

FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

FMUC



Avaliação Morfofuncional num Modelo Experimental de Movimentos Mastigatórios Parafuncionais

Resumo

Júlio André Ramalho da Fonseca

Coimbra 2013

Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

**Avaliação Morfofuncional num Modelo
Experimental de Movimentos Mastigatórios
Parafuncionais**

Júlio André Ramalho da Fonseca

Orientador:

Professora Doutora Maria João Rodrigues

Co-orientador:

Professor Doutor António Manuel Silvério Cabrita

Dissertação de Mestrado em Patologia Experimental apresentada à
Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

1- Resumo

Introdução: O conceito de etiologia central do bruxismo tem sido reforçado por vários estudos ao longo das últimas décadas. Foi sugerido que o consumo crónico de anfetamina produz bruxismo reforçando a hipótese da etiologia central. O efeito da acupunctura no bruxismo é ainda relativamente desconhecido.

Objectivos: Avaliação da atrição dentária, dos movimentos mastigatórios não funcionais (MMNF), da concentração sérica da creatina cinase (CK) e cortisol, da evolução do peso corporal e dos efeitos da acupunctura num novo modelo experimental de MMNF com d-anfetamina.

Materiais e métodos: Foram utilizados 40 ratos Wistar machos com 9 semanas de idade, divididos em 4 grupos. O Grupo I (GI; de controlo) não sofreu qualquer manipulação experimental, o Grupo II (GII) foi submetido a um protocolo de indução de stresse e injeção de soro fisiológico, o Grupo III (GIII) submetido a stresse e injeção de anfetamina segundo um protocolo de doses crescentes durante 14 dias e o grupo IV (GIV) submetido ao mesmo protocolo de indução de stresse e de injeção de anfetamina e tratamento com acupunctura. Com o objectivo de avaliar a influência do stresse na atrição incisal realizaram-se marcas dentárias nos incisivos centrais inferiores dos ratos. Foram também realizadas três colheitas sanguíneas nos dias 1, 7 e 14 de modo a avaliar as variações das concentrações séricas da CK e do cortisol. O comportamento dos animais, incluindo os MMNF e o peso foram monitorizados ao longo do estudo.

Resultados: A d-anfetamina potenciou o efeito do stresse no aumento do comportamento MNF, e consequentemente, da atrição: Grupo I ($6,4 \pm 0,2$ mm), Grupo II ($6,8 \pm 0,3$ mm) e Grupo III ($7,2 \pm 0,4$ mm). O protocolo de acupunctura levou a um aumento significativo de MMNF numa fase inicial do estudo e consequentemente da atrição no Grupo IV ($7,84 \pm 0,62$ mm). Apesar de os animais do Grupo II não terem aumentado de peso, a anfetamina produziu uma diminuição do peso entre o dia 0 e o dia 14 no Grupo III ($-21,3 \pm 16,4$ g) e a acupunctura potenciou ainda mais esta perda de peso no Grupo IV ($-49,37 \pm 29,83$ g). Relativamente à concentração sérica da CK, observou-se que o stresse produziu um aumento dos teores séricos desta enzima relativamente ao Grupo I em função do tempo, atingindo o valor máximo ao 14º dia: Grupo I (1752,4 U/L), Grupo II (2573,2 U/L), Grupo III (3416,9 U/L) e Grupo IV (3315,9 U/L). Os presentes resultados demonstram ainda que a anfetamina potencia a acção do stresse no aumento da CK sérica nos dias 7 e 14 e a acupunctura parece não afectar estes valores. Os valores do cortisol para o Grupo II, Grupo III e Grupo IV são superiores ao Grupo I ($p < 0,0001$) nos 3 tempos medidos. No entanto, não há diferenças estatisticamente significativas entre os Grupos II, III e IV.

Conclusões: Em ratos, o stresse aumenta os MMNF, a atrição e a CK, sendo a anfetamina potenciadora destes factores. Uma dose crescente de d-anfetamina potencia o bruxismo induzido por stresse mas não aumenta o cortisol circulante, ao contrário do stresse, sugerindo que a expressão de MMNF atenua a activação do eixo Hipotálamo-Hipófise-Suprarrenal. Ao contrário do que se esperava, este protocolo de acupunctura não diminuiu a atrição incisal, apresentando estes animais uma perda de peso significativa. Não trouxe alterações significativas relativamente à CK, assim como aos pesos do timo, baço e supra-renais. A acupunctura aumentou o nível de cortisol na análise intermédia, para o diminuir na terceira análise. Sugere-se que a manipulação por tratamento de acupunctura poderá, por si só, ser um agente stressante, poderá necessitar de tempo para actuar ou ainda que os animais, em função do tempo, se habituem a este factor, diminuindo a intensidade de resposta.

Palavras-Chave: Anfetamina, Bruxismo, Stresse, Atrição Dentária, Cortisol, Creatina-Cinase, Acupunctura

2- Abstract

Introduction: The concept of the central etiology in bruxism has been reinforced by several studies in the last decades. It has been suggested that the chronic abuse of amphetamine produces bruxism, reinforcing its central etiology. The effects of acupuncture in bruxism are still moderately unknown.

Objective: To evaluate the impact of chronic use of amphetamine on the non-functional masticatory movements (NFMM), stress-induced behavior and dental attrition. Serum creatinine-kinase (CK) and cortisol levels were also assessed, as well as the weight evolution and the effects of acupuncture in a new experimental model of NFMM with d-amphetamine.

Materials and methods: 40 Wistar male rats (9 weeks of age) were divided as follows: Group I (control; GI) did not suffer any experimental manipulation; Group II was submitted to a stress induction protocol for 14 days including a single daily saline i.p. injection; Group III was submitted simultaneously to stress and to escalating single daily doses of amphetamine using a procedure of increasing doses and Group IV submitted to the same stress induced and amphetamine injection protocol and acupuncture treatment. Dental marks close to the gingival margin in the lower incisors were drawn to evaluate the influence of the induction protocols in the dental attrition. Blood samples were collected in days 1, 7 and 14 to evaluate the serum CK and cortisol levels. The animals' behaviour, including NFMM, was monitored throughout the study. The animals' behaviour, including the NFMM and their weight were monitored during the study.

Results: d-Amphetamine potentiated stress-induced increase in NFMM, stress-related behavior and consequently in dental attrition (Group I: $6,4 \pm 0,2$ mm, Group II: $6,8 \pm 0,3$ mm and Group III: $7,2 \pm 0,4$ mm. The acupuncture protocol led to a significant gain in NFMM, in an initial phase of the study and consequently in attrition in Group IV ($7,84 \pm 0,62$ mm). While the Group II animals didn't gain weight, amphetamine produced a decrease in body weight between day 0 and 14 in Group III ($-21,3 \pm 16,4$) and acupuncture potentiated this loss in Group IV ($-49,37 \pm 29,83$ g). The CK serum levels increased time-dependently in both GII and GIII groups (Day 14-Group I: 1752,4 U/L; Group II: 2573,2 U/L and Group III: 3416,9 U/L). The present results demonstrate that amphetamine enhances the action of stress as suggested by higher CK serum on 7 and 14 days when compared to Group II and acupuncture seems not to affect this values. The Group II and Group III cortisol levels were higher than the Group I cortisol levels

($p < 0,0001$) in all assessed periods. There are no statistically significant differences between Group II, Group III e Group IV.

Conclusions: In rats stress promotes behavioral changes in NFMM and an increase in attrition, in the raise of CK, being the ATS the enhancer of these factors. A sensitizing dose of d-amphetamine regimen potentiates stress-induced bruxism but does not raise cortisol levels, unlike stress, suggesting that NFMM attenuate Hypothalamus-Pituitary-Adrenal axis under this stimulant. Unlike what was expected, the acupuncture protocol did not decrease attrition and led to a significant weight decrease. It did not change CK levels, as well as thymus, spleen and adrenal glands weight. Acupuncture raised cortisol levels on the intermediate analysis, decreasing on the third analysis. We think that acupuncture manipulation may be a stressful agent, it may need longer time to produce effect or that the animals may get used to this factor, decreasing the intensity of the answer.

Keywords: Amphetamine, Bruxism, Stress, Dental Attrition, Cortisol, Creatine-Kinase, Acupuncture

Perspectivas Futuras

Uma dissertação de mestrado, assim como qualquer trabalho científico apresenta características e limitações próprias. Deve procurar responder a algumas questões específicas mas permitir uma abertura suficiente para suscitar outras e orientar novas linhas de investigação.

Tendo por base os resultados apresentados, seria interessante analisar, segundo o mesmo protocolo, grupos experimentais submetidos isoladamente às variáveis de anfetamina e acupunctura. Poderia também ser interessante avaliar o efeito da acupunctura num tempo experimental mais longo, ou até mesmo diferentes protocolos de acupunctura.

Através de um procedimento de necrópsia meticuloso, este trabalho permitiu também recolher os músculos mastigatórios e os cérebros destes animais. Assim, temos já programado o início dos trabalhos no sentido de efectuar uma análise histomorfométrica dos músculos mastigadores e da marcha, bem como uma avaliação da expressão de marcadores cerebrais (corpo estriado) relacionados com bruxismo e drogas de abuso.

Numa perspectiva temporal mais alargada, seria interessante (embora limitados por questões orçamentais) efectuar Ressonâncias Magnéticas Funcionais a ratos submetidos a este protocolo, no sentido de identificar as regiões cerebrais envolvidas nestes processos.

Nota de Esclarecimento

Os autores deste trabalho não receberam qualquer apoio financeiro para a pesquisa dado por qualquer organização que possa ter ganho ou perda com a sua publicação. Os autores ou as suas famílias não receberam honorários de consultadoria ou foram pagos como avaliadores por organizações que possam ter ganho ou perda com a publicação deste trabalho, não possuem acções ou investimentos em organizações também que possam ter ganho ou perda com esta publicação. Não receberam honorários de apresentações vindos de organizações que, com fins lucrativos, possam ter ganho ou perda com a publicação deste trabalho, não estão empregados por qualquer entidade comercial e também não possuem patentes ou *royalties*, nem trabalham como testemunhas especializadas, ou realizam actividades para qualquer entidade com interesse financeiro nesta área.

Endereço para Correspondência

Júlio André Ramalho da Fonseca
Rua Dr. Paulo Quintela, nº 69, 7ºB
3030-393 Coimbra – Portugal

jfonsecas@hotmail.com

