

HELENA REGINA TORNELLI

**Análise da variabilidade da frequência cardíaca (VFC), cortisol e alfa-amilase
em cirurgias de exodontia de terceiros molares inferiores**

São Paulo

2019

HELENA REGINA TORNELLI

**Análise da variabilidade da frequência cardíaca (VFC), cortisol e alfa-amilase
em cirurgias de exodontia de terceiros molares inferiores**

Versão Corrigida

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obter o título de Doutor, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas.

Área de Concentração: Clínica Integrada

Orientador: Prof. Dr. Rodney Garcia Rocha

São Paulo

2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo-na-Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Tornelli, Helena Regina.

Análise da variabilidade da frequência cardíaca (VFC), cortisol e alfa-amilase em cirurgias de exodontia de terceiros molares inferiores / Helena Regina Tornelli; orientador Rodney Garcia Rocha -- São Paulo, 2019.

134 p. : tab., fig. ; 30 cm.

Tese (Doutorado) -- Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas.
Área de Concentração: Clínica Integrada. -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

Versão corrigida

1. Ansiedade ao tratamento odontológico. 2. Marcadores não invasivos de estresse. 3. Cortisol. 4. Alfa-amilase. 5. Variabilidade da frequência cardíaca. 6. Terceiro molar. I. Rocha, Rodney Garcia. II. Título.

Tornelli HR. Análise da variabilidade da frequência cardíaca (VFC), cortisol e alfa-amilase em cirurgias de exodontia de terceiros molares inferiores Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor/ em Ciências Odontológicas.

Aprovado em: 11 /12/ 2019

Banca Examinadora

Prof(a). Dr. Gustavo Faibischew Prado

Instituição: FMUSP

Julgamento: Aprovada

Prof(a). Dr(a).Maria Aparecida Borsatti

Instituição: FOU SP

Julgamento: Aprovada

Prof(a). Dr(a). Kazue Kanegane

Instituição: SESC

Julgamento: Aprovada

Dedico este trabalho primeiramente aos meus pais, **José e Celeste** "*in memoriam*", responsáveis pela minha formação moral e intelectual, doando sempre exemplos de amor, perseverança e humildade, e que estariam muito orgulhosos, ao meu lado, compartilhando este momento.

Aos meus filhos, **Raphael, Matheus e Victoria** pelo companheirismo, amor, paciência e compreensão nos momentos de minha ausência. Eles sempre estiveram, e sempre estarão ao meu lado e dentro do meu coração.

E ao meu irmão **Maurício** por me assistir, apoiar e incentivar sempre, principalmente nos momentos de maior desânimo.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida e o privilégio de permitir a minha realização profissional com muita dedicação e alegria.

Ao Prof. Dr. Rodney Garcia Rocha, meu orientador, grande mestre e líder, pela oportunidade e incentivo proporcionando meu crescimento profissional e pessoal.

À Profa Dra Sibebe Sarti Penha, minha querida coorientadora. Mamis obrigada pela amizade e por ter acreditado desde o início na minha capacidade e escolha.

Aos professores da disciplina de Clínica Integrada, Carina Domaneschi, Carlos Alberto Adde, Flávio Eduardo Guillin Perez *"in memoriam"*, Inês Aparecida Buscariolo, Isabel de Freitas Peixoto, José Leonardo Simone, Marcelo Munhões Romano, Maria Aparecida Borsatti e Waldyr Antonio Jorge por estarem sempre preocupados em passar seus ensinamentos a todos nós.

Às Profas, Luciana Mazzilli, Maristela Pereira, Rosane Ogata amigas desde a especialização! Sempre me encorajaram e acreditaram na minha escolha, substituindo-me muitas vezes para que eu pudesse dar continuidade a este trabalho. Sou muito grata a vocês.

Aos amigos que conquistei e que me conquistaram, Kazue Kanegane, e Thiago Pallin Gomes, sou grata pela amizade e constante incentivo. Vocês sempre me auxiliaram com muita alegria e disposição. Não foram poucas vezes, obrigada.

À Renata Martins da Silva Prado, querida Rê, sem palavras para agradecer. Você sabe o quanto é importante para mim! Minha querida irmã por escolha. Agradeço também muito a você Gustavo Faibischew Prado, "Gú", você é demais!

Às secretarias e técnicas da Disciplina de Clínica Integrada e do Departamento de Estomatologia, Regina Maria da Conceição Santos, Maria Cecília Forte Muniz,

Iracema Mascarenhas Pires e Marília Camargo Gomes, pelos preciosos auxílios sempre com alegria.

A todos os pacientes que aceitaram participar desta pesquisa, com paciência e confiança.

À bibliotecária da Universidade de São Paulo Glauci Elaine Damasio Fidelis pela generosa ajuda na revisão desta tese.

Aos funcionários da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

A CAPES pelo fomento à pesquisa. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram de alguma maneira no transcorrer deste.

A vida é melhor para aqueles que fazem o possível para ter o melhor

John Wicoden

RESUMO

Tornelli HR. Análise da variabilidade da frequência cardíaca (VFC), cortisol e alfa amilase em cirurgias de exodontia de terceiros molares inferiores [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2019. Versão Corrigida.

Este estudo objetivou avaliar as possíveis associações com parâmetros objetivos, como cortisol e alfa-amilase salivares e a Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC) na eminência de procedimentos odontológicos. A amostra foi constituída de 30 pacientes com indicação para exodontia de terceiros molares inferiores erupcionados, caracterizada quanto ao gênero, idade, escolaridade, renda familiar, evento traumático prévio, intensidade de dor e ansiedade ao tratamento odontológico. Para avaliação do cortisol e da alfa-amilase foram utilizados kits de coleta salivar e dados da VFC, obtidos após processamento dos intervalos RR, registrados com o frequencímetro portátil Polar RS800, em três momentos: entrevista, cirurgia e pós-operatório. Foram analisadas as variáveis do domínio tempo (SDNN e rMSSD) e frequência (razão LF/HF). Nesta amostra de voluntários saudáveis, a ansiedade ao tratamento odontológico e o antecedente de experiências traumáticas não se mostraram correlacionados à maior intensidade de dor pós-operatória. Apenas três pacientes foram classificados como ansiosos e quatro relataram algum evento prévio. Estes pacientes foram reunidos em um grupo. Não houve diferença significativa entre este grupo e os não ansiosos em relação às categorias sócio demográficas e dor pós-operatória. Não houve correlação estatisticamente significativa entre as concentrações de alfa-amilase e cortisol com os valores das variáveis de VFC, nos três dias estudados. As variáveis estudadas também não expressaram alteração evolutiva com significância estatística. O estudo de marcadores não invasivos de estresse vem ganhando importância na detecção precoce das respostas autonômicas frente a situações potencialmente estressoras, como cirurgias odontológicas.

Palavras-Chave: Ansiedade ao tratamento odontológico, Marcadores não-invasivos de estresse, Cortisol, Alfa-amilase, Variabilidade da frequência cardíaca, Terceiro molar.

ABSTRACT

Tornelli HR. Analysis of heart rate variability (HRV), salivary cortisol and alpha-amylase in surgeries removal of lower third molar [thesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2019. Versão Corrigida.

This study aimed to evaluate possible associations with objective parameters such as salivary cortisol and alpha-amylase and heart rate variability (HRV) in the eminence of dental procedures. The sample consisted of 30 patients with indication for surgery of erupted inferior third molar, characterized by gender, age, educational level, family income, traumatic previous event, pain intensity and dental anxiety. For evaluation of cortisol alpha-amylase we used saliva extracting kits and data from the HRV, obtained after the processing of the RR intervals that were registered using a portable frequency meter Polar RS800 in three different moments: interview, surgery and post-surgery. Time (SDNN e rMSDD) and frequency (the LF/HF ratio) domain variables were analyzed. In this sample of healthy volunteers, the dental anxiety and previous traumatic experiences were shown not to be related to the higher pain intensity after the surgery. Only three patients were classified as anxious and four of them reported some previous event. These patients were gathered in a group. There was no significant difference between this group and the one classified as no dental anxiety in relation to the social-demographic and post-surgery pain categories. There were no statistical correlations between the levels of cortisol and alpha-amylase and the HRV parameters in the three days of study. The studied variables also do not express evolutionary change with statistic significance. The study of noninvasive stress markers has been gaining importance in the early detection of autonomous responses related to potentially stressful situations, such as dental surgeries.

Keywords: Dental anxiety, Non-invasive stress markers, Cortisol, Alpha-amylase, Heart rate Variability, Third molar.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 2.1 - Ativação do Sistema Estressor	37
Figura 4.1 - Classificação de Pell e Gregory (1933).....	59
Figura 4.2 - Salivette® (Sarstedt Inc)	61
Figura 4.3 - Frequencímetro Polar RS800cx (Polar ElectroÖy, Kemple, Finland).....	63
Figura 5.1 - Histograma de distribuição de idade dos voluntários, conforme frequência	68
Figura 5.2 - Histograma de distribuição da escolaridade dos voluntários, conforme frequência das faixas	68
Figura 5.3 - Histograma de distribuição de faixas de renda familiar dos voluntários, conforme frequência.....	69
Figura 5.4 - Prevalência de ansiedade e antecedente de experiência traumática no consultório odontológico, diagrama de Venn	69
Figura 5.5 - Correlação entre as variáveis α -amilase e cortisol ao longo das medidas realizadas nos três dias do protocolo (A: Entrevista, B: Cirurgia e C: Pós-operatório), Teste de Pearson	72
Figura 5.6 - Concentrações de α -amilase (U/ml) ao longo dos três dias de coleta .	72
Figura 5.7 - Concentrações de cortisol (μ g/dL) ao longo dos três dias de coleta.....	73
Figura 5.8 - Valores de SDNN, medidas repetidas. Teste para diferenças por ANOVA.....	76
Figura 5.9 - Valores de rMSSD, medidas repetidas. Teste para diferenças por ANOVA.....	77

Figura 5.10 - Valores de LF/HF, medidas repetidas. Teste para diferenças por ANOVA 77

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1-	Características demográficas, antropométricas e clínicas da população estudada (n=30)	67
Tabela 5.2-	Escala MDAS de ansiedade e Escala EVA de dor no pós-operatório, conforme o gênero	70
Tabela 5.3-	Escala EVA de dor, conforme antecedentes de experiência traumática e/ou ansiedade em ambiente odontológico	70
Tabela 5.4-	Correlação entre as variáveis demográficas e antropométricas e escalas de dor e ansiedade, teste de Spearman	71
Tabela 5.5-	Correlação entre as variáveis α -amilase, cortisol, SDNN, rMSSD, LF/HF e “Trauma e Ansiedade”, entrevista	74
Tabela 5.6-	Correlação entre as variáveis α -amilase, cortisol, SDNN, rMSSD, LF/HF e “Trauma e Ansiedade”, cirurgia	75
Tabela 5.7-	Correlação entre as variáveis α -amilase, cortisol, SDNN, rMSSD, LF/HF e “Trauma e Ansiedade”, pós-operatório.....	75
Tabela 5.8-	Valores basais de cortisol, de α -amilase e de variabilidade da frequência cardíaca dos voluntários, conforme idade	78
Tabela 5.9-	Valores basais de cortisol, de α -amilase e de variabilidade da frequência cardíaca dos voluntários, conforme gênero.....	79
Tabela 5.10-	Valores basais de cortisol, de α -amilase e de variabilidade da frequência cardíaca dos voluntários, conforme exposição à população tabágica ambiental (PTA) domiciliar.....	81

Tabela 5.11- Características basais de variabilidade de frequência cardíaca dos voluntários, conforme antecedente de experiência traumática e/ou ansiedade

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
AG	Anestesia geral
AL	Anestesia local
ANOVA	Análise de variância
ASA	American society of anesthesiologist
CRH	Hormônio liberador de corticotrofina
COR	Cortisol
cm	Centímetro
DAS	Dental anxiety scale
DFL	Dent Fide Lityn
DP	Desvio padrão
DSM	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
Ecorr	Potencial de corrosão
ECG	Eletrocardiograma
EVA	Escala visual analógica
FOUSP	Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo
HAD	Escala de depressão e ansiedade hospitalar
HF	High-frequency- alta frequência
HIV	Virus da imunodeficiência humana
HHA	Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal
HRV	Heart rate variability
IASP	International Association for the Study of Pain
IMC	Índice de massa corporal
Inc	Incorporation
IQ	Intervalo Interquartil
LF	Low-frequency- baixa frequência
LLC	Limited liability company
Ltda	Sociedade limitada
MDAS	Modified Dental Anxiety Scale
MIBG	Meta-iodobenzilguanidina
min	Minuto

ml	Mililitro
mm	Milímetro
NE	Norepinefrina
nm	Nanômetro
NN	Intervalos normais – batimento a batimento
PA	Pressão arterial
PAD	Pressão arterial diastólica
PAS	Pressão arterial sistólica
PAM	Pressão arterial média
PPT-5	Polar ProTrainer 5
pNN50	% de NN consecutivos com diferença superior a 50 milissegundos
rMSSD	Root means square of the successive differences
RR	Intervalos NN
RS800cx	Polar Electro Oy, Kempele, Finland
SDNN	Standard deviation of NN intervals
SAM	Simpático-adreno-medular
SNA	Sistema nervoso autônomo
SNAP	Sistema nervoso autônomo parassimpático
SNAS	Sistema nervoso autônomo simpático
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TPA	Tabagismo passivo ambiental
U/mL	Unidade por mililitro
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
USA	United States of America
VFC	Variabilidade da frequência cardíaca
µg/dL	Micrograma por decilitro

LISTA DE SÍMBOLOS

A	alfa
%	porcento
IX	Nôno
VII	Sétimo
°	graus
:	para
C	Celsius
-	menos
N ₂ O	óxido nitroso
>	Maior que
h	hora
®	marca registrada
<	Menor que
p	nível de significância
R\$	Real
#	hashtags
n	número de pessoas – tamanho da amostra
r	números reais
≤	menor ou igual a
≥	maior ou igual a
±	mais ou menos
=	igual
+	mais

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	25
2	REVISÃO DE LITERATURA	29
2.1	ANSIEDADE AO TRATAMENTO ODONTOLÓGICO	29
2.1.1	Escala de ansiedade e experiências traumáticas prévias	31
2.1.2	Prevalência	32
2.2	SISTEMA ENDÓCRINO	36
2.2.1	Cortisol	37
2.2.2	Alfa-amilase	43
2.3	COLETA DE SALIVA.....	46
2.4	RESPOSTAS CARDIOVASCULARES DURANTE PROCEDIMENTOS ODONTOLÓGICOS	48
2.5	SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO E VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA.....	49
2.5.1	Variabilidade da frequência cardíaca e odontologia	52
3	PROPOSIÇÃO	57
4	CASUÍSTICA, MATERIAL E MÉTODOS	59
4.1	CASUÍSTICA.....	59
4.2	MÉTODOS	60
4.2.1	Entrevista	60
4.2.1.1	<i>Coleta das amostras de saliva</i>	61
4.2.1.2	<i>Dosagem do cortisol salivar</i>	62
4.2.1.3	<i>Dosagem da α-amilase salivar</i>	63
4.2.1.4	<i>Avaliação cardiovascular</i>	63
4.2.1.5	<i>Avaliação analógica de dor</i>	64
4.2.2	Cirurgia	65
4.2.3	Pós-Operatório	65
4.2.4	Métodos estatísticos	66
5	RESULTADOS	67
5.1	CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO ESTUDADA.....	67
5.2	AVALIAÇÃO DO CORTISOL E ALFA- AMILASE SALIVAR	73

5.3	AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO EVOLUTIVO DA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA.....	77
5.4	ANÁLISE <i>POST-HOC</i> DE SUBGRUPOS NAS CONDIÇÕES BASAIS DE VFC, CONFORME VARIÁVEIS DE CONTRASTE IDADE, SEXO EXPOSIÇÃO DOMICILIAR `A POLUIÇÃO TABÁGICA AMBIENTAL (PTA) E ANSIEDADE E/OU ANTECEDENTES DE EVENTO TRAUMÁTICO.....	79
6	DISCUSSÃO.....	85
7	CONCLUSÕES.....	93
	REFERÊNCIAS.....	93
	APÊNDICES.....	113
	ANEXOS.....	131

1 INTRODUÇÃO

A observação do componente emocional nos pacientes submetidos ao tratamento odontológico desponta como um diferencial no atendimento clínico. Para que seja possível realizar um bom atendimento, é importante ter conhecimento a respeito da ansiedade e do medo que o paciente pode apresentar em relação aos procedimentos em odontologia. Este fato pode afetar não somente a relação paciente/profissional, como também a execução dos procedimentos a serem realizados. É frequente encontrar nos pacientes receios e preocupações, muitos dos quais irrealis, sobre possíveis intercorrências durante a realização de exodontias. Estas podem gerar ansiedade e estresse, tornando difícil a determinação de eventual risco.

A ansiedade e o medo são emoções frequentemente relacionadas; o que diferencia essas duas emoções é que o medo mobiliza o organismo para reagir, enquanto a ansiedade leva a um aumento na receptividade sensorial (Rhudy; Meagher, 2000).

As reações individuais ao estresse podem ser avaliadas por respostas comportamentais, cognitivas, motoras e fisiológicas, entre as quais alterações dinâmicas da modulação autonômica da frequência cardíaca, aumento na concentração de cortisol e alfa-amilase (α -amilase) salivares (parâmetros objetivos), e utilização de escalas de ansiedade (parâmetros subjetivos).

Parâmetros hemodinâmicos como a pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e a frequência cardíaca (FC) são frequentemente utilizados como marcadores fisiológicos dos efeitos do aumento da atividade do sistema nervoso autônomo simpático (SNAS) durante o estresse. A reação cardiovascular a situações de estresse é influenciada pela redução do tônus parassimpático vagal e pela ativação dos receptores adrenérgicos alfa e beta, resultando num aumento do cronotropismo, inotropismo e resistência vascular periférica. O resultado final é um aumento da PAS, PAD e FC. Tais reações são individuais, e variam de indivíduo para indivíduo.

A relevância clínica da variabilidade da frequência cardíaca – VFC – foi observada pela primeira vez em 1965 por Lee e Hon. Alguns anos depois, outros pesquisadores voltaram sua atenção para a existência de ritmos fisiológicos embutidos no sinal batimento-a-batimento da frequência cardíaca (Sayers, 1973;

Luczak; Luring, 1973; Hirsh; Bishop, 1981). Observou-se que baixos valores de VFC indicam atividade simpática elevada, diminuição do tônus parassimpático e aumento no risco de arritmias malignas, particularmente em pacientes com doenças cardíacas (Casolo et al., 1992, La Rovere et al., 2001). Assim, a VFC tem sido reconhecida como estratificador do risco de instabilidade hemodinâmica, que é fortemente afetada por situações de estresse, como consultas e tratamentos odontológicos e sugerem que ela seria um marcador sensível da atividade autonômica nessas situações (Matsumura et al., 1998; Nakamura et al., 2001; Montebugnoli et al., 2004).

As respostas fisiológicas causadas por fatores emocionais ou dor em situações de estresse agudo preparam o corpo para um estado de alerta e, como consequência dessa ativação, pode ocorrer aumento da concentração de cortisol e da enzima de α -amilase na saliva (Nater; Rohleder, 2009).

O cortisol é um glicocorticóide secretado pelo córtex da glândula adrenal, circula no sangue e se difunde na saliva. Ele regula o metabolismo dos carboidratos, proteínas, gorduras e água, mantém a reatividade vascular, afeta a sensibilidade do sistema nervoso, regula o número de células sanguíneas e afeta a resposta ao estresse, por isto o cortisol também é chamado de hormônio do estresse, e apresenta um ritmo circadiano bem definido, com níveis máximos ao despertar e mínimos no começo da noite, como parte da resposta aguda ao estresse do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (Kudielka; Kirschbaum, 2003).

A VFC também segue um padrão circadiano, com níveis máximos de dia, comparados aos noturnos. Estudos tem traçado correlações entre esses marcadores que respondem ao estresse e ao ciclo circadiano (Boudreau et al., 2011).

Assim como o cortisol, estudos recentes têm enfatizado a enzima α -amilase salivar como um marcador não invasivo de estresse, induzido por atividade do sistema nervoso autônomo (SNA) (Chatterton et al., 1996; Gordis et al., 2006; Nater et al., 2007).

Diferentemente do cortisol salivar, hormônio que se origina em uma glândula endócrina, a α -amilase é uma enzima produzida por células acinares epiteliais altamente diferenciadas das glândulas salivares e sua principal função é a digestão de carboidratos (Baum, 1993).

Takai et al., (2004) afirmam que os níveis de α -amilase salivar sofrem um aumento mais significativo e reagem de maneira mais rápida que o cortisol em

relação a um agente estressor de caráter psicológico. Baseado no conhecimento sobre o papel do estresse e os mecanismos fisiológicos envolvidos na secreção da α -amilase salivar, pode-se concluir que sua concentração pode servir como um marcador para a alteração patológica do sistema nervoso autônomo (SNA), em condições clínicas e subclínicas específicas, assim como a VFC, e pode ser medida de forma não invasiva (Kobayashi et al., 2012).

Alterações dinâmicas do equilíbrio do SNA muitas vezes imperceptíveis em exames convencionais poderiam ser então flagradas com a avaliação da VFC, do cortisol e da α -amilase salivar, métodos que pretendemos estudar e, possivelmente incluir na rotina dos estudos de segurança de procedimentos e drogas já em curso e em planejamento.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ANSIEDADE AO TRATAMENTO ODONTOLÓGICO:

A ansiedade odontológica é um fenômeno muito comum e permanece um obstáculo para diversos pacientes em busca de atendimento odontológico adequado, apesar de todos os avanços tecnológicos em odontologia. Múltiplas etiologias foram propostas no passado. Thomson et al. (2009) sugeriram que, embora fatores endógenos (traços de personalidade) desempenhem um papel em seu desenvolvimento, a ansiedade evolui principalmente a partir de fatores exógenos (condicionantes). Van Wijk e Hoogstraten (2005) demonstraram que uma única experiência traumática precoce pode ser a principal causa de ansiedade odontológica. Oosterink et al. (2008) revelaram que uma experiência traumática prévia pode envolver dor, observações negativas do dentista e fortes respostas emocionais negativas. Como consequência, essas variáveis atuam como preditores de consultas canceladas/perdidas, diminuição do limiar de dor com aumento do desconforto do paciente, baixa complacência, aumento do número de consultas de emergência, comprometimento da relação paciente/dentista, má percepção da saúde bucal, diminuição da autoestima e diminuição da qualidade de vida relacionada à saúde bucal (Locker et al., 1996; Ng; Leung, 2008; Oosterink et al., 2009; Crofts-Barnes et al., 2010).

O termo “ansiedade ao tratamento odontológico” cobre uma gama de emoções que vão desde um sentimento de apreensão à extrema ansiedade ou fobia odontológica (DSM V - American Psychiatric Association, 2013), que pode levar inclusive ao abandono de tratamentos necessários. Apesar de vários procedimentos no consultório odontológico serem capazes de levar o paciente ao medo, a ansiedade relatada ao uso da injeção para anestesia, certamente é um dos de maior resposta psicológica. A fobia ligada à injúria pela injeção anestésica pode levar o indivíduo a evitar tratamentos até que seus problemas sejam inadiáveis e, por vezes, mais traumáticos (Malamed, 2003; Malamed, 2013).

A ansiedade ao atendimento odontológico pode ser aferida através de parâmetros subjetivos - com a utilização de escalas de ansiedade - e objetivos,

através da avaliação de alterações fisiológicas (pressão arterial- PA, frequência cardíaca-FC, variabilidade da frequência cardíaca-VFC), mensurações biológicas, como o nível de cortisol salivar (King; Hegadoren, 2002), assim como, mais recentemente, a enzima α -amilase salivar (Chatterton et al., 1996; Rohleder et al., 2004; Granger et al., 2007; Nater et al., 2007).

A percepção do perigo é individual caracterizada pelo medo – que é uma reação imediata a uma ameaça presente - e pela ansiedade – referida como uma emoção existencial ligada à incerteza se algo vai dar certo ou não. A ansiedade e o medo são emoções frequentemente relacionadas; o que diferencia essas duas emoções é que o medo mobiliza o organismo para reagir, enquanto a ansiedade leva a um aumento na receptividade sensorial (Rhudy; Meagher, 2000), relacionando-a a elementos cognitivos (Carrilo-Diaz et al., 2012).

A ansiedade também pode ser definida como uma resposta de estresse (emoção) a uma situação mal definida ou antecipada, capaz de desencadear reações orgânicas, geradas pela expectativa de um evento desagradável, como uma simples visita ao consultório odontológico, preparando o indivíduo para a manutenção e preservação de seu meio e vida. Essa incerteza possui grande influência na vida, mas muitas vezes interfere em nossos esforços construtivos (Lazarus, 1999).

O medo é comum no tratamento odontológico e pode ser definido como uma resposta emocional a um indício de perigo imediato. Trata-se de uma reação instantânea a uma ameaça presente, caracterizada pelo ímpeto de fugir, e resulta em uma ativação do SNAS (Rhudy; Meagher, 2000).

Os sintomas mais comuns são taquicardia, palpitações, precordialgia ou pontadas no peito, tremores das mãos, sudorese, fraquezas, tonturas, náuseas, diarreias, endurecimento das extremidades, dormência ao redor da boca e nos dedos das mãos e dos pés (Pereira et al., 1995). No entanto, quando presente em níveis elevados, compromete o desempenho da pessoa, fazendo com que esta apresente comportamento inadequado para a situação vivenciada, caracterizando um quadro patológico (Bernik; Corregiari, 2002; Bernik et al., 2002).

Segundo Corah (1969), a ansiedade ao tratamento odontológico é mais específica que a ansiedade geral, sendo uma resposta do indivíduo ao estresse típico da situação. Cohen et al. (2000), relataram que o medo do desconhecido ou a

incerteza a respeito do tratamento, com ênfase na expectativa de dor, são fatores que contribuem para a etiologia da ansiedade ao tratamento odontológico. Indivíduos com ansiedade ao tratamento odontológico são mais propensos a ter uma condição de saúde bucal ruim, em comparação com indivíduos que são menos ansiosos. Pessoas com fobia ao tratamento odontológico estariam assim, presas a um ciclo vicioso, onde o medo e a dor podem impedir uma boa higienização oral e tratamento adequado (Berggren; Meynert, 1984). Cohen et al. (2000) relataram ainda que a ansiedade ao tratamento odontológico teve um impacto positivo nos hábitos de higiene oral, prevenindo doenças dentárias.

No Brasil, Cesar et al. (1999) concluíram que, entre os motivos citados para não ir ao cirurgião-dentista nos últimos doze meses numa pesquisa domiciliar, 56% não vão porque acham que não precisam, 14% porque não têm condições financeiras e 3,2% declararam que não o fazem por medo.

As experiências aversivas não se originam apenas de situações dolorosas, mas também podem ocorrer da interação social entre paciente e profissional. Maggrias e Locker (2002) concluíram que estas experiências interpessoais são mais importantes que a dor no desenvolvimento de ansiedade ao tratamento dentário.

2.1.1 Escala de Ansiedade e Experiências Traumáticas Prévias:

Vários autores sugerem que pacientes com medo frente ao tratamento odontológico frequentemente referem experiências traumáticas prévias no consultório odontológico, como origem da ansiedade relacionada ao tratamento (De Jongh et al., 1995; Milgrom et al., 1995; Locker et al., 1996; Poulton et al., 2001).

Em 1969, Corah desenvolveu a *Dental Anxiety Scale* (DAS). A DAS é uma escala de fácil e rápido preenchimento, relacionada a como o paciente pensa e acredita sentir o procedimento, porém, nem sempre reflete o comportamento do paciente no consultório, uma vez que as reações de ansiedade e medo são incontrolláveis. Apesar de existirem outros métodos para se medir a ansiedade, essas alternativas tendem a ser longas, não sendo muito convenientes para uma situação clínica.

Desde sua validação, a DAS foi utilizada em diversos trabalhos, e traduzida para o português por Pereira et al. (1995). Alterações na escala de Corah (1969) foram feitas por Humphris et al. (1995), que acrescentaram uma pergunta sobre anestesia e padronizaram as respostas, passando então a ser chamada de “Modified Dental Anxiety Scale (MDAS)”. Em 2003, Kanegane et al. validaram a escala MDAS em português, através de um estudo realizado em um grupo de pacientes de atendimento de urgência no Brasil.

Assim, com a utilização de técnicas para diferenciar pacientes ansiosos, o cirurgião-dentista poderia se prevenir e tomar providências para diminuir esta ansiedade durante o atendimento odontológico (Corah et al., 1978). Os autores concluíram também, que quanto ao sexo, as mulheres são mais ansiosas do que os homens.

Em relação ao efeito de uma experiência traumática prévia sobre a ansiedade ao tratamento odontológico, Agdal et al. (2010) mostraram que pacientes ansiosos podem ter lembranças desagradáveis de tratamentos odontológicos anteriores, semelhantes a pacientes com transtorno de estresse pós-traumático.

Thomson et al. (2000) classificaram os pacientes ansiosos ao tratamento odontológico em dois grupos; o endógeno, indivíduos vulneráveis a desenvolver algum distúrbio de ansiedade e o exógeno, indivíduos que tiveram alguma experiência condicionante. Segundo Eli et al. (2004), esta experiência condicionante poderia ser adquirida tanto por modelos dos pais, amigos ou parentes, como por vivência própria.

Desta maneira, é possível aceitar que procedimentos odontológicos, como as cirurgias orais, provocam níveis bastante altos de ansiedade, apesar de serem procedimentos que comumente não ameaçam a vida, mas podem tornar essas experiências estressantes (Jöhren et al., 2000).

Segundo Rhudy e Meagher (2000), a maioria dos indivíduos que antecipam um acontecimento imprevisível poderia experimentar uma dor maior do que aqueles que já foram expostos ao evento.

2.1.2 Prevalência

Estudos em diversos países avaliaram a presença de ansiedade ao tratamento odontológico.

Apesar dos avanços no tratamento odontológico e controle da dor em todo o mundo, dados sobre a prevalência de ansiedade frente ao atendimento odontológico ainda estão na proporção de 10 a 15% (Skaret et al., 1998; Chanpong et al., 2005; Carrilo-Diaz et al., 2012) permanecendo como um obstáculo significativo a uma parte consistente da população, ocasionando evasão de cuidados dentários (Cohen et al., 2000; Sharif, 2010).

Klingberg e Broberg (2007) ao analisarem a literatura publicada entre 1982 a 2006 estimaram a prevalência de ansiedade a fatores odontológicos no mundo, em 9%. Estudos realizados na Suécia (Hakeberg et al., 1992), nos Estados Unidos da América (Ronis, 1994) e na Dinamarca e Espanha (Carrilo-Diaz et al., 2012), demonstraram prevalência de 6,7%, 10%, 10,2% e 12% da população, respectivamente. No mundo em desenvolvimento, há pouca literatura sobre o assunto.

Grande parte da população dos Estados Unidos da América (80%) apresentou alguma ansiedade ao tratamento odontológico e 5 a 14% apresentam grau elevado de ansiedade, conforme descrito pelos autores Wong e Lytle (1991). Os autores relataram ainda que diferentes procedimentos proporcionam respostas distintas, acarretando graus variáveis de ansiedade, além das respostas individuais. Foram classificados como de alto nível de ansiedade os tratamentos endodônticos e as cirurgias orais; como nível moderado, as restaurações e os procedimentos para a confecção de próteses; e baixo nível de ansiedade, as profilaxias e os exames clínicos iniciais. Fatores como desconhecimento do tratamento, experiências prévias negativas, experiências dentárias traumáticas, mau comportamento profissional, procedimentos que envolvam o uso de anestesia local (AL), percepção e expectativa do paciente com relação ao tratamento que será realizado podem ser evidenciados como possíveis causas.

Em uma amostra de indivíduos adultos residentes na região metropolitana de Toronto - Canadá, Locker et al. (1996), utilizando a escala DAS, encontraram uma prevalência de 10,9% de indivíduos ansiosos. Dentre esses indivíduos ansiosos, 94,5% declararam ter vivenciado uma experiência ruim no dentista anteriormente. Houve diferença entre as mulheres e os homens, sendo que as primeiras tinham níveis de ansiedade quase duas vezes maior. Em um segundo trabalho (1999), os

mesmos autores analisaram 1420 pacientes. A prevalência da ansiedade foi de 16,4% dos indivíduos e não houve diferença entre os gêneros.

Carvalho et al. 2012, afirmaram que o medo e a ansiedade a fatores odontológicos existem de fato na população brasileira, mostrando valores superiores à média mundial. Seus resultados demonstraram que 2 em cada 8 brasileiros avaliados apresentaram moderada ou severa ansiedade frente ao tratamento odontológico. No estudo, as respostas dos pacientes evidenciam que a maioria teve uma experiência traumática prévia, gerando elevada ansiedade a cada atendimento. Preditivos significativos encontrados foram: mulheres, idade superior a 20 anos, não possuir acesso a internet e/ou jornais, baixa frequência de higiene oral, visita ao dentista ser por busca de tratamento curativo ou por dor ao invés de um *check-up* e experiência de odontalgia, sugerindo que além da falta de recursos econômicos, o descaso com a saúde bucal, o sexo e a idade podem aumentar o grau de ansiedade. Os escores de ansiedade foram maiores entre os pacientes com menor escolaridade e baixa renda familiar, estando em semelhança à população indiana (Acharya, 2008), em relação à baixa escolaridade. Hakeberg et al. (1992), em estudo semelhante realizado com pacientes suecos, demonstraram que nesta sociedade o nível de escolaridade ou renda não apresentou correlação significativa à ansiedade ao tratamento odontológico, evidenciando o envolvimento cultural da população.

Entre pacientes que procuraram atendimento de urgência no Brasil, na Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP), 28,2% eram ansiosos em relação ao tratamento. As mulheres declararam ser ansiosas com mais frequência que os homens. Quase a metade dos entrevistados (46,48%) relatou alguma história prévia traumática. Não houve relação entre a faixa etária, a renda e o grau de escolaridade e a ansiedade (Kanegane et al., 2003).

Ferreira et al. (2004), em uma pesquisa realizada no Brasil (Universidade de Fortaleza-Ceará), com pacientes da Clínica Integrada, selecionados aleatoriamente, obtiveram resultados semelhantes. Houve uma prevalência de 18% de indivíduos altamente ansiosos, sendo que as mulheres apresentaram escores mais altos que os homens. Além disto, neste estudo, concluiu-se que a comparação entre indivíduos normais e ansiosos mostrou não haver diferença na distribuição deles relacionada à escolaridade e renda familiar; entretanto os pacientes mais ansiosos evitaram com mais frequência o tratamento odontológico, faltando às consultas ou procurando o cirurgião-dentista com menor assiduidade.

Em outro estudo realizado com pacientes que compareceram ao Plantão de Urgências da Faculdade de Odontologia de Piracicaba/UNICAMP, foi correlacionado a influência da dor e da ansiedade sobre a PA. A análise dos dados mostrou diferenças estatisticamente significativas entre os sexos e a ansiedade, sendo que as mulheres exibiram maior ansiedade do que os homens, porém não foram verificadas diferenças estatisticamente significativas entre as faixas etárias com relação ao grau de ansiedade. Todos os pacientes que participaram desse estudo apresentaram dor de dente e a ansiedade esteve presente nos diferentes níveis verificados pela DAS (Rodrigues et al., 2011).

No estudo de Humphris et al. (1995), os autores não encontraram relação da ansiedade com a renda e o grau de escolaridade, porém como conclusão observaram que as mulheres e os indivíduos mais jovens são mais ansiosos do que seus pares.

Méndez et al. (2009), no estudo da influência da ansiedade na duração da cirurgia de terceiro molar inferior e recuperação no pós-operatório da mesma, concluíram que pacientes com alto traço de ansiedade dental tendem a exigir maior tempo de cirurgia e têm pior recuperação.

O estudo de Liao et al. (2008), mostrou que a DAS é uma ferramenta útil para estimar o impacto da ansiedade na frequência cardíaca durante a AL, no bloqueio do nervo mandibular, em cirurgias de exodontias. Os pacientes mais jovens revelaram os maiores índices na escala de ansiedade, foram os que mais reportaram eventos traumáticos prévios e apresentaram maiores aumentos na frequência cardíaca durante a AL (dor à injeção). A ansiedade, medida pela DAS, poderia reduzir o limiar de dor, aumentando a percepção de dor associada à administração de AL para o procedimento.

A AL é amplamente utilizada em odontologia. A administração do vasoconstritor em combinação com o anestésico local é uma fonte de catecolaminas exógenas que, quando combinada à liberação de catecolaminas endógenas, induzidas pela ansiedade de antecipação ao procedimento odontológico, pode levar a efeitos cardiovasculares adversos indesejados (Sivanmalai et al., 2012). Alguns autores sugerem que o aumento na FC e alterações na PA durante procedimentos odontológicos resultariam da liberação de catecolaminas endógenas do estresse emocional (Hondrum, 1985; Meyer, 1987); outros, entretanto, consideraram a

resposta cardiovascular apresentada ser influenciada pela ação farmacológica do anestésico local (Tolas et al., 1982; Meechan et al., 2002).

Segundo Raab et al. (1998) seria fundamental tomar medidas para redução do estresse no atendimento odontológico. Muitos pacientes cardiopatas ou em terapias medicamentosas frequentemente recebem tratamentos considerados menos invasivos com a intenção de que esses procedimentos não levem a grandes cargas psicológicas.

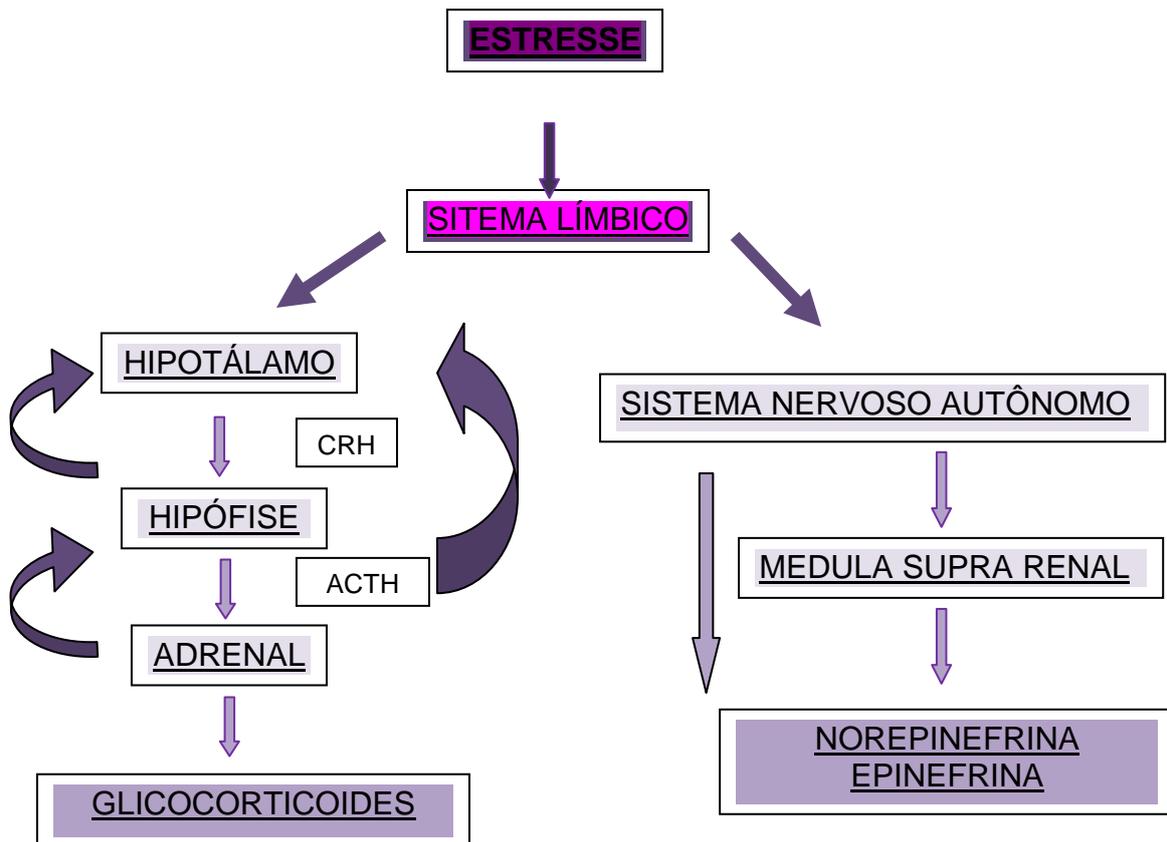
2.2 SISTEMA ENDÓCRINO

As funções do organismo são reguladas por dois grandes sistemas de controle, o sistema nervoso e o sistema endócrino. Quando um estímulo estressante é identificado, primeiro ocorre a ativação do sistema de resposta autonômico (simpático) quase que imediatamente, com a liberação de adrenalina pela medula da adrenal e de noradrenalina pelos neurônios simpáticos centrais e periféricos. Esta resposta está ligada ao início do alarme e ao estágio de “luta-fuga” (Tsigos; Chrousos, 2002; King; Hegadoren, 2002; Davis; Granger, 2009). A ativação do sistema endócrino em contrapartida ao estresse emocional nos indivíduos é dada através da estimulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), mais lentamente, provocando a secreção de cortisol pelo córtex da glândula adrenal (Bakke et al., 2004). O eixo HHA é ativado em ocasiões que requeiram uma adaptação homeostática (Migliorini; Kettelhut, 1999) e tem papel importante no confronto psicológico e fisiológico frente a um agente estressante, no controle dos efeitos do estresse na saúde, desenvolvimento de doenças, humor e comportamento (King; Hegadoren, 2002).

Com a ativação do eixo HHA diante de um estímulo estressante, ocorre com um aumento da secreção de hormônio liberador de corticotrofina (CRH) pelo hipotálamo. Esse hormônio estimula a hipófise a secretar o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) na circulação sistêmica, que por sua vez estimula o córtex da glândula adrenal a secretar o glicocorticóide cortisol. O aumento dos níveis de cortisol funciona como um *feedback* negativo, que inibe a liberação de CRH e

ACTH pelo hipotálamo e hipófise respectivamente (King; Hegadoren, 2002). Figura 2.1

Figura 2.1 - Ativação do Sistema Estressor



Fonte: Adaptado de King e Hegadoren (2002)

2.2.1 Cortisol

Este hormônio produzido ao final do eixo HHA (Davis; Granger, 2009) entra no sistema circulatório, e é difundido pelo organismo, onde irá atingir as células alvo. A maior parte do cortisol circula no sangue ligado às proteínas transportadoras, (transcortina e albumina). Apenas uma pequena parte (5 a 10%) encontra-se na forma livre, isto é, biologicamente ativo, enquanto que 90% deste encontra-se unido a proteínas plasmáticas (Schimmer; Parker, 1996; Castro; Moreira, 2003). O cortisol livre circulante difunde-se passivamente para a saliva quase imediatamente, sendo que as concentrações do cortisol livre no plasma e na saliva estão em grande

correlação (Bakke et al., 2004). O cortisol ligado às proteínas representa uma forma de reserva hormonal e proteção contra a inativação hepática e renal, prolongando a sua vida média (Migliorini; Kettelhut, 1999).

O cortisol é o principal hormônio secretado pelo córtex da glândula adrenal e a sua produção diária (basal) possui um ritmo circadiano bem definido e de ritmo diurno, que atinge o pico entre 30 e 35 min após o despertar de manhã e vai diminuindo ao longo do dia (Bakke et al., 2004). Aproximadamente 15 ou mais pulsos (10mg) de cortisol são produzidos pelo organismo num período de 24 horas tanto em crianças como em adultos (Baum, 1993), que interagem com dois tipos de receptores intracelulares: (1) receptor mineralocorticoide (MR- mineralocorticoid receptor) localizados no núcleo das células alvo com alta afinidade pelo cortisol e que são imprescindíveis para a expressão das respostas circadianas do cortisol (Joels & Baram 2009); (2) receptor glicocorticoide (GR- glucocorticoid receptor) localizados no citoplasma e, quando ligados ao cortisol, migram sob a forma de dímeros para o núcleo. Estes últimos possuem menor afinidade pelo cortisol, porém participam ativamente do sistema de retroalimentação negativa do eixo HPA e respondem pelas alterações fisiológicas desencadeadas pelos níveis elevados de cortisol durante a resposta ao estresse. Essa interação é importantes para o controle da homeostase nos processos metabólicos normais (King; Hegadoren, 2002). A concentração plasmática de cortisol atinge seu pico cerca de 30 min após o despertar, com um aumento de 50% a 100% e alcança seu ponto mais baixo próximo da meia-noite durante o sono (Kurina et al., 2004).

Em níveis normais, o cortisol por meio de sua ação permissiva, possibilita as respostas metabólicas, circulatórias e outras essenciais para a adequação aos diversos tipos de estresse. Níveis elevados teriam função de limitar as respostas adaptativas, não deixando que elas se tornem excessivas/insalubres ao indivíduo (Migliorini; Kettelhut, 1999). A ativação do cortisol em resposta ao estresse tem ação protetora em curto prazo, porém quando ela é crônica ou extrema, pode trazer consequências negativas, danos aos neurônios do hipocampo (importante para a memória e a cognição), doenças autoimunes e alterações no metabolismo de gorduras e carboidratos, contribuindo assim para o desenvolvimento da diabetes, doenças cardiovasculares, hipertensão (King; Hegadoren, 2002) e a síndrome de Cushing, na qual o hipercortisolismo é uma manifestação primária (Migliorini; Kettelhut, 1999).

Em níveis anormais, o cortisol está associado a muitos problemas comuns de saúde. A dosagem de cortisol também fornece informações importantes sobre a função do eixo HHA e pode ajudar a diferenciar entre uma experiência estressante e doença em termos da capacidade adaptativa (King; Hegadoren, 2002). Esta dosagem foi empregada para avaliar o eixo HHA em alterações da função cognitiva, em situações de estresse, ansiedade, depressão, síndrome do pânico entre outros (Castro; Moreira, 2003).

O cortisol pode ser medido na urina, no plasma e na saliva; sendo estes métodos de medição altamente correlacionados e sensíveis para medir a atividade do estresse (Gozanski et al., 2005). A escolha de qual fluido será utilizado vai depender da investigação e do desenho da pesquisa, da natureza do evento estressante, da logística da coleta, preservação e ensaio da amostra (King; Hegadoren, 2002).

Sendo o cortisol extensamente metabolizado em tetrahydrocortisona no fígado, uma quantia pequena de cortisol livre e quantidades maiores dos seus metabólitos são excretados na urina. É necessária a coleta de urina por 24 horas para avaliar a atividade de todo o eixo HHA (Baum; Grunberg, 1997).

Os biomarcadores salivares ganharam grande popularidade. A coleta da saliva é fácil, rápida, não invasiva, e fornece uma medição confiável do biomarcador em comparação com as amostras de sangue e urina. Sendo mais rápida houve um aumento na adesão dos pacientes por este tipo de coleta possibilitando um papel importante na antecipação de inúmeros problemas médicos e dentários (Vineetha et al., 2014).

A concentração de cortisol salivar informa sobre mudanças rápidas no cortisol plasmático, enquanto o urinário, uma média da concentração durante um período de tempo mais longo (Brand, 1999). A obtenção de amostras de saliva oferece algumas vantagens sobre outros métodos. A saliva é coletada de maneira não estressante e não invasiva, facilitando o consentimento para a sua coleta ou mesmo de repetições da mesma (Dantzer; Kalin, 2009). Além disso, a medida do cortisol salivar é prática, confiável e dá dados quantitativos sobre o nível de cortisol biologicamente ativo (Takai et al., 2004). O eixo HHA é muito sensível ao estresse, que causa uma redução no fluxo salivar. Isto altera a composição da secreção salivar, mas o fluxo salivar tem pouco ou nenhum efeito sobre os níveis de cortisol na saliva devido ao pequeno tamanho e a alta lipossolubilidade das moléculas que se difundem

rapidamente pela membrana celular, para a saliva (King; Hegadoren, 2002). Outra vantagem é que como a amostra de saliva é bastante estável, a coleta pode ser feita num ambiente não laboratorial (Castro; Moreira, 2003). Para o profissional de saúde, diminui os riscos de exposição ao vírus da imunodeficiência humana (HIV) (Malamud, 2011) ou hepatite e para os pacientes, diminui o desconforto e simplifica a coleta de amostras em série para o monitoramento do estado de saúde ou doença (Lawrence, 2002).

Os valores de referência do cortisol diferem em relação ao gênero, idade, gravidez, uso de terapia hormonal, e ainda em detrimento do tipo de instrumento de detecção e, por esta razão, devem ser bem escolhidos (King; Hegadoren, 2002; Larsson et al., 2009), porém nenhuma precaução especial deve ser tomada em relação à fase do ciclo menstrual, (Kudielka; Kirschbaum, 2003). A liberação de cortisol apresenta um ciclo circadiano bem definido e de ritmo diurno.

Segundo King e Hegadoren (2002), múltiplas amostras de saliva devem ser coletadas em diferentes horários para análise do ciclo circadiano ou do padrão diurno de secreção de cortisol.

A manipulação das amostras deve seguir condições padronizadas para obter-se medidas confiáveis dos esteróides salivares. É importante que se utilizem ensaios disponíveis no mercado, facilitando a repetição e também a comparação dos resultados (Gröschl et al., 2001). A maioria dos métodos de imunoensaio utilizados na determinação do cortisol no plasma detecta o cortisol total (ligado e livre), enquanto a dosagem na saliva quantifica apenas a fração livre, que é a parte biologicamente ativa (Castro; Moreira, 2003).

Dois ensaios são mais utilizados para a mensuração do cortisol salivar, o radioimunoensaio e o enzimaimunoensaio. Gozanski et al. (2005) compararam estes dois ensaios e encontraram uma boa correlação entre eles, com a vantagem do enzimaimunoensaio não necessitar de elementos radioativos, levar menor tempo de processamento e ser mais barato.

O estudo de Brand (1999) coletou amostras de urina e saliva para avaliar a relação entre a ansiedade ao tratamento odontológico e excreção de cortisol imediatamente antes do tratamento odontológico. Para estimular a salivação foi utilizado ácido cítrico a 4% e coletada saliva da parótida com aparato próprio. Em mulheres sem doenças sistêmicas ou prévias, não se encontrou relação entre os escores da DAS e os níveis de cortisol salivar, mas houve entre a DAS e o cortisol

urinário. Entretanto, para este estudo, os pacientes com alto grau de ansiedade foram excluídos. Neste caso, o cortisol urinário foi mais conveniente como um parâmetro fisiológico da ansiedade ao tratamento odontológico.

Hill e Walker (2001) objetivaram em seu estudo avaliar o estresse e a ansiedade em pacientes submetidos à extração dos terceiros molares impactados (dentes do siso), com anestesia geral (AG) ou local (AL), por meio da escala de depressão e ansiedade hospitalar (HAD) e da mensuração de cortisol salivar, coletada três dias antes, no dia e três dias após a cirurgia. Os pacientes foram divididos em dois grupos: aqueles que receberam AL e aqueles que receberam AG, durante o procedimento cirúrgico. Como resultado desta investigação, as concentrações de cortisol salivar nas amostras coletadas no dia de cirurgia em pacientes submetidos à AG foram maiores do que concentrações em ambos os dias pré ou pós-operatório. Nos grupos de anestesia local não houve diferença estatística, embora os níveis de cortisol pós-cirurgia mostrou uma tendência decrescente. Nenhuma diferença significativa foi observada nos escores das escalas de ansiedade respondida pelos indivíduos do grupo que recebeu AG, quando comparados com os registrados por indivíduos do grupo com LA, embora uma tendência para diminuir a ansiedade foi observada no grupo AG.

Alguns cuidados devem ser tomados na coleta e armazenamento das amostras de saliva. Gröschl et al. (2001) estudaram o nível de esteroides (cortisol, progesterona) em 15 voluntários adultos saudáveis. Foi avaliada a influência da higiene dental, da ingestão de alimentos (fatia de limão, copo de leite, fatia de pão) e do armazenamento das amostras. Não houve influência negativa da higiene dental ou da ingestão de alimentos, exceto para a progesterona após o consumo de uma fatia de limão. Segundo os autores, a amostra obtida não deve ser deixada à temperatura ambiente ou no refrigerador, deve ser congelado o mais rápido possível, evitando assim a decomposição do cortisol por enzimas e bactérias. Repetidos descongelamentos e recongelamentos das amostras diminuem os níveis de cortisol pela adesão das moléculas à superfície do tubo continente.

A variação de temperatura e os espaços de tempo decorrido entre a coleta e a centrifugação não produziram diferenças significantes nos valores de cortisol, demonstrando a estabilidade do mesmo (Baum; Grunberg, 1997).

King e Hegadoren (2002) fizeram uma revisão dos cuidados a serem tomados e a importância da determinação de um horário para a coleta. Eles relacionaram a

interferência da alimentação e do cigarro, por isso a coleta deve ser feita antes do café da manhã ou pelo menos 30 min após o consumo de alimentos ou de fumo. A idade também é um fator importante a ser considerado quando se quer mensurar o cortisol principalmente em crianças, quando o eixo HHA ainda não está maduro. Os mais velhos apresentam níveis de cortisol mais elevados, que pode ser devido a um nível basal maior ou à maior demora em retornar aos valores basais por mudanças no metabolismo. Segundo esses autores, a influência do sexo nos níveis de cortisol não tem resultados conclusivos até o momento.

No estudo desenvolvido por Zimmer et al. (2003), indivíduos do sexo masculino e feminino foram investigados, 2 vezes seguidas, por uma aplicação de estímulo com frio (teste de imersão das mãos em água gelada). Como resultado, o teste produziu aumentos confiáveis nos níveis de cortisol salivar, e estes aumentos foram maiores nos homens do que nas mulheres. A experiência subjetiva da dor, avaliada com a EVA, em contraste com as respostas endócrinas, foi significativamente mais forte nas mulheres. Nas fases finais do experimento, não houve diferença entre os sexos. Isto poderia ser decorrente da maior resposta do eixo HHA dos homens ao estresse. Entretanto, não houve diferença na graduação da intensidade e sensação da dor entre os sexos, que pode não ter sido evidenciada possivelmente por causa da maior sensibilidade da mulher e conseqüente menor duração do estímulo. A dor aumentou significativamente a concentração do cortisol salivar, quando comparada com o nível basal, em média 394%.

Este estudo objetivou determinar se o cortisol salivar poderia ser usado como substituto do cortisol total sérico. Medições de saliva e soro pareadas foram obtidas durante três protocolos (exercício físico por 10 min, supressão por dexametasona e administração por via intravenosa de hormônio liberador de CRH). Gozanski et al. (2005) não encontraram diferenças entre os sexos. Segundo Scott et al. (1990) mulheres grávidas e usuárias de contraceptivos orais apresentaram maiores níveis de cortisol sérico e de transcortina, mas somente as grávidas tinham níveis elevados de cortisol salivar, demonstrando que os dados fornecidos pela análise do cortisol salivar são fisiologicamente mais relevantes, particularmente quando a resposta do eixo HHA a um estímulo excede o ponto de saturação da proteína transportadora.

Chamani et al. (2006) avaliaram o nível de cortisol salivar antes, durante e depois de cinco tipos de procedimentos odontológicos: exame clínico, profilaxia, restauração, endodontia e exodontia. Foi medido o cortisol em quatro momentos,

tanto em pacientes do sexo masculino quanto do feminino que haviam sido encaminhados para uma clínica-escola iraniana. Nesses pacientes, não houve diferença quanto ao sexo, apenas um aumento significativo do nível de cortisol no procedimento de restauração quando comparado com o medido 10 min antes do procedimento.

2.2.2 Alfa-amilase

Assim como o cortisol, estudos recentes têm enfatizado a enzima α -amilase salivar como um marcador não invasivo de estresse, induzido por atividade do SNA (Chatterton et al., 1996; Gordis et al., 2006; Nater et al., 2007).

O perfil das mudanças dos níveis de α -amilase salivar relacionadas ao estresse é distinto em relação ao perfil de resposta medido pelo cortisol salivar. Ambos analitos salivares aumentam em resposta ao estímulo estressor. No entanto, α -amilase salivar atinge o seu pico de resposta mais rápido do que o cortisol salivar, o mesmo ocorrendo na recuperação dos níveis. Estes padrões de resposta cinética se encaixam nas expectativas fisiológicas, no qual tempo de ativação é diferente, a resposta do SNA é mais rápido e HHA mais lento (Gordis et al., 2006). No entanto, parte da diferença pode também estar relacionada a questões específicas do cortisol na saliva, pois é liberado a partir da glândula adrenal para a circulação geral e, em seguida, deve ser difundida passivamente para os fluidos bucais. A demora entre a ativação do eixo HHA e mudança na concentração salivar de cortisol pode ser de 15 a 20 min. Por outro lado, a enzima α -amilase é secretada pela glândula salivar diretamente na boca (Granger et al., 2007).

A compreensão clara de como e onde a saliva é produzida, e como este processo é controlado, é essencial para a obtenção de conhecimento sobre as relações entre parâmetros salivares e estresse. Há três glândulas salivares maiores de cada lado da face: a parótida, submandibular, sublingual, além de inúmeras glândulas menores. As glândulas salivares fazem parte do trato digestivo e são formadas por diferentes tipos de células: células acinares, vários ductos com sistema de células, e as células mioepiteliais (Humphrey; Williamson, 2001; Nater; Rohleder, 2009). As glândulas salivares são exócrinas, localizadas na cavidade bucal, no vestíbulo bucal e labial, no assoalho, na língua e no palato, constituídas por ácinos seromucosos e mucosos. As glândulas salivares são estimuladas pelo SNA e pelos

hormônios vasopressina e aldosterona. As glândulas mais ativas são as submandibulares e as menos ativas são as sublinguais (Murray, 1998; Nater; Rohleder, 2009; Edgar et al., 2010). A saliva é o principal produto das glândulas salivares. Em condição não estimulada, 20% da saliva é derivada da parótida, 65% da submandibular, e 7-8% das glândulas sublinguais. As glândulas menores contribuem com cerca de 10% de saliva total. Estimulando a produção de saliva, a cada glândula se modifica, com a parótida produzindo mais de 50% do total das secreções salivares (Sreebny, 2000; Humphrey; Williamson, 2001; Nater; Rohleder, 2009).

São secretados de 800 a 1500 ml de saliva diariamente como resultado da atividade das glândulas salivares maiores e menores (Sanioto; Aires, 1999). A saliva contém: enzimas, sais minerais, eletrólitos, tampões, inibidores de enzimas, fatores de crescimento, citocinas, imunoglobulinas, mucina, outras glicoproteínas e água. Ela tem um papel fisiológico de lubrificação e manutenção da mucosa oral, formação e deglutição do bolo alimentar, digestão do amido, facilitação do paladar e controle da população microbiana da orofaringe. Participa ainda da formação do biofilme dentário e do processo de remineralização do esmalte. A saliva é utilizada pelo profissional de saúde bucal principalmente para avaliar o risco de cárie, através da medida da sua capacidade tampão e do conteúdo bacteriano. É crescente a sua utilização como ferramenta de diagnóstico (testes salivares) em áreas como a virologia (HIV), imunologia, microbiologia e bioquímica (Sreebny et al., 2000; Lawrence, 2002; Malamud, 2011). Os estudos têm demonstrado que esses testes baseados em anticorpos salivares específicos são equivalentes em confiabilidade quando se compara àqueles realizados no soro, sendo, portanto, úteis na utilização clínica e em estudos epidemiológicos (Malamud, 2011).

A α -amilase é produzida por células acinares epiteliais altamente diferenciadas das glândulas salivares e é nessas mesmas células que o principal componente, fluido salivar, é derivado da vascularização local, e enriquecido com proteínas, das quais amilase é uma das mais importantes. A principal função da α -amilase é a digestão de carboidratos (Baum, 1993), mas também é importante para a imunidade da mucosa da cavidade oral, pois impede a aderência de bactérias (Scannapieco et al., 1993).

Todo aparato da secreção salivar está sobre controle do SNA, sendo que os nervos simpáticos e parassimpáticos trabalham de maneira complexa e conjunta, e

sua estimulação ativa a secreção salivar, porém os efeitos do parassimpático são mais vigorosos e prolongados. A estimulação das fibras eferentes parassimpáticas produz o maior fluxo salivar capaz de se obter de uma glândula. O sistema de controle da ação do sistema parassimpático tem origem no bulbo cerebral, nos chamados núcleos salivares superior e inferior. Esses núcleos possuem íntima relação com os neurônios motores dos nervos glossofaríngeo e facial, respectivamente IX e VII pares cranianos. As fibras motoras do glossofaríngeo saem do núcleo salivar inferior, fazem sinapse no gânglio ótico e inervam as glândulas parótidas. As fibras motoras do nervo facial emergem do núcleo salivar e, através do nervo lingual e posteriormente do nervo corda do tímpano, inervam as glândulas submandibulares e sublinguais. Considerando os nervos corda do tímpano e glossofaríngeo como integrantes do sistema parassimpático, a excitação desse sistema determina a estimulação da glândula salivar através do aumento da velocidade na formação da saliva, do consumo de oxigênio e da irrigação sanguínea da glândula. O sistema de controle de ação do SNA estimula a contratilidade de certas células (mioepiteliais) que envolvem as regiões responsáveis pela produção de saliva. O resultado dessa estimulação é a expulsão da saliva pré-formada, aumentando transitoriamente o fluxo salivar. Após alguns instantes, o fluxo salivar começa a diminuir devido à redução da irrigação sanguínea determinada pela vasoconstrição simpática.. Sendo assim, quando há uma hiperatividade simpática a boca fica seca, podendo até ocorrer dor e dificuldade na deglutição (Murray, 1998).

Como Baum (1993) salientou, não há secreção espontânea de fluido salivar ou de produção de proteínas salivares, ambos os processos são estimulados pelos nervos simpáticos e parassimpáticos que inervam as glândulas salivares. A principal implicação desse mecanismo é o fato de que a α -amilase, em oposição ao cortisol, não é passivamente transportada por saliva, mas produzido em conjunto com a saliva e outros componentes salivares, e que quando se faz a coleta de saliva, os pesquisadores precisam estar cientes do fato de que todos os fatores que influenciam a salivacção também podem influenciar α -amilase. (Rohleder; Natter, 2009).

Há muitas vantagens oferecidas pela medição de marcadores biológicos na saliva, mas há questões que devem ser cuidadosamente controladas para garantir a validade da medição, como dispositivos adequados para recolher a saliva (Granger et al., 2006; Dantzer; Kalin, 2009).

Segundo DeCaro (2008) a coleta passiva (não estimulada) da α -amilase salivar seguida de seu congelamento rápido, foi a melhor abordagem para a coleta das amostras.

Pesquisas prévias mostram que concentrações de α -amilase salivar estão correlacionadas com os níveis de catecolaminas, particularmente norepinefrina (NE), em resposta ao estresse.

Esta enzima salivar tem sido sugerida para refletir as mudanças relacionadas com o estresse corpóreo (Chatterton et al., 1996; Rohleder et al., 2004; Granger et al., 2007; Nater et al., 2007). Trabalhos de literatura (Rohleder et al., 2004; Takai et al., 2004; Granger et al., 2007; Schoofs et al., 2008) revelaram que a α -amilase salivar está correlacionada com a atividade simpática sob condições de estresse. Estudos demonstraram que os níveis de α -amilase aumentam sob várias condições de estresse físico (exercício, calor e frio) e psicológico (vídeos, exames escritos) em humanos (Van Stegeren et al., 2006; Takai et al., 2007; Van Stegeren et al., 2008; Sahu et al., 2014).

No entanto, estudos mais recentes estão questionando esta relação. A literatura mostrou que aumentos de α -amilase salivar relacionados ao estresse podem ser inibidos por bloqueador adrenérgico propranolol (Van Stegeren et al., 2006; Van Stegeren et al., 2008) e que agonistas beta-adrenérgicos são capazes de estimular a liberação de α -amilase sem aumento do fluxo salivar (Rohleder et al., 2006).

2.3 COLETA DE SALIVA

Em geral, as técnicas de coleta de saliva humana podem ser categorizadas em amostragem de saliva total ou amostragem de saliva das glândulas salivares específicas, e dentro de cada uma dessas categorias pode ser dividida novamente entre saliva estimulada ou não estimulada (Rohleder; Nater, 2009). Outra distinção que pode ser feita é baseada nas técnicas de coleta com tubo (Coletor Salivette®) ou técnicas baseadas em coletar passiva (não estimulada) a saliva em tubos de coleta (Sarstedt Inc, Nümbrecht, Alemanha). Uma desvantagem de outros

absorventes baseados em técnicas de coleta é que a estimulação do fluxo salivar não pode ser completamente excluída devido à presença do estímulo mecânico na boca, mesmo os participantes sendo instruídos para não mastigar o rolo de algodão (Navazesh, 1993). Do ponto de vista teórico, a técnica de deixar a saliva acumulada escoar passivamente é superior às técnicas de uso de materiais absorventes, pois a estimulação da produção de saliva é evitada e a saliva é parcialmente coletada. As amostras para o cortisol salivar devem ser coletadas ao acordar, sendo ideal logo após acordar (Nater; Rohleder, 2009).

Estudo de DeCaro (2008) mostrou que a α -amilase é estável à temperatura ambiente (22°C), e até mesmo em temperaturas mais elevadas (37°C) por até três semanas sem perda significativa da atividade. Estes resultados estão de acordo com um estudo anterior, que revelou que α -amilase é estável à temperatura ambiente e a 4°C, pelo menos, por quatro dias (Granger et al., 2006). Para armazenamento de longo prazo, as amostras de saliva devem ser congeladas a -20°C ou temperaturas mais baixas. Também foi demonstrado que α -amilase não é afetada por ciclos de congelamento e descongelamento. Não há necessidade de conservantes.

As primeiras conclusões sobre o papel da α -amilase salivar em processos de estresse foram publicadas quase três décadas atrás, e numerosos estudos já mostraram que mudanças na α -amilase são realmente dependentes de estímulos estressantes, fisiológicos ou psicológicos (Chatterton et al., 1996; Van Stegeren et al., 2006; Schoofs et al., 2008; Van Stegeren et al., 2008).

Associações significativas foram observadas entre ansiedade ao tratamento odontológico com a escala DAS, presença de dor e história de experiência odontológica traumática. No entanto, não foram observadas correlações significativas entre os escores de DAS, níveis de cortisol e α -amilase salivares (Sadi et al., 2013).

Wittwer et al. (2016) sugeriram que a α -amilase salivar seja um correlato fisiológico indireto e objetivo da percepção subjetiva da dor pelo calor. Os resultados teriam indicado que a dor causada pelo calor desencadearia uma resposta autonômica correlacionada com a secreção de α -amilase salivar. Respostas do SNA podem, portanto, depender do tecido no qual se origina a dor, como uma enxaqueca ou dor de dente, e de outros métodos de avaliação da dor, não levando a uma secreção de α -amilase salivar. A atividade da α -amilase salivar demonstrou ainda

facilitar o diagnóstico e melhorar a sobrevida durante o infarto do miocárdio, além de expressar níveis mais altos na antecipação e durante a cirurgia odontológica.

2.4 RESPOSTAS CARDIOVASCULARES DURANTE PROCEDIMENTOS ODONTOLÓGICOS

Muitos procedimentos odontológicos são associados a uma marcante resposta cardiovascular, que pode ser evocada por estímulos nociceptivos, ansiedade e, em casos particulares, também algumas drogas, como bases anestésicas, vasoconstritores ou alguns agonistas (Meyer, 1987; Brand; Abraham-Inpijn, 1996; Liao et al., 2008; Alemany-Martinez et al., 2008; Dillane; Finucane, 2010; Tornelli, 2012). Esses efeitos são normalmente bem tolerados em indivíduos saudáveis, mas podem se constituir num fator de estresse potencialmente deletério em pacientes com cardiopatias, sobretudo os coronariopatas e portadores de insuficiência cardíaca e arritmias (Campbell et al., 1996; Meechan et al., 2002; Montebugnoli; Prati, 2002; Laragnoit et al., 2009; Lambrecht et al., 2011).

Uma criteriosa anamnese pré-operatória pode identificar pacientes com risco aumentado de complicações cardiovasculares ou descompensação de suas doenças de base; nestas situações, alguns exames complementares e eventualmente uma avaliação médica podem orientar estratégias específicas para redução ou manejo dos riscos de eventos adversos no ambiente odontológico (Campbell et al., 1996; Raab et al., 1998; Lambrecht et al., 2011). No curso de procedimentos cirúrgicos de rotina ou na execução de protocolos de pesquisa clínica sobre segurança de novos procedimentos ou drogas, muitas vezes faz-se necessário o monitoramento intra-operatório do paciente (ou voluntário), visando a identificação de eventos adversos e a caracterização mais completa e precisa do perfil de segurança do procedimento ora avaliado (Borea et al., 1991; Blinder et al., 1998; Yoshiyuki et al., 2001; Meral et al., 2005; Alemany-Martinez et al., 2008).

Com a crescente demanda de atendimento de pacientes idosos e a considerável prevalência de portadores de múltiplas comorbidades, sobretudo cardiovasculares, diversos estudos seguem pesquisando o perfil de segurança dos fármacos, anestésicos, vasoconstritores e outros, procedimentos, especialmente os de maior porte, como cirurgias e a interação desses com os efeitos da ansiedade ao tratamento odontológico. Neste cenário, a inserção de metodologias direcionadas ao estudo dos impactos diretos e instantâneos da modulação do SNA sobre a dinâmica cardiovascular, entre as quais se destaca a VFC, que vem ganhando espaço principalmente por seu poder preditor de eventos cardiovasculares graves e de ser razoavelmente exequível no ambiente de consultório.

2.5 SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO E VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA

Muitas das funções orgânicas são continuamente monitoradas por aferências nervosas e ativamente moduladas por eferências do SNA. Quando um estímulo estressante ou potencialmente nocivo é identificado, deflagra-se uma resposta adaptativa através da ativação do SNAS. Quase que imediatamente, as reações cardiovasculares, respiratórias e hormonais são ativadas pela liberação de adrenalina pela medula das adrenais e de noradrenalina pelos neurônios simpáticos centrais e periféricos. A ação do SNAS sobre o sistema cardiovascular evoca aumento do débito cardíaco principalmente através do efeito inotrópico e cronotrópico positivo das catecolaminas endógenas; paralelamente, induz também aumento da ventilação através da dilatação da musculatura lisa peri-brônquica. Esta resposta está ligada ao início do alarme e ao estágio de “luta-fuga” (Tsigos; Chrousos, 2002; King; Hegadoren, 2002; Davis; Granger, 2009). De maneira antagônica, as eferências do sistema nervoso autônomo parassimpático (SNAP) efetuam as vias contrarregulatórias desse equilíbrio dinâmico através, principalmente, de fibras colinérgicas.

O efeito dessas duas vias regulatórias sobre o nó sinusal, marca-passo natural do ritmo cardíaco, traduz-se na condição normal de flutuação da frequência cardíaca. Essa VFC indica a integridade de uma complexa rede regulatória

composta pelas interferências do SNC sobre o SNA, do SNA sobre o ritmo cardíaco e das aferências nervosas sobre ambos. O estudo da VFC, realizado através das análises das variações (periódicas e não periódicas) dos intervalos batimento-a-batimento (intervalos RR consecutivos), permite avaliar a integridade dessas vias regulatórias e os efeitos de variáveis externas sobre a homeostase do sistema cardiovascular (Hartikainen et al., 1998).

A análise da VFC no domínio do tempo (variáveis não periódicas) consiste na exploração de medidas de dispersão dos intervalos RR normais, assim chamados intervalos NN, ao longo de uma determinada série temporal registrada por meio de eletrocardiograma, *holter* ou frequencímetros portáteis. Neste domínio, as variáveis mais estudadas são o SDNN (desvio padrão dos intervalos NN), rMSSD (raiz quadrada da média das diferenças quadradas de NN consecutivos) e pNN50 (porcentagem de NN consecutivos com diferença superior a 50 milissegundos). Através de modelagens matemáticas, como a Transformada de Fourier, das sequências de intervalos RR, podem ser extraídas as variâncias específicas da frequência cardíaca de determinados padrões oscilatórios, arbitrariamente separados por faixas de frequência. Habitualmente, descrevem-se os padrões de interferência da VFC em baixa frequência (LF- 0,04 - 0,15ms), resultado da interação da atividade do SNAS com o braço efetor parassimpático da resposta baro-reflexa, e alta frequência (HF- 0,15 - 0,40ms), determinada principalmente pela influência do ritmo respiratório sobre a atividade do SNAP, através do reflexo vagal (arritmia sinusal ventilatória). A razão LF/HF, por isso, é tratada como o balanço simpato-vagal (Hartikainen et al., 1998).

O declínio da VFC, resultado de redução do tônus parassimpático e aumento da estimulação simpática, sinaliza situações de menor adaptabilidade do SNA e prediz aumento do risco cardiovascular (Servant et al., 2009). Além disso, a VFC tem demonstrado ser um indicador confiável para estadiamento e prognóstico de pacientes com doenças cardiovasculares (Casolo et al., 1992; Nolan et al., 1998; La Rovere et al., 2001; American College of Cardiology, 2007; Marijon et al., 2009; Watanabe et al., 2013) e diabetes, sendo associada com disfunção cardíaca autônoma (Singh et al., 2000; Turker et al., 2013; Wu et al., 2013). Em outros cenários, alguns estudos também demonstraram que pacientes com transtornos de ansiedade e depressão exibem menores parâmetros de VFC que voluntários sem

distúrbios mentais (Rechlin et al., 1994; Yeragani et al., 1998; Agelink et al., 2002; Bar et al., 2007; Servant et al., 2009; Henry et al., 2010).

Fisiologicamente, a VFC é, pois, uma medida da modulação autonômica, humoral e intrínseca da FC. Como uma medida da regulação autonômica da excitação, a VFC traz informações sobre a habilidade do sistema nervoso em organizar uma resposta homeostática conforme a demanda da situação. Evidências recentes sugerem também que a VFC pode servir como um índice objetivo de emotividade (Appelhans; Luecken, 2006). Estados emotivos diversos e as dimensões psico-afetivas da dor evocam um grau de excitação fisiológica que prepara o corpo para responder a condições ambientais, e essa resposta é mediada por ativação do SNA (Hagemann et al., 2003).

Baseado na hipótese de que a dor, como sintoma físico e por sua dimensão emocional, poderia interferir na modulação autonômica ou que, ainda, essa modulação pode regular vias inibitórias da dor e alterar a percepção (limiar e intensidade) dos estímulos nociceptivos, Appelhans e Luecken (2008) estudaram a associação da VFC e sensibilidade à dor evocada por estímulos térmicos de temperaturas sucessivamente decrescentes. Consistentemente com as expectativas dos autores, maiores valores de LF predisseram menores índices de percepção de dor, flagrados por maiores limiares e menores intensidades de desconforto. Esse achado sugere, segundo os autores, que diferenças individuais na sensibilidade à dor podem ser entendidas como uma possível tradução da emotividade através de uma resposta autonômica adaptativa de ativação de vias inibitórias da dor; um padrão de resposta emocional-comportamental-orgânica de um estado basal a uma condição reativa-adaptativa.

No âmbito geral de avaliação da correlação da VFC com desfechos cirúrgicos, Ushiyama et al. (2008) avaliaram o estresse cirúrgico e o desenvolvimento de complicações pós-operatórias em 30 pacientes submetidos a cirurgias digestivas diversas. Os pacientes foram acompanhados no pré-operatório e, no primeiro e, sétimos dias de pós-operatório. Foi avaliada a relação da VFC e a duração das cirurgias, perda de sangue no primeiro dia de pós-operatório e o desenvolvimento de complicações no pós-operatório. A FC média teve aumento ao longo das etapas avaliadas e os índices da VFC, diminuição. Esses índices também mostraram alteração significativa com relação à duração da cirurgia e perda de sangue no primeiro dia de pós-operatório. Apenas o índice SDNN mostrou diminuição nos

pacientes com complicação pós-operatória. Os autores apontam que a VFC provê informações úteis com respeito ao estresse cirúrgico e ao risco de complicações pós-operatórias.

2.5.1 Variabilidade da Frequência Cardíaca e Odontologia

Matsumura et al. (1998), no primeiro estudo clínico que incorporou a avaliação da VFC em odontologia, avaliaram 40 pacientes separados em dois grupos de acordo com a idade (menores *versus* maiores de 40 anos) submetidos a exodontias sob AL com lidocaína 2% e epinefrina 1:80.000. Neste protocolo, foram registradas a PAS e PAD, a FC e a VFC obtida por análise espectral (variáveis do domínio da frequência) de sequências temporais de intervalos RR obtidos a partir de Holter-ECG. Os autores observaram em todos os pacientes elevação a PAS e da frequência cardíaca na etapa da anestesia. Ambos os grupos evoluíram com redução da HF na etapa da anestesia, de maior magnitude nos pacientes mais jovens. Nesta etapa, a razão LF/HF, que sinaliza o balanço simpátovagal, apresentou elevação nos jovens e redução nos mais velhos, confirmando os achados de um desvio da modulação autonômica reativa para um predomínio simpático entre os jovens e parassimpático nos voluntários maiores de 40 anos. Os autores hipotetizaram que a resposta simpática vista entre os jovens poderia ser uma reação fisiológica ao estresse e à anestesia com vasoconstritor, fato não observado entre os idosos por possível embotamento dessa resposta pelo uso dos anti-hipertensivos ou por disautonomia. A observação dos pesquisadores de que os idosos, ao apresentarem um padrão de resposta discordante entre a PA e a ativação do SNA mostraram que as reações cardiovasculares ao estresse cirúrgico e emocional, e também à administração do vasoconstritor adrenérgico, podem ser bastante diversas, de acordo com perfis individuais de reatividade cardíaca e vascular e também conforme os reflexos regulatórios, como já descrito por Lawler et al. (2001). Com isso, os autores concluíram que frente à gama de variações no perfil de resposta hemodinâmica durante um procedimento cirúrgico odontológico, a

avaliação da VFC pode ser uma ferramenta acurada de evidenciação dos processos regulatórios do SNA e de predição do risco de eventos cardiovasculares.

O mesmo grupo de pesquisadores (Miura et al., 2000), avaliou 18 pacientes hipertensos e 18 normotensos com idade entre 25 e 74 anos submetidos a cirurgias de extração dental sob AL com lidocaína 2% e epinefrina 1:80.000 através da mesma metodologia e observou aumento da PAS, PAD e FC durante a extração em ambos os grupos. O comportamento da VFC, no entanto, mostrou-se diferente quando comparados hipertensos e normotensos. Enquanto entre os normotensos houve queda do componente de HF da VFC, sinalizando uma supressão do tônus vagal, nos hipertensos, diferentemente, essa variável não exibiu alteração evolutiva. A razão LF/HF apresentou redução nos dois grupos durante a fase anestesia nos hipertensos e na fase cirúrgica entre os normotensos, mostrando um efeito resultante do predomínio do parassimpático, o que entre os hipertensos pode ser interpretado como uma redução da eferência simpática reflexa cardíaca ou potencial bloqueio medicamentoso.

Yoshiyuki et al. (2001) avaliaram a atividade do SNA através da análise da VFC na anestesia e durante cirurgia periodontal em 10 pacientes. Foram analisados PA, FC e VFC em seus espectros de frequência: LF e HF, assim como a razão LF/HF. A pressão e a frequência cardíaca não apresentaram alterações significativas ao longo dos procedimentos. Houve aumento significativo na razão LF/HF, o que indicaria uma mudança no balanço autonômico, com predomínio do sistema simpático, 3 min antes, durante e 3 min após a anestesia e antes da cirurgia periodontal. A mudança em LF/HF 3 min após a anestesia foi observada no momento de pico da concentração plasmática de epinefrina, vasoconstritor associado ao anestésico local utilizado. Os autores concluíram que os resultados sugerem que esse aumento foi causado por estresse mental antes da anestesia e do procedimento cirúrgico e estresse físico durante a anestesia, além da epinefrina do anestésico local. Por outro lado, a cirurgia periodontal, sob eficiente AL, não deflagrou alterações da VFC, apesar de se acreditar que a cirurgia periodontal seria um tratamento estressante. Segundo os pesquisadores, o comportamento da VFC refletiria sensivelmente o efeito do estresse mental e físico, além do agonismo adrenérgico do vasoconstritor do anestésico local e, portanto, seria uma útil ferramenta de avaliação das respostas cardiovasculares durante o tratamento odontológico.

Montebugnoli et al. (2004) avaliaram 25 pacientes saudáveis (15 homens e 10 mulheres, com idade média de 40 anos) submetidos a cirurgia de exodontia de molares sob anestesia local com mepivacaína 2% e epinefrina 1:100.000. Durante os procedimentos foram registradas a PA sistêmica, a FC e a VFC a partir do valor de SDNN coletado de um monitor cardíaco integrado ao equipo odontológico. Os autores observaram que ao longo das etapas do procedimento não foram flagradas alterações significativas da pressão arterial, em contraste com a frequência cardíaca, que exibiu elevação na etapa de extração e redução na fase recuperação. O SDNN, por sua vez, evoluiu de forma quase especular com a FC, apresentando queda estatisticamente significativa nas fases anestesia e extração, seguida de elevação na fase recuperação. Pelos resultados, os autores advogaram maior sensibilidade da VFC em evidenciar alterações autonômicas e cardiovasculares discretas, muito embora não tenha sido realizado qualquer outro teste que se prestasse como padrão-ouro na detecção dessas alterações. Como limitação do estudo observa-se que não foi coletada informação sobre possíveis variáveis de confusão, como ansiedade ao tratamento odontológico.

Okushima et al. (2008) num estudo aleatorizado e controlado com 26 voluntários jovens e saudáveis, avaliaram o efeito da sedação consciente com óxido nitroso (N_2O) sobre a VFC. Observaram também deslocamento do balanço simpato-vagal para um predomínio parassimpático no grupo intervenção (N_2O), expressos pela manutenção dos valores de HF (em oposição à queda observada no grupo controle, sem sedação consciente) e de LF (comparada à elevação entre os voluntários do grupo controle), o que de certa forma trouxe questionamentos sobre os efeitos cardiovasculares do N_2O , dados os estudos que já apontaram aumento da resistência vascular periférica, aumento da concentração plasmática de catecolaminas e aumento de disparos de nervos simpáticos dos músculos esqueléticos.

Eisele e Smith (1972); Ebert e Kampine (1989); Ebert (1990) apontaram uma limitação para a extrapolação desses resultados ao cenário de prática clínica residindo no fato de que no estudo realizado não houve procedimento cirúrgico ou administração de anestésico e vasoconstritor, variáveis que possivelmente determinariam respostas autonômicas, além de interagirem com a resposta emocional do paciente ao procedimento cirúrgico por si.

No ambiente odontológico, nas linhas de pesquisa de segurança de procedimentos e fármacos, ainda não se dispõe de literatura acerca da aplicabilidade de métodos simplificados de aquisição de dados de VFC a partir de frequencímetros portáteis, já validados para essa finalidade em outros cenários (Gamelin;Berthoin, Bosquet, 2006; Nunan et al., 2008; Vanderlei et al., 2008; Nunan et al., 2009; Weippert et al., 2010). Neste sentido, pelas consistentes evidências de que a análise da VFC pode acrescentar sensibilidade ao estudo das variações do comportamento do SNA e identificação de indivíduos ou situações de elevado risco cardiovascular, este estudo se propôs não apenas a avaliar a viabilidade da incorporação de um método já consagrado, mas também trazer a possibilidade de simplificar essa metodologia através do uso de dispositivos de manejo facilitado e baixo custo.

3. PROPOSIÇÃO

O presente estudo teve por objetivo verificar se a α -amilase e o cortisol salivares são biomarcadores sensíveis na relação de ansiedade ao tratamento odontológico (definida pelo escore MDAS >15) e dor pós-operatória de pacientes em cirurgias de exodontias de terceiros molares inferiores. Como objetivo secundário, avaliar se houve correlação entre valores anormais da VFC e as concentrações destes biomarcadores.

4 CASUÍSTICA, MATERIAL E MÉTODOS

4.1 CASUÍSTICA

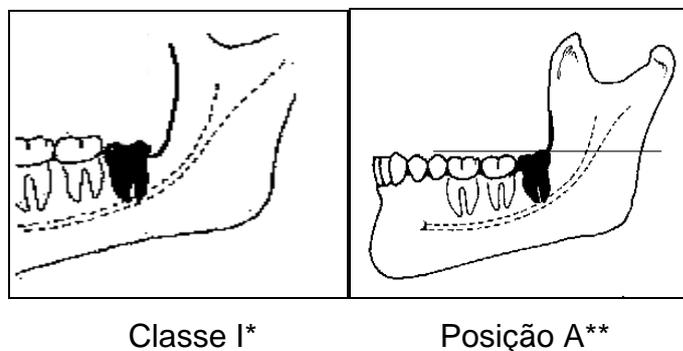
Esse projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP) pelo parecer de número 3.367.902 (Anexo A). Todos os pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A).

O tamanho da amostra foi definido a partir do cálculo do número de indivíduos necessários à observação de alterações de magnitude superior a 15% na FC e PA, parâmetros habitualmente utilizados em estudos de segurança cardiovascular de procedimentos odontológicos. Como não há estudos prévios de aferição de variáveis da VFC com uso de cardio-frequencímetros portáteis no ambiente odontológico, o tamanho da amostra foi arbitrariamente superestimado em 50% (30 voluntários) e acrescido de mais 10% para compensar médias históricas de abandonos de protocolo nos estudos da Clínica Integrada do Departamento de Estomatologia da FOUSP, totalizando 33 pacientes.

Desta forma, trinta pacientes foram selecionados de maneira consecutiva no Setor de Urgência Odontológica e na Clínica da Disciplina de Clínica Integrada da FOUSP, pois 3 abandonaram o estudo, mediante o preenchimento dos seguintes critérios:

- Ausência de doença sistêmica (Physical Status Classification System ASA I – American Society of Anesthesiologists, 2011);
- Indicação de exodontia de terceiro molar inferior. O dente deve estar erupcionados, sem cárie, e seguir a classificação de Pell e Gregory (1933): classe I, posição A (Figura 4.1);
- Idade igual ou acima de 18 anos;
- No caso de pacientes do sexo feminino, não estar grávida;
- Não fazer uso de medicamento antidepressivo ou anti-inflamatório;
- Ser alfabetizado;
- Não ser fumante.

Figura 4.1 - Classificação de Pell e Gregory (1933)



*Classe I - Existe espaço suficiente entre o ramo e a distal do segundo molar para acomodação do diâmetro méso-distal do terceiro molar

**Posição A - A porção mais alta do terceiro molar está acima ou no plano oclusal

Fonte - Pell e Gregory (1933)

4.2 MÉTODOS

Os pacientes selecionado foram avaliados em 3 momentos:

4.2.1 Entrevista (dia 1):

As entrevistas e os procedimentos ocorreram sempre às 9h da manhã. Foi feita a anamnese para triagem dos pacientes (Apêndice B) e aos pacientes que atendessem aos critérios de inclusão da pesquisa, foi solicitada também uma radiografia periapical do dente com indicação para cirurgia, para confirmação da classificação de Pell e Gregory(1933) (Figura 4.1). No mesmo dia da entrevista, o paciente foi informado da dinâmica do protocolo e agendado para atendimento na Clínica de Pesquisa do Departamento de Estomatologia. Após concordarem em

participar da pesquisa através de um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A), foi preenchido o protocolo de pesquisa do paciente (Apêndice C).

Além de dados demográficos como idade, sexo, escolaridade e renda familiar, o índice de massa corpórea, tabagismo passivo (exposição diária domiciliar ou laboral à poluição tabágica ambiental) e a circunferência abdominal foram coletados. Os pacientes foram questionados também quanto a possíveis experiências em algum evento causador de medo, frente ao tratamento odontológico. Em caso de resposta afirmativa, foram anotados detalhes.

A “ansiedade ao tratamento odontológico” foi medida pela MDAS (Apêndice D) validada para o português (Kanegane et al., 2003). Esta escala é composta de cinco perguntas, com cinco opções de resposta cada. Para cada resposta é dado um valor, que somados, resultam num escore, que pode variar de 5 a 25. Os pacientes que apresentaram escores de 5 a 15 não foram considerados ansiosos e aqueles que apresentaram escore 16 ou mais já apresentaram algum grau de ansiedade.

4.2.1.1 Coleta das amostras de saliva:

Antes da coleta, o paciente foi orientado a enxaguar a boca com água para remover os resíduos de alimento e beber um pouco de água para aumentar a hidratação. A coleta da saliva foi feita 15 min após o enxágue, de maneira passiva, não estimulada, da seguinte forma: o paciente inclinou sua cabeça para frente e deixou a saliva acumular na boca. A saliva então foi recolhida em um copo descartável e transferida para o frasco de armazenamento denominado Salivette® (Sarstedt Inc., Nümbrecht, Alemanha) (Figura 4.2). Este kit é composto de um tubo para centrifugação, um recipiente suspenso, um rolete de algodão e uma tampa, que se encaixam perfeitamente. O rolete de algodão foi desprezado.

Figura 4.2 - Salivette® (Sarstedt Inc.)



Fonte: O autor

Cada amostra foi tampada e etiquetada com um número que identificava o doador. As amostras obtidas foram armazenadas inicialmente em freezer de geladeira comum. A seguir foram transportadas do local de coleta até o local de armazenagem em um recipiente térmico com gelo, sendo mantidas à temperatura de -20°C até serem processadas e analisadas. Foram coletadas três amostras, a primeira no dia da entrevista, uma no dia do procedimento cirúrgico e outra no dia do pós-operatório. Todas as amostras foram coletadas no mesmo horário, com intervalos de uma semana.

Para o processamento e a análise das amostras de saliva foram utilizados kits especificamente formulados e validados para pesquisa em humanos da Salimetrics®. (Salimetrics®, LLC, Pennsylvania, USA).

4.2.1.2 Dosagem de cortisol salivar:

A dosagem do nível de cortisol salivar foi feita através do *High Sensitivity Salivary Cortisol Enzyme Immunoassay Kit*. O kit foi mantido em refrigerador (entre 2° e 8°C) até antes do seu uso. O teste é realizado em uma microplaca revestida com anticorpos monoclonais para cortisol. O cortisol em concentrações padrão e desconhecidas competem com o cortisol ligado a peroxidase de rábano pelos sítios de ligação dos anticorpos. Após a incubação, componentes livres são

completamente removidos. O cortisol ligado à peroxidase é medido por meio da reação da enzima peroxidase sobre o substrato tetrametilbenzidina. Esta reação produz uma cor azul. A cor muda para amarelo depois da interrupção da reação com ácido sulfúrico. A densidade óptica é analisada em um leitor de microplaca padrão a 450nm. A quantidade de cortisol ligado à peroxidase detectada, medida pela intensidade da cor, é inversamente proporcional à quantidade de cortisol presente.

4.2.1.3 *Dosagem de α -amilase salivar:*

A dosagem da α -amilase foi feita através do *Salivary α -amylase kit* (Salimetrics®, LLC, Pennsylvania, USA) especialmente projetado e validado para a medição cinética da atividade da enzima. O teste utiliza um substrato cromogênico, 2-cloro-p-nitrofenol ligado a maltotriose. A ação enzimática da α -amilase sobre este substrato libera o 2-cloro-p-nitrofenol, que pode ser medido espectrofotometricamente a 405nm. A quantidade de atividade de α -amilase presente na amostra é diretamente proporcional ao aumento na absorbância à 405nm. A mensuração do cortisol e da α -amilase foi realizada no laboratório da Science Pro Ltda (São Caetano do sul – SP), de acordo com as instruções fornecidas pelo fabricante dos kits adquiridos.

4.2.1.4 *Avaliação cardiovascular:*

Os pacientes permaneceram 20 min em repouso, na posição sentada. Após esse período, foi colocada a cinta torácica ajustável do frequencímetro de pulso Polar® rs800cx (Polar® ElectroÖy, Kempele, Finland), na altura do quarto espaço intercostal (Figura 4.3). Os dados obtidos pelo frequencímetro foram transferidos para o *software Polar® ProTrainer 5* (PPT-5) que acompanha o frequencímetro através do sensor infravermelho. O *software* PPT-5 contém um algoritmo automático de filtragem e interpolação de intervalos RR. As séries de batimentos cardíacos foram corrigidas para eliminação de artefatos e batimentos aberrantes através do

recurso automático de filtragem nas configurações padrão. Após o procedimento automático de filtragem de ruídos e batimentos precoces, as séries temporais de frequências cardíacas instantâneas (tacogramas) foram submetidas à análise visual para remoção (ferramenta de recorte) de eventuais extra-sístoles remanescentes. As sequências de intervalos RR normais (intervalos NN) foram então exportadas do software PPT-5 como arquivos de texto e importadas pelo programa *Kubios HRV Analysis Software v2.1* (Biomedical Signal Analysis Group; Department of Applied Physics, University of Kuopio, Finland) para o processamento automático da VFC conforme recomendado pela *European Society of Cardiology* e *North American Society of Pacing and Electrophysiology* (1996). Foram analisadas as variáveis do domínio do tempo (SDNN e rMSSD) e o balanço simpato-vagal, definido como a razão entre as formas normalizadas das variáveis de frequência LF e HF.

Figura 4.3 - Frequencímetro de pulso Polar® RS800cx (Polar® ElectroÖy, Kemple, Finland)



Fonte: www.polar.com

4.2.1.5 Avaliação analógica de dor:

Foi aplicada a escala visual analógica (EVA) para avaliação de dor no pós-operatório, uma semana após o procedimento cirúrgico.

4.2.2 Cirurgia (dia 2):

No dia do procedimento cirúrgico (uma semana após a triagem), antes do início da coleta de dados, os voluntários permaneceram 20 min em repouso. Novamente, foram colhidos saliva e os dados para análise da VFC.

As cirurgias de exodontia de terceiros molares inferiores foram sempre iniciadas às 9h00 da manhã, sempre pelo mesmo cirurgião-dentista. O paciente foi colocado na posição sentada na cadeira odontológica semi-reclinada a 45° durante todo monitoramento.

Os registros do frequencímetro foram adquiridos ao longo da cirurgia até 20 min após o término da mesma.

Os procedimentos de antissepsia extra e intraoral foram realizados com digluconato de clorexidina a 2% e 0,12%, respectivamente. Em seguida, todos os passos de paramentação cirúrgica e cuidados para manter a cadeia asséptica no campo operatório foram seguidos.

O procedimento iniciou-se pela anestesia por bloqueio pterigomandibular com 2 tubetes (1,8 mL cada) de cloridrato de mepivacaína a 2% com norepinefrina 1:100.000 (Mepinor 2% DFL®). Quando necessário, foi feita complementação anestésica. A velocidade de injeção foi de aproximadamente 1,0 ml/min, assim cada tubete foi injetado num intervalo de aproximadamente 2 min, evitando-se, desta forma, dor excessiva que pudesse levar o paciente ao estresse. Utilizaram-se, para reduzir o risco de injeção intravascular, seringas carpules com dispositivo para aspiração.

A sequência cirúrgica foi de incisão e sindesmotomia, luxação, avulsão, curetagem do alvéolo e sutura.

4.2.3 Pós-operatório (dia 3):

Uma semana após o procedimento cirúrgico, o paciente retornou à Clínica de Pesquisa do Departamento de Estomatologia, às 9h00, para avaliação pós-

operatória, nova coleta de dados e remoção da sutura. Nesse momento, foi aplicada a EVA para avaliação de dor no pós-operatório (Apêndice E).

4.2.4 Métodos Estatísticos:

Os dados sóciodemográficos e antropométricos da população estudada foram submetidos à análise estatística descritiva. Variáveis qualitativas e categóricas foram expressas em números absolutos e porcentagens. Variáveis contínuas, por médias e desvio-padrão – quando de distribuição normal – ou mediana e intervalo interquartil, se distribuição assimétrica.

Para comparação de valores e variáveis contínuas entre grupos, foi realizado teste Mann-Whitney.

Para análise exploratória das possíveis correlações entre as variáveis demográficas (gênero, idade, presença de ansiedade ou histórico de evento traumático) e intensidade de dor pós-operatória foram realizados testes de correlação, conforme a distribuição.

As variáveis de medidas repetidas foram estudadas com teste por ANOVA e teste Tukey.

Foi adotado o valor de $p < 0,05$ para significância estatística. Foi utilizado o programa IBM SPSS v.20.0 para Windows® (IBM Corporation, Armonk, NY, EUA).

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO ESTUDADA

Trinta e três pacientes foram recrutados e ingressaram no protocolo de pesquisa. Desses, dois não compareceram à segunda consulta (cirurgia) e um não retornou à avaliação pós-operatória, perfazendo um total de 30 pacientes com registros completos. A mediana da idade dos voluntários foi de 23 anos, sendo 18 dos pacientes (54,5%) do sexo feminino (Tabela 5.1). Quanto à caracterização demográfica da população, trata-se de uma amostra de indivíduos jovens e de elevado nível educacional (Figuras 5.1 e 5.2). Nota-se ainda um perfil socioeconômico elevado, com mais de 50% da amostra estudada apresentando renda familiar acima de R\$ 5.000,00 (figura 5.3).

As demais características antropométricas e variáveis clínicas coletadas na avaliação inicial encontravam-se dentro dos limites da normalidade. A prevalência de ansiedade ao tratamento odontológico, definida pela pontuação igual ou superior a 16 na escala MDAS, foi baixa (4 voluntários), assim como também foi pouco descrita a experiência traumática prévia no cenário de atendimento odontológico (4 pacientes). Um voluntário apresentou o registro concomitante de ansiedade e antecedente de experiência traumática, como descrito no diagrama da figura 5.4.

Tabela - 5.1 - Características demográficas, antropométricas e clínicas da população estudada (n=30)

Variáveis	Valores
Idade (anos), mediana (IQ 25-75%)	23 (21 - 31)
Sexo feminino, n (%)	18 (54,5%)
Peso (Kg), média ± DP	65,16 ± 12,80
Altura (m), média ± DP	1,68 ± 0,098
IMC, média ± DP	23,06 ± 3,69
Circunferência Abdominal (cm), média ± DP	79,97 ± 11,02
Tabagismo Passivo, n (%)	11 (33%)
Evento Traumático Prévio, n (%)	4 (12,1%)
Ansiedade ao tratamento odontológico*, n (%)	4 (12,1%)
MDAS [#] , mediana (IQ 25-75%)	9 (7-12,5)
Cortisol salivar (µg/dL), mediana (IQ 25-75%)	0,175 (0,115 - 0,265)
α-amilase salivar (U/mL), mediana (IQ 25-75%)	148,55 (58,3 - 250,77)
SDNN (ms), mediana (IQ 25-75%)	124 (79 - 168)
rMSSD (ms), mediana (IQ 25-75%)	79 (36 - 85)
LF/HF, mediana (IQ 25-75%)	2,21(1,20-2,59)

Legenda:

DP: desvio padrão

IQ 25-75%: intervalo interquartil

MDAS: Modified Dental Anxiety Scale

#: hashtags para organização de conteúdos

IMC: Índice de Massa Corpórea

* definida como MDAS ≥16

SDNN: *standard deviation of the NN intervals*

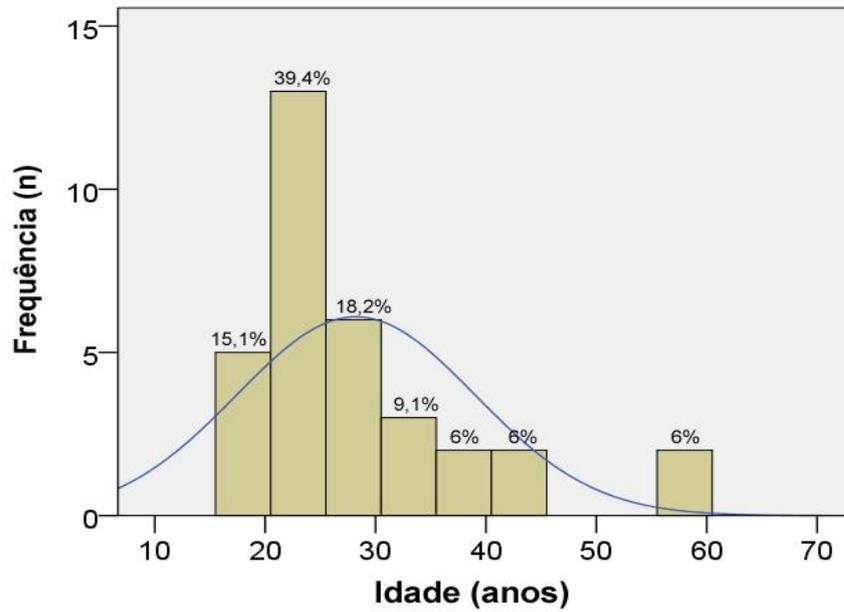
rMSSD: *root mean square successive difference*

LF: *low frequency*

HF: *high frequency*

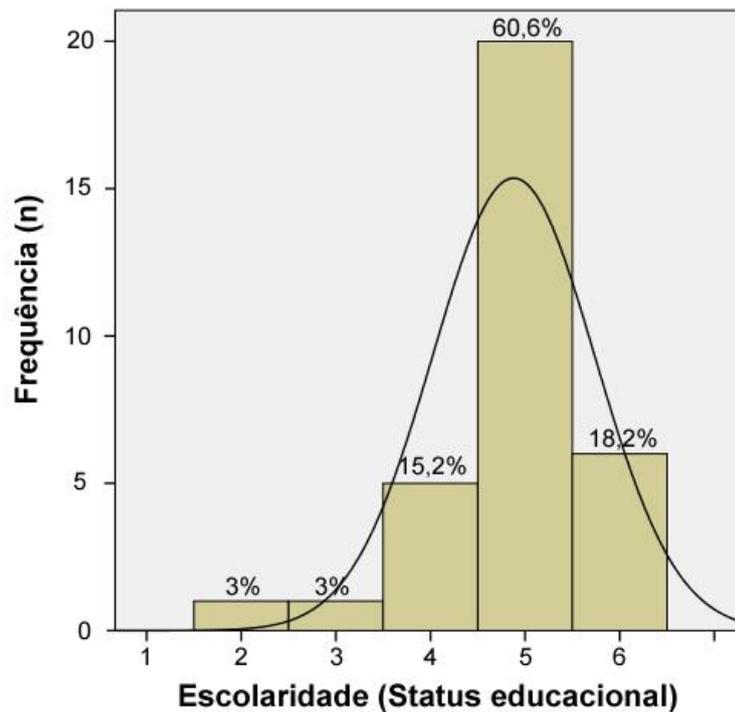
Fonte: O autor

Figura 5.1 - Histograma de distribuição de idade dos voluntários, conforme frequência



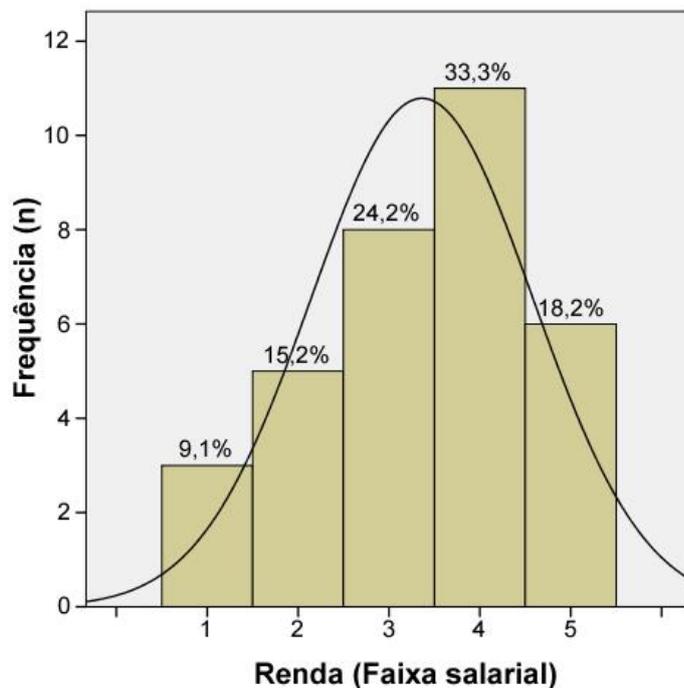
Fonte: O autor

Figura 5.2 - Histograma de distribuição da escolaridade dos voluntários, conforme frequência das faixas. Legenda: Status Educacional: 1 (fundamental incompleto), 2 (fundamental completo), 3 (médio incompleto), 4 (médio completo), 5 (superior incompleto), 6 (superior completo)



Fonte: O autor

Figura 5.3 - Histograma de distribuição faixas de renda familiar dos voluntários, conforme frequência. Legenda: Renda (faixa salarial): 1 (até R\$500,00), 2 (de R\$501,00 a R\$1.500,00), 3 (de R\$1.501,00 até R\$3.000,00), 4 (de R\$3.001,00 até R\$5.000,00), 5 (Mais de R\$5.000,00)



Fonte: O autor

Figura 5.4 - Prevalência de ansiedade e antecedente de experiência traumática no consultório odontológico, diagrama de Venn

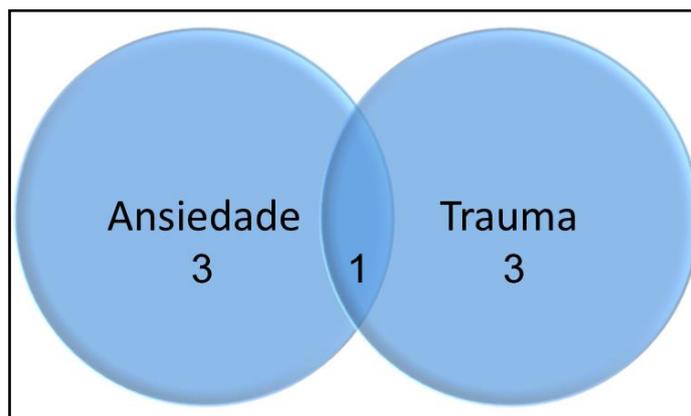


Figura: O autor

Quanto à exploração da amostra em relação às possíveis diferenças entre os sexos, nota-se que não houve diferença estatisticamente significativa nas

pontuações das escalas MDAS e EVA para ansiedade e dor, respectivamente (Tabela 5.2).

Tabela 5.2 - Escala MDAS de ansiedade e Escala EVA de dor no pós-operatório, conforme o sexo

	Feminino n=18	Masculino n=12	p*
Escala EVA de Dor (cm), mediana (IQ 25-75%)	2 (0 - 4)	1 (0 - 2)	0,215
Escala MDAS de Ansiedade, mediana (IQ 25-75%)	9 (6,75-10)	8 (7 - 13)	0,580

Legenda:

* teste Mann-Whitney

Fonte: O autor

O antecedente de experiência traumática prévia no ambiente odontológico não esteve associado a maiores relatos de dor no pós-operatório, como pode ser observado na tabela 5.3.

Tabela 5.3 - Escala EVA de dor, conforme antecedente de experiência traumática e/ou ansiedade em ambiente odontológico

	Sim** n=6	Não*** n=24	p*
Escala EVA de Dor (cm), mediana (IQ 25-75%)	2 (0,75-3,25)	0,5 (0-3)	0,254

Legenda:

* teste Mann-Whitney

** Ansiosos e/ou com experiência traumática prévia

*** Não-ansiosos e/ou sem antecedente de experiência traumática

Fonte: O autor

Ao analisar as correlações entre as variáveis sócio-demográficas, antropométricas e os valores das escalas de ansiedade (MDAS) e dor (EVA), nota-se que não houve correlação estatisticamente significativa entre ansiedade e dor com as demais variáveis estudadas (Tabela 5.4). O achado de coeficiente de correlação negativo entre as variáveis MDAS e renda familiar, pode expressar uma associação que, embora fraca (coeficiente=-0,349; p=0,047), sinalize uma tendência

de se observarem maiores valores da escala MDAS entre voluntários de menor renda. Da mesma forma, a renda esteve positiva e fracamente correlacionada (coeficiente=0,345; $p=0,049$) à escolaridade, evidenciando uma tendência de observação de maiores faixas de renda entre os voluntários de estratos educacionais mais altos. Correlações positivas também foram encontradas entre a idade, IMC e circunferência abdominal, tomadas duas a duas.

Observou-se também uma tendência de achado de maiores valores de IMC entre voluntários de menor renda. Outro achado com significância estatística foi a correlação (fraca e negativa) entre idade e renda.

Tabela 5.4 - Correlação entre as variáveis demográficas e antropométricas e escalas de dor e ansiedade, teste de Spearman

		Idade	CAb	IMC	MDAS	EVA	Escolaridade	Renda
Idade	Coeficiente Correlação	1	0,348	0,372	0,203	-0,276	-0,099	-0,396
	Significância	.	0,047	0,033	0,256	0,14	0,583	0,022
CAb	Coeficiente Correlação		1	0,586	0,125	-0,043	-0,2	-0,115
	Significância		.	0	0,488	0,823	0,266	0,524
IMC	Coeficiente Correlação			1	0,178	0,021	-0,322	-0,352
	Significância			.	0,323	0,912	0,067	0,045
MDAS	Coeficiente Correlação				1	0,093	-0,084	-0,349
	Significância				.	0,626	0,641	0,047
EVA	Coeficiente Correlação					1	-0,185	0,122
	Significância					.	0,328	0,52
Escolaridade	Coeficiente Correlação						1	0,345
	Significância						.	0,049
Renda	Coeficiente Correlação							1
	Significância							.

Legenda:

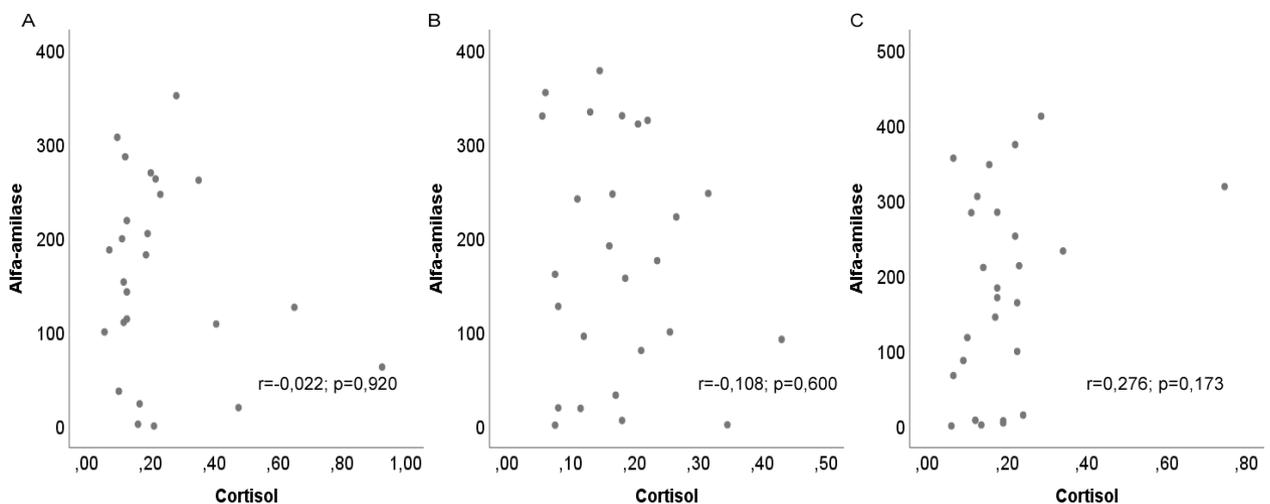
CAb: Circunferência abdominal

Fonte: O autor

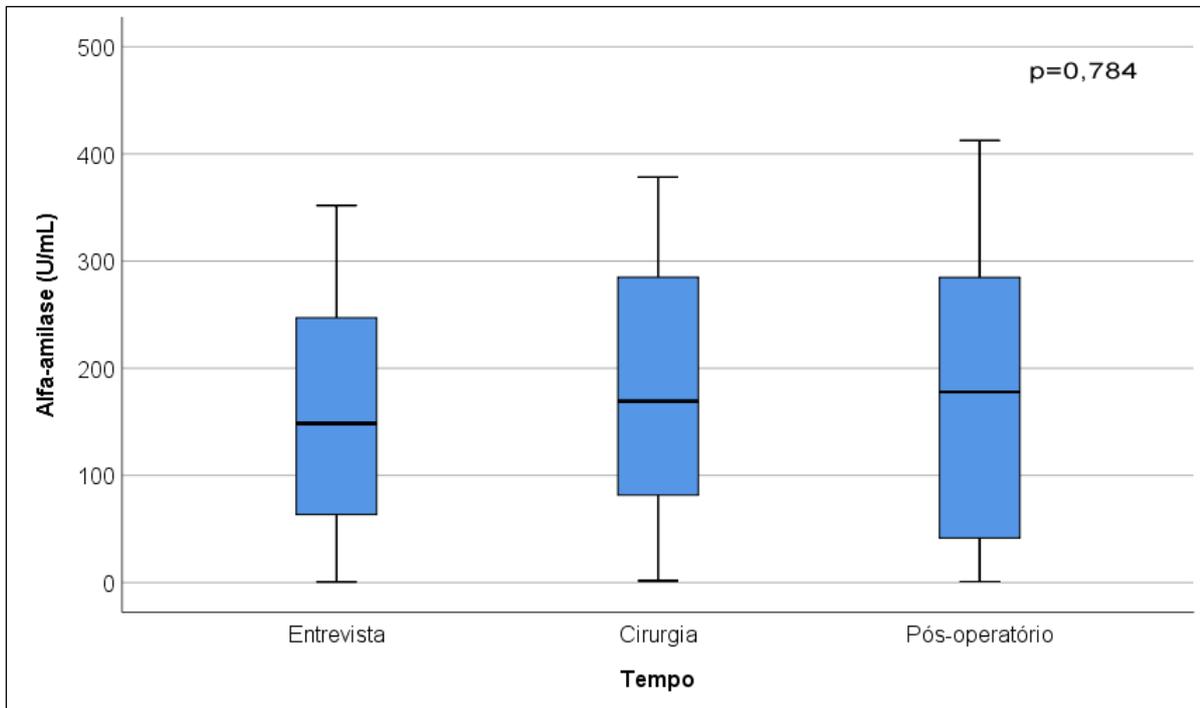
5.2 AVALIAÇÃO DO CORTISOL E ALFA-AMILASE SALIVAR

A coleta da saliva foi feita em três momentos: uma semana antes da cirurgia (entrevista), no dia da cirurgia (cirurgia), e uma semana após a cirurgia (pós-operatório). Foram excluídas três amostras de cortisol de dois pacientes, pois não foi possível realizar as análises. Não foram evidenciadas diferenças estatisticamente significativas nas medidas das concentrações de α -amilase e cortisol salivares ao longo das três coletas (Figuras 5.5 e 5.6). Adicionalmente foram avaliados os coeficientes de correlação (Teste de Pearson) entre os valores de concentrações salivares de α -amilase e cortisol em cada dia de coleta. Em nenhum dos momentos estudados foi evidenciada linearidade entre esses dois biomarcadores (Figura 5.7).

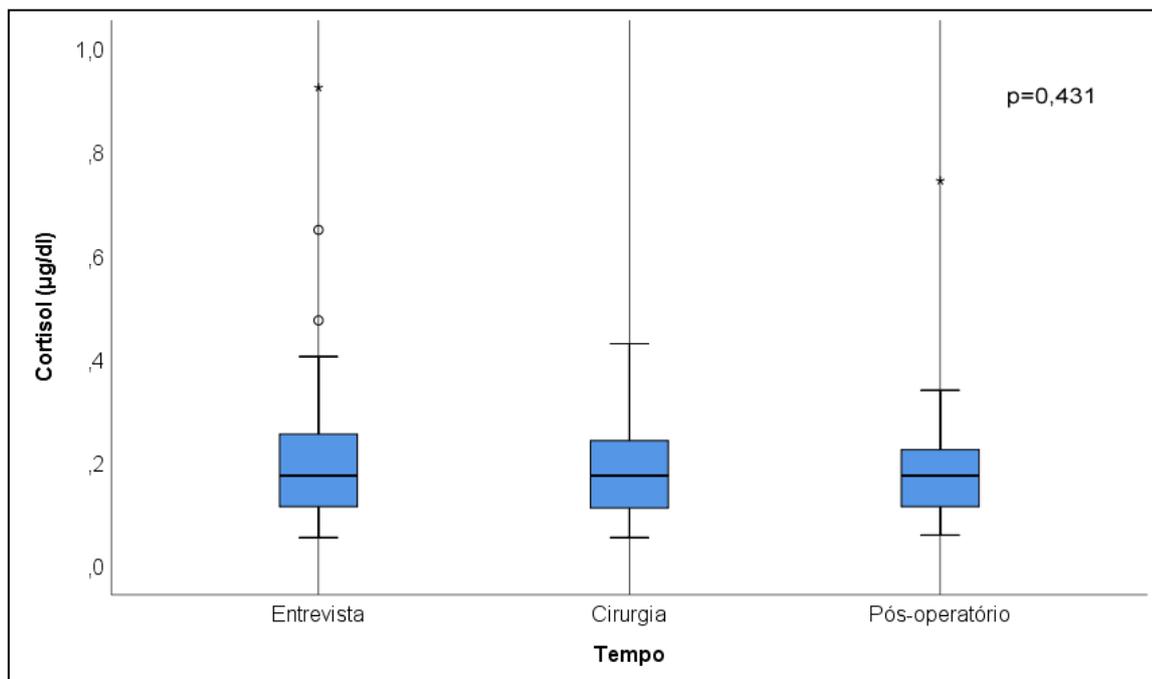
Figura 5.5 - Correlação entre as variáveis α -amilase e cortisol ao longo das medidas realizadas nos três dias do protocolo (dia 1: Entrevista, dia 2: Cirurgia e dia 3: Pós-operatório), Teste de Pearson



Fonte: O autor

Figura 5.6 - Concentrações de α -amilase (U/mL) ao longo dos três dias de coleta

Fonte: O autor

Figura 5.7 - Concentrações de cortisol ($\mu\text{g}/\text{dL}$) ao longo dos três dias de coleta

Fonte: O autor

A análise exploratória das possíveis diferenças entre as concentrações medianas basais de α -amilase e cortisol entre voluntários classificados como “ansiosos” (valores de MDAS superiores a 15) ou “não-ansiosos” não foi possível pela representação exígua de voluntários (n=3) com valores de MDAS iguais ou superiores a 16. Assim sendo, uma análise de subgrupos do comportamento evolutivo desses biomarcadores ao longo das três coletas estratificada pela presença de ansiedade não foi tecnicamente factível. Adotando-se como critério de estratificação a presença de ansiedade ou a experiência prévia de algum evento traumático (n=6), foram analisadas as correlações entre a presença deste fator, as concentrações de α -amilase e cortisol e as variáveis da VFC no primeiro dia do protocolo (Tabela 5.5); nos dias da cirurgia e retirada dos pontos, também foram avaliadas as correlações entre as concentrações de α -amilase, cortisol e as variáveis da VFC (Tabelas 5.6 e 5.7).

Tabela 5.5 - Correlação entre as variáveis α -amilase, cortisol, SDNN, rMSSD, LF/HF e “Trauma ou ansiedade”, entrevista

		α -amilase	Cortisol	SDNN	rMSSD	LF/HF	Trauma ou Ansiedade
α -amilase	Coefficiente Correlação	1,000	0,086	0,051	0,109	-0,068	-0,028
	Significância	.	0,675	0,803	0,597	0,740	0,890
Cortisol	Coefficiente Correlação		1,000	-0,190	-0,091	0,142	0,243
	Significância			0,315	0,633	0,455	0,196
SDNN	Coefficiente Correlação			1,000	0,571	-0,311	-0,150
	Significância				0,001	0,094	0,429
rMSSD	Coefficiente Correlação				1,000	-0,405	0,041
	Significância					0,026	0,828
LF/HF	Coefficiente Correlação					1,000	-0,393
	Significância						0,032
Trauma ou Ansiedade	Coefficiente Correlação						1,000
	Significância						

Fonte: O autor

No dia da entrevista, não houve correlação estatisticamente significativa entre concentrações de α -amilase e cortisol entre si ou com o antecedente de "ansiedade ou evento traumático prévio". A α -amilase e cortisol também não se correlacionaram com valores das variáveis de VFC.

Tabela 5.6 - Correlação entre as variáveis α -amilase, cortisol, SDNN, rMSSD, LF/HF e "Trauma ou ansiedade", cirurgia

		α -amilase	Cortisol	SDNN	rMSSD	LF/HF	Trauma ou Ansiedade
α -amilase	Coefficiente Correlação	1,000	-0,117	0,058	-0,115	0,084	0,022
	Significância	.	0,555	0,769	0,560	0,671	0,915
cortisol	Coefficiente Correlação		1,000	-0,166	0,313	-0,170	0,431
	Significância		.	0,382	0,092	0,369	0,018
SDNN	Coefficiente Correlação			1,000	0,379	-0,117	-0,073
	Significância			.	0,039	0,538	0,700
rMSSD	Coefficiente Correlação				1,000	-0,433	0,092
	Significância				.	0,017	0,628
LF/HF	Coefficiente Correlação					1,000	-0,309
	Significância					.	0,097
Trauma ou Ansiedade	Coefficiente Correlação						1,000
	Significância						.

Fonte: O autor

No dia da cirurgia, não houve correlação estatisticamente significativa entre as concentrações de α -amilase e cortisol entre si ou com os valores das variáveis de VFC.

Tabela 5.7 - Correlação entre as variáveis α -amilase, cortisol, SDNN, rMSSD, LF/HF e “Trauma ou ansiedade”, pós-operatório

		α -amilase	Cortisol	SDNN	rMSSD	LF/HF	Trauma ou Ansiedade
α -amilase	Coefficiente Correlação	1,000	0,438	-0,078	-0,210	0,167	-0,028
	Significância		0,020	0,698	0,294	0,405	0,890
cortisol	Coefficiente Correlação		1,000	-0,031	-0,041	-0,338	0,243
	Significância			0,874	0,833	0,073	0,195
SDNN	Coefficiente Correlação			1,000	0,707	-0,340	-0,150
	Significância				0,000	0,071	0,429
rMSSD	Coefficiente Correlação				1,000	-0,317	0,041
	Significância					0,094	0,828
LF/HF	Coefficiente Correlação					1,000	-0,393
	Significância						0,032
Trauma ou Ansiedade	Coefficiente Correlação						1,000
	Significância						

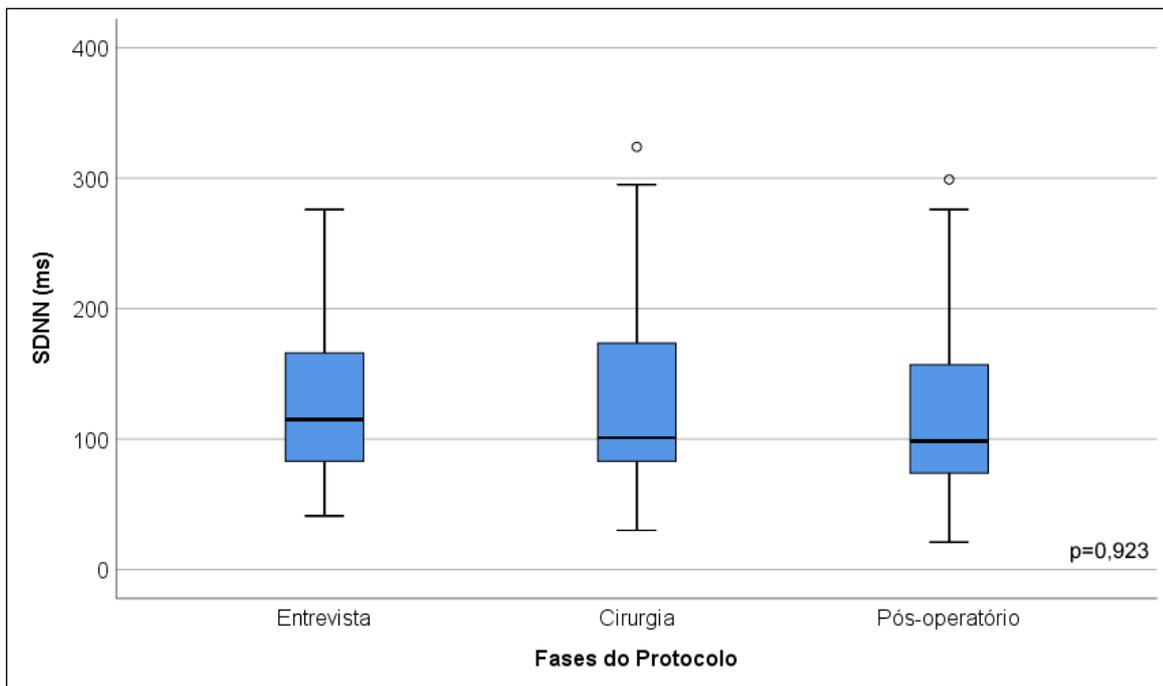
Fonte: O autor

No dia do pós-operatório, houve uma correlação direta ($r=0,438$; $p=0,020$) entre a concentração de α -amilase e cortisol, ainda que fraca. Não houve correlação estatisticamente significativa entre as concentrações de α -amilase e cortisol com os valores das variáveis de VFC.

5.3 AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO EVOLUTIVO DA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA (VFC)

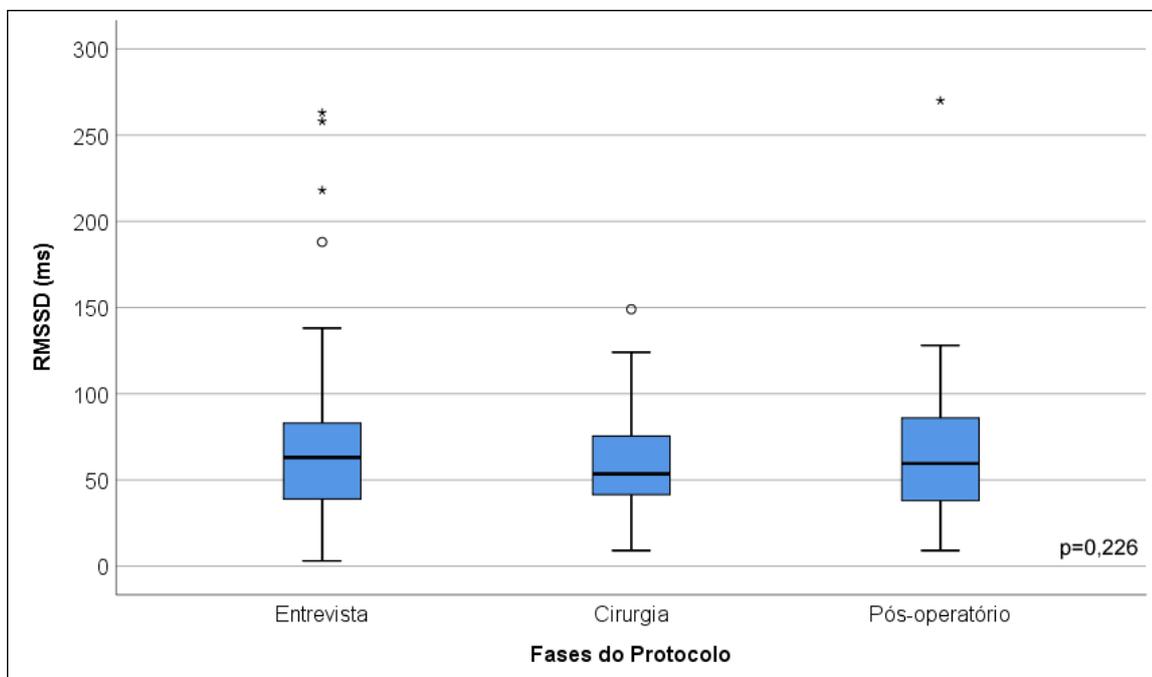
As variáveis estudadas da VFC no período pré-procedimento de cada um dos três dias do protocolo não expressaram alteração evolutiva com significância estatística (Figuras 5.8, 5.9 e 5.10).

Figura 5.8 - Valores de SDNN, medidas repetidas. Teste para diferenças por ANOVA



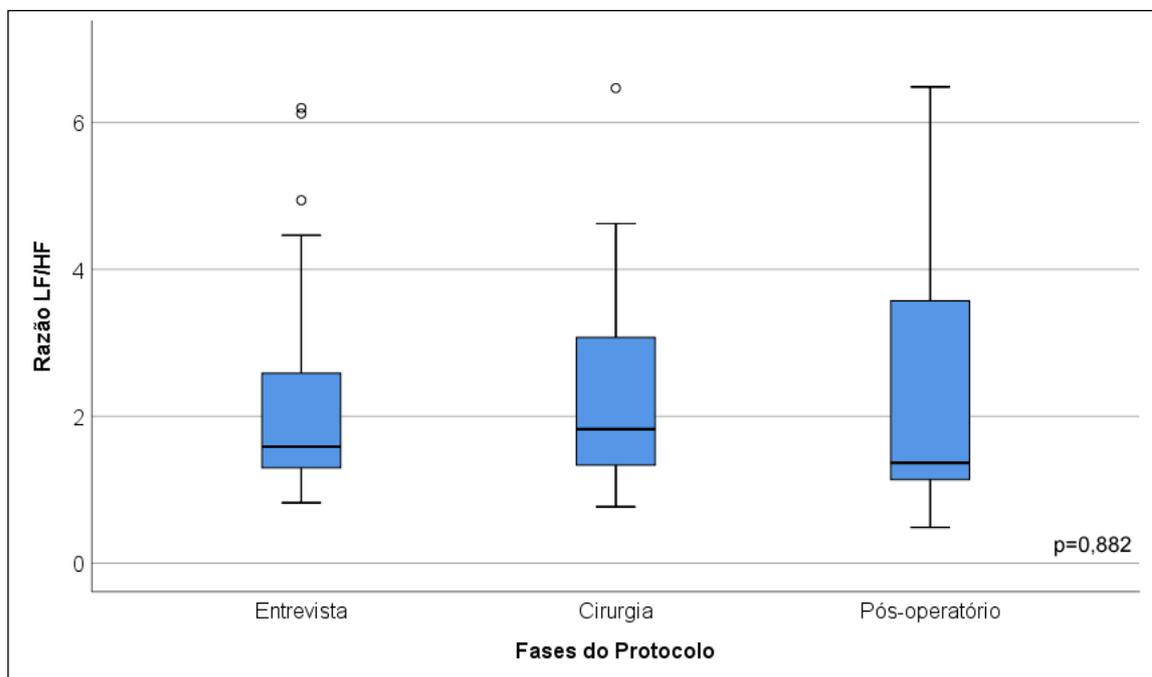
Fonte: O autor

Figura 5.9 - Valores de rMSSD, medidas repetidas. Teste para diferenças por ANOVA



Fonte: O autor

Figura 5.10 - Valores de LF/HF, medidas repetidas. Teste para diferenças por ANOVA



Fonte: O autor

5.4 ANÁLISES *POST-HOC* DE SUBGRUPOS NAS CONDIÇÕES BASAIS DE VFC, CONFORME VARIÁVEIS DE CONTRASTE IDADE, SEXO, EXPOSIÇÃO DOMICILIAR À POLUIÇÃO TABÁGICA AMBIENTAL (PTA) E ANSIEDADE E/OU ANTECEDENTE DE EVENTO TRAUMÁTICO

Na exploração de possíveis contrastes das condições basais entre subgrupos conforme faixas etárias (acima *versus* \leq à mediana), não foram observadas diferenças estatisticamente significativas nos valores das concentrações de cortisol e das variáveis de VFC, enquanto a concentração de α -amilase mostrou-se

significativamente mais elevada no estrato da amostra com idade superior à mediana. (Tabela 5.8).

Tabela 5.8 - Valores basais de cortisol, de α -amilase e de VFC dos voluntários, conforme idade

	\leq mediana	>mediana	
	n=14	n=16	P
α-amilase (U/ml) , mediana (IQ 25-75%)	111 (50-171)	205 (140-275)	0,028 [#]
Cortisol (μg/dL) , mediana (IQ 25-75%)	0,125 (0,105-0,230)	0,200 (0,115-0,280)	0,988 [#]
SDNN (ms) mediana (IQ 25-75%)	118 (84-168)	113(67-168)	0,827 [#]
rMSSD (ms) mediana (IQ 25-75%)	68(40-130)	60(31-78)	0,296 [#]
LF/HF mediana (IQ 25-75%)	1,56 (1,10-2,40)	1,66(1,40-3,09)	0,972 [#]

Legenda: [#]Teste Mann-Whitney

Fonte: O autor

Em relação ao sexo, os voluntários diferiram nas condições basais quanto ao SDNN ($p=0,015$), maior entre os indivíduos do sexo masculino (Tabela 5.9). A concentração de α -amilase também foi maior entre os homens. Em relação às

demais variáveis avaliadas, os dois subgrupos não apresentaram diferenças estatisticamente significativas.

Tabela 5.9 - Valores basais de cortisol, de α -amilase e de VFC dos voluntários, conforme sexo

	Homens	Mulheres	
	n=15	n=18	P
α-amilase (U/mL) , mediana (IQ 25-75%)	233 (120-282)	112 (33-184)	0,009 [#]
Cortisol (μg/dL) , mediana (IQ 25-75%)	0,162 (0,110-0,243)	0,162 (0,106-0,267)	0,531 [#]
SDNN (ms) mediana (IQ 25-75%)	129 (111 - 172)	88,50 (60,75 - 125)	0,015 [#]
rMSSD (ms) mediana (IQ 25-75%)	62 (39 - 112)	63 (28,25 - 79,75)	0,532 [#]
LF/HF mediana (IQ 25-75%)	1,56 (1,06 - 2,58)	1,75 (1,30 - 4,35)	0,307 [#]

Legenda: [#]Teste Mann-Whitney

Fonte: O autor

Quanto ao antecedente de tabagismo passivo (exposição domiciliar à poluição tabágica ambiental), notamos valores significativamente maiores na concentração de

alfa-amilase entre os expostos, comparados aos não expostos. As demais variáveis não apresentaram diferenças entre os grupos (Tabela 5.10).

Tabela 5.10 - Valores basais de cortisol, de α -amilase e de VFC dos voluntários, conforme exposição à poluição tabágica ambiental (PTA) domiciliar

	Não-expostos	Expostos	
	n=19	n=11	P
α-amilase (U/mL) , mediana (IQ 25-75%)	111 (50-191)	247 (171-297)	0,017 [#]
Cortisol (μg/dL) , mediana (IQ 25-75%)	0,125 (0,101-0,205)	0,275 (0,211-0,363)	0,093 [#]
SDNN (ms) mediana (IQ 25-75%)	97(64-167)	129(107-172)	0,382 [#]
rMSSD (ms) mediana (IQ 25-75%)	63(29-96)	62(55-83)	0,966 [#]
LF/HF mediana (IQ 25-75%)	1,57(1,11-2,31)	1,81(1,40-3,26)	0,827 [#]

Legenda: [#] Teste Mann-Whitney

Fonte: O autor

Discriminando os voluntários quanto ao antecedente de ansiedade (MDAS \geq 16) e/ou experiência traumática no ambiente odontológico, em contraste aos não

ansiosos e sem experiência traumática prévia, não se notou diferença estatisticamente significativa entre os grupos quanto às variáveis analisadas (Tabela 5.11), à exceção da α -amilase, mais elevada entre aqueles voluntários que tiveram MDAS>15 ou relataram experiências prévias traumáticas em relação ao tratamento odontológico, mas novamente fazendo-se a ressalva de que os subgrupos eram bastante assimétricos.

Tabela 5.11 - Características basais de VFC dos voluntários, conforme antecedente de experiência traumática e/ou ansiedade

	Não Ansiosos/trauma	Ansiosos/trauma	
	n=24	n=6	p
α-amilase (U/mL) , mediana (IQ 25-75%)	119 (44-204)	255 (144-279)	0,039 [#]
Cortisol (μg/dL) , mediana (IQ 25-75%)	0,177 (0,114-0,233)	0,117 (0,104-0,311)	0,693 [#]
SDNN (ms) mediana (IQ 25-75%)	118(82-171)	98(49-149)	0,585 [#]
rMSSD (ms) mediana (IQ 25-75%)	62(37-94)	63(26-83)	0,931 [#]
LF/HF mediana (IQ 25-75%)	1,63(1,30-2,76)	1,31(0,87-2,03)	0,717 [#]

Legenda: [#] Teste Mann-Whitney

Fonte:O autor

6 DISCUSSÃO

O presente estudo apresentou uma abordagem exploratória das complexas interações entre biomarcadores não-invasivos da resposta fisiológica ao estresse psicológico no cenário de intervenções cirúrgicas odontológicas. Frente às investigações já endereçadas por estudos prévios sobre segurança cardiovascular de anestésicos locais, vasoconstritores e procedimentos cirúrgicos orais, a lacuna neste campo específico do conhecimento é a incorporação de novos métodos diagnósticos que atendam às necessidades de exequibilidade num cenário de baixa complexidade e suficiente acurácia diagnóstica. Neste sentido, avaliar as possíveis relações entre biomarcadores salivares da reação ao estresse pode, em conjunto com o estudo da VFC, adentrar as complexas interações entre as percepções e interpretações cognitivas dos estímulos do ambiente – e mesmo da ansiedade antecipatória de uma determinada experiência – e as respostas orgânicas mediadas pelo SNA e outras vias efetoras.

Ocorre que a avaliação direta da atividade do SNA demandaria procedimentos bastante complexos e de implementação inviável no ambiente cirúrgico odontológico, como a micro-eletroneurografia, a dosagem seriada de catecolaminas e metanefrinas plasmáticas e a cintilografia miocárdica com I-meta-iodobenzilguanidina (MIBG) (Perrone-Filardi et al., 2011; Barbosa et al., 2012; Asahina et al., 2013). Mesmo alguns testes não-invasivos de menor complexidade, como o teste de inclinação (*tilt-table test*) e a manobra de Valsalva (Weimer, 2010) demandariam certa estrutura, além da dificuldade de conciliação com a posição e imobilidade exigidas do paciente durante a cirurgia odontológica. Assim sendo, a proposição de uma metodologia já consagrada na análise de manifestações dinâmicas do SNA – e de predição de eventos adversos cardiovasculares – como é o caso da VFC, pode atender aos propósitos investigativos de manifestações precoces ou discretas de respostas fisiológicas ao estresse evocado pela antecipação de procedimentos anestésicos e cirúrgicos (Mazzeo et al., 2011).

A medida da α -amilase e do cortisol salivares, por sua vez, concomitantemente ao registro da VFC, poderia evidenciar pacientes com padrão de reatividade maior, auxiliando na estratificação de risco de eventos adversos

cardiovasculares ou mesmo guiando estratégias dirigidas ao manejo da ansiedade em subgrupos específicos.

Sobre a escolha de monitores portáteis de frequência cardíaca (frequencímetros de pulso) como dispositivos de registro de séries temporais de frequência cardíaca destinadas à análise da VFC, sua justificativa encontra fundamentação na busca por métodos menos dispendiosos e de operação mais simplificada que o Holter-ECG, considerado o método padrão-ouro para a avaliação da VFC. Neste aspecto, autores já realizaram estudos para validação desses frequencímetros comercialmente disponíveis, encontrando resultados suficientes à assunção de intercambialidade desses aparatos com o Holter-ECG.

Gamelin et al. (2006), num estudo com 18 voluntários saudáveis e fisicamente ativos do sexo masculino, demonstraram alta correlação ($r=0,99$; $p<0,001$) entre os registros de intervalos RR colhidos através do frequencímetro Polar S810 e o eletrocardiógrafo Physiotrace (Estaris, Lille, France). Com este mesmo intuito, Vanderlei et al. (2008) confirmaram a validação do frequencímetro Polar S810 na coleta de dados de séries de intervalos RR no repouso e exercício em 15 voluntários saudáveis e jovens.

A avaliação não-invasiva das concentrações salivares de cortisol e α -amilase, biomarcadores que refletem respectivamente a ativação dos eixos hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) e simpático-adreno-medular (SAM) (Kennedy et al., 2001; Hellhammer et al., 2009; Ali; Pruessner, 2012) foi também motivada pelo fato de ambos terem alta consistência intraindividual em medidas matinais de repouso (medidas de despertar basais), servindo portanto de forma interessante à avaliação da introdução de variáveis externas sobre a homeostase dos eixos HHA e SAM (Clow et al., 2004; Wolf et al., 2008).

O cortisol é um hormônio esteróide e um importante membro da família dos glicocorticóides. É secretado pelo córtex suprarrenal, via eixo HHA e aumenta em resposta a estressores externos, ansiedade, estados depressivos e exercício físico intenso (Papacosta; Nassis, 2011).

A α -amilase salivar é a enzima dominante na saliva e secreção pancreática, responsável pela hidrólise do amido e do glicogênio em maltose. (Scannapieco et al., 1994). Similarmente ao cortisol, a α -amilase salivar também tem sido proposta como um biomarcador do estresse e da atividade do sistema nervoso simpático. Ehlert et al, (2006) mostraram aumento da atividade simpática através de aumentos

significativos na atividade da α -amilase salivar após a injeção de ioimbina (um antagonista do receptor adrenérgico α -2). Klein et al. (2010), apoiaram esses resultados relatando aumento dos níveis salivares de amilase após o consumo de cafeína, que estimula a ativação simpática.

A mensuração das concentrações do cortisol e da α -amilase salivar pode fornecer uma referência confiável, assim como estes biomarcadores no sangue; correlações significativas positivas entre as concentrações medidas nessas duas alternativas já foram descritas por diversos autores (King; Hegadoren, 2002; Takai et al., 2004; Papacosta; Nassis, 2011). Outra característica importante da saliva reside no fato de que ela representa a concentração de esteroides livres no sangue, e, portanto a fração biologicamente ativa desses hormônios (Gozansky et al., 2005). Do ponto de vista de latência da resposta fisiológica ao estímulo, a concentração de α -amilase salivar se eleva mais rapidamente, como resultado da ação do sistema nervoso simpático sobre a redução da secreção de fluido salivar. O aumento da concentração de cortisol salivar, por sua vez, depende da elevação da concentração de cortisol no sangue, normalmente mais lenta, como é de se esperar para uma resposta endócrina (Chatterton et al., 1996; Turner; Sugiyama, 2002; Nater et al., 2005;).

Alguns autores apontam para a possibilidade de que as alterações nos níveis de α -amilase salivar são um indicador mais preciso da resposta de um indivíduo ao estresse em comparação com as do cortisol, devido à maior sensibilidade e precocidade de resposta do SNA, comparado à complexa dinâmica do eixo hormonal HHA (Allwood et al., 2011).

Neste estudo, também foram avaliadas possíveis variáveis de confusão, como a ansiedade, medida através da escala MDAS (Kanegane et al., 2003) e o antecedente de experiências traumáticas durante atendimento odontológico. Justifica-se a escolha do registro de ansiedade e antecedente de experiências traumáticas no ambiente odontológico pelo fato de já ser conhecida a influência da antecipação emocional (medo e ansiedade) ao tratamento odontológico sobre a liberação de cortisol e catecolaminas endógenas (King; Hegadoren, 2002; Tsigos; Chrousos, 2002; Davis; Granger, 2009), o que se traduz em respostas adaptativas mensuráveis na dinâmica do SNA, da condução e ritmo cardíaco e nas variáveis hemodinâmicas. A MDAS é uma escala de fácil e rápida aplicação, que facilita sua utilização em protocolos de pesquisa. A escolha por esta escala também deveu-se à inclusão da última pergunta sobre anestesia, um dos momentos mais

reconhecidamente estressores de um procedimento cirúrgico (Kanegane et al, 2006). No entanto, esta escala não traduz o sentimento ou a condição emocional do sujeito num determinado momento, mas sim a sua percepção especificamente relacionada ao tratamento odontológico. Como se trata de um questionário há ainda a possibilidade de os pacientes adequarem sua resposta ao que imaginam ser o “esperado pelo examinador” e desta forma pode reduzir a sensibilidade de detecção de transtornos de ansiedade ou de ansiedade específica neste cenário, como discutido anteriormente por Tornelli (2011).

Da mesma forma, a exposição à poluição tabágica ambiental assumida como o convívio diário com fumante no ambiente domiciliar ou laboral, reconhecidamente relacionada a repercussões na FC e PA (Barnoya; Glantz, 2006; Dunbar et al., 2013), também foi registrada e incluída (juntamente com sexo, idade e ansiedade/experiência traumática) na descrição da amostra do estudo e nas análises de subgrupos desenvolvidas *a posteriori*.

O registro de dor no sétimo dia denominado pós-operatório (uma vez que a anestesia plena no intra-operatório era um requisito *sine qua non* para a execução do procedimento) foi uma variável coletada a fim de se flagrar pacientes potencialmente mais susceptíveis à nocicepção de procedimentos cirúrgicos ou às dimensões afetivas tardias da dor pós-operatória.

O presente estudo avaliou uma amostra consecutiva de voluntários jovens, saudáveis e de elevado nível educacional. Pelo método de recrutamento de voluntários através de avisos afixados nas unidades assistenciais da Clínica Integrada da FOU SP, pode ter havido uma tendência de maior adesão entre alunos e eventualmente pacientes já matriculados nas clínicas, entre os quais, todavia, devido ao perfil demográfico da população assistida, o preenchimento de todos os critérios de elegibilidade teria sido menos frequente. Outro possível fator determinante sobre o perfil etário da população pode ser considerado um viés intrínseco de indicação. Normalmente, os pacientes que recebem indicação para a exodontia do terceiro molar inferior são jovens, devido à falta de espaço ósseo para o dente erupcionar causando pericoronarites recorrentes (Jerjes et al., 2009), por indicação ortodôntica ou por mau posicionamento na arcada. Para os pacientes mais velhos, o motivo mais comum para esta indicação é pela interferência na oclusão, sendo necessária sua remoção para melhor reabilitação protética.

Desse modo, essa concentração da população estudada num perfil de mediana de idade nos 23 anos, pode ter também determinado a baixa prevalência de experiências traumáticas no ambiente odontológico, sobretudo ansiedade ao tratamento odontológico, afecção de prevalência maior em idades mais avançadas (Carvalho et al., 2012). Outra explicação, numa abordagem histórica, é a baixa prevalência de antecedente de doença cariosa entre jovens nascidos após os anos 1980, década de marcante aumento na fluoretação da água tratada fornecida pelas redes de abastecimento no estado de São Paulo (Alves et al., 2012). Além disso, a cirurgia de exodontia de terceiro molar costuma ser um procedimento eletivo; pacientes ansiosos geralmente evitam ou adiam a procura ao cirurgião-dentista (Maggirias; Locker, 2002; Ferreira et al., 2004), e frequentemente apresentam maior número de dentes perdidos e menos dentes restaurados (Cohen et al., 2000), o que pode dirigi-los para a procura, quando inevitável, preferencial a serviços de urgência. Sendo assim, torna-se difícil trazer pacientes com ansiedade ao tratamento odontológico para participar deste tipo de estudo, cuja dinâmica necessita que ele compareça ao menos três vezes à consulta, incluindo um procedimento cirúrgico.

Outra forma de explicar as interações que podem ter determinado a baixa prevalência de ansiedade relacionada ao atendimento odontológico na amostra estudada é que tal manifestação pode, segundo vários autores (Locker et al., 1999; Thomson et al., 2000; Kanegane et al., 2003; Eli et al., 2004), ter uma natureza reativa a um evento traumático prévio, sendo então os pacientes mais velhos, com maior probabilidade de já os terem experimentado, mais sujeitos a apresentar ansiedade ao tratamento odontológico.

Em relação ao sexo vários estudos apontaram prevalências maiores de transtornos de ansiedade nas mulheres (Corah et al., 1978; Humphris et al., 1995; Locker et al., 1996; Kanegane et al., 2003; Ferreira et al., 2004; Rodrigues et al., 2011). Neste trabalho o resultado encontrado é semelhante ao de Locker et al. (1999), onde não foi encontrada diferença entre os sexos, que pode ter acontecido devido ao pequeno número de pacientes com ansiedade, podendo não refletir a realidade geral da população.

Dada a baixa ocorrência de voluntários com escore MDAS ≥ 16 e de pacientes com evento traumático prévio, eles foram reunidos em um grupo único para as análises estatísticas (Tornelli, 2011). Pesquisas de Locker et al. (1999) e de

Eli et al. (2004) mostram que experiências condicionantes, vivenciadas ou não pelo próprio paciente, contribuem para a ansiedade ao tratamento odontológico.

A dor no sétimo dia pós-operatório foi uma queixa espontânea pouco frequente. A baixa mediana do valor da EVA tanto nos homens, quanto entre as mulheres, sem diferença estatisticamente significativa entre os sexos, pode ser atribuível à limitada magnitude do trauma cirúrgico de exodontias de terceiros molares erupcionados. Cada experiência de dor vivida tem, simplificada, sua dimensão objetiva (relacionada ao fato gerador, o estímulo nociceptivo propriamente dito) e uma dimensão subjetiva (resposta afetiva), que influenciam juntas a interpretação das experiências subsequentes (International Association for the study of Pain, 2013). De forma indissociável à experiência de dor, a ansiedade ao tratamento odontológico (e o antecedente de experiências traumáticas no consultório odontológico) poderia interferir na percepção individual da dor apontada no sétimo dia do pós-operatório, podendo inclusive evocar relatos de dor maiores do que aquele esperado pelo cirurgião (pesquisador) para o sétimo dia do pós-operatório (Rhudy; Meagher, 2000). Nessa situação hipotética, este registro de dor poderia orientar explorações de explicações para eventuais diferenças observadas nas variáveis estudadas nessa etapa tardia do procedimento.

Embora não se tenha previamente delineado uma separação dos sujeitos do protocolo em grupos, optou-se por realizar análises exploratórias visando identificar eventuais variáveis de contrastes entre os voluntários que pudessem constituir um substrato para o desenho de futuros estudos comparativos. As diferenças entre os subgrupos deverão ser entendidas, pois, como resultados geradores de hipótese.

Não foram observadas diferenças entre as variáveis estudadas na análise de subgrupos conforme o antecedente de ansiedade ou experiência traumática no consultório odontológico. Ademais, a notável heterogeneidade numérica dos grupos não permitiria maiores explorações ou ajustes.

Em relação à VFC, notou-se que tanto a idade, quanto a exposição tabágica ambiental ou o antecedente de ansiedade/evento traumático prévio não determinaram diferenças dos valores medianos conforme os subgrupos avaliados. Quando comparados os sexos, observou-se valores maiores do SDNN entre os homens, corroborando os achados da meta-análise de Nunan et al. (2010) e Sookan e Mckune (2012), que demonstraram para todas as variáveis do domínio do tempo valores ligeiramente superiores entre os homens, isso quer dizer que a VFC é mais

acentuada no sexo masculino, indicando melhor adaptação cardiovascular (tabela 5.9). do Evolutivamente, não se observaram diferenças nas variáveis da VFC quando se compararam os registros dos três dias do protocolo.

As concentrações salivares basais de α -amilase e cortisol não guardaram relação linear estatisticamente significativa entre si nos dois primeiros dias, entrevista e cirurgia, mas no pós-operatório houve uma correlação direta (positiva) ainda que fraca. Isso poderia ser explicado em parte pelo pequeno tamanho da amostra, o que associado à baixa prevalência de ansiedade, pode não ter conferido suficiente sensibilidade para a detecção de eventuais padrões de associação entre esses biomarcadores. Tomados os indivíduos como seus próprios controles, não foram registradas diferenças estatisticamente significativas entre os valores de α -amilase e cortisol nos três dias de coleta (figura 5.6 e 5.7). A ampla dispersão dos valores (figura 5.5) encontrados (atribuível à conhecida grande variação interindividual) associada ao fato de que o fator a ansiedade, possível precipitador da alteração dinâmica desses resultados, foi infrequente na amostra estudada, confirmando talvez que sejam essas as justificativas da ausência de achados significativos.

Por fim, a assincronia na resposta fisiológica de elevação da α -amilase, mais precoce (Miller et al., 1995; Chatterton et al., 1996; Gordis et al., 2006; Van Stegeren et al., 2006; Granger et al., 2007; Schoofs et al., 2008; Van Stegeren et al., 2008), e do cortisol (mais tardio) (Bakke et al., 2004) podem ter ocasionado um atraso de fase que inviabilizaria a comparação de concentrações dos dois marcadores advindas de uma coleta simultânea. Muito embora haja suficiente embasamento em literatura para a utilização da α -amilase e cortisol como marcadores objetivos da resposta fisiológica ao estresse e à dor (Nater et al., 2005; Nater; Rohleder, 2009; Ahmadi-Motamayel et al., 2013; Rashkova et al., 2012) alguns estudos, assim como o presente protocolo, também não evidenciaram correlação entre concentrações de α -amilase e cortisol com ansiedade (Lee; Bassiur, 2017; Campos et al., 2011; Sadi et al., 2013), exceto quando comparado intragrupo quanto a antecedente de experiência traumática e/ou ansiedade (tabela 5.11), onde a α -amilase apresenta-se significativamente elevada, apesar do tamanho reduzido da amostra.

O ineditismo da abordagem experimental do presente estudo mostra-se na incorporação da medida concomitante de três biomarcadores não invasivos das

respostas fisiológicas ao estresse (VFC, cortisol salivar e α -amilase salivar); soma-se a isso o fato do registro da FC ter sido realizado através de um frequencímetro de pulso, dispositivo ampla e comercialmente disponível, de baixo custo (comparados aos monitores cardíacos convencionais e dispositivos de Holter-ECG), fácil manuseio e extensa validação nesta finalidade.

Uma limitação intrínseca do presente estudo é a inclusão apenas de indivíduos jovens e saudáveis, de elevado nível socioeconômico e de escolaridade amostra em que a ansiedade e, possivelmente a dor, possam ocorrer em menor prevalência. Ademais, é possível que o limitado tamanho da amostra e a grande dispersão interindividual dos valores das variáveis estudadas tenham comprometido a sensibilidade e poder de detecção de achados estatística e clinicamente significativos.

7. CONCLUSÕES

Nas condições que foram feitas o trabalho, não foram evidenciadas correlações entre as concentrações salivares de α -amilase e cortisol e a ansiedade ao tratamento odontológico ou dor pós-operatória. Os valores das variáveis da VFC apresentaram correlações estatisticamente significativas com ansiedade ou dor, ainda que fraca. As conclusões do presente estudo podem ter sido limitadas pelo tamanho da amostra ou representação insuficiente de voluntários com escores elevados de ansiedade ao tratamento odontológico ou dor pós-operatória.

REFERÊNCIAS¹

Acharya S. Factors affecting dental anxiety and beliefs in an Indian population. *J Oral Rehabil.* 2008;35(4):259-67.

Agdal M, Raadal M, Skaret E, Kvale G. Oral health and its influence on cognitive behavioral therapy in patients fulfilling the diagnostic and statistical manual of mental disorders IV criteria for intraoral injection phobia. *Acta Odontol Scand.* 2010;2:98–105

Agelink MW, Boz C, Ullrich H, Andrich J. Relationship between major depression and heart rate variability. Clinical consequences and implications for antidepressive treatment. *Psychiatry Res.* 2002; 113(1–2):139-49.

Ahmadi-Motamayel F, Shahriari S, Goodarzi MT, Moghimbeigi A, Jazaeri M, Babaei P. The relationship between the level of salivary alpha amylase activity and pain severity in patients with symptomatic irreversible pulpitis. *Restor Dent Endod.* 2013; 38: 141–5.

Alemany-Martínez A, Valmaseda-Castellón E, Berini- Aytés L, Gay-Escoda C. Hemodynamic changes during the surgical removal of lower third molars. *J Oral Maxillofac Surg.* 2008; 66: 453-61.

Ali N, Pruessner JC. The salivary alpha amylase over cortisol ratio as a marker to assess dysregulations of the stress system. *Physiol Behav.* 2012;106:65–72.

Allwood MA, Handwerker K, Kivlighan KT, Granger DA, Stroud LR. Direct and moderating links of salivary alpha-amylase and cortisol stress-reactivity to youth behavioral and emotional adjustment. *Biol Psychol* 2011;21(6):45-55.

Alves RX, Fernandes GF, Razzolini MT, Frazão P, Marques RA, Narvai PC. Evolution in access to fluoridated water in São Paulo State, Brazil, from the 1950s to the early 21st century. *Cad Saude Publica.* 2012;28 Suppl:s69-80.

American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. Guidelines for the Management of Patients With Unstable Angina/Non–ST-Elevation Myocardial Infarction. *Circulation.* 2007;116:e148-e304.

¹De acordo com estilo Vancouver.

American Society of Anesthesiologists 20 th. Annual Lournal Symposium: Anesthesia and Cancer. Chicago, Illinois;2011.

American Psychiatric Association 5 th. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. Washington:DC; 2013.

Appelhans BM, Luecken LJ. Heart rate variability as an index of regulated emotional responding. *Revie Genl Psychol.* 2006; 109:229-40.

Appelhans BM, Luecken LJ. Heart rate variability and pain: Associations of two interrelated homeostatic processes. *Biologl Psychol.* 2008; 77: 174-82.

Asahina M, Vichayanrat E, Low DA, Iodice V, Mathias CJ. Autonomic dysfunction in parkinsonian disorders: assessment and pathophysiology. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2013;84:674-80.

Bakke M, Tuxen A, Thomsen CE, Bardow A, Alkær T, Jensen BR. Salivary cortisol level, salivary flow rate and masticatory muscle activity in response to acute mental stress: a comparison between aged and young women. *Gerontology.* 2004;50:383-92.

Bar KJ, Boettger MK, Koschke M, Schulz S, Chokka P, Yeragani VK, Voss A. Non-linear complexity measures of heart rate variability in acute schizophrenia. *Clin Neurophysiol.* 2007; 118(9):2009–15.

Barbosa CM, Terra-Filho M, de Albuquerque AL, Di Giorgi D, Grupi C, Negrão CE, Rondon MU, Martinez DG, Marcourakis T, dos Santos FA, Braga AL, Zanetta DM, Santos UP. Burnt Sugarcane Harvesting – Cardiovascular Effects on a Group of Healthy Workers, Brazil. *PLoS One.* 2012;7(9):e46142.

Barnoya J, Glantz SA. Cardiovascular effects of second-hand smoke help explain the benefits of smoke-free legislation on heart disease burden. *J Cardiovasc Nurs.* 2006 Nov-Dec;21(6):457-62.

Baum BJ. Principles of saliva secretion. *Ann NY Acad Sci.* 1993;694:17-23.

Baum A, Grunberg N. Measurement of stress hormones. In:Cohen S, Kessler RC, Gordon LU, editors. *Measuring stress: A guide for health and social scientists.* New York:Oxford University Press; 1997. p. 175-92

Berggren U, Meynert G. Dental fear and avoidance: causes, symptoms, and consequences. *J Am Dent Assoc.* 1984 Aug;109(2):247-51.

Bernik MA, Corregiari FM. Como diagnosticar e tratar ansiedade. *Rev Brasileira Medicina.* 2002;59(9):621-34.

Bernik MA, Corregiari FM, Braun IM. Panic attacks in the differential diagnosis and treatment of resistant epilepsy. *Depress Anxiety.* 2002;15(4):190-2.

Blinder D, Manor Y, Shemesh J, Taicher S. Electrocardiographic changes in cardiac patients having dental extractions under a local anesthetic containing a vasopressor. *J Oral Maxillofac Surg.* 1998 Dec;56(12):1399-402; discussion 1402-3.

Boudreau, P., Dumont, G., Kin, NMKNY., Walker, CD., Boivin, DB. Correlation of heart rate variability and circadian markers in humans. 2011 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society

Borea G, Montebugnoli L, Borghi C. A new approach to quantify cardiovascular response in dentistry. *Clin Exp Hypertens A.* 1991; 13:607–21.

Brand HS. Anxiety and cortisol excretion correlate prior to dental treatment. *Int Den J.* 1999;49:330-6.

Brand HS, Abraham-Inpijn L. Cardiovascular responses induced by dental treatment. *Eur J Oral Sci.* 1996 Jun;104(3):245-52.

Campbell JH, Huizinga PJ, Das SK, Rodriguez JP, Gobetti JP. Incidence and significance of cardiac arrhythmia in geriatric oral surgery patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1996;82(1):42-6.

Campos MJ, Raposo NR, Ferreira AP, Vitral RW. Salivary alpha-amylase activity: a possible indicator of pain-induced stress in orthodontic patients. *Pain Med.* 2011; 12: 1162– 66.

Carrilo-Diaz M, Crego A, Armfield JM, Romero-Maroto M. Treatment experience, frequency of dental visits, and children's dental fear: a cognitive approach. *Eur J Oral Sci.* 2012 Feb;120(1):75-81.

Carvalho RWF, Falcão PGCB, Campos GJL, Bastos AS, Pereira JC, Pereira MAS, Cardoso MSO, Vasconcelos BCE. Ansiedade frente ao tratamento odontológico: prevalência e fatores preditores em brasileiros. *Ciênc Saúde Col.* 2012; 17(7):1915-22.

Casolo GC, Stroder P, Signorini C, Calzolari F, Zucchini M, Balli E, Sulla A, Lazzerini S. Heart rate variability during the acute phase of myocardial infarction. *Circulation.* 1992; 85:2073–9.

Castro M, Moreira AC. Análise crítica do cortisol salivar na avaliação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2003;47(4):358-67

Cesar CLG, Narvai PC, Gattás, VL, Figueiredo GM. “Medo de dentista” e demanda aos serviços odontológicos. *RGO.* 1999;47(4):191-4.

Chamani G, Gholamhoseinian A, Hedayat A. Salivary cortisol response to different dental treatment in kermanian patients. *J Med Sci.* 2006;6(1):55-8.

Chanpong B, Haas DA, Locker D. Need and demand for sedation or general anesthesia in dentistry: a national survey of the Canadian population. *Anesth Prog.* 2005; 52(1):3-11.

Chatterton RT Jr, Vogelsong KM, Lu YC, Ellman AB, Hudgens GA. Salivary alpha-amylase as a measure of endogenous adrenergic activity. *Clin Physiol.* 1996;16(4):433-48.

Clow A, Thorn L, Evans P, Hucklebridge F. The awakening cortisol response: methodological issues and significance. *Stress.* 2004 Mar; 7(1):29-37

Cohen SM, Fiske J, Newton JT. The impact of dental anxiety on daily living. *Br Dent J.* 2000; 189(7):385-90.

Corah NL. Development of a Dental Anxiety Scale. *J Dent Res.* 1969; 48:596.

Corah NL, Gale EN, Illig SJ. Assessment of a dental anxiety scale. *JADA.* 1978; 97(5):816-9.

Crofts-Barnes N, Brough E, Wilson K, Beddis A, Girdler N. Anxiety and quality of life in phobic dental patients. *J Dent Res.* 2010;89:302–6.

Dantzer R, Kalin N. Editorial. *Psychoneuroendocrinology*. 2009;34:1

Davis EP, Granger DA. Developmental differences in infant salivary alpha-amylase and cortisol responses to stress. *Psychoneuroendocrinology*. 2009 Jul;34(6):795-804.

DeCaro JA. Methodological considerations in the use of salivary alpha-amylase as a stress marker in field research. *Am J Hum Biol*. 2008;20(5):617-9.

De Jongh A, Muris P, Ter Horst G, Duyx M. Acquisition and maintenance of dental anxiety: the role of conditioning experiences and cognitive factors. *Behav Res Ther*. Oxford 1995; 33: 205–10.

Dillane D, Finucane BT. Local anesthetic systemic toxicity. *Can J Anaesth*. 2010 Apr;57(4):368-80.

Dunbar A, Gotsis W, Frishman W. Second-hand tobacco smoke and cardiovascular disease risk: an epidemiological review. *Cardiol Rev*. 2013 Mar-Apr;21(2):94-100.

Ebert TJ, Kampine JP. Nitrous oxide augments sympathetic outflow: direct evidence from human peroneal nerve recordings. *Anesth Analg* 1989;69:444-9.

Ebert TJ. Differential effects of nitrous oxide on baroreflex control of heart rate and peripheral sympathetic nerve activity in humans. *Anesthesiology* 1990;72:16-22.

Edgar M, Dawes C, O'Mullane D. *Saliva e Saúde Bucal. Composição, funções e efeitos protetores*. 3ªed. São Paulo: Santos, 2010. 145p.

Ehlert U, Erni K, Hebisch G, Nater U. Salivary alpha-amylase levels after yohimbine challenge in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(12):5130–3.

Eisele JH, Smith NT. Cardiovascular effects of 40 percent nitrous oxide in man. *Anesth Analg* 1972;51:956-63.

Eli I, Uziel N, Blumensohn R, Baht R. Modulation of dental anxiety – the role of past experiences, psychopathologic traits and individual attachment patterns. *Br Dent J*. 2004; 196(11):689-94.

European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Eur Heart J*. 1996 Mar;17(3):354-81.

Ferreira CM, Gurgel Filho ED, Valverde GB, Moura EH, Deus G, Coutinho Filho T. Ansiedade Odontológica: nível, prevalência e comportamento. *RBPS*. 2004;17(2):51-55.

Gamelin FX, Berthoin S, Bosquet L. Validity of the polar S810 heart rate monitor to measure R-R intervals at rest. *Med Sci Sports Exerc*. 2006 May;38(5):887-93.

Gordis EB, Granger EJ, Susman J, Trickett PK. Asymmetry between salivary cortisol and α -amylase reactivity to stress: Relation to aggressive behavior in adolescents. *Psychoneuroendocrinology*. 2006;31:976-87.

Gozanski WS, Lynn JS, Laudenslager ML, Kohrt WM. Salivary cortisol determined by enzyme immunoassay is preferable to serum total cortisol for assessment of dynamic hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2005;63:336-4

Granger DA, Blair C, Willoughby M, Kivlighan KT, Hibel LC, Fortunato CK, Wiegand LE; Family Life Project Investigators. Individual differences in salivary cortisol and alpha-amylase in mothers and their infants: relation to tobacco smoke exposure. *Dev Psychobiol*. 2006;49(7):692-701.

Granger DA, Kivlighan KT, el-Sheikh M, Gordis EB, Stroud LR. Salivary alpha-amylase in biobehavioral research: recent developments and applications. *Ann N Y Acad Sci*. 2007;1098:122-44.

Gröschl M, Wagner R, Rauh M, Dörr HG. Stability of salivary steroids: the influences of storage, food and dental care. *Steroids*. 2001;66:737-41.

Hagemann D, Waldstein SR, Thayer JF. Central and autonomic nervous system integration in emotion. *Brain and cognition*. 2003; 52: 79-87.

Hakeberg M, Berggren U, Carlsson SG. Prevalence of dental anxiety in an adult population in a major urban area in Sweden. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1992; 20(2):97-101.

- Hartikainen JEK, Tahvanainen KUO, Kuusela TA. 1ªed. Short-term measurement of Heart Rate Variability. In: Malik M. Clinic Guide to cardiac autonomic testes. Kluwer academic Publishers. Netherlands;1998. P:149-76.
- Hellhammer DH, Wüst S, Kudielka BM. Salivary cortisol as a biomarker in stress research. *Psychoneuroendocrinology* 2009; 34: 163–71
- Henry B L, Minassian A, Paulus MP, Geyer MA, Perry W. Heart rate variability in bipolar mania and schizophrenia. *J Psychiatr Res.* 2010; 44(3):168–76.
- Hill CM, Walker RV. Salivary cortisol determination and self-rating scales in the assessment of stress in patients undergoing the extraction of wisdom teeth. *Br Dental J.* 2001;191(9):513-5.
- Hirsh JA, Bishop B. Respiratory sinus arrhythmia in humans: how breathing pattern modulates heart rate. *Am J Physiol.* 1981;241:620-9.
- Hondrum SO. Hypertensive episode in the dental office. *Gen Dent* 1985; 33:134-9.
- Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: normal composition, flow, and function. *J. Prosthet. Dent.* 2001;85:162-9.
- Humphris GM, Morrison T, Lindsay SJE. The modified dental anxiety scale: validation and United Kingdom norms. *Community Dent Health.*1995; 12:143-50.
- International Association for the study of Pain. Introdução [2011] [citado 01 agosto 2011]. Disponível em <http://www.dor.org.br/público/intro.asp>.
- Jerjes W, Upile T, Kafas P, Abbas S, Rob J, McCarthy E, McCarthy P, Hopper C. Third molar surgery: the patient's and the clinician's perspective. *Int Arch Med.* 2009 Oct 24;2(1):32.
- Jöhren P, Jackowski J, Gängler P, Sartory G, Thom A. Fear reduction in patients with dental treatment phobia. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2000 Dec;38(6):612-616.
- Kanegane K, Penha SS, Borsatti MA, Rocha, RG. Ansiedade ao tratamento odontológico em atendimento de urgência. *Rev Saúde Pública.* 2003; 37(6):786-92.

Kanegane K, Penha SS, Borsatti MA, Rocha RG. Ansiedade ao tratamento odontológico no atendimento de rotina. *RGO*. 2006; 54 (2):111-4.

Kennedy B, Dillon E, Mills PJ, Ziegler MG. Catecholamines in human saliva. *Life Sciences*. 2001;25:87-99.

King SL, Hegadoren KM. Stress hormones: how do they measure up? *Biol Res Nurs*. 2002 Oct;4(2):92-103.

Klein LC, Bennett JM, Whetzel CA, Granger DA, Ritter FE. Caffeine and stress alter salivary alpha-amylase activity in young men. *Hum Psychopharmacol* 2010;25(5):359-67.

Klingberg G, Broberg AG. Dental fear/anxiety and dental behaviour management problems in children and adolescents: a review of prevalence and concomitant psychological factors. *Int J Paediatr Dent*. 2007; 17(6):391-406.

Kobayashi H, Park BJ, Miyazaki Y. Normative references of heart rate variability and salivary alpha-amylase in a healthy young male population. Normative references of heart rate variability and salivary alpha-amylase in a healthy young male population. *J Physiol Anthropol*. 2012;31:1-9.

Kudielka BM, Kirschbaum C. Awakening cortisol responses are influenced by health status and awakening time but not by menstrual cycle phase. *Psychoneuroendocrinology*. 2003;28:35-47.

Kurina LM, Schneider B, Waite L. Stress, symptoms of depression and anxiety, and cortisol patterns in working parents. *Stress Health*. 2004;20:53-63.

La Rovere MT, Pinna GD, Hohnloser SH, Marcus FI, Mortara A, Nohara R, et al. ATRAMI Investigators. Autonomic Tone and Reflexes After Myocardial Infarction. Baroreflex sensitivity and heart rate variability in the identification of patients at risk for life-threatening arrhythmias: implications for clinical trials. *Circulation*. 2001; 103:2072-7.

Lambrecht JT, Filippi A, Arrigoni J. Cardiovascular monitoring and its consequences in oral surgery. *Ann Maxillofac Surg*. 2011 Jul-Dec; 1(2): 102-6.

Laragnoit AB, Neves RS, Neves IL, Vieira JE. Locoregional anesthesia for dental treatment in cardiac patients: a comparative study of 2% plain lidocaine and 2% lidocaine with epinephrine (1:100,000). *Clinics (Sao Paulo)*. 2009;64(3):177-82.

Larsson CA, Gullberg B, Råstam L, Lindblad U. Salivary cortisol differs with age and sex and shows inverse associations with WHR in Swedish women: a cross-sectional study. *BMC Endocrine Disorders*. 2009;9:16.

Lawler KA, Kline KA, Adlin RF, Wilcox ZC, Craig FW, Krishnamoorthy JS, Piferi RL. Psychophysiological correlates of individual differences in patterns of hemodynamic reactivity. *Int J Psychophysiol*. 2001; 40:93–107.

Lawrence HP. Salivary markers of systemic disease: noninvasive diagnosis of disease and monitoring of general health. *J Can Dent Assoc*. 2002;68(3):170-4.

Lazarus RS. *Stress and emotion: a new synthesis*. London. Free association books; 1999. cap. 9, p. 216-55.

Lee KC, Bassiur JP. Salivary Alpha Amylase, Dental Anxiety, and Extraction Pain: A Pilot Study. *Anesth Prog*. 2017 Spring; 64(1): 22–8.

Lee ST, Hon EH. The fetal electrocardiogram. *Am J Obstet Gynecol*. 1965 Aug;92(8):1140-8.

Liau FL, Kok SH, Lee JJ, Kuo RC, Hwang CR, Yang PJ, Lin CP, Kuo YS, Chang HH. Cardiovascular influence of dental anxiety during local anesthesia for tooth extraction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2008 Jan;105(1):16-26.

Locker D, Shapiro D, Liddell A. Negative dental experiences and their relationship to dental anxiety. *Community Dent Health*. 1996; 13: 86–92.

Locker D, Shapiro D, Liddell A. Who is dentally anxious? Concordance between measures of dental anxiety. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1996;24:346-50.

Locker D, Liddell A, Shapiro D. Diagnostic categories of dental anxiety: a population-based study. *Behav Res Ther*. 1999; 37:25-37.

Luczak, H, Lauring, WJ. 1973. An analysis of heart rate variability. *Ergonomics*. 1973; 16:85–97.

Maggirias J, Locker D. Five-year incidence of dental anxiety in an adult population. *Commun Dent Health*. 2002;19:173-9.

Malamed SF. Pain and anxiety in dentistry. In: Malamed SF, editor. *Sedation: a guide to patient management*. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2003. p. 2-6.

Malamed SF. *Manual de anestesia local*. 6ªed. São Paulo: Elsevier; 2013. 432p.

Malamud D. Saliva as a Diagnostic Fluid. *Dent Clin N Am*. 2011;55:159-78.

Marijon E, Boveda S, Combes N, Albenque JP, Le Heuzey JY. How to evaluate sudden cardiac death risk after myocardial infarction? *Ann Cardiol Angeiol (Paris)*. 2009 Aug;58(4):220-5.

Matsumura K, Miura K, Takata Y, Kurokawa H, Kajiyama M, Abe I, Fujishima M. Changes in blood pressure and heart rate variability during dental surgery. *Am J Hypertens*. 1998; 11(11 Pt 1):1376–80.

Mazzeo AT, La Monaca E, Di Leo R, Vita G, Santamaria LB. Heart rate variability: a diagnostic and prognostic tool in anesthesia and intensive care. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2011 Aug;55(7):797-811.

Meechan JG, Parry G, Rattray DT, Thomason JM. Effects of dental local anaesthetics in cardiac transplant recipients. *Br Dent J* 2002; 192:161-3.

Méndez LL, Freitas MD, Rivera CS, Pesqueira GS, Gándara JM, García AG. Postoperative recovery after removal of a lower third molar: role of trait and dental anxiety. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009;108:855-60.

Meral G, Tasar F, Sayin F, Saysel M, Kir S, Karabulut E. Effects off lidocaine with and without epinephrine on plasma epinephrine and lidocaine concentrations and hemodynamic values during third molar surgery. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol endod*. 2005;100:E25-30.

Meyer FU. Haemodynamic changes under emotional stress following a minor surgical procedure under local anaesthesia. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 1987; 16:688-94.

Migliorini RH, Kettelhut IC. As glândulas adrenais. In: Aires M M. Fisiologia 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999. p.829-41.

Milgrom P, Mancl L, King B, Weinstein P. Origins of childhood dental fear. *Behav Res Ther.* 1995;33(3):313-9.

Miller CS, Dembo JB, Falace DA, Kaplan AL. Salivary cortisol response to dental treatment of varying stress. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1995;79(4):436-41.

Miura K, Matsumura K, Nakamura Y, Kurokawa, H, Kajiyama, M, Takata, Y. Suppression of Cardiac Sympathetic Nervous System during Dental Surgery in Hypertensive Patients. *Hypertens Res.* 2000; 23:207-12.

Montebugnoli L, Prati C. Circulatory dynamics during dental extractions in normal, cardiac and transplant patients. *J Am Dent Assoc.* 2002; 133:468–72.

Montebugnoli L, Servidio D, Miaton, RA, Prati, C. Heart Rate Variability: A sensitive parameter for detecting abnormal cardiocirculatory changes during a stressful dental procedure. *J Am Dent Assoc.* 2004; 135:1718-23.

Murray RKH. *Bioquímica.* 8ª ed. São Paulo: Atheneu; 1998.

Nakamura k, Niimi,M, Niimi K, Holmes NA, Yates JE, Decottignies A, et al. Functional Expression of *Candida albicans* Drug Efflux Pump *Cdr1p* in a *Saccharomyces cerevisiae* Strain Deficient in Membrane Transporters. 2001;45: 3366–74.

Nater UM, Rohleder N, Gaab J, Berger S, Jud A, Kirschbaum C. Human salivary alpha-amylase reactivity in a psycho social stress paradigm. *Int J Psychophysiol.* 2005;55:333–42.

Nater UM, Rohleder N, Schlotz W, Ehlert U, Kirschbaum C. Determinants of the diurnal course of salivary alpha-amylase. *Psychoneuroendocrinology.* 2007;32(4):392-401.

Nater UM, Rohleder N. Salivary alpha-amylase as a non-invasive biomarker for the sympathetic nervous system: Current state of research. *Psychoneuroendocrinology.* 2009;34:486-96.

Navazesh M. Methods for collecting saliva. *Ann NY Acad Sci.* 1993;694:72-7.

Ng S, Leung W. A community study on the relationship of dental anxiety with oral health status and oral health-related quality of life. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2008;36: 347–56.

Nolan J, Batin PD, Andrews R, Lindsay SJ, Brooksby P, Mullen M, Baig W, Flapan AD, Cowley A, Prescott RJ, Neilson JM, Fox KA. Prospective study of heart rate variability and mortality in chronic heart failure: results of the United Kingdom heart failure evaluation and assessment of risk trial (UK-heart). *Circulation.* 1998 Oct 13;98(15):1510-6.

Nunan D, Jakovljevic DG, Donovan G, Hodges LD, Sandercock GR, Brodie DA. Levels of agreement for RR intervals and short-term heart rate variability obtained from the Polar S810 and an alternative system. *Eur J Appl Physiol.* 2008 Jul;103(5):529-37.

Nunan D, Donovan G, Jakovljevic DG, Hodges LD, Sandercock GR, Brodie DA. Validity and reliability of short-term heart-rate variability from the Polar S810. *Med Sci Sports Exerc.* 2009 Jan;41(1):243-50.

Nunan D, Sandercock GR, Brodie DA. A quantitative systematic review of normal values for short-term heart rate variability in healthy adults. *Pacing Clin Electrophysiol.* 2010 Nov;33(11):1407-17.

Okushima K, Kohjitani A, Asano Y, Sugiyama K. Inhalational conscious sedation with nitrous oxide enhances the cardiac parasympathetic component of heart rate variability. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008 Dec;106(6):e1-5.

Oosterink F, De Jongh A, Hoogstraten J, Aartman I. The level of exposure–dental experiences questionnaire (LOEDEQ): a measure of severity of exposure to distressing dental events. *Eur J Oral Sci.* 2008;116:353–61.

Oosterink F, De Jongh A, Hoogstraten J. Prevalence of dental fear and phobia relative to other fear and phobia subtypes. *Eur J Oral Sci.* 2009;117:135–43.

Papacosta E, Nassis GP. Saliva as a tool for monitoring steroid, peptide and immune markers in sport and exercise science. *J Sci Med Sport.* 2011 Sep;14(5):424-34.

Pell GJ, Gregory BT. Impacted third molars, classification and modified technique for removal. *Dent Digest*. 1933;39: 330-8.

Pereira LHMC, Ramos DLP, Crosato E. Ansiedade e dor em odontologia–enfoque psicofisiopatológico. *Rev Assoc Paul Cir Dent*. 1995;49(4):285-90.

Perrone-Filardi P, Paolillo S, Dellegrottaglie S, Gargiulo P, Savarese G, Marciano C, Casaretti L, Cecere M, Musella F, Pirozzi E, Parente A, Cuocolo A. Assessment of cardiac sympathetic activity by MIBG imaging in patients with heart failure: a clinical appraisal. *Heart*. 2011 Nov;97(22):1828-33.

Poulton R, Waldie KE, Menzies RG, Craske MG, Silva PA. Failure to overcome “innate” fear: a developmental test of the non- associative model of fear acquisition. *Behav Res Ther*. 2001;39(1):29-43.

Raab FJ, Schaffer, EM, Guillaume-Cornelissen G, Halberg F. Interpreting vital sign profiles for maximizing patient safety during dental visits. *J Am Dent Assoc*. 1998 Apr;129(4):461-9.

Rashkova MR, Ribagin LS, Toneva NG. Correlation between salivary alpha-amylase and stress-related anxiety. *Folia Med (Plovdiv)*. 2012; 54: 46– 51.

Rechlin T, Weis M, Spitzer A, Kaschka WP. Are affective disorders associated with alterations of heart rate variability? *J Affect Disord*. 1994; 32(4):271–275.

Rhudy JL, Meagher MW. Fear and anxiety: divergent effects on human pain thresholds. *Pain*. 2000;84:65-75.

Rodrigues RV, Ventura FM, Santos FSA. Influência da correlação entre ansiedade e dor com a pressão arterial em pacientes em urgências odontológicas. *Rev Cient multid UNIFEB*. 2011;7(1):31-7.

Rohleder N, Nater UM, Wolf JM, Ehler U, Kirschbaum C. Psychosocial stress-induced activation of salivary alpha-amylase: an indicator of sympathetic activity? *Ann N Y Acad Sci*. 2004;1032:258-63.

Rohleder N, Wolf JM, Maldonado EF, Kirschbaum C. The psychosocial stress-induced increase in salivary alpha-amylase is independent of saliva flow rate. *Psychophysiology*. 2006;43(6):645-52.

Rohleder N, Nater UM. Determinants of salivary α -amylase in humans and methodological considerations. *Psychoneuroendocrinology*. 2009;34:469-85.

Ronis DL. Updating a measure of dental anxiety: reliability, validity, and norms. *J Dent Hyg*. 1994; 68(5):228-33.

Sadi H, Finkelman M, Rosenberg M. Salivary Cortisol, Salivary Alpha Amylase, and Dental Anxiety. *Anesth Prog*. 2013;60:46–53.

Sahu GK, Upadhyay S, Panna SM. Salivary alpha amylase activity in human beings of different age groups subjected to psychological stress. *Ind J Clin Biochem*. 2014;29(4):485-90.

Sanioto DL, Aires MM. Sistema digestivo: secreção. In: Aires M M. *Fisiologia*. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999. p.654-80.

Sayers BM. Analysis of heart rate variability. *Ergonomics*. 1973;16:17-32.

Scannapieco FA, Torres G, Levine MJ. Salivary alphaamylase: role in dental plaque and caries formation. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1993;4:301-7.

Scannapieco FA, Solomon L, Wadenya RO. Emergence in human dental plaque and host distribution of amylasebinding streptococci. *J Dent Res* 1994;73:1627–35

Schimmer BP, Parker KL. Adrenocorticotrophic hormone; adrenocortical steroids and their analogues; inhibitors of the synthesis and actions of adrenocortical hormones. In: Hardman JG, Limberg LE, Molinoff PB, Ruddon RW, Gilman AG, editors. *Goodman & Gilman's: the pharmacological basis of therapeutics*. 9th ed. New York: McGraw-Hill;1996. p. 1459-85.

Schoofs D, Hartmann R, Wolf OT. Neuroendocrine stress responses to an oral academic examination: No strong influence of sex, repeated participation and personality traits. *Stress*. 2008;11(1):52-61.

Scott EM, McGarrigle HHG, Lachelin GCL. The Increase in Plasma and Saliva Cortisol Levels in Pregnancy is not due to the Increase in CorticosteroidBinding Globulin Levels. 1990;71(3):639-44.

Servant D, Logier R, Mouster Y, Goudemand M. Heart rate variability. Applications in psychiatry. *Encephale*. 2009 Oct; 35(5):423-8.

Sharif MO. Dental anxiety: detection and management. *J Appl Oral Sci*. 2010; 18(2):i.

Singh JP, Larson MG, O'Donnell CJ, Wilson PF, Tsuji H, Lloyd-Jones DM, Levy D. Association of hyperglycemia with reduced heart rate variability (The Framingham Heart Study). *Am J Cardiol*. 2000; 86(3):309–12.

Sivanmalai S, Annamalai S, Kumar S, Prince CN, Chandrakala, Thangaswamy V. Pharmacodynamic responses of exogenous epinephrine during mandibular third molar surgery. *J Pharm Bioall Sci* 2012;4:390-3.

Skaret E, Raadal M, Berg E, Kvale G. Dental anxiety among 18-yr-olds in Norway. Prevalence and related factors. *Eur J Oral Sci*. 1998;106(4):835-43.

Sookan T, McKune AJ. Heart rate variability in physically active individuals: reliability and gender characteristics. *Cardiovasc J Afr*. 2012;23(2):67-72.

Sreebny LM. Saliva in health and disease: an appraisal and update. *Int Dent J*. 2000;50:140-61.

Takai N, Yamagushi M, Aragaki T, Eto K, Uchihashi K, Nishikawa Y. Effect of psychological stress on the salivary cortisol and amylase levels in healthy young adults. *Archi Oral Biol*. 2004;49:963-8.

Takai N, Yamagushi M, Aragaki T, Eto K, Uchihashi K, Nishikawa Y et al. Gender-specific differences in salivary biomarker responses to acute psychological stress. *Ann N Y Acad Sci*. 2007;1098:510-5.

Thomson WM, Locker D, Poulton R. Incidence of dental anxiety in young adults in relation to dental treatment experience. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2000;28:289-94.

Thomson W, Broadbent J, Locker D, Poulton R. Trajectories of dental anxiety in a birth cohort. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2009;37:209-19.

Tolas AG, Pflug AE, Halter JB. Arterial plasma epinephrine concentrations and hemodynamic responses after dental injection of local anesthetic with epinephrine. *J Am Dent Assoc.* 1982; 104:41-3.

Tornelli HR. Avaliação da ansiedade ao tratamento odontológico e do estresse relacionado à cirurgia de terceiro molar inferior [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2011.

Tornelli MJ. Uso de hialuronidase 75 UTR/ml concomitante à mepivacaína associada à epinefrina e bloqueio do nervo alveolar inferior: estudo hemodinâmico e eletrocardiográfico [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia, 2012.

Tsigos C, Chrousos GP. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *J Psychosom Res.* 2002 Oct;53(4):865-71.

Turker Y, Aslantas Y, Aydin Y, Demirin H, Kutlucan A, Tibilli H, Turker Y, Ozhan H. Heart rate variability and heart rate recovery in patients with type 1 diabetes mellitus. *Acta Cardiol.* 2013 Apr;68(2):145-50.

Turner RJ, Sugiya H. Understanding salivary fluid and protein secretion. *Oral Disease.* 2002;8:3–11.

Ushiyama T, Nakatsu T, Yamane H, Wakabayashi H, Ishimura K, Maeta H. Heart rate variability for evaluating surgical stress and development of postoperative. *Clinical Exp Hypertens.* 2008; 30(1):45-55.

Van Wijk A, Hoogstraten J. Experience of dental pain and fear of dental pain. *J Dent Res* 2005;84:947–50.

Van Stegeren A, Rohleder N, Everaerd W, Wolf OT. Salivary alpha amylase as marker for adrenergic activity during stress: effect of betablockade. *Psychoneuroendocrinology.* 2006;31(1):137-41.

Van Stegeren AH, Wolf OT, Kindt M. Salivary alpha amylase and cortisol responses to different stress tasks: impact of sex. *Int J Psychophysiol.* 2008;69(1):33-40.

Vanderlei LC, Silva RA, Pastre CM, Azevedo FM, Godoy MF. Comparison of the Polar S810i monitor and the ECG for the analysis of heart rate variability in the time and frequency domains. *Braz J Med Biol Res.* 2008 Oct;41(10):854-9.

Vineetha R, Pai K-M, Vengal M, Gopalakrishna K, Narayanakurup D. Usefulness of salivary alpha amylase as a biomarker of chronic stress and stress related oral mucosal changes – a pilot study. *J Clin Exp Dent*. 2014;6(2):e132-7.

Watanabe S, Amiya E, Watanabe M, Takata M, Ozeki A, Watanabe A, Kawarasaki S, Nakao T, Hosoya Y, Omori K, Maemura K, Komuro I, Nagai R. Simultaneous heart rate variability monitoring enhances the predictive value of flow-mediated dilation in ischemic heart disease. *Circ J*. 2013 Mar 25;77(4):1018-25.

Weimer LH. Autonomic testing: common techniques and clinical applications. *Neurologist*. 2010 Jul;16(4):215-22.

Weippert M, Kumar M, Kreuzfeld S, Arndt D, Rieger A, Stoll R. Comparison of three mobile devices for measuring R-R intervals and heart rate variability: Polar S810i, Suunto t6 and an ambulatory ECG system. *Eur J Appl Physiol*. 2010 Jul;109(4):779-86.

Wittwer A, Krummenacher P, La Marca R, Ehlert U, Folkers G. Salivary Alpha-Amylase Correlates with Subjective Heat Pain Perception. *Pain Med*. 2016 Jun;17(6):1131-6.

Wolf JM, Nicholls E, Chen E. Chronic stress, salivary cortisol, and alpha-amylase in children with asthma and healthy children. *Biol Psychol*. 2008 Apr; 78(1):20-8.

Wong M, Lytle WR. A comparison of anxiety levels associated with root canal therapy and oral surgery treatment. *J Endod*. 1991 Sep;17(9):461-5.

Wu J, Wang S, Li C. Hemodynamic and catecholamine changes after recurrent ventricular fibrillation. *J Emerg Med*. 2013 Feb;44(2):543-9.

Yeragani VK, Sobolewski E, Igel G, Johnson C, Jampala VC, Kay J, Hillman N, Yeragani S, Vempati S. Decreased heart-period variability in patients with panic disorder: a study of Holter ECG records. *Psychiatry Res*. 1998; 78(1–2):89–99.

Yoshiyuki I, Takanari K, Yoshitake H, Fumihito M, Shinji K, Satoshi O, et al. Effects of Dental Local Anesthesia and Periodontal Surgery on Autonomic Nervous. *J Jpn Dent Soc Anesthesiol*. 2001; 29(3):360-6.

Zimmer C, Basler HD, Vedder H, Lautenbacher S. Sex differences in cortisol response to noxious stress. *Clin J Pain*. 2003;19(4):233-9.

APÊNDICE A – Termo de consentimento esclarecido do paciente para pesquisa

Nome do paciente: _____

As informações contidas nesta ficha foram fornecidas pela pós-graduanda Helena Regina Tornelli e pelo orientador Prof. Dr. Rodney Garcia Rocha, com a finalidade de firmar acordo por escrito mediante o qual, o voluntário da pesquisa autoriza sua participação, com pleno conhecimento da natureza dos procedimentos, com a capacidade de livre arbítrio e sem qualquer coação.

1. Título do Trabalho Experimental: Análise da Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC), cortisol e alfa amilase em cirurgias de exodontia de terceiros molares inferiores.

2. Objetivos: Avaliar características subjetivas relacionadas à ansiedade ao tratamento odontológico e objetivas, como mensuração do cortisol e amilase salivar e parâmetros cardiovasculares.

3. A extração de 3º molar pode proporcionar ao paciente além da ansiedade resultante da expectativa, estresse devido ao grau de dificuldade encontrado na execução do tratamento.

4. Procedimentos da Fase Experimental: Após a triagem prévia e no dia agendado, o paciente será atendido no Consultório de Pesquisa do Departamento de Estomatologia, onde toda a infraestrutura será preparada para a dinâmica da experiência. O paciente será colocado sentado à cadeira odontológica semirreclinada (45° com o chão). Na 1ª consulta, o paciente será submetido a um questionário (escala MDAS) e terá sua pressão arterial registrada. Serão aferidas outras informações cardiocirculatórias através do frequencímetro e do registro do eletrocardiograma. Na segunda consulta, uma semana após a consulta inicial, o paciente terá novamente medidas as informações cardiovasculares durante o procedimento odontológico.

Iniciaremos, então, o experimento pela anestesia por bloqueio com 1 tubete de mepivacaína a 2% associada a noraepinefrina (DFL[®]). A velocidade de injeção será de aproximadamente 1,0 ml/min, assim cada tubete dental será injetado num intervalo de aproximadamente 2 min, evitando-se desta forma, dor excessiva que possa levar o paciente ao estresse, possivelmente alterando os resultados.

Após aguardarmos 5 min do final da anestesia local, iniciaremos os procedimentos cirúrgicos. Ao término do procedimento cirúrgico, o paciente será colocado novamente numa posição de 45 graus com o solo, permanecendo assim por 20 min.

5. Possíveis Desconforto ou Risco: Após uma explicação detalhada dos resultados será esclarecido a extensão e a evolução, os riscos gerais e particulares do tratamento planejado e os objetivos pretendidos, e será esclarecido também, de modo inteligível as possíveis consequências e complicações dos procedimentos clínicos de forma clara através do prontuário cirúrgico anexo, o qual constará como documentação para efeitos legais.

6. Benefícios do Experimento: O paciente terá como benefício a exodontia de terceiro molar inferior, com indicação de extração.

7. Informações: Os pacientes envolvidos no experimento possuem a garantia de que receberão as respostas a qualquer pergunta ou esclarecimento de qualquer dúvida acerca dos procedimentos, bem como a liberdade de se retirarem do experimento a qualquer momento, independentemente do estágio em que se encontram os trabalhos.

Em caso de dano, decorrente do estudo, declaramos garantia que os pesquisadores, Prof. Dr. Rodney Garcia Rocha / Helena Regina Tornelli, prestarão assistência integral no endereço desta Instituição, Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, telefones 3091-7813; no Departamento de Estomatologia, Disciplina de Clínica Integrada.

8. Declaração de conformidade para o tratamento cirúrgico:

Após uma explicação detalhada dos resultados, foi esclarecida a extensão e evolução, os riscos gerais e particulares do tratamento planejado e os objetivos pretendidos. Foi-me esclarecido também, de modo inteligível, as possíveis consequências e complicações dos procedimentos clínicos. Foi discutido o tempo total que se investirá e as restrições físicas e outras limitações que se darão para a cicatrização da cirurgia.

9. Consentimento pós-informação:

É de meu conhecimento que não depende só do cirurgião e de seus auxiliares 100% do êxito planejado para este tratamento, mas que farão todo possível para alcançá-lo, e tendo ponderado as alternativas do tratamento, decidi-me pela cirurgia prevista. Eu confirmo que tive tempo suficiente de fazer todas as perguntas que me interessam, assim como de tomar a minha resolução sobre a cirurgia. Com isso, dou meu consentimento para essa cirurgia. Estou de acordo em ser notificado sobre o controle da cirurgia e me declaro disposto a cumpri-los. É de meu conhecimento que a higienização regular da região operada e um controle profissional são de importância vital para a manutenção da saúde bucal.

Eu, _____, portador do R.G. nº _____, abaixo assinado, certifico que após ter lido as informações acima e ter sido suficientemente esclarecido(a) pela doutoranda Renata Martins da Silva Prado, estou plenamente de acordo com a realização do experimento. Desta forma, autorizo e garanto a participação no trabalho de pesquisa acima exposto.

São Paulo, _____ de _____ de 20_____

Assinatura: _____

APÊNDICE B – Ficha de anamnese preenchida para triagem prévia

Nome _____ RG: _____

Endereço _____ CEP _____

Tel. _____

Data

nasc. ___/___/_____

1) Você está sentindo algum tipo de dor ou desconforto no momento? _____

2) Você está fazendo algum tratamento médico atualmente? _____ Se sim, qual motivo?

3) Está tomando alguma medicação? Qual (is)? _____

4) Você já teve alguma reação alérgica a algum medicamento, alimento ou outro produto?

5) Você já se submeteu a anestesia local no dentista?

6) Teve algum tipo de reação adversa a essa anestesia?

7) Você já foi submetido a alguma cirurgia ou foi hospitalizado? _____

8) Você já recebeu transfusão de sangue? _____

9) Já teve hemorragia? _____

10) Qual(is) destes sintomas ou doenças você tem ou já teve?

Hipertensão

pneumonia

diabetes

Hipotensão

tuberculose

perda de peso (+5 kg)

Dor de cabeça

sinusite

ganho de peso (+5kg)

Asma

febre reumática

hepatite ou icterícia

Bronquite

gastrite

distúrbios hepáticos

Epilepsia

anemias

doenças venéreas

Problemas renais

desmaio

distúrbios psíquicos

11) Se sente cansado com frequência? _____

12) Sente falta de ar? _____

13) Tem dificuldade de respirar quando está deitado?

14) Sente dor no peito depois de esforço ou sob tensão? _____

15) Quando mediu a sua PA pela última vez ? _____ Como estava? _____

16) Tem alguma doença cardíaca congênita ou adquirida (ex.: mal de chagas...)?

17) Tem ou teve algum sintoma ou doença não citado acima?

18) Você esta grávida?

19) Está no período menstrual?

20) Você fuma?

21) Faz uso de bebidas alcoólicas ou outras drogas?

Peso: _____ (Kg)

Altura: _____ (m)

Índice de Massa Corpórea (IMC): _____ (Kg/m²)

Circunferência Abdominal: _____ (cm)

Eu declaro, para todos os fins legais, que prestei esclarecimentos corretos sobre meu estado de saúde, nada omitindo no questionário que respondi.

Ass. _____ data ____/____/____

APÊNDICE C - Questionário individual – Protocolo de pesquisa

Nome: _____

Data: ___/___/_____

1) Idade: _____ anos

2) Gênero: () Fem. () Masc.

3) Grau de escolaridade:

a) fundamental incompleto

b) fundamental completo

c) médio incompleto

d) médio completo

e) superior incompleto

f) superior completo

4) Renda familiar:

a) menos de 1 Salário Mínimo

b) de 1 a 3 Salários Mínimos

c) de 3 a 6 Salários Mínimos

d) de 6 a 10 Salários Mínimos

e) mais de 10 Salários Mínimos

5) Houve algum evento que tenha vivenciado que possa ser causador de medo do tratamento odontológico?

() Não

() Sim

Qual? _____

APÊNDICE D – MODIFIED DENTAL ANXIETY SCALE

1) Se você tiver que ir ao dentista amanhã, como você se sentiria?

- a) Relaxado.
- b) Meio desconfortável.
- c) Tenso.
- d) Ansioso.
- e) Tão ansioso que começo a suar ou começo a me sentir mal.

2) Quando você está esperando na sala de espera do dentista, como você se sente?

- a) Relaxado.
- b) Meio desconfortável.
- c) Tenso.
- d) Ansioso.
- e) Tão ansioso que começo a suar ou começo a me sentir mal.

3) Quando você está na cadeira odontológica esperando que o dentista comece a trabalhar nos seus dentes com a turbina, como você se sente?

- a) Relaxado.
- b) Meio desconfortável.
- c) Tenso.
- d) Ansioso.
- e) Tão ansioso que começo a suar ou começo a me sentir mal.

4) Você está na cadeira odontológica para ter seus dentes limpos. Enquanto você aguarda o dentista pegar os instrumentos que ele usará para raspar seus dentes perto da gengiva, como você se sente?

- a) Relaxado.
- b) Meio desconfortável.
- c) Tenso.
- d) Ansioso.
- e) Tão ansioso que começo a suar ou começo a me sentir mal.

5) Se você estiver para ser anestesiado em sua gengiva, acima de um dente superior posterior, como você se sentiria?

- a) Relaxado.
- b) Meio desconfortável.
- c) Tenso.
- d) Ansioso.
- e) Tão ansioso que começo a suar ou começo a me sentir mal.

APÊNDICE E - Avaliação do Pós-Operatório - 1 semana

Escala Visual Analógica (EVA) de dor.

Marcar na linha qual a intensidade da dor neste momento:

Sem Dor	Pior dor Imaginável
------------	------------------------

APÊNDICE F – Protocolo de registros das fases cirúrgicas

Nome: _____

Dia 1 - Registro Basal da Consulta Inicial (entrevista) :

Data ___/___/___

horário: _____

Dia 2 - Registros do Procedimento Cirúrgico:

Data ___/___/___

20 min antes (Basal): _____

5 min antes da anestesia (5a): _____

Anestesia local(al): _____

5 min depois da anestesia (5d): _____

Incisão/ Sindesmotomia (inc): _____

Luxação (lux): _____

Avulsão (avul): _____

Sutura (sut): _____

20 min em repouso após a cirurgia (20d): _____

Dia 3 - Registro Basal do Pós-Operatório (pós-operatório):

Data ___/___/___

Horário: _____

APÊNDICE G – Variáveis eletrocardiográficas ao longo das etapas do estudo, comparações múltiplas (análise *post hoc* do teste de Anova para medidas repetidas)

Variável Dependente	(I) Fases	(II) Fases	P
PR (ms)	Triagem	Cir0-Basal	0,015
		Cir1	0,643
		Cir2	0,016
		Cir3	0,008
		7PO	0,003
	Cir0-Basal	Cir1	0,716
		Cir2	1,000
		Cir3	1,000
		7PO	0,998
	Cir1	Cir2	0,658
		Cir3	0,617
		7PO	0,463
	Cir2	Cir3	1,000
		7PO	1,000
	Cir3	7PO	1,000

Variável Dependente	(I) Fases	(II) Fases	P
QRS (ms)	Triagem	Cir0-Basal	0,027
		Cir1	<0,001
		Cir2	<0,001
		Cir3	<0,001
		7PO	<0,001
	Cir0-Basal	Cir1	0,045
		Cir2	0,401
		Cir3	0,256
		7PO	0,174
	Cir1	Cir2	0,898
		Cir3	0,923
		7PO	0,966
	Cir2	Cir3	1,000
		7PO	1,000
	Cir3	7PO	1,000

<u>Variável Dependente</u>	<u>(I) Fases</u>	<u>(II) Fases</u>	<u>p</u>
<u>QTc (ms)</u>	<u>triagem</u>	<u>Cir0-Basal</u>	<u>0,008</u>
		<u>Cir1</u>	<u>0,120</u>
		<u>Cir2</u>	<u>0,019</u>
		<u>Cir3</u>	<u>0,760</u>
		<u>7PO</u>	<u>0,163</u>
	<u>Cir0-Basal</u>	<u>Cir1</u>	<u>0,990</u>
		<u>Cir2</u>	<u>1,000</u>
		<u>Cir3</u>	<u>0,262</u>
		<u>7PO</u>	<u>0,875</u>
	<u>Cir1</u>	<u>Cir2</u>	<u>0,996</u>
		<u>Cir3</u>	<u>0,768</u>
		<u>7PO</u>	<u>0,999</u>
	<u>Cir2</u>	<u>Cir3</u>	<u>0,372</u>
		<u>7PO</u>	<u>0,928</u>
	<u>Cir3</u>	<u>7PO</u>	<u>0,899</u>

APÊNDICE H– Variabilidade da frequência cardíaca ao longo das etapas do estudo, comparações múltiplas (análise *post hoc* do teste de Anova para medidas repetidas)

Variável Dependente	(I) Fase	(J) Fase	p (I vs J)
Log SDNN	Triagem	Cir0=Basal	1,000
		Cir1	0,203
		Cir2	0,349
		Cir3	0,698
		7PO	1,000
	Cir0=Basal	Cir1	0,044
		Cir2	0,292
		Cir3	0,628
		7PO	0,999
	Cir1	Cir2	1,000
		Cir3	0,960
		7PO	0,361
	Cir2	Cir3	0,994
		7PO	0,542
	Cir3	7PO	0,859

Variável Dependente	(I) Fase	(J) Fase	p (I vs J)
Log LF	Triagem	Cir0=Basal	1,000
		Cir1	1,000
		Cir2	0,058
		Cir3	0,968
		7PO	1,000
	Cir0=Basal	Cir1	1,000
		Cir2	0,051
		Cir3	0,885
		7PO	0,996
	Cir1	Cir2	0,051
		Cir3	0,956
		7PO	1,000
	Cir2	Cir3	0,338
		7PO	0,118
	Cir3	7PO	0,993

Variável Dependente	(I) Fase	(II) Fase	p
HF (nu)	Triagem	Cir0=Basal	1,000
		Cir1	1,000
		Cir2	0,339
		Cir3	1,000
		7PO	1,000
	Cir0=Basal	Cir1	1,000
		Cir2	0,319
		Cir3	1,000
		7PO	1,000
	Cir1	Cir2	0,332
		Cir3	1,000
		7PO	1,000
	Cir2	Cir3	0,523
		7PO	0,430
	Cir3	7PO	1,000

Variável Dependente	(I) Fase	(II) Fase	p
Razão LF/HF	Triagem	Cir0=Basal	1,000
		Cir1	0,991
		Cir2	0,978
		Cir3	1,000
		7PO	0,999
	Cir0=Basal	Cir1	0,994
		Cir2	0,970
		Cir3	1,000
		7PO	1,000
	Cir1	Cir2	0,767
		Cir3	0,978
		7PO	1,000
	Cir2	Cir3	0,992
		7PO	0,887
	Cir3	7PO	0,996

ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da FOU SP



USP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO



PARECER CON SUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Análise da Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC), cortisol e alfa amilase em exodontia de terceiros molares inferiores

Pesquisador: SIBELE SARTI PENHA

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 02398518.6.0000.0075

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.367.902

Apresentação do Projeto:

Exodontias frequentemente estimulam reações ansiosas e de estresse. As situações odontológicas envolvem uma alta prevalência de estresse, medo e ansiedade. Experiências condicionantes, medo e expectativa de dor, influências familiares e fobias sociais contribuem para a ansiedade ao tratamento odontológico que é uma emoção complexa, com múltiplos componentes. O medo do desconhecido ou a incerteza a respeito do tratamento, com ênfase na expectativa de dor, é um dos fatores que contribuem para a etiologia da ansiedade ao tratamento odontológico.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar marcadores relacionados ao estresse (Variabilidade da Frequência Cardíaca, nível de Cortisol e Alfa-Amilase) em pacientes, quando submetidos a cirurgias para extração de terceiros molares inferiores. Adicionalmente, será feita uma análise exploratória das correlações entre os resultados da análise destes biomarcadores de estresse e variáveis clínicas, demográficas e psicológicas. O objetivo deste estudo será avaliar a presença de ansiedade em pacientes que necessitam de exodontia de terceiro molar inferior por meio de escalas subjetivas (Modified Dental Anxiety Scale (MDAS) e a intensidade da dor, pela escala visual analógica (VAS). Concomitantemente, serão empregados os parâmetros objetivos: níveis de cortisol e alfa amilase salivar, imprescindíveis para a determinação do diagnóstico frente a uma situação estressante.

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227
Bairro: Cidade Universitária **Cel:** 05.508-900
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7960 **Fax:** (11)3091-7814 **E-mail:** ceplo@usp.br



USP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO



Continuação do Parecer: 3.267/202

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não há riscos específicos em relação a pesquisa. Eventuais riscos inerentes ao procedimento cirúrgico podem ocorrer. Não haverá benefício direto para o paciente.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa de alta relevância, com metodologia pertinente e deverá trazer importantes subsídios para a área de conhecimento.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os documentos exigidos pela Resolução CNS 466/12 foram anexados corretamente (Projeto Detalhado, Folha de Rosto, TCLE e Autorização da Clínica Odontológica).

Recomendações:

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP-FOUSP relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final, utilizando-se da opção "Enviar Notificação" (descrita no Manual "Submeter Notificação", disponível na Central de Suporte - canto superior direito do site www.saude.gov.br/plataformabrasil).

Qualquer alteração no projeto original deve ser apresentada "emenda" a este CEP, de forma objetiva e com justificativas para nova apreciação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não são observadas pendências ou inadequações.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1099276.pdf	27/05/2019 16:20:46		Aceito
Folha de Rosto	FR_Helena.pdf	27/05/2019 16:19:52	HELENA REGINA TORNELLI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Helena.docx	06/11/2018 15:40:07	SIBELE SARTI PENHA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	aut_helena.pdf	30/10/2018 15:29:36	SIBELE SARTI PENHA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura	helena_projeto.docx	30/10/2018 15:29:11	SIBELE SARTI PENHA	Aceito

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227
Bairro: Cidade Universitária CEP: 05.508-900
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7960 Fax: (11)3091-7814 E-mail: cepfo@usp.br



USP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO



Continuação do Parecer: 3.367.002

Investigador	helena_projeto.docx	30/10/2018 15:29:11	SIBELE SARTI PENHA	Aceito
--------------	---------------------	------------------------	-----------------------	--------

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 04 de Junho de 2019

Assinado por:
Alyne Simões Gonçalves
(Coordenador(a))

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227
Bairro: Cidade Universitária Cep: 05.508-900
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7060 Fax: (11)3091-7014 e-mail: cepis@usp.br