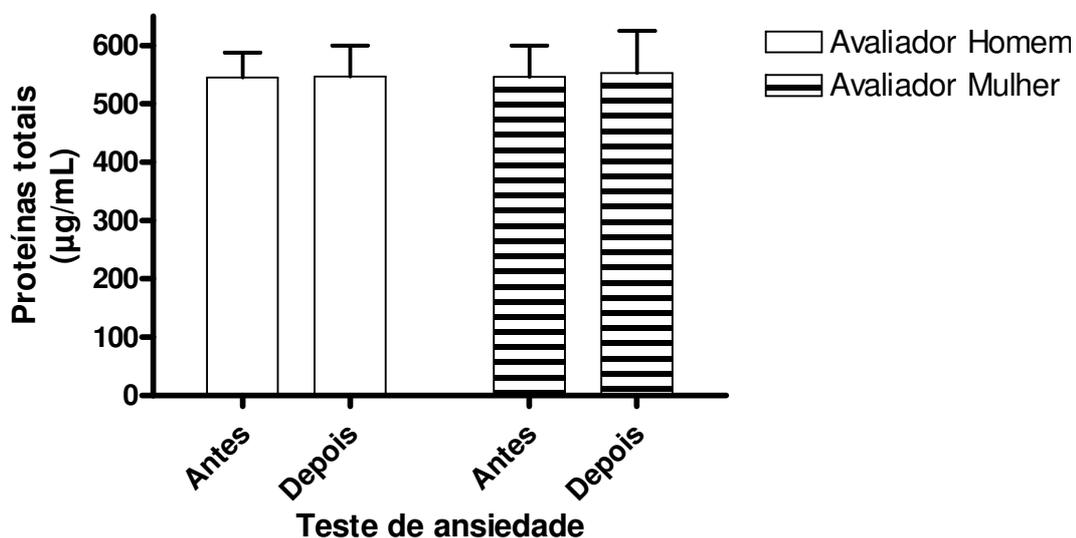


Figura 4. Concentração de proteínas totais antes e após a aplicação do Vídeo Recorded Stroop Color Word Test (VRSCWT), quando avaliados por uma pessoa do sexo masculino (barras brancas) e do sexo feminino (barras hachuradas). N= 19 homens

DISCUSSÃO

A vida consiste de um equilíbrio dinâmico, constantemente alternando estados de estresse e homeostase. Desta forma, as forças que alteram a homeostase são equilibradas por respostas adaptativas geradas pelo organismo. Os organismos multicelulares se adaptam a essas situações através de complexas alterações neurais, humorais e celulares, envolvendo múltiplos órgãos e tecidos.

O organismo humano desenvolveu um sistema complexo, constituído por componentes do sistema nervoso central, incluindo os neurônios do núcleo paraventricular hipotalâmico, que produzem o hormônio de liberação da corticotrofina, núcleos noradrenérgicos do tronco cerebral com seus componentes periféricos, o eixo hipotálamo-hipofise-adrenal e o sistema nervoso autônomo, cuja principal função é manter a homeostase no repouso e em situações de estresse.

Este sistema exerce importante influência em muitas funções vitais como a respiração, o tônus cardiovascular e o metabolismo intermediário que também são alterados por estados de estresse (Loures & Cols, 2002)

O sistema cardiovascular participa ativamente das adaptações ao estresse, estando, portanto, sujeito às influências neuro-humorais. As respostas cardiovasculares resultam principalmente em um aumento da frequência cardíaca, da contratilidade, débito cardíaco e pressão arterial (Krantz & Manuck, 1994).

A pressão arterial também é influenciada pelos mesmos fatores que fazem oscilar as demandas metabólicas. No entanto, para a manutenção da homeostasia cardiovascular, é extremamente importante que a pressão arterial seja mantida em um nível relativamente constante. Sabe-se que a manutenção do equilíbrio desta variável depende da frequência cardíaca, do volume sistólico e da resistência periférica vascular (Tumelero, 1999).

O fluxo salivar é o responsável pela saúde bucal. Existem vários fatores que podem contribuir para a alteração deste fluxo salivar, como medicamentos farmacológicos, idade avançada, doenças. Alterações no volume, densidade e viscosidade pode trazer conseqüências no ambiente bucal o que pode gerar desconforto e prejuízos ao indivíduo (Epstein 2001).

De acordo com os resultados obtidos no trabalho, o fluxo salivar só foi

afetado quando este o avaliador era do gênero oposto, Bosch et al (2003) relata que a ansiedade pode tanto diminuir como aumentar este fluxo salivar o que foi demonstrado nesse estudo.

A saliva é composta por um grande número de proteínas que participam na proteção dos tecidos orais, como lisozima, lactoferrina, imunoglobulinas, aglutininas e mucinas (Nieuw Amerongen & Veerman, 2002). Como elas apresentam um amplo espectro de ação contra diversos microorganismos, parecem apresentar considerável funcionalidade. Este conhecimento é relevante pelo fato de que a susceptibilidade a doenças orais podem não estar relacionadas à concentração de um único componente, mas à proporção de cada um deles na cavidade oral (Rudney et al., 1999).

Algumas proteínas salivares, como a imunoglobulina A secretória (IgAs) e a lactoferrina, podem ter suas concentrações alteradas em situações de hipossalivação, como aquelas induzidas por terapia de radiação de cabeça e pescoço ou mesmo em indivíduos com síndrome de Sjögren (Almståhl et al., 2001). Por serem fatores antimicrobianos, alterações nos níveis dessas proteínas também poderiam favorecer o acúmulo de microorganismos e, conseqüentemente, favorecer a produção de CSV. Porém, o efeito de alterações emocionais sobre a secreção das mesmas não está esclarecido na literatura.

Ainda em relação às proteínas salivares, o conceito de “anfifuncionalidade” (Levine, 1993; Bosch et al., 2003) foi utilizado para descrever como estas atuam para regular a saúde oral. Eles sugerem que as proteínas podem apresentar propriedades tanto danosas, favorecendo o potencial patogênico de outros organismos, quanto protetoras, contribuindo para a defesa do hospedeiro, dependendo do sítio ou local de ação da proteína. Por exemplo, a alfa-amilase, quando em solução, pode facilitar a eliminação de alguns tipos de microorganismos da cavidade oral e, por outro lado, quando adsorvida à superfície dental, facilita a aderência dessas bactérias (Levine, 1993).

Os dados referentes ao estudo sobre as concentrações de IgA, cortisol e proteínas totais demonstraram que a ansiedade experimental não induziu alteração na secreção.

Os glicocorticóides participam em todas as etapas da resposta de

estresse, e são, por isso, considerados marcadores biológicos desta resposta. A determinação da concentração salivar de cortisol é, atualmente, a técnica mais escolhida para essa determinação (Garcia, 2008). Entre os glicocorticóides, o cortisol é o mais expressivo em humanos. O papel dos glicocorticóides é relevante do começo ao fim da resposta de estresse, e ainda, indiretamente, continua após o desaparecimento do agente estressor. Segundo Sapolsky et al. (2000), os glicocorticóides permitem, estimulam e suprimem o avanço da resposta de estresse, preparando o organismo para estressores subsequentes.

Os níveis de cortisol salivar têm sido aceitos como indicadores dos níveis plasmáticos de cortisol e aparentemente são correlacionados com o nível de estresse (Kirschbaum et al., 1995). Garcia (2008) em seu trabalho, observou o estresse em alunos que estão em período pré vestibular, correlacionando-os com os níveis de cortisol salivar. Nesse estudo, foi observado que os maiores níveis de cortisol salivar ocorreram nos meses em que os alunos tinham de escolher o curso e a universidade e, no período de inscrição, porém, houve uma maior frequência de sintomas de depressão e ansiedade em novembro em relação a junho e março.

Como foi planejado no estudo as mensurações de cortisol foram realizadas em dias que não haveriam: provas, dias de Clínica da Graduação, ou seja atividades que pudessem induzir um maior nível de estresse.

Zarovic et al 2003 , observou que o estresse psicológico esta associado a uma supressão transitória do eixo hipotálamo – pituitária - adrenal , manifestando pelas baixas concentrações de cortisol ao acordar.

O estresse repetido pode provocar uma apatia do eixo HPA, enquanto que, em humanos essa adaptação não é universal, sendo dependente de traços de personalidade.(Gerra et al ., 2001)

CONCLUSÃO

Concluindo, os dados obtidos mostraram que o gênero do avaliador teve influência sobre o efeito da ansiedade experimental na pressão arterial sistólica e no fluxo salivar, porém os outros parâmetros avaliados não foram sensíveis a este efeito do estímulo ansiogênico utilizado.

REFERÊNCIAS

Allen MT, Stoney CM, Owens JF, Matthews KA. Hemodynamic adjustments to laboratory stress: the influence of gender and personality. *Psychosom Med* 55:505–517, 1993.

Almståhl A, Wikström M, Groenink J. Lactoferrin, amylase and mucin MUC5B and their relation to the oral microflora in hyposalivation of different origins. *Oral Microbiol Immunol.*; 16: 345–52, 2001

Bosch J A, de Geus E J, Veerman E C, Hoogstraten J, Nieuw Amerongen AV. Innate secretory immunity in response to laboratory stressors that evoke distinct patterns of cardiac autonomic activity. *Psychosomatic Medicine.*; 65: 245–58, 2003.

Bristow, M., Hucklebridge, F. H.; Clow, A.; Evans, P. Modulations of secretory immunoglobulin A and cardiovascular responses to an acute episode of stress and arousal. *J Psychophysiol*, v.11, p.2548-255, 1997.

Calil, C.M.; Marcondes, F.K. Influence of anxiety on the production of oral volatile sulfur compounds. *Life Sciences*, 79:660-64, 2006.

Calil, C.M. Influência do Estado de ansiedade e do ciclo menstrual sobre a produção de compostos sulfurados voláteis em indivíduos saudáveis. Piracicaba, SP, 2006, 90p. Tese de Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Odontologia – Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP)/UNICAMP, 2006.

Calil, C.M.; Lima, P.O.; Bernardes, C.F.; Groppo, F.C.; Bado, F.; Marcondes, F.K. Influence of gender and menstrual cycle on volatile sulphur compounds production. *Arch Oral Biol.*, 53(12):1107-12, 2008.

Cardoso, Carmen Lúcia; Loureiro, Sonia Regina. Problemas comportamentais e stress em crianças com ansiedade frente ao tratamento odontológico. *Estud. psicol. (Campinas)*, Campinas, v. 22, n. 1, mar. 2005 .

Cohen, S.; Tyrell, D.A.J.; Smith, A.P. Psychological stress and susceptibility to the common cold. *New Engl J Med.*, v.325, p.606-612, 1991.

Curvelo, R.A.J ; Ferreura, D.C; Carvalho, F.C.R; Janini, M.E.R .Ulceras Aftosas Recorrentes e sua possível associação ao estresse .*R. Ci. méd. biol., Salvador*, v.7, n.1, p. 67-75, jan./abr. 2008

Dal Zotto, S.; Marti, O.; Armario, A. Is repeated exposure to immobilization needed to induce adaptation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis? Influence of adrenal factors. *Behavioural Brain Research*, 129: 187-195, 2002.

Epstein, J. B; Scully, C.; Cand.- The Role of Saliva in oral health and the causes and effects of Xerostomia. *J Dent Assoc.*; 58(3): 217-221, 1992.

Evans, P.; Bristow, M.; Hucklebridge, F.H.; Clow, A. Stress, arousal, cortisol and secretory immunoglobulin A in students undergoing assessment. *Br J Clin Psychol*, v.33, p.575-576, 1994.

Fábián, T.K.; Fábián, G. Dental stress. In: FINK, G. (Ed.) *Encyclopedia of stress*. San Diego : Academic Press, v.1, p. 657-659, 2000.

Ferreira, A.B.H. *Dicionario Aurelio da Lingua Portuguesa*.4 ed. Editora Nova Fronteira, Rio de Janeiro , 2001

Garcia, M. C.; Souza, A. G., Bella, G. P., Tacla, A. P.; Grassi-Kassisse, M .D. and Spadari- Bratfisch, R. C. Salivary cortisol levels in Brazilian citizens of distinct socioeconomic and cultural levels. *Annals of the New York Academy of Science*, in press, 2008

Genco RJ, Ho AW, Kopman J, Grossi SG, Dunford RG, Tedesco LA. Models to evaluate the role of stress in periodontal disease. *Ann Periodontol*. 1998;3(1):288-302.

Gerra, G.; Zaimovic, A.; Mascetti, G.G.; Gardini, S.; Zambelli, U.; Timpano, M.; Raggi, M.A.; Brambilla, F. Neuroendocrine responses to experimentally-induced psychological stress in healthy humans. *Psychoneuroendocrinology*, 26: 91-107, 2001.

Graeff FG, Brandão ML. *Neurobiologia das doenças mentais*. 5. ed. São Paulo: Lemos Editorial; p.181, 1999.

Gregory, R.L.; Kindler, J.C.; Hobbs, L.CL; Filler, S.J.; Malmstrom, H.S. Function of anti- *Streptococcus mutans* antibodies: inhibition of virulence factors and enzyme neutralization. *Oral Microbiol Immunol.*, v.5, p.181-188, 1990.

Handa, RJ, Burgess, LH; Kerr, JE; O'keefe, JA. Gonadal steroid hormone receptors and sex differences in the hypothalamo–pituitary–adrenal axis. *Horm Behav*, 28:464–76, 1994.

Jessop, David S. and Turner-Cobb, Julie M.(2007)'Measurement and meaning of salivary cortisol: A focus on health and disease in children',*Stress*,11:1,1 — 14, 2009.

Kanegane, Kazue; Penha, Sibeles Sarti; Borsati, Maria Aparecida and Rocha, Rodney Garcia. Ansiedade ao tratamento odontológico em atendimento de urgência. *Rev. Saúde Pública*. 2003, vol.37, n.6, pp. 786-792. ISSN 0034-8910. doi: 10.1590/S0034-

Krantz DS, Manuck SB. Acute psychophysiologic reactivity and risk of cardiovascular disease: A review and methodologic critique. *Psychol Bull*; 96: 435-64,1984

Junior,C.R; Oliveira,A.C., Holzhausen, M; Rossa, O.G.E .Associação entre nível de estresse psicológico e as condições clínicas do periodonto. *Clínica e Pesquisa em Odontologia - UNITAU*, Volume 1, Número 1, p. 43-47; 2009

Levine MJ. Salivary macromolecules. A structure/function synopsis. *Ann N Y Acad Sci.*; 694: 11-16, 1993.

Loures, DL; Sant'Anna,I; Baldotto, CSR; Souza, EB; Nobrega, ACL. Estresse mental e sistema cardiovascular. *Arq. Bras. Cardiol.* vol.78 no.5 São Paulo May, 2002.

Lowe, G.; Urqhart,J.; Greemann, J. Academic stress and secretory immunoglobulin A. *Psychol Rep.*, v.87, p. 721-722, 2000.

Maffei, E.F.Ambiente de Professores Universitários: um estudo exploratório. Dissertação de Mestrado apresentada no Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo.(1992)

Mccartan B.E., Lamey P-J, Wallace A.M. Salivary cortisol and anxiety in recurrent aphthous stomatitis. *J Oral Pathol Med* v.25, p.357-359, 1996.

Miller C.S., Dembo J.B., Falace D.A., Kaplan A.L.,. Salivary cortisol response to dental treatment of varying stress. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* v.79, n.4, p.436- 41, 1995.

Nieuw Amerongen, A.V.; Veerman, E.C.I. Saliva – the defender of the oral cavity. *Oral Dis.*; 29: 1051-1058, 2002

Rohrmann, S.; Hennig, J.; Netter,P. Trait anxiety: possible consequences forhealth. *German J. Psychiatr.*, Goettingen, v.3,p.19-23, 2000

Rudney JD. Does variability in salivary protein concentrations influence oral microbial ecology and oral healthy? *Crit Rev Oral Biol Med.*; 6(4): 343-367, 1995.

in university students. *A Cross National Study*; 33(5), 464-481, 2002.

Sapolsky, R. M.; Romero, L. M.; Munck, A. U. How do glucocorticoids influence stress response Integrating permissive, supressive, stimulatory and preparative actions. *Endocr. Rev.*, 21, (1) 55-89, 2000.

Seyle, H. A syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature*, London, v.138, n.1, p.32, 1936.

Singh, K. A.; Moraes, A. B. A. de; Bovi Ambrosano, G. M. Medo, ansiedade e controle relacionados ao tratamento odontológico. *Pesq Odont Bras*, v. 14, n. 2, p. 131-136, abr./jun. 2000.

Soo-Quee Koh, D.; Choon-Huat Koh, G. The use of salivary biomarkers in occupational and environmental medicine. *Occup Environ Med*, v.64, p.200-210, 2007.

Spielberger, C.D. (1972). *Anxiety: cursive trends in theory and research*. New York: Academic Press. (2), 24-49.

Spielberger, C.D; Sarason, I.E. (1975). *Stress and Anxiety*. Washington: Hemisphere. (5), 116- 43.

Spielberger, C.D.; Gorsuch, R.L.; Lushene, R.E. (1979). *Idate:Inventário de ansiedade traçoestado*. Rio de Janeiro: Cepa.

Totman, R.; Kiff, J.; Reed, S.E.; Craig, J.W. Predicting experimental colds in volunteers from different measures of recent life stress. *J Psychosomat Res.*,

Tumelero, S.; Gallo JR. L. *Estudo do Comportamento da Freqüência Cardíaca e da Pressão Arterial Sistêmica em Diferentes Inclinações do Decúbito Dorsal em Indivíduos Normais*. Dissertação Mestrado, Campinas, 1999.

Yu Shan-Fa, Jiang Kai-you, Zhou Wen-hui ,Wang Sheng. Relationship between occupational stress and salivary sIgA and lysozyme in assembly line workers. *Chinese Medical Journal*, 121(17):1741-1743, 2008.

Willemens, G.; Ring, C.; Evans, P.; Clow, A., Huckelbridge, F.; Caroll, D. Secretory immunoglobulin A and cardiovascular reactions to mental arithmetic and cold pressor. *Psychophysiol.*, v.35, p.252-259, 1998.



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



CERTIFICADO

O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa "**Estudo da relação entre alterações emocionais e produção de compostos sulfurados voláteis**", protocolo nº 108/2007, dos pesquisadores Fernanda Klein Marcondes, Caroline Morini Calli, Eduardo Haruki Ozera, Patricia Oliveira de Lima e Pedro Henrique Moreira Paulo Tolentino, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 15/03/2010.

The Ethics Committee in Research of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that the project "**A study about the relation between emotional changes and the production of volatile sulfur compounds**", register number 108/2007, of Fernanda Klein Marcondes, Caroline Morini Calli, Eduardo Haruki Ozera, Patricia Oliveira de Lima and Pedro Henrique Moreira Paulo Tolentino, comply with the recommendations of the National Health Council - Ministry of Health of Brazil for research in human subjects and therefore was approved by this committee at 03/15/2010.

Prof. Dr. Pablo Agustín Vargas
Secretário
CEP/FOP/UNICAMP

Prof. Dr. Jacks Jorge Junior
Coordenador
CEP/FOP/UNICAMP

Nota: O título do protocolo aparece como fornecido pelos pesquisadores, sem qualquer edição.
Notice: The title of the project appears as provided by the authors, without editing.

ANEXO 2 – Parecer sobre o relatório final da bolsa de Iniciação Científica

PROGRAMA DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA – QUOTA INSTITUCIONAL UNICAMP

(quota de agosto de 2008 a julho de 2009)

PARECER SOBRE RELATÓRIO FINAL DE ATIVIDADES

Bolsista: EDUARDO HARUKI OZERA - RA 73009

Orientador(a): Prof.(a) Dr.(a) FERNANDA KLEIN MARCONDES

Projeto: Efeito da ansiedade experimental sobre as concentrações salivares de imunoglobulina A e cortisol

PARECER

O bolsista mostra, em seu relatório, ter sido dedicado em todas as fases do estudo. As informações são descritas de forma clara e os resultados são bastante interessantes. Por ter atingido todos os objetivos propostos, considero o relatório final suficiente para aprovação.

Conclusão do Parecer:

APROVAR (Sim)
REFORMULAR (Não)
REJEITAR (Não)