



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DA DENSIDADE CELULAR
PULPAR EM DENTES DE RATO WISTAR SUBMETIDOS AO
RUÍDO INDUSTRIAL**

Trabalho submetido por
Carolina de Carvalho Telo Cardoso Doroteia
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

outubro de 2020



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DA DENSIDADE CELULAR
PULPAR EM DENTES DE RATO WISTAR SUBMETIDOS AO
RUÍDO INDUSTRIAL**

Trabalho submetido por
Carolina de Carvalho Telo Cardoso Doroteia
para a obtenção do grau de **Mestre** em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutora Maria Alzira Cavacas

outubro de 2020

DEDICATÓRIA

À minha querida Madi.

AGRADECIMENTOS

À Prof. Doutora Maria Alzira Cavacas por todo o apoio prestado na orientação deste projeto, pela disponibilidade, pelo conhecimento, pela motivação e pelo esforço na procura do sucesso deste trabalho. Obrigada professora por me guiar, sempre com simpatia e um sorriso, indicando o caminho a seguir.

Ao Prof. Doutor Luís Proença pela disponibilidade e ajuda na análise estatística dos dados.

Aos meus pais, por tudo o que sempre fizeram e fazem por mim, por serem o meu pilar, por confiaram em mim de olhos fechados e por me incentivarem a seguir e alcançar os meus sonhos. À minha mãe, a minha pessoa e a quem tudo devo, por me proporcionar sempre o melhor, pela paciência, por nunca duvidar de mim e por todos os ensinamentos. Por ser um exemplo de força, humildade e resiliência e a pessoa que eu mais admiro. Por me demonstrar todos os dias o significado da palavra amor. Os meus privilégios vêm do teu sacrifício. Por tudo e mais alguma coisa, obrigada do fundo do coração!

À Ninim por ser a minha segunda mãe, por estar presente em todas as etapas da minha vida e por me apoiar incondicionalmente.

Aos meus avós por me acompanharem sempre de perto e me aconchegarem de comidinha boa todos os dias e, em especial à minha avó Bia, por quem eu sinto tanto carinho e que me devolve lealdade, ternura e amor a triplicar. Um obrigada não é suficiente porque sem ela o meu percurso não teria sido o mesmo.

Ao Jorge, o meu namorado, pelo amor, apoio e respeito. Por me incentivar a ser mais e melhor, pela compreensão, pela ajuda e por estar sempre a meu lado.

À Mariana, à Bea, à Carolina, ao Rodrigo e ao Tiago pela amizade, por todas as conversas, pela boa disposição, pelas aventuras, pelas horas de risada e por esperarem horas por uma mensagem minha, mas, mesmo assim, não desistirem da nossa amizade.

À Inês por ser uma amiga e uma parceira de box incrível. Obrigada por toda a ajuda e amizade.

Às amigas que percorreram este caminho comigo, Marta, Natacha e Olga, obrigada pelos 5 anos inesquecíveis. Sem vocês nada teria sido igual. Obrigada por se fazerem presentes 24h/dia e por me apoiarem sempre.

À Egas Moniz e a todos os professores e funcionários que fizeram parte do meu percurso.

RESUMO

Introdução: O ruído industrial é um agente agressor que provoca várias modificações nos tecidos biológicos, nomeadamente ao nível do sistema estomatognático. Estudos anteriores referem que os dentes apresentam várias alterações morfológicas e histológicas no complexo pulpo-dentinário tanto pelo impacto direto do ruído, como pelo aumento do *stress*.

Objetivo: Caracterizar, sob o ponto de vista histológico, através de uma análise quantitativa, a influência do ruído industrial sobre as células pulpares de dentes de rato *Wistar*.

Materiais e Métodos: O material do presente estudo foi preparado e utilizado em estudos anteriores de Cavacas (2014). Os cortes histológicos foram observados ao microscópio ótico e fotografados com uma ampliação de 400x, juntamente com uma escala de 100µm, abrangendo a região da polpa coronária da cúspide selecionada. Correspondem a animais mantidos em silêncio para controlo e a animais submetidos ao ruído aos 1, 3, 5 e 7 meses. Estas amostras foram quantificadas através do *software ImageJ* e, seguidamente, foi calculada a área correspondente às células pulpares quantificadas. Posteriormente, foi efetuada a análise estatística dos dados.

Resultados: Nos animais expostos, ao primeiro e ao terceiro mês parece haver uma diminuição acentuada da densidade celular. No quinto mês, esta diminuição parece manter-se, embora menos acentuada e, no sétimo mês de exposição, parece verificar-se uma semelhança entre os resultados do grupo de controlo e do grupo exposto. Estatisticamente observaram-se diferenças significativas na densidade celular pulpar entre os grupos aos 3 meses.

Conclusão: A diminuição da densidade celular pulpar observada é em muito semelhante a uma das modificações encontradas nos dentes mais envelhecidos. Assim, pode-se concluir que a exposição ao ruído industrial parece desencadear um envelhecimento precoce dos dentes que pode ocorrer quer pelo aumento do *stress*, que leva a uma hiperatividade dos músculos mastigatórios e, conseqüentemente, à manifestação de hábitos parafuncionais, quer pelo impacto direto do ruído.

Palavras-chave: ruído industrial, densidade celular pulpar, análise quantitativa, rato *Wistar*

ABSTRACT

Introduction: Industrial noise is a damaging force that causes modifications in biologic tissues, especially on a stomatognathic system. Previous studies show that teeth have multiple morphological and histological changes on dentin-pulp complex caused by direct noise impact or increased stress.

Goal: To characterize the effect of industrial noise on pulp cells of Wistar rat from a histological point of view, through a quantitative analysis.

Materials and Methods: The material of this study was previously prepared and used on studies conducted by Cavacas (2014). The histologic cuts were observed over the microscope, and photographed with a 400x zoom, on a 100µm scale, including the coronary pulp of the selected cuspid. The cuts refer to animals kept in silence for monitoring and animals exposed to noise on the 1st, 3rd, 5th and 7th month. These samples were quantified through ImageJ software and then the corresponding area of the quantified pulp cells was calculated. Later, a statistical analysis was performed.

Results: On the exposed animals, on the 1st and 3rd months, a considerable reduction of cell density seems to occur. On the 5th month, this reduction seems to be stabilized, however, less evident and, on the 7th month, similar results are observed on both control and exposed groups. Statistically, there are significant differences in pulp cell density between the study groups on the 3rd month.

Conclusion: The observed reduction of pulp cell density is similar to modifications found on aged teeth. Therefore, it can be concluded that the exposure to industrial noise seems to cause premature teeth ageing that can be induced by increased stress, leading to hyperactivity of chewing muscles and in consequence the manifestation of parafunctional habits due to the direct impact of noise.

Keywords: industrial noise, pulp cell density, quantitative analysis, Wistar rat

ÍNDICE

I. INTRODUÇÃO	13
1. Ruído ambiental e saúde.....	14
2. Poluição sonora, som e ruído, ruído industrial e RBF	15
3. Avaliação e quantificação do ruído	17
4. Alterações induzidas pelo RBF/ ruído industrial.....	20
5. O dente.....	23
5.1. Complexo pulpo-dentinário.....	27
5.2. Polpa	28
5.3. Odontoblastos	34
5.4. Envelhecimento dentário	37
5.4.1. Alterações associadas ao envelhecimento no esmalte.....	38
5.4.2. Alterações associadas ao envelhecimento na dentina.....	38
5.4.3. Alterações relacionadas com a idade na polpa dentária	39
5.5. Sistema estomatognático do rato <i>Wistar</i>	39
6. Ruído industrial e <i>stress</i>	41
7. Hábitos parafuncionais	43
8. Desgaste dentário.....	46
II. OBJETIVOS E HIPÓTESES.....	49
III. MATERIAIS E MÉTODOS	51
1. Modelo animal.....	51
2. Protocolo Experimental	51
2.1. Exposição ao ruído industrial	51
3. Macro e microscopia	52
4. Tipo de estudo e amostra	53
5. Critérios	53
6. Observação ao microscópio ótico.....	53
7. <i>ImageJ</i>	54

8. Análise estatística	55
IV. RESULTADOS.....	57
1. Resultados da análise histológica	58
1.1. 1º Mês	58
1.2. 3º Mês	59
1.3. 5º Mês	60
1.4. 7º Mês	62
2. Resultados da análise estatística	63
2.1. 1º mês	63
2.2. 3º Mês	65
2.3. 5º Mês	67
2.4. 7º Mês	68
V. DISCUSSÃO	71
VI. CONCLUSÃO	77
VII. BIBLIOGRAFIA	79

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Espectro do som (adaptada do Instituto do ambiente, 2004).	16
Figura 2. Classes de sonómetros (adaptado de da Silva, 2009).	19
Figura 3. Funcionamento de um sonómetro (adaptado de da Silva, 2009).	19
Figura 4. Mecanismos de interação entre o ruído ambiental e os efeitos na saúde humana (adaptado de Boer & Schroten, 2007).	21
Figura 5. Alterações Cardiovasculares devido à exposição ao RBF (adaptado de Babisch, 2014).	22
Figura 6. Formação e desenvolvimento do dente (odontogénese). Alterações morfológicas do órgão dentário à esquerda correlacionadas com alterações celulares dos dentes em desenvolvimento à direita, correspondentes a cada período da embriologia dentária. A proliferação celular relaciona-se com a fase de chapéu, enquanto que a diferenciação celular está relacionada com a fase de sino. Os odontoblastos induzem a dentinogénese e os ameloblastos a amelogénese. As fases de secreção, de maturação e de proteção fazem parte do processo de diferenciação dos ameloblastos (adaptado de Chiego, 2019).	27
Figura 7. (A) Micrografia que mostra a distribuição de alguns tipos de células na polpa. A = zona odontoblástica adjacente à dentina; B = zona livre de células; C = zona rica em células; D = região central da polpa onde predominam fibroblastos (azul de toluidina; × 200). (B) Maior ampliação onde se pode observar a camada odontoblástica pseudoestratificada (A). B = zona livre de células; C = zona rica em células; D = dentina (azul de toluidina; × 650) (adaptada de Berkovitz et al., 2018).	31
Figura 8. Odontoblastos maduros em microscopia ótica da camada odontoblástica coronal de pacientes jovens (15 anos), jovens-adultos (25 anos) e adultos (75 anos) [A-C], onde se observam grandes vacúolos e células de aspeto colunar nas idades jovens (A, B), em oposição à idade adulta, em que os odontoblastos são mais curtos e achatados, com densos depósitos acumulados em vacúolos autofágicos (adaptada de Couve et al., 2013).	35
Figura 9. Espectro de distribuição das frequências e intensidades gravadas e reproduzidas no ambiente ao qual foram expostos os animais (adaptado de Oliveira et al., 2005 cited in Cavacas, 2014).	52
Figura 10. Representativa das ferramentas utilizadas no ImageJ. (A) mostra a região pulpar analisada, com base na escala de 100µm; em (B) pode-se observar a contagem	

manual das células; (C) exibe como foi medida a área, abrangendo apenas as células que vão ser quantificadas.	54
Figura 11. Representação esquemática da seleção das amostras no estudo.	57
Figura 12. Percentagem de dentes com 2 e com 3 cúspides na amostra do estudo.	58
Figura 13. Microfotografias de cortes transversais de dentes de rato Wistar, onde é possível observar as células na porção coronária da polpa dentária. Amostras representativas de 1 mês de controlo (A) e 1 mês de exposição (B) (HE, 40x).	59
Figura 14. Microfotografias de cortes transversais de dentes de rato Wistar, onde é possível observar as células na porção coronária da polpa dentária. Amostras representativas de 3 meses de controlo (A) e 3 meses de exposição (B) (HE, 40x).	60
Figura 15. Microfotografias de cortes transversais de dentes de rato Wistar, onde é possível observar as células na porção coronária da polpa dentária. Amostras representativas de 5 meses de controlo (A) e 5 meses de exposição (B) (HE, 40x).	61
Figura 16. Microfotografias de cortes transversais de dentes de rato Wistar, onde é possível observar as células na porção coronária da polpa dentária. Amostras representativas de 7 meses de controlo (A) e 7 meses de exposição (B) (HE, 40x).	62
Figura 17. Esquema resumo dos efeitos do ruído industrial na polpa dentária.	75

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Tempo de exposição total ao ruído industrial para cada grupo (em horas) (adaptada de Cavacas, 2014).	52
Tabela 2. Dados relativos ao 1º mês.	59
Tabela 3. Dados relativos ao 3º mês.	60
Tabela 4. Dados relativos ao 5º mês.	61
Tabela 5. Dados relativos ao 7º mês.	63
Tabela 6. Resumo de processamento de casos para o 1º mês.	64
Tabela 7. Medidas estatísticas do grupo controlo e do grupo exposto para o 1º mês. ..	65
Tabela 8. Medidas estatísticas do grupo controlo e do grupo exposto para o 3º mês. ..	66
Tabela 9. Postos 3º mês.	66
Tabela 10. Teste não paramétrico: Teste de Mann-Whitney para o grupo 3.	66
Tabela 11. Resumo de processamento de casos para o 5º mês.	67
Tabela 12. Medidas estatísticas do grupo controlo e do grupo exposto para o 5º mês. 68	
Tabela 13. Medidas estatísticas do grupo controlo e do grupo exposto para o 7º mês. 69	
Tabela 14. Postos 7º mês.	69
Tabela 15. Teste não paramétrico: Teste de Mann-Whitney para o grupo 7.	69

LISTA DE ABREVIATURAS

ATM – Articulação temporomandibular

CiiEM - Centro de Investigação Interdisciplinar do Instituto Universitário Egas Moniz

DALYs - *Disability-Adjusted Life Years*

dB - *decibel*

dB(A) - Decibel com a ponderação A

DVA - Doença Vibroacústica

HE - Hematoxilina-Eosina

HHA - Hipotálamo-Hipófise-Adrenal

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

Hz – *Hertz*

JAD - Junção amelodentinária

OMS – Organização Mundial de Saúde

RBF – Ruído de Baixa Frequência

RMS - *Root Mean Square*

SNA – Sistema Nervoso Autónomo

TGF - Fator de crescimento transformador

µm - Micrómetros

I. INTRODUÇÃO

A exposição ao ruído pode ter efeitos adversos e nefastos na saúde humana. No entanto, o impacto deste na saúde e a preocupação com a qualidade do ambiente não é recente.

Nas últimas décadas do século XIX, com o início da era industrial, o ruído já era identificado como um problema de saúde pública, uma vez que os efeitos auditivos causados por uma exposição prolongada ao ruído são cumulativos e irreversíveis (Carnicelli, 1994).

Em 1928, Laird concluiu que os trabalhadores que estavam várias horas sujeitos ao ruído proveniente das máquinas de datilografia, apresentavam alterações fisiológicas (Alves-Pereira, 1999).

Com a industrialização e a globalização, fatores ambientais como o ruído e a poluição do ar têm cada vez mais impacto (Münzel *et al.*, 2018), verificando-se um contínuo crescimento em extensão, frequência e severidade como resultado não só da urbanização, como também de um crescimento populacional e do desenvolvimento tecnológico.

O ruído ocupacional é o tipo de exposição ao ruído mais estudado, sendo que esta pesquisa se expandiu para o ruído social (por exemplo, o ouvido em bares ou através de instrumentos tocados por músicos) e o ruído ambiental (por exemplo, o ruído industrial) (Basner *et al.*, 2014). Estas formas de exposição ao ruído têm sido associadas a uma variedade de efeitos na saúde não só auditivos (perda auditiva e zumbido) como também efeitos não auditivos, especialmente após a exposição a longo prazo. Estes efeitos são resultado de alterações ao nível psicológico e fisiológico, bem como de uma perturbação da qualidade de vida e da homeostase do organismo (Basner *et al.*, 2014).

As doenças atribuíveis a todas as formas de poluição foram responsáveis por, aproximadamente, nove milhões de mortes prematuras, correspondendo a 16% de todas as mortes globais, sendo 3 vezes maior que o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), a tuberculose e a malária juntas, ou 15 vezes maior que as mortes por todas as guerras e outras formas de violência. (Landrigan *et al.*, 2018). Desta forma, a percepção do ruído ocupacional e ambiental é necessária e essencial para a saúde pública.

O ruído de baixa frequência (RBF) é um ruído de fundo muito comum em ambientes urbanos. No campo da medicina do trabalho, estudos afirmam que o ruído de baixa frequência interfere no desempenho das tarefas de trabalho (Bluhm *et al.*, 2007) e

pode afetar a saúde mental e física. Derivadas deste, foram observadas alterações morfológicas e funcionais na glândula parótida (Oliveira *et al.*, 2007); no periodonto, nomeadamente ao nível do ligamento periodontal (Mendes *et al.*, 2007, 2009, 2014); alterações morfológicas dentárias (Cavacas, 2014), particularmente um maior desgaste dentário (Cavacas *et al.*, 2013, 2015) e alterações qualitativas morfológicas, nomeadamente histológicas na polpa dentária e regiões adjacentes (Leonardo, 2019). Estes estudos foram realizados no Centro de Investigação Interdisciplinar do Instituto Universitário Egas Moniz (CiiEM).

Desta forma, são assim evidenciadas alterações ao nível do sistema estomatognático, decorrentes de uma exposição prolongada ao ruído. Sendo o sistema estomatognático formado por estruturas estáticas (onde se inserem os dentes e o periodonto) e dinâmicas que atuam em conjunto (Andrade *et al.*, 2017), os dentes podem conduzir a desequilíbrios que afetam outras estruturas da cavidade oral.

Considera-se assim relevante dar continuidade à avaliação da densidade celular pulpar em dentes de rato *Wistar* submetidos ao ruído industrial, efetuada por Leonardo (2019), no seguimento dos estudos de Cavacas (2014) e Cavacas *et al.* (2015), procurando quantificar as alterações celulares ao nível da polpa.

1. Ruído ambiental e saúde

Do aumento exponencial dos aglomerados urbanos têm resultado vários problemas ambientais e sociais, como o ruído ambiental, resultantes dos padrões de consumo e estilo de vida (Alves *et al.*, 2015).

O ruído ambiental foi definido na Diretiva 2002/49/CE da União Europeia como um “som externo indesejado ou prejudicial, criado por atividades humanas, incluindo o ruído emitido por meios de transporte, tráfego rodoviário, ferroviário, aéreo e instalações utilizadas na atividade industrial”.

Na declaração de Parma, adotada na Quinta Conferência Ministerial da Organização Mundial de Saúde (OMS) sobre Meio Ambiente e Saúde em março de 2010, resultados preliminares do *European Burden of Disease*, mencionaram o ruído ambiental como uma prioridade, uma vez que o ruído se encontra em segundo lugar, após a poluição do ar, dos agentes ambientais causadores de *stress* com maior impacto na saúde pública, em seis países europeus (Bélgica, Finlândia, França, Alemanha, Itália e Holanda) (World Health Organization [WHO], 2010). A exposição à poluição sonora, particularmente em

ambiente urbano, tem aumentado, contrariamente a outros fatores de poluição (por exemplo, exposição a fumos, dioxinas e benzeno) (Öhrström *et al.*, 2006; WHO, 2011). Desta forma, torna-se importante determinar e compreender os possíveis efeitos deste na saúde.

Em 2011, o Escritório Regional da OMS para a Europa e o Centro Comum de Pesquisa da Comissão Europeia publicaram um relatório sobre as doenças provocadas pelo ruído ambiental. Este relatório quantificava os anos saudáveis de vida perdidos nos países da Europa Ocidental como resultado do ruído ambiental (WHO, 2011). O relatório, baseado num conjunto limitado de dados, estimou que os Anos de Vida Ajustados por Incapacidade (*Disability-Adjusted Life Years, DALYs*) perdidos por ruído ambiental nos países da Europa Ocidental são equivalentes a 60 000 anos para doenças cardíacas isquémicas, 45 000 anos para o comprometimento cognitivo das crianças, 903 000 anos para distúrbios do sono, 21 000 anos para zumbido e 587 000 anos para incomodidade (WHO, 2011).

2. Poluição sonora, som e ruído, ruído industrial e RBF

A poluição sonora pode ser definida como qualquer modificação das propriedades físicas do meio ambiente, sob a forma de agressão ambiental que é muitas vezes descurada, causada por uma combinação de sons, desejáveis ou não, que direta ou indiretamente produzem efeitos adversos na saúde, na segurança e no bem-estar dos indivíduos e da população. Pelo facto de causar limitações na qualidade de vida, influenciar negativamente os ecossistemas e de ser considerada um inimigo invisível, é essencial o seu controlo sistemático (D'Agosto, 2015).

Os conceitos “som” e “ruído” são comumente utilizados como equivalentes e, de facto, do ponto de vista físico, o ruído é indistinguível do som (Saliba, 2018), sendo que a diferença reside na avaliação subjetiva do recetor.

O ruído pode ser definido como um som que pode provocar ou contribuir para uma resposta psicológica e fisiológica indesejável para o bem-estar do indivíduo (Berglund & Lindvall, 1995) que causa perturbação subjetiva ou irritação, em geral associado a uma conotação negativa (Erkan, 1988 cited in Akansel & Kaymakçi, 2008). Apesar de poderem ser causadores de problemas na saúde, os sons fortes nem sempre são percecionados como ruído, como é o caso da música durante um concerto (Comissão Europeia, 2009).

Com base na acústica física, o conceito de som abrange o conceito de ruído, uma vez que os sons que possuem uma intensidade capaz de provocar sequelas psicológicas ou físicas são intitulados de ruído, independentemente da avaliação subjetiva do recetor (da Silva, 2009).

Assim sendo, fisicamente, o ruído pode definir-se como a manifestação audível de vibrações mecânicas de um meio elástico, podendo ser através de um meio gasoso, líquido ou sólido (Bistafa, 2011). Entende-se por meio elástico qualquer meio material que propague uma onda sonora, apresentando uma capacidade de se deformar à passagem das ondas sonoras, mas que, após estas passarem, volta à sua forma inicial (Mendes, 2009).

Para que o som se propague e seja recebido, é necessário a existência de uma fonte sonora que o produza, um meio de propagação e um recetor com um sistema auditivo capaz de detetar as pequenas variações de pressão numa determinada gama de frequências. Assim sendo, para se verificar um decrescimento da poluição sonora, devem ser tomadas medidas em cada um destes elementos (D'Agosto, 2015).

A atividade industrial concorre vigorosamente para a presença de altos níveis de ruído nas cidades, pelo que é considerada um dos principais focos de poluição sonora (Agência Portuguesa do Ambiente [APA], 2009).

O ouvido humano tem a capacidade de detetar sons na faixa de frequência entre 20 e 20.000 Hz (Hertz) (Gomes & Rodrigues, 2017). Abaixo de 20 Hz, encontram-se os infrassons e acima de 20.000Hz, os ultrassons (figura 1) (Berglund *et al.*, 1996; Bistafa, 2011).

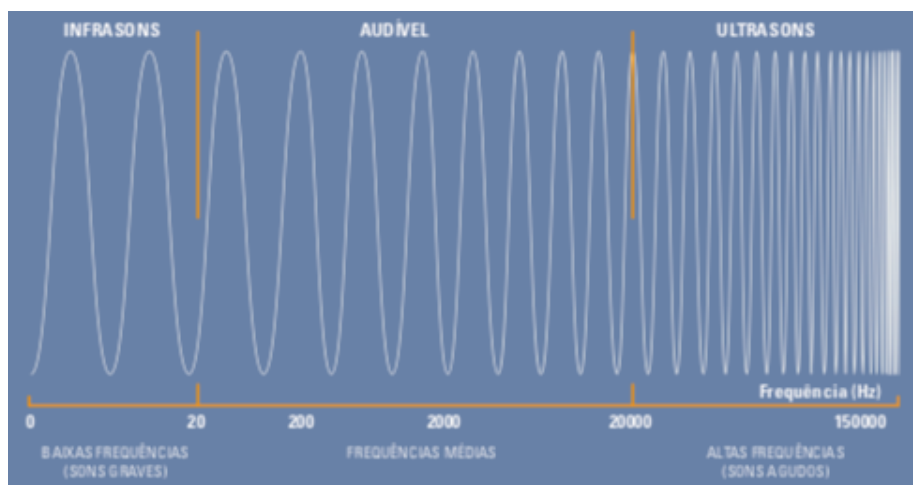


Figura 1. Espectro do som (adaptada do Instituto do ambiente, 2004).

Os equipamentos industriais produzem ruído de baixas frequências (20 Hz a 500 Hz) (Martins & Alencar, 2013). O ruído que tem uma frequência menor ou igual a 500 Hz e uma amplitude de 80–110 dB é designado, por alguns autores, como ruído de baixa frequência (RBF) (Oliveira *et al.*, 2007). Por outro lado, existem outros autores que, dependendo da avaliação do ruído, consideram ser inferior a 250, 200 ou até 100 Hz (Takahashi *et al.*, 2005). Em Portugal, de acordo com Cavacas (2014), o espectro considerado está compreendido entre os 10Hz aos 500Hz, incluindo o som audível e os infrassons.

Este tipo de ruído pode surgir a partir de fontes naturais, incluindo as ondas do mar, turbulência do ar ambiente, terremotos ou a partir de fontes artificiais, nomeadamente instalações industriais, eletrodomésticos, transportes, explosões decorrentes da exploração mineira ou equipamento de movimentação de ar (turbinas eólicas) (Baliatsas *et al.*, 2016; Leventhall *et al.*, 2003).

O RBF, que engloba o ruído industrial, é um tipo de ruído de extrema importância para a saúde, uma vez que provoca diferentes reações fisiológicas e psicológicas nos seres humanos em comparação com as médias e altas frequências (Berglund *et al.*, 1996).

Berglund *et al.* (1996) e Leventhall *et al.* (2003) mencionam que se deve dar especial atenção aos efeitos do RBF e, consequentemente do ruído industrial, pela sua capacidade de penetração, pela quantidade de fontes, pela falta de atenuação existente nas estruturas de isolamento/dissipação (casas, paredes, muros), pela alta propagação e capacidade de perder energia ao atravessar grandes distâncias devido à atenuação atmosférica e do solo.

3. Avaliação e quantificação do ruído

Os efeitos provenientes da exposição sonora, prejudiciais à saúde auditiva humana, podem diferenciar-se quer pelo alcance das emissões sonoras quer pela capacidade individual de resistência ao ruído. Assim sendo, um conjunto de pessoas, no mesmo local de trabalho, sujeita aos mesmo níveis de ruído, pode apresentar riscos individuais díspares procedentes da exposição sonora (Gomes & Rodrigues, 2017). Desta forma, devem ser implementadas técnicas de medição, análise e controlo do ruído ambiental para verificar a sua conformidade comparativamente aos padrões admissíveis, demonstrar os seus efeitos sobre a saúde dos trabalhadores e, consequentemente, orientar quanto à necessidade de eventuais medidas de controlo e prevenção (Casas *et al.*, 2014).

O Decreto-Lei no 182/2006 menciona que “a atualização da avaliação de riscos deve ocorrer sempre que existam alterações significativas nas emissões sonoras, na criação ou modificação de postos de trabalho, bem como quando o resultado da vigilância da saúde demonstrar a necessidade de nova avaliação”.

Para a referente avaliação podemos considerar dois tipos de análise distintos, mas complementares entre si: a análise qualitativa e a análise quantitativa.

Na análise qualitativa, o método de entrevista direta (por exemplo) possibilita o diagnóstico participativo baseado na perceção da população exposta ao ruído, sem recurso a equipamentos ou escalas quantificadoras. Em oposição à análise qualitativa, a análise quantitativa é efetuada recorrendo a medições com instrumentação adequada (Gomes & Rodrigues, 2017).

A avaliação do incómodo provocado pelo ruído centra-se, normalmente, nas médias e altas frequências (Alves *et al.*, 2015) e, devido à complexidade do sistema auditivo humano e à necessidade de avaliar o nível de pressão sonora [geralmente medido numa escala de decibéis (dB)], são utilizados diferentes filtros para ponderar os valores da pressão sonora em função da frequência (Berglund *et al.*, 1996).

Nestas avaliações, geralmente, é utilizado como padrão de medição o “*A weighting filter*” (apresenta os resultados em dB (A) ou dBA), isto é, mede a amplitude acústica média como se estivesse a ser percecionada pelo ouvido humano. Desta forma, é processada a correspondência entre a sensibilidade do ouvido humano e as diversas frequências acústicas, sendo que a energia acústica que corresponde às frequências inaudíveis ou menos audíveis ao ouvido humano é excluída. Assim sendo, o nível de dBA descreve a amplitude média de um ambiente acústico audível, e não todo o (real) ambiente acústico (Alves-Pereira, 1999; Alves-Pereira *et al.*, 2004 cited in Alves-Pereira & Castelo Branco, 2007). Alguns estudos sugerem que o filtro de ponderação A não é apropriado para avaliar a incomodidade do ruído de baixa frequência, uma vez que subestima a importância de frequências abaixo de aproximadamente 100 Hz (Leventhall, 2004).

Quanto aos aparelhos de medição dos níveis sonoros, existem desde os sonómetros mais simples que, por sua vez, apresentam menor precisão (Classe 3), até aos mais precisos e mais complexos (Classe 1) (Figura 2) (Alves, 2017).

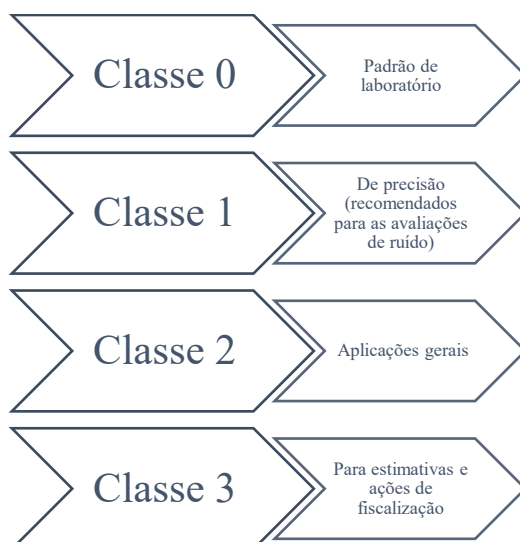


Figura 2. Classes de sonómetros (adaptado de da Silva, 2009).

Os sonómetros possuem um microfone que é responsável por detetar as pequenas variações de pressão provocadas por ondas sonoras e converte-as num sinal elétrico. Este sinal, por sua vez, é amplificado no pré-amplificador e passa, posteriormente, pelos filtros de ponderação (onde pode ser filtrado ou não). O sinal é novamente amplificado e passa para um detetor que determina o valor de *Root Mean Square* (RMS). O sonómetro efetua a leitura do som dependendo da leitura escolhida, em tempos de resposta distintos: *Slow* (1s), *Fast* (0,125s) e *Impulse* (0,035s) (figura 3) (Silva, 2007 cited in Alves, 2017).

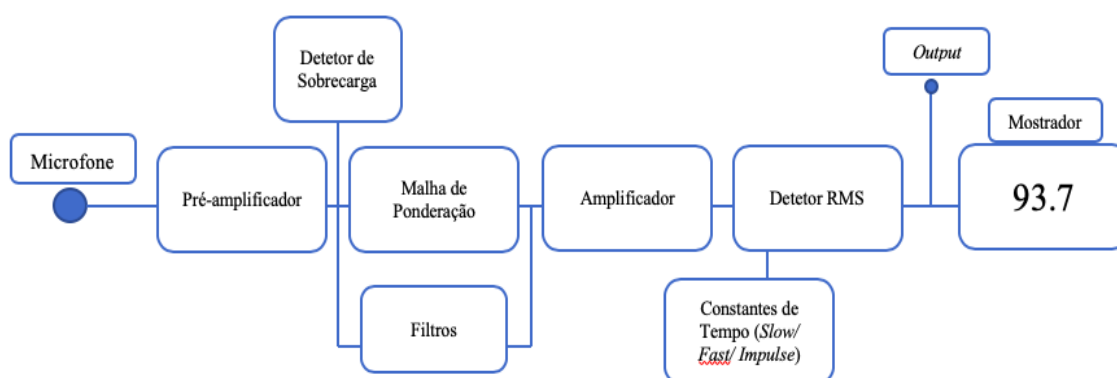


Figura 3. Funcionamento de um sonómetro (adaptado de da Silva, 2009).

A atual legislação de ruído ambiente em Portugal, que enquadra a adoção da norma NP ISO 1996, estabelece que, para a avaliação da tonalidade e da impulsividade, o sonómetro deve ser configurado para a malha A de ponderação na frequência, com

ponderação temporal “*fast*” e filtros de bandas de frequência de um terço de oitava, com frequências centrais entre 50 Hz e 10 000 Hz (APA, 2011).

4. Alterações induzidas pelo RBF/ ruído industrial

O ruído prejudica o organismo humano de múltiplas formas. Até à década de 1930, acreditava-se que os efeitos do ruído sobre a saúde humana apenas se manifestavam pela perda auditiva, no entanto, no estudo de Obata *et al.* (1934), publicado no *Journal of the Acoustical Society of America*, concluíram que os efeitos do ruído sobre a saúde iam além da perda auditiva. Sabe-se então que, apesar de provocar danos auditivos, pode afetar vários órgãos e levar ao comprometimento da atividade física, fisiológica e mental do indivíduo, através de um mecanismo indireto, inibindo ou ativando o sistema nervoso central e periférico (Andrade *et al.*, 1998).

Consequentemente, estes efeitos podem ser classificados, dependendo do tipo de repercussão que originam, como efeitos auditivos (com ação direta no sistema auditivo) ou como efeitos não auditivos (que resultam de uma ação geral sobre várias funções orgânicas).

A perda auditiva causada pela exposição ao ruído é considerada um problema de saúde pública (Basner *et al.*, 2014), podendo ser parcial ou total. Quando a exposição ao ruído se revela repetida e continuada, com um nível sonoro superior a 85 dB(A), podem verificar-se alterações irreversíveis nas células ciliares. Geralmente, as pessoas submetidas a esta modificação não são capazes de compreender perfeitamente algumas palavras ou sons no seu quotidiano, o que pode ter um efeito social grave. Esta incapacidade é irreversível dado que as células ciliares não podem ser regeneradas (à luz dos conhecimentos atuais) (Carvalho & Rocha, 2008). Embora a perda auditiva seja considerada como um efeito adverso na saúde humana causado pela exposição ao ruído, existem vários estudos inconclusivos relativamente à perda auditiva devido ao ruído de baixa frequência (Alves *et al.*, 2020).

Para além dos efeitos auditivos, podem-se encontrar os efeitos não auditivos que se podem manifestar tanto na dimensão física como psicológica (Basner *et al.*, 2014). Estes dependem não só dos níveis de pressão registados, como também da duração da exposição, do tipo de tarefa, do género, da idade, da sensibilidade ao ruído (figura 4) (Jafari *et al.*, 2019). Os efeitos não auditivos dependem ainda dos componentes de baixa

frequência presentes nos níveis de som medidos. Assim sendo, o ruído que contém componentes de baixa frequência tende a ser mais incómodo (Eriksson *et al.*, 2018).

Segundo as Diretrizes de Ruído Ambiental da OMS para a Região Europeia, os vários efeitos de saúde não auditivos, incluem distúrbios do sono, doenças cardiovasculares, complicações no parto, comprometimento cognitivo e efeitos adversos na saúde mental e bem-estar (figura 4) (Eriksson *et al.*, 2018).

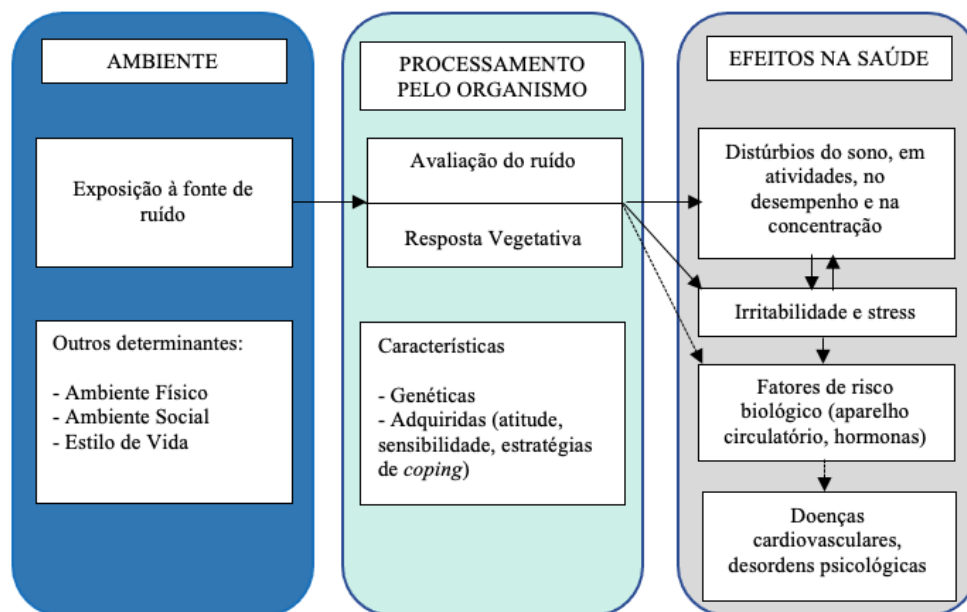


Figura 4. Mecanismos de interação entre o ruído ambiental e os efeitos na saúde humana (adaptado de Boer & Schroten, 2007).

Embora os mecanismos subjacentes não tenham sido totalmente elucidados, de acordo com o modelo dos efeitos do ruído de Babisch (2014) representado na figura 5, o ruído ambiental pode causar reações crônicas de *stress* que vão influenciar tanto o sistema nervoso autónomo como o sistema endócrino. Consequentemente, podem levar a alterações no metabolismo lipídico, no metabolismo da glicose e na regulação da pressão arterial que contribuem para um risco aumentado de doença cardiovascular (hipertensão, arteriosclerose, doença cardíaca isquémica ou trombose).

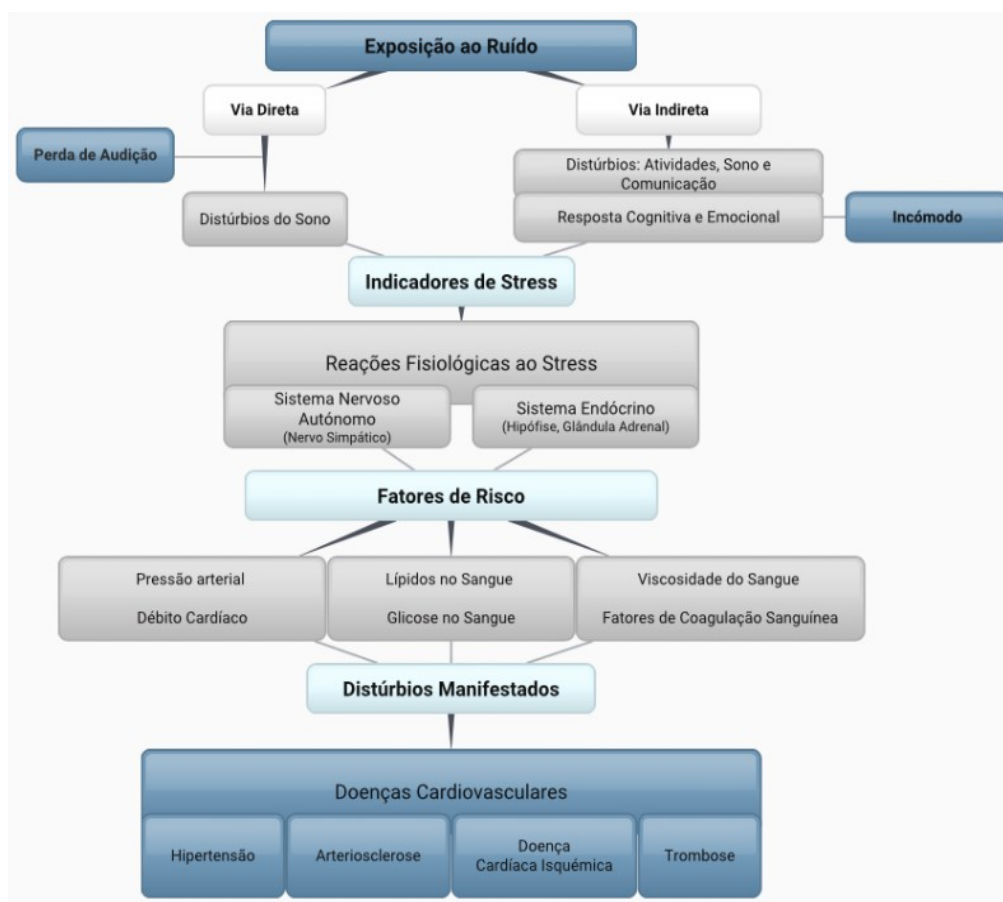


Figura 5. Alterações Cardiovasculares devido à exposição ao RBF (adaptado de Babisch, 2014).

Os efeitos prejudiciais para a saúde humana, decorrentes da exposição ao RBF, são discutidos por alguns autores sob o nome de Doença Vibroacústica (DVA). Esta pode ser explicada como uma patologia sistêmica que abrange todo o corpo, caracterizada por proliferação anormal de matrizes extracelulares causadas por exposição excessiva e prolongada (> 10 anos) ao RBF (Castelo Branco & Alves-Pereira, 2004).

A DVA tem sido estudada pelo Dr. Castelo Branco, do Centro para a Performance Humana, pelo grupo do Prof. Doutor Nuno Grande do Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar e, mais recentemente, pelo grupo CiiEM, Centro de Investigação Interdisciplinar do Instituto Universitário Egas Moniz.

Estudos revelaram alterações em diversos órgãos do rato *Wistar* quando submetido ao RBF, nomeadamente ao nível das artérias, onde se revelou o espessamento da íntima, acompanhado de rutura da lâmina elástica interna (Martins dos Santos *et al.*, 2002), alterações nos vasos linfáticos, nos quais se observou uma dilatação das paredes e rutura valvular (Martins dos Santos *et al.*, 2004) e tumefação do glomérulo renal e degeneração de podócitos (Martins dos Santos *et al.*, 2005). Provou-se a existência de

degenerescência vacuolar, necrose e morte celular, fibrose do tecido conjuntivo e espessamento da parede dos pequenos vasos (Oliveira et. al., 2007), sendo que os mesmos autores relataram alterações qualitativas e quantitativas da saliva após exposição prolongada ao RBF. Quanto às alterações morfológicas observadas na zona interior do córtex adrenal, estas sugerem que há uma ativação do eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal (HHA) pelo *stress* (Oliveira et al., 2009). Foram reveladas também lesões e morte celular no epitélio do estômago e duodeno com consequente erosão, fibrose e espessamento da submucosa e indícios de hemangiogênese (Fonseca et al., 2012), aumento de tecido conjuntivo na região centrolobular do fígado de ratos *Wistar* (Oliveira et al., 2012), fibrose no músculo cardíaco dos ratos expostos a RBF e redução das conexinas que participam na coordenação da contração do miocárdio (Antunes et al., 2013). Mendes (2009), Mendes et al. (2007, 2014) evidenciaram que o periodonto exposto ao RBF também apresenta alterações, tendo sido observadas lesões semelhantes à doença periodontal, com um aumento da atividade osteoclástica sobre o osso periodontal, alterações nas paredes dos vasos periodontais, proliferação das matrizes extracelulares e fibrose do ligamento. Foi observado ainda, um maior desgaste dentário, alterações morfológicas ao nível da dentina circumpulpar (Cavacas, 2014; Cavacas et al., 2015) e alterações qualitativas ao nível da morfologia e histologia da polpa dentária e regiões adjacentes dos dentes de ratos *Wistar* submetidos ao ruído industrial (Leonardo, 2019), tanto pelo impacto direto do ruído, como pelo aumento do *stress*.

5. O dente

A cavidade oral é constituída por uma variedade de tecidos moles e de tecidos duros, dos quais fazem parte os dentes. A parte visível do dente na boca é denominada coroa clínica, cuja extensão aumenta com a idade e com a doença periodontal, enquanto que a porção radicular do dente não é visível em condições periodontais normais. A coroa anatômica é coberta pelo esmalte e a raiz pelo cimento. A porção mais interna da coroa e da raiz é ocupada por tecido mole, a polpa, que é rica em vasos, nervos e tecido conjuntivo. A dentina ocupa a região entre o esmalte e a polpa (protegendo-a) na coroa, e entre a polpa e o cimento na porção radicular. O osso alveolar e o ligamento periodontal são partes constituintes do conjunto de tecidos que suportam e protegem o dente (Kumar, 2015).

O desenvolvimento dentário pode ser dividido em três fases sobrepostas: iniciação, morfogênese e histogênese. Na iniciação, os locais dos futuros dentes são estabelecidos, com o aparecimento de gérmenes dentários ao longo de uma invaginação do epitélio oral chamada lâmina dentária. Durante a morfogênese, é determinada a forma do dente por uma combinação de proliferação e de movimento celular. E, por último, durante a histogênese, a diferenciação das células (iniciada durante a morfogênese) prossegue para dar origem aos tecidos dentários totalmente formados, tanto mineralizados (cimento, dentina e esmalte) quanto não mineralizados (polpa dentária e ligamento periodontal) (Berkovitz *et al.*, 2018).

Os dentes desenvolvem-se a partir de interações entre dois tipos de células: as células ectodérmicas orais que formam o órgão do esmalte e as células mesenquimais que formam a papila dentária. O esmalte desenvolve-se a partir do órgão do esmalte e a dentina forma-se a partir da papila dentária (Chiego, 2019). As células mesenquimais são de origem ectomesenquimal (crista neural) e migram para as maxilas a partir das margens do tubo neural (Berkovitz *et al.*, 2018). A dentina e a polpa derivam da papila dentária, enquanto que o cimento, o ligamento periodontal e o osso alveolar são derivados do folículo dentário (proveniente de uma condensação do ectomesenquima que envolve o germen dentário) (Kumar, 2015). As interações mesenquimais epiteliais ocorrem para determinar, não só a forma do dente, como também a diferenciação das células que o formam e o momento da sua secreção sendo, desta forma, vitais para o início e a formação dos dentes (Chiego, 2019).

Embora a formação dentária seja um processo contínuo, o desenvolvimento do dente obedece à seguinte sequência: fase de botão, fase de chapéu, fase de sino, dentinogênese e amelogênese.

Na fase de botão, ocorre um crescimento arredondado e localizado de células ectodérmicas rodeadas por células mesenquimais em proliferação (Chiego, 2019). O epitélio oral invagina no mesênquima para formar uma banda epitelial primária, sendo que, posteriormente, esta vai dividir-se em dois processos: uma lâmina vestibular e uma lâmina dentária, que vai contribuir, mais tarde, para o desenvolvimento dos dentes (Berkovitz *et al.*, 2018). O epitélio das lâminas dentárias é separado do ectomesenquima subjacente por uma membrana basal. Da membrana basal surgem, simultaneamente à diferenciação de cada lâmina dentária, condensações redondas ou ovóides, em 10 pontos diferentes, correspondendo às posições futuras dos dentes decíduos (Kumar, 2015).

Gradualmente, a superfície mais profunda do órgão do esmalte invagina para formar uma estrutura em forma de chapéu, havendo assim uma progressão da morfogénese. Verifica-se ainda uma distinção entre as células mais arredondadas na porção central do órgão do esmalte e as células periféricas, uma vez que estas se estão a organizar para formar os epitélios externo e interno do esmalte. As células do epitélio externo do esmalte apresentam uma forma cuboide, enquanto que as do epitélio interno do esmalte tornam-se mais colunares (Berkovitz *et al.*, 2018).

Após um crescimento adicional da papila dentária e do órgão de esmalte, o dente atinge o estágio de morfodiferenciação e histodiferenciação, também conhecido como fase de sino, na qual ocorre formação de esmalte e dentina (Chiego, 2019). Na fase de sino é definida a forma da coroa, que se considera estar relacionada com a pressão exercida pelas crescentes células da papila dentária no epitélio interno do esmalte. O epitélio interno do esmalte é constituído por apenas uma camada de células que se diferenciam, antes da amelogénese, em células colunares altas chamadas pré-ameloblastos (Kumar, 2015), responsáveis pela formação e mineralização da matriz do esmalte. Estas células adquirem características de células secretoras de proteínas e depois permanecem inativas até que os odontoblastos produzam a primeira camada de matriz dentinária (Cavacas, 2014).

Esta interação entre as células ocorre através de um sistema de efetores, moderadores e recetores, designada por sinalização celular. Tanto os odontoblastos como os ameloblastos estabelecem uma relação posicional através de efetores e receptores que se encontram na superfície celular (Chiego, 2019).

A formação de dentina (dentinogénese) ocorre primeiro como uma camada ao longo da futura junção amelodentinária (JAD) no topo das cúspides e prossegue pulpar e apicalmente (Kumar, 2015). À medida que os odontoblastos migram em direção à polpa em desenvolvimento, ocorre a formação de uma matriz extracelular de 90% de fibras de colagénio tipo I e 10% de proteínas não colagénias. Esta matriz designa-se pré-dentina antes da mineralização e dentina após a mineralização. Simultaneamente, a papila dentária origina a polpa dentária, quando a dentina começa a rodeá-la. Os prolongamentos odontoblásticos continuam a alongar-se e são formados os túbulos dentinários, sucedendo-se uma deposição de matriz à volta destes. Os odontoblastos segregam proteínas para o exterior através de vesículas na porção apical da célula e através dos prolongamentos celulares. A matriz dentinária de colagénio é depositada por incrementos

como osso ou esmalte, o que indica um ritmo diário de formação dos tecidos duros (Chiego, 2019).

A dentinogênese ocorre então em duas etapas: primeiro, a formação da matriz de colagénio, seguida pela deposição de cristais de fosfato de cálcio (hidroxiapatite de cálcio) na matriz. A mineralização inicial ocorre com o aparecimento de cristais que estão na superfície de pequenas vesículas e dentro das fibras de colagénio. Os cristais crescem, espalham-se e coalescem até que a matriz esteja completamente mineralizada. A mineralização só não ocorre na banda recém-formada de matriz dentinária que circunda a polpa (pré-dentina) (Chiego, 2019).

Os ameloblastos começam a deposição do esmalte após a formação da primeira camada de dentina depositada na futura JAD. A amelogénese dá-se através do desenvolvimento de uma curta projeção cónica, o prolongamento de *Thomes*, na extremidade apical dos ameloblastos durante a fase secretora. À medida que o ameloblasto se diferencia, a matriz é sintetizada e o esmalte depositado na superfície da dentina estabelece a JAD (Chiego, 2019). A formação do esmalte dá-se coronária e cervicalmente, em todas as regiões da JAD em direção à superfície (Kumar, 2015).

Face ao exposto acima, assiste-se a um crescimento centrípeto da dentina (em direção à polpa) e a um crescimento centrífugo do esmalte (em direção ao epitélio oral) (Cavacas, 2014).

Num estágio mais avançado da fase de sino, uma vez iniciado o processo de histogénese dentária, ocorre o início da mineralização e formação de raízes, bem como o desenvolvimento dos tecidos que constituem o periodonto de inserção. A bainha radicular de *Hertwig*, resultante da união entre o epitélio dentário externo e o epitélio dentário interno, descreve a raiz futura e, portanto, é responsável pela forma, comprimento, tamanho e número de raízes (Kumar, 2015). A formação e a cementogénese das raízes continuam até o dente se tornar funcional e as suas estruturas de suporte se encontrarem completamente desenvolvidas (Chiego, 2019).

Em resumo, encontra-se representada, na figura 6, a sequência de eventos da formação e do desenvolvimento do dente.

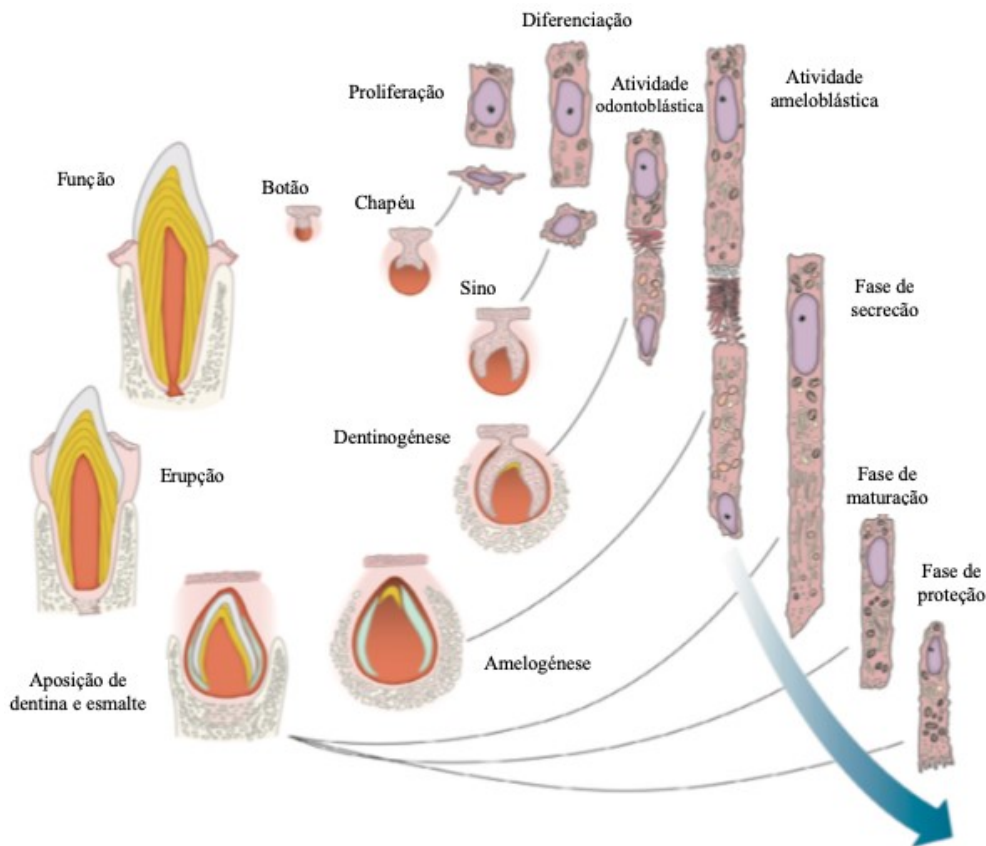


Figura 6. Formação e desenvolvimento do dente (odontogênese). Alterações morfológicas do órgão dentário à esquerda correlacionadas com alterações celulares dos dentes em desenvolvimento à direita, correspondentes a cada período da embriologia dentária. A proliferação celular relaciona-se com a fase de chapéu, enquanto que a diferenciação celular está relacionada com a fase de sino. Os odontoblastos induzem a dentinogênese e os ameloblastos a amelogênese. As fases de secreção, de maturação e de proteção fazem parte do processo de diferenciação dos ameloblastos (adaptado de Chiego, 2019).

Embora todos os tecidos mineralizados e não mineralizados sejam importantes, o presente estudo foca-se no complexo pulpo-dentinário e, mais concretamente, na polpa dentária, pelo que, nos subcapítulos seguintes, estes serão os temas abordados.

5.1. Complexo pulpo-dentinário

A polpa e a dentina são descritas como tecidos com características distintas, no entanto, como estão intimamente interligadas podem ser consideradas uma unidade funcional, o complexo pulpo-dentinário. Partilham a mesma origem embrionária (tecido mesenquimatoso) e ambas têm origem na papila dentária (Berkovitz *et al.*, 2018).

Os odontoblastos constituem um elemento fundamental para o funcionamento deste complexo dinâmico e interativo. A dentina é produzida pelos odontoblastos e a

polpa dentária depende da proteção proporcionada pela dentina e pelo esmalte (Berman & Hargreaves, 2015).

Na presença de agentes agressores, ocorrem alterações na dentina que podem afetar componentes da polpa. Quando surgem alterações pulpares (dor, inflamação, etc), estas podem causar alterações na quantidade e na qualidade da dentina (Berman & Hargreaves, 2015). Como resposta a estes agentes agressores, ocorre a formação de dentina terciária, que é mediada pelo recrutamento de células-tronco na polpa dentária (Berkovitz *et al.*, 2018). Devido à grande diversidade de estímulos que podem ser aplicados aos dentes, e em diferentes estágios de desenvolvimento ou envelhecimento, a resposta pode variar consideravelmente tanto no aspeto como na composição (Berkovitz *et al.*, 2018). A dentina terciária pode ser dividida em dentina reparadora ou reacional. O termo dentina reacional refere-se à dentina formada como resposta a estímulos, nos quais os odontoblastos existentes recuperam e continuam a formar dentina. (Berkovitz *et al.*, 2018). Já a dentina reparadora refere-se à dentina formada após um estímulo no qual os odontoblastos originais foram destruídos, dando-se a formação de novo tecido calcificado (dentina reparadora), formado por células recém-diferenciadas. Estas células recém-diferenciadas são muito semelhantes aos odontoblastos, uma vez que produzem colagénio tipo I e sialoproteína de dentina (Berkovitz *et al.*, 2018).

Além do acima referido, também os traumas oclusais, nomeadamente o desgaste dentário e os hábitos parafuncionais, e o envelhecimento dentário podem causar impactos ao nível do complexo pulpo-dentinário, pelo que serão mencionados mais à frente.

5.2. Polpa

A polpa dentária, inicialmente, é chamada de papila dentária. Só após a diferenciação das células periféricas da papila em odontoblastos, e a formação de dentina ao seu redor, passa a chamar-se polpa. A polpa dentária pode ser definida como um tecido conjuntivo laxo, altamente vascularizado e inervado, de origem mesodérmica. É responsável pela formação de dentina e localiza-se na câmara pulpar, na coroa e nos canais radiculares, na raiz. Comunica com o ligamento periodontal através do forame apical e do forame acessório (Kumar, 2015).

Em todos os dentes, as características morfológicas da polpa são semelhantes, nomeadamente, no que diz respeito à consistência gelatinosa e macia ao nível da câmara pulpar rodeada por dentina. A forma da polpa assemelha-se à forma do dente em que está

alojada, sendo que nos molares a polpa é três a quatro vezes maior do que nos incisivos (Chiego, 2019).

A polpa presente na coroa denomina-se polpa coronária e possui diferenças estruturais relativamente à polpa presente na raiz, designada polpa radicular.

A polpa coronária (ou câmara pulpar) é muito maior que a polpa radicular, possui seis superfícies (mesial, distal, vestibular, lingual, oclusal e assoalho) e cornos pulpares, que são eminências da polpa que acompanham as cúspides dos dentes. Na região cervical, a polpa da coroa une-se à polpa radicular e, com a idade diminui de tamanho devido à contínua formação de dentina, progredindo mais rapidamente no pavimento do que no teto ou nas paredes laterais (Chiego, 2019; Kumar, 2015).

A polpa radicular, inicialmente de forma cônica, estende-se desde a região cervical da coroa, até ao ápice radicular. No entanto, à medida que o crescimento avança, forma-se mais dentina que, pelo amadurecimento da raiz do dente, leva ao estreitamento da polpa radicular (Kumar, 2015). Representa um canal condutor para o transporte de sangue para a zona coronária, e desta para o canal apical e, tal como a polpa da coroa, diminui com a idade. Tanto a polpa coronária como a radicular contêm os mesmos elementos, contudo as células, as fibras, os vasos sanguíneos e os nervos são menos numerosos na última (Chiego, 2019).

A composição da polpa dentária, tal como a de qualquer tecido conjuntivo, altera-se durante o desenvolvimento e com o envelhecimento, e depende do tipo de dente. Assim, a composição é dinâmica e varia dependendo de quando e como é estudada. Pode considerar-se que a polpa dentária contém cerca de 75% de água e 25% de material orgânico. A matriz extracelular desempenha um papel muito ativo no controlo da atividade das células, afetando o seu desenvolvimento, migração, divisão, forma e função. O principal componente fibroso da matriz extracelular da polpa dentária é constituído por uma combinação entre o colagénio tipo I e o tipo III, presentes como fibras agrupadas de forma fina e irregular (Berkovitz *et al.*, 2018). O tipo I é produzido pelos odontoblastos e encontrado na dentina, o tecido produzido pelos odontoblastos, já o tipo III tem origem nos fibroblastos da polpa. Na polpa jovem, as fibras estão relativamente dispersas e, ao seu redor, encontra-se a substância fundamental (intercelular) da polpa, que é o ambiente que fornece vida a estas células (Chiego, 2019). Por outro lado, no decorrer do desenvolvimento, o número de elementos celulares na polpa dentária diminui contrariamente à população de fibras que aumenta (Kumar, 2015). São encontradas também pequenas quantidades de colagénio tipo V e VI, assim como a fibronectina e

microfibras não colagénias (com diâmetro de 10 a 14 nm). A fibronectina é uma glicoproteína que pode ser encontrada sob forma fibrosa ou não fibrosa e que tem como função ancorar as células. A matriz não fibrosa é constituída por proteoglicanos, glicoproteínas e glicosaminoglicanos não ligados (Berkovitz *et al.*, 2018).

A polpa dentária é um tecido que pode ser diferenciado, por áreas, histologicamente. Apresenta uma zona central e uma zona periférica, observadas tanto na polpa coronária como na radicular.

A zona central é formada por veias, artérias e troncos nervosos que entram na polpa a partir do canal apical, prosseguem para a polpa coronária, circundados por fibroblastos e fibras de colagénio incorporadas numa matriz extracelular (Kumar, 2015).

Na zona periférica, tanto na polpa coronária como na radicular, estão as células envolvidas na dentinogénese, os odontoblastos. Histologicamente, da superfície para o centro, encontramos a zona odontoblástica, a zona livre de células (zona de *Weil* ou camada basal de *Weil*) e a zona rica em células onde existe uma elevada concentração de capilares (o plexo capilar subodontoblástico) e de axónios (o plexo nervoso de *Raschkow*) (Berkovitz *et al.*, 2018).

Na figura 7 pode ser observada a distribuição de alguns tipos de células localizadas tanto na zona central como na zona periférica da polpa dentária.

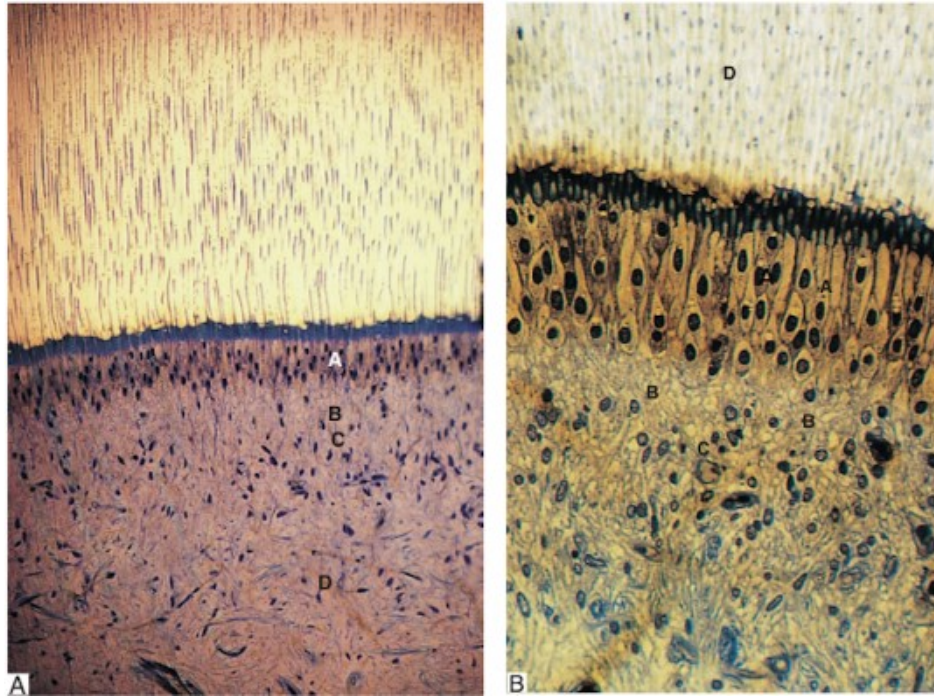


Figura 7. (A) Micrografia que mostra a distribuição de alguns tipos de células na polpa. A = zona odontoblástica adjacente à dentina; B = zona livre de células; C = zona rica em células; D = região central da polpa onde predominam fibroblastos (azul de toluidina; $\times 200$). (B) Maior ampliação onde se pode observar a camada odontoblástica pseudoestratificada (A). B = zona livre de células; C = zona rica em células; D = dentina (azul de toluidina; $\times 650$) (adaptada de Berkovitz et al., 2018).

A polpa é constituída principalmente por células como os odontoblastos, os fibroblastos, as células de defesa e as células-tronco.

Os odontoblastos são a segunda célula mais numerosa na polpa e formam uma camada que reveste a periferia da polpa, apresentando prolongamentos que se estendem até à dentina (Kumar, 2015). De salientar que mais à frente irá ser feita uma descrição mais detalhada.

Os fibroblastos são as células mais numerosas na polpa. São responsáveis pela formação de fibras de colagénio e de substância fundamental. Quanto à morfologia esta é muito variável, no entanto, pode ser descrita como estrelada e com prolongamentos extensos que, através de junções intercelulares, são unidos aos prolongamentos de outros fibroblastos ou de odontoblastos (Berkovitz *et al.*, 2018). Os fibroblastos, além de formarem a matriz pulpar, têm a capacidade de degradar essa mesma matriz, tendo, portanto, uma função dupla, com vias de síntese e de degradação na mesma célula. Desempenham também um importante papel na inflamação e na cicatrização (Kumar, 2015).

Existem diferenças no que diz respeito à aparência dos fibroblastos, dependendo da idade do órgão pulpar. Na polpa jovem, os fibroblastos apresentam um grande núcleo oval localizado centralmente com vários prolongamentos. As células dividem-se, são ativas na síntese de proteínas e apresentam aparelho de Golgi, retículo endoplasmático rugoso, mitocôndrias e outros organelos no citoplasma. Na polpa mais antiga, as células parecem menores, arredondadas ou em forma de um fuso, com prolongamentos curtos e com poucos organelos, denominando-se fibrócitos (Chiego, 2019; Kumar, 2015).

Entre as células de defesa encontram-se: os macrófagos, que podem surgir na sua forma de repouso onde são designados histiócitos ou pericitos, e que estão envolvidos na manutenção e nas vias de sinalização da polpa, juntamente com os fibroblastos; os linfócitos T e B e os mastócitos que estão presentes em pequeno número na polpa dentária normal, mas que aumentam perante uma polpa com inflamação; as células dendríticas, chamadas células de apresentação de antígenos, que, na polpa normal, localizam-se maioritariamente na periferia da polpa coronária, próximas da pré-dentina, no entanto, migram centralmente após uma carga antigénica; os eritrócitos, leucócitos, eosinófilos e basófilos que são encontrados nos vasos sanguíneos da polpa (Berkovitz *et al.*, 2018; Berman & Hargreaves, 2015).

As células encontradas na polpa dentária, incluindo os odontoblastos, as células de defesa e os fibroblastos, embora consigam responder a estímulos de uma maneira pré-determinada, não são capazes de se diferenciar noutro tipo de célula. No entanto, existe uma população de células na polpa dentária que pode, em resposta a um determinado estímulo, produzir dentina terciária. Estas células são intituladas células-tronco da polpa dentária e estão localizadas na camada rica em células. As células-tronco da polpa são multipotentes e podem diferenciar-se, por numerosos fatores de crescimento, em várias linhagens (adipogénica, osteogénica e condrogénica) e em células endoteliais neurais e vasculares (Berkovitz *et al.*, 2018).

O órgão pulpar é muito vascularizado. Os vasos sanguíneos da polpa e do periodonto surgem da artéria alveolar inferior ou superior e também drenam pelas mesmas veias nas regiões maxilar e mandibular. Embora os ramos das artérias alveolares deem origem aos vasos sanguíneos da polpa e do periodonto, estes, quando entram na polpa, alteram a sua estrutura e tornam-se mais finos nas paredes do que os que circundam o dente, devido à dentina que protege a polpa. O fluxo sanguíneo pulpar é mais rápido do que na maioria das áreas do corpo. Nas arteríolas é cerca de 0,3 a 1 mm por segundo, nas vénulas aproximadamente 0,15 mm por segundo e nos capilares cerca de 0,08 mm por

segundo. As artérias e arteríolas de paredes finas entram no canal apical e seguem uma rota direta pela polpa radicular até à área coronária. O maior diâmetro das artérias encontradas na polpa humana encontra-se entre 50 a 100 μm , o que equivale ao tamanho das arteríolas encontradas na maioria das áreas do corpo. Estes vasos possuem três camadas: a camada interna ou íntima, constituída por células endoteliais ovais ou escamosas cercadas por uma lâmina basal fibrilar intimamente associada; uma camada média, que consiste em células musculares com uma a três camadas celulares de espessura; e uma camada externa ou adventícia, que é composta por fibras de colagénio que formam uma rede à volta das artérias maiores. Artérias com diâmetros de 20 a 30 μm com uma ou ocasionalmente duas camadas de células musculares lisas são comuns em toda a polpa coronária. Arteríolas terminais com diâmetros de 10 a 15 μm aparecem perifericamente na polpa. Arteríolas de menor diâmetro denominadas pré-capilares exibem uma camada única completa ou incompleta de células musculares ao redor do revestimento endotelial, variando entre 8 a 12 μm . Veias e vénulas surgem na região central da polpa radicular, com 100 a 150 μm de diâmetro (Chiego, 2019; Kumar, 2015).

Estão também presentes na polpa vasos linfáticos, que apresentam paredes finas, forma irregular, são maiores que os capilares e possuem uma lâmina incompleta que suporta a camada íntima e a camada média (Chiego, 2019).

A polpa dentária é altamente innervada. As fibras nervosas formam feixes que seguem a distribuição dos vasos sanguíneos e, os mais volumosos, entram no forame apical e passam ao longo da polpa radicular para a polpa coronária, onde as fibras se separam e ramificam perifericamente. O número de fibras nesses feixes varia de 150 a mais de 1200. As fibras maiores variam entre 5 e 13 μm , embora a maioria seja menor que 4 μm (Kumar, 2015). A maioria dos nervos que entram no ápice não são mielinizados. À medida que o órgão pulpar amadurece, evidencia-se, no teto, nas paredes laterais da polpa coronária e nos canais radiculares (embora em menor grau), uma camada parietal de nervos designada como plexo subodontoblástico de *Raschkow*, que compreende axónios mielinizados e não mielinizados. A partir da camada parietal, os nervos perdem a bainha de mielina: uns, passam para a zona odontoblástica e terminam entre os odontoblastos, enquanto que outros estendem-se para os túbulos dentinários. A maioria das terminações nervosas localizadas entre os odontoblastos são recetores sensoriais e parecem participar na regulação do fluxo sanguíneo e na constrição ou dilatação de grandes vasos sanguíneos da polpa. Estas terminações nervosas são nervos simpáticos

pós-ganglionares com corpos celulares localizados no gânglio cervical superior (Chiego, 2019).

A polpa tem múltiplas funções, que se dividem na função indutora, formadora, protetora, nutritiva e reparadora. Indutora, devido à interação com as células epiteliais orais durante o desenvolvimento inicial, levando à diferenciação da lâmina dentária e da formação de órgãos no esmalte. Formadora, visto que os odontoblastos da polpa formam a dentina que circunda e protege a polpa. Protetora, uma vez que os nervos sensoriais respondem com dor a estímulos como a pressão, o calor, o frio, procedimentos de corte cirúrgico e agentes químicos. A dentina esclerótica também protege a polpa da invasão de bactérias e produtos bacterianos. Nutritiva, dado que transporta oxigênio e necessidades metabólicas para o dente em desenvolvimento. Por último, reparadora, como resposta a estímulos, quer sejam mecânicos, térmicos, químicos ou bacterianos, através da formação de dentina reparadora e reacional (Kumar, 2015).

5.3. Odontoblastos

Os odontoblastos são responsáveis pela formação de dentina. Diferenciam-se do ectomesênquima da papila dentária e têm origem na crista neural. Formam dentina secundária ao longo da vida, embora cada vez a um ritmo mais lento, e sobrevivem enquanto o dente permanecer vital (Berkovitz *et al.*, 2018).

Os odontoblastos residem adjacentes à pré-dentina e formam a camada odontoblástica da polpa. Apresentam o corpo na polpa dentária, com, aproximadamente, 50 µm de comprimento e 5–10 µm de largura, e um longo prolongamento celular que se estende à pré-dentina e à dentina dentro dos túbulos dentinários. O prolongamento, à medida que continua na dentina mineralizada, vai perdendo os organelos principais, como o retículo endoplasmático, mas contém filamentos, vesículas ligadas à membrana e microtúbulos ao longo de todo o seu comprimento até à JAD (Chiego, 2019). Além disso, os odontoblastos possuem numerosos prolongamentos menores que os vinculam a odontoblastos adjacentes e a outras células pulpares. O número de odontoblastos corresponde ao número de túbulos dentinários (Kumar, 2015).

Os odontoblastos são células pós-mitóticas que não se podem dividir. Quando morrem, precisam ser substituídas por outras células que se diferenciam da zona rica em células. Estas são as células-tronco subodontoblásticas que podem dividir-se, diferenciar-se e estabelecer uma barreira protetora (Berkovitz *et al.*, 2018).

A morfologia dos odontoblastos e os organelos neles presentes variam com o ciclo de vida da célula (figura 8) (Couve, 1986). Uma célula com uma elevada e diferenciada atividade secretora é alongada e possui, não só, um grande núcleo oval na parte basal (pulpar), como diversos organelos envolvidos na síntese de dentina. O aparelho de *Golgi* é mais proeminente e situa-se na parte apical, e o retículo endoplasmático rugoso e várias mitocôndrias encontram-se no corpo celular (Chiego, 2019). Por outro lado, quando a atividade secretora do odontoblasto é reduzida, este transita para a fase de maturação. Esta fase é caracterizada por uma diminuição do tamanho das células e pela sua forma achatada, pela perda de alguns organelos (Couve *et al.*, 2013), pela presença de densos depósitos acumulados em vacúolos autofágicos e pelo reposicionamento dos organelos celulares remanescentes na base da célula (Couve, 1986).

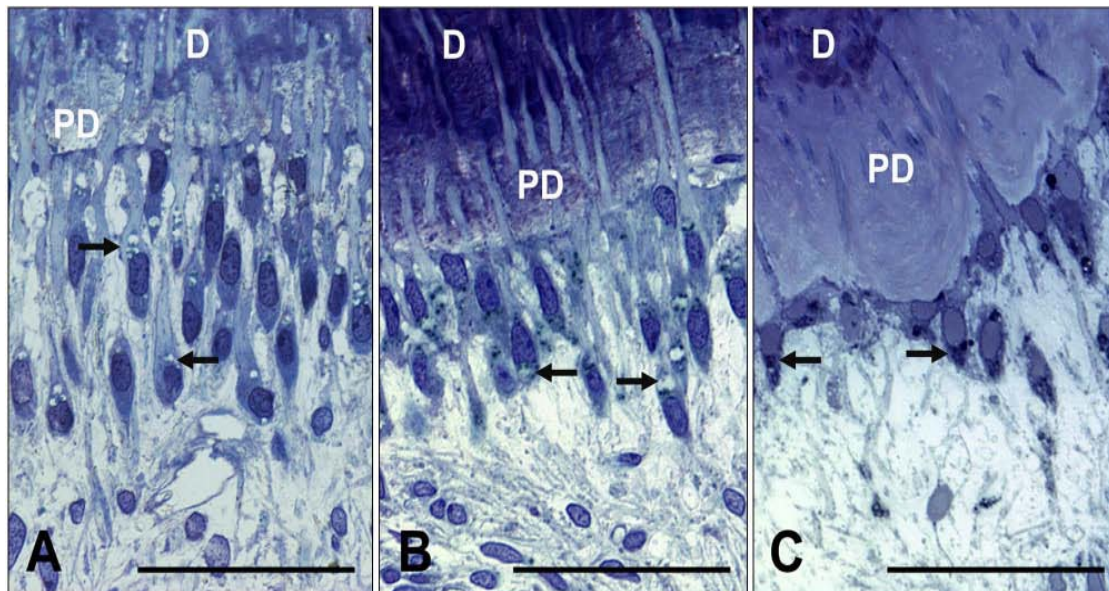


Figura 8. Odontoblastos maduros em microscopia ótica da camada odontoblástica coronal de pacientes jovens (15 anos), jovens-adultos (25 anos) e adultos (75 anos) [A-C], onde se observam grandes vacúolos e células de aspeto colunar nas idades jovens (A, B), em oposição à idade adulta, em que os odontoblastos são mais curtos e achatados, com densos depósitos acumulados em vacúolos autofágicos (adaptada de Couve *et al.*, 2013).

A disposição e a forma dos corpos dos odontoblastos são variáveis dependendo da região onde se encontram na polpa. São mais cilíndricos e mais longos (colunares altos) na coroa, com cerca de 35mm de comprimento nos cornos pulpares, enquanto que na polpa radicular são mais cuboides. Na região apical as células parecem planas (Kumar, 2015).

Os núcleos de células adjacentes da mesma camada estão em níveis diferentes e, quando a camada é seccionada obliquamente, parece haver várias camadas, o que não é verdade. Esta disposição pseudoestratificada observada na polpa coronária deve-se ao aglomerado de células nessa região (Berkovitz *et al.*, 2018).

A principal função da camada odontoblástica é a formação de dentina, no entanto, possui outras propriedades que ajudam a preservar a polpa. Atua como uma barreira seletiva entre a dentina e a polpa, que pode estar envolvida na resposta do tecido aos estímulos, uma vez que os túbulos dentinários contêm fluido dentinário. Portanto, os odontoblastos moderam, pelo menos, a transferência de moléculas ou íons e de fluido, dos túbulos dentinários para o tecido pulpar e vice-versa (efluxo de fluido e moléculas dos capilares para a matriz extracelular) (Magloire *et al.*, 2004).

Os odontoblastos podem originar mediadores pró-inflamatórios como resposta a toxinas bacterianas, como os lipopolissacarídeos, e podem produzir citocinas, como a interleucina-8, que participam no recrutamento de neutrófilos. Podem atuar como um recetor sensorial transmitindo informações da dentina externa para as fibras nervosas na polpa periférica, uma vez que as suas membranas celulares contêm canais de potássio na sua extremidade apical. Estes canais são relevantes não só na mineralização, como também na transdução de estímulos químicos, térmicos e mecânicos (Berkovitz *et al.*, 2018).

Durante o desenvolvimento do dente, a diferenciação dos odontoblastos é influenciada por diversos fatores de sinalização e fatores de crescimento, e requer a sinalização trófica do ambiente celular, que pode ser detetada através do cílio primário (Couve *et al.*, 2013), tendo este sido observado em todas as fases do ciclo de vida dos odontoblastos (Couve, 1986; Couve *et al.*, 2013; Magloire *et al.*, 2004). Os membros da família do fator de crescimento transformador (TGF) - β são importantes no controlo da atividade sintética dos odontoblastos durante o desenvolvimento, sendo que os odontoblastos, em comparação com outras células presentes na polpa, expressam um maior número de recetores de membrana para a família TGF- β (Berkovitz *et al.*, 2018).

A integridade e a permeabilidade limitada da camada odontoblástica são mantidas por diversas junções entre odontoblastos adjacentes. Cada junção tem uma função diferente, e podem ser de três tipos: desmossomas, *tight junctions* e *gap junctions*.

Os desmossomas são junções celulares responsáveis pela união celular, uma vez que têm um componente intercelular e um sistema intracelular de fibras de ancoragem.

Além disso, também impedem que substâncias da polpa passem para a dentina (Berkovitz *et al.*, 2018).

As *tight junctions* estabelecem uma barreira à entrada de moléculas ou íons nas células. Como não circundam completamente os odontoblastos, em vez de eliminarem, limitam a permeabilidade da camada celular. Quanto maior for o número de *tight junctions* e quanto mais próximas elas estiverem, menor a permeabilidade (Kumar, 2015).

Gap junctions permitem a comunicação de impulsos elétricos e a passagem de pequenas moléculas entre células adjacentes. Assim, os odontoblastos podem ter atividade síncrona. No caso de um estímulo atingir os odontoblastos, essa informação vai espalhar-se por toda a camada celular, permitindo que pequenas moléculas (geralmente importantes na sinalização intercelular) passem de uma célula para outra (Chiego, 2019).

Os odontoblastos, além de formarem junções entre si, estão ligados a outras células pulpares. Foi demonstrado que as células da camada odontoblástica e as células pulpares subjacentes estão ligadas por junções que permitem a passagem de pequenas moléculas. Isto verificou-se através da aplicação de um corante fluorescente de baixo peso molecular durante 30 min na superfície do esmalte de um dente (Berkovitz *et al.*, 2018).

5.4. Envelhecimento dentário

O envelhecimento é um fenómeno fisiológico inato e contínuo no organismo, que ocorre durante toda a vida, desde o nascimento até à morte. Pode ser definido como um processo natural, no qual ocorrem diversas modificações morfológicas, funcionais, bioquímicas e psicológicas. Estas alterações podem levar ao comprometimento da autonomia e da adaptação do organismo face ao meio externo, conduzindo a uma maior suscetibilidade e vulnerabilidade para contrair patologias (Macena *et al.*, 2018).

Os dentes, à semelhança de outros tecidos biológicos, são igualmente alvo de alterações morfológicas e funcionais com a idade. Embora as modificações orais associadas ao envelhecimento não apresentem risco de vida, podem contribuir para uma redução da qualidade de vida (Berkovitz *et al.*, 2018). Podem ser encontrados sinais de envelhecimento dentário ao nível do esmalte, da dentina e da polpa dentária.

5.4.1. Alterações associadas ao envelhecimento no esmalte

Uma das alterações associadas ao envelhecimento do esmalte é o desgaste das superfícies oclusais e dos pontos de contato proximais como resultado da mastigação, variando com a dieta e com a oclusão. Verifica-se assim uma perda da dimensão vertical da coroa e um achatamento do contorno proximal. A perda de esmalte por abrasão e por erosão também aumenta com a idade (Kumar, 2015).

A maioria das modificações relacionadas com a idade no esmalte, além de não serem bem conhecidas, são também difíceis de diferenciar microscopicamente. As camadas superficiais do esmalte, com o decorrer do tempo, tornam-se muito duras. Tanto a dureza como o módulo de elasticidade do esmalte aumentam cerca de 12% em 55 anos. Embora a dureza aumente com a idade, o esmalte tende a tornar-se mais frágil por natureza (Kumar, 2015). O espessamento progressivo da dentina subjacente, juntamente com alterações na matriz orgânica do esmalte, conduzem a uma redução da translucidez e contribuem para o escurecimento dos dentes com a idade (Berkovitz *et al.*, 2018).

5.4.2. Alterações associadas ao envelhecimento na dentina

Ao contrário do esmalte que é um tecido não-vital, a dentina é um tecido vivo. As principais alterações decorrentes do avançar da idade na dentina são o aumento da sua espessura devido à deposição gradual e contínua de dentina secundária, e a obliteração dos túbulos dentinários (Kumar, 2015).

Devido à contínua deposição de dentina secundária ao longo da vida, a sua espessura pode ser utilizada para determinar, aproximadamente, a idade de um dente. Tanto o número como o diâmetro dos túbulos dentinários diminuem ao longo do tempo, existindo também uma redução da permeabilidade da dentina. Por outro lado, como a área da superfície da dentina interna é muito menor que a externa, o número de túbulos por unidade de área aumenta em direção à polpa. A deposição de dentina secundária é de considerável significado clínico, uma vez que, em conjunto com a formação de dentina terciária, pode reduzir o tamanho da câmara pulpar e dos canais radiculares, e levar a uma dificuldade acrescida durante o tratamento endodôntico em pacientes mais idosos (Berkovitz *et al.*, 2018).

À medida que ocorre a obliteração dos túbulos dentinários pela dentina peritubular (denominada intratubular), forma-se dentina esclerótica ou translúcida. A dentina

peritubular resulta de uma mudança associada à idade e não de uma resposta a estímulos ou lesões externas. Assim, a dentina translúcida é encontrada mais abundantemente nas raízes e a sua extensão está relacionada à idade cronológica (Berkovitz *et al.*, 2018).

5.4.3. Alterações relacionadas com a idade na polpa dentária

A polpa dentária diminui em volume devido à contínua deposição de dentina secundária. A densidade celular diminui, sendo esta redução mais evidenciada na porção radicular do que na porção coronária. Entre os 20 e os 70 anos, são perdidos, aproximadamente, 50% do número de odontoblastos originais (Berkovitz *et al.*, 2018).

Tal como noutros tecidos conjuntivos, a vascularização e a inervação diminuem com a idade. Aparentemente, a polpa torna-se mais fibrosa, ocorrendo um aumento das fibras de colagénio e, consequentemente a sua agregação em feixes (Kumar, 2015).

A incidência de calcificações pulpares aumenta com a idade. As calcificações podem ser calcificações difusas ou calcificações nodulares, denominadas pedras na polpa ou denticulos. As pedras da polpa podem ficar livres na polpa, presas à parede dentinária ou embutidas nesta (Kumar, 2015).

5.5. Sistema estomatognático do rato *Wistar*

Os tecidos dentários de diversas espécies podem apresentar diferenças estruturais, morfológicas, histológicas e, também, propriedades e características distintas entre si, dependendo das suas necessidades específicas (Ohazama *et al.*, 2009). No presente estudo, procedeu-se à utilização de amostras de dentes de rato *Wistar* pelo que é importante enunciar características singulares da sua cavidade oral.

Embora sejam encontradas algumas diferenças na dentição, refletindo a divergência nas dietas entre as espécies, existem inúmeros investigadores que descreveram semelhanças histológicas e fisiológicas, bem como de forma e função, entre dentes humanos e dentes de ratos (Schour & Massler, 1962 cited in Murray *et al.*, 2002a). Desta forma, os roedores têm sido os animais mais utilizados pelos centros de pesquisa para estudos experimentais, não só pelas características acima mencionadas, como também pela facilidade no manuseamento (Festing, 1979 cited in Cavacas, 2014), uma vez que são pequenos, pela capacidade de resistência (Goto *et al.*, 1994 cited in Cavacas, 2014) e de se reproduzirem rapidamente, e pelo seu custo (Porto *et al.*, 2010).

Os roedores desenvolvem apenas uma dentição ao longo da vida, por oposição aos seres humanos que desenvolvem dois tipos de dentição, a decídua e a permanente (Treutin *et al.*, 2018). O rato *Wistar* apresenta 8 dentes na maxila e 8 dentes na mandíbula, totalizando 16 dentes. Em cada arcada possui dois incisivos centrais e seis molares (três de cada lado da arcada), separados por um diastema. Este diastema ocorre devido à inexistência de caninos e pré-molares (Maynard & Downes, 2019).

Os incisivos dos roedores são proeminentes, expostos pelo lábio leporino (Treutin *et al.*, 2018) e entram em erupção cerca de 10 dias após o nascimento (Maynard & Downes, 2019). Contrariamente aos dentes humanos, que estão completamente mineralizados no momento da erupção, os dentes dos ratos são hipomineralizados e a manutenção pós-eruptiva pode continuar pelo menos por dois meses após a erupção (Lima, 2003 cited in Cavacas, 2014). Os incisivos crescem continuamente ao longo da vida, a uma taxa de 2,1 (superior) e 2,8 (inferior) mm por semana (Kuijpers *et al.*, 1996 cited in Maynard & Downes, 2019). O crescimento constante dos incisivos de roedores requer que estes estejam alinhados para haver um desgaste oclusal e manter uma aresta de corte afiada (Suckow *et al.*, 2019). Caso ocorra um crescimento excessivo por falta de contacto com o dente oponente, podem resultar consequências como traumas ou úlceras na bochecha, na língua ou no palato e desnutrição. Os incisivos dos roedores são cobertos por esmalte apenas na superfície vestibular, sendo a superfície lingual coberta por cemento fino, onde as fibras do ligamento periodontal se ligam. As pontas dos incisivos são preenchidas com dentina primária, passando para dentina secundária quando a dentina primária é desgastada. A dentina e o cemento formam-se continuamente, no entanto, a dentina dos roedores apresenta uma espessura inferior quando comparada com a encontrada nos dentes humanos (Treutin *et al.*, 2018). A coloração laranja-amarela, que aparece aproximadamente na 5ª semana após o nascimento (Wen & Paine, 2013; Kuijpers *et al.*, 1996 cited in Maynard & Downes, 2019), deve-se a um pigmento à base de ferro nas camadas externa e superficial do esmalte (Treutin *et al.*, 2018).

Os molares erupcionam entre os dias 19, 23 e 35, em sequência, antero-posteriormente e têm várias raízes (Molares superiores: M1 possui 5 raízes, M2 4 raízes e M3 3 raízes; Molares inferiores: M1 tem 4 raízes, M2 3 raízes e M3 3 raízes) (Prasanth & Saraswathi, 2012 cited in Maynard & Downes, 2019). O esmalte dos incisivos permanece toda a vida, no entanto, nos molares, o esmalte das cúspides degenera logo após o contato com os dentes oponentes (Treutin *et al.*, 2018).

Segundo Porto *et al.* (2010), no que diz respeito às características histopatológicas, existe uma grande semelhança entre a estrutura articular dos ratos e a dos seres humanos. Relativamente às características anatômicas, existem algumas diferenças. A principal diferença é que não há eminência articular na articulação temporomandibular (ATM) do rato. A ausência da eminência articular pode tornar o movimento da mandíbula altamente especializado em movimentos protrusivos extensos.

Os incisivos têm como função cortar os alimentos, enquanto que os molares moem, no entanto, devido a uma incompatibilidade entre os comprimentos craniano e mandibular, os incisivos e os molares não podem estar em oclusão ao mesmo tempo. Assim, a mandíbula efetua um movimento propalinal (movimento pósterio-anterior) em relação ao crânio para realizar ambas as funções (Hiemae & Ardran, 1968 cited in Cox *et al.*, 2012).

6. Ruído industrial e *stress*

As primeiras pesquisas sobre o *stress*, na área da saúde, ocorreram no início do século XX, por volta do ano de 1930, sendo um termo largamente reconhecido como um problema central na vida humana, que tem sofrido evolução ao longo do tempo. Existe uma preocupação crescente com os efeitos que o *stress* pode ter, não só no corpo e na mente humana, como também na qualidade de vida da sociedade (da Costa & Pinto, 2017). Aliado a estas consequências, o *stress* pode desencadear o desenvolvimento de diversas doenças mentais ou somáticas, e propiciar uma perda de produtividade no ser humano (Sadir *et al.*, 2010).

A palavra *stress* deriva do latim *Strictus*, que significa aperto ou constrição, envolvendo pressão de alguma forma (Frasquilho, 2005). Embora seja um termo amplamente utilizado, tanto na comunidade científica como pelo público em geral, existem vários significados, o que faz com que seja mais difícil encontrar uma definição singular e definitiva. Pode ser estudado como um estímulo, uma resposta (presente no ambiente ou no indivíduo), ou uma combinação entre ambos (Jerrold, 2002 cited in da Costa & Pinto, 2017).

Segundo definição de Selye (1936), o *stress* é uma reação não específica do organismo que ocorre face a situações que exijam adaptações, além do seu limite.

Segundo Lazarus *et al.* (1957), o termo *stress* deve ser utilizado para referir um estado do organismo, e não as circunstâncias nas quais o indivíduo é exposto.

Lazarus and Folkman (1984) mencionaram que as definições que não fazem a diferenciação do *stress* entre um estímulo e uma resposta, encontram um impasse, uma vez que um estímulo é definido como *stressante* apenas em relação a uma resposta de *stress*. Para os mesmos autores, o conceito de *stress* psicológico envolve a relação pessoa/ambiente, que é avaliada como *stressante* pela pessoa, quando atinge ou excede os seus limites, prejudicando o seu bem-estar.

O *stress* pode ser descrito como uma resposta fisiológica (Benjamin, 1990 cited in da Costa & Pinto, 2017) e é o resultado da ação de um agente que pode ser intrínseco ou extrínseco, designado agente *stressor* (Matos & Jacome, 1998 cited in da Costa & Pinto, 2017). Este agente *stressor* pode provocar uma quebra no estado de equilíbrio ou homeostase, ocorrendo uma necessidade de adaptação para preservar o bem-estar e minimizar os danos para o organismo (Ulrich-Lai & Herman, 2009).

Um agente *stressor* pode ser caracterizado como um evento ou uma condição que ocorre ao nível físico, social ou mesmo psicológico, de natureza negativa ou positiva (Benjamin, 1990 cited in da Costa & Pinto, 2017). Segundo Lazarus *et al.* (1962), nas pesquisas acerca do *stress* psicológico, não houve uma separação clara entre *stressores* físicos, que atacam os sistemas de tecidos biológicos, e *stressores* psicológicos, em que os seus efeitos se devem apenas ao seu significado psicológico.

O mesmo *stressor* pode provocar manifestações diferentes em diferentes indivíduos, uma vez que a perceção de um estímulo como *stressor* irá depender de fatores condicionantes, que podem influenciar seletivamente a reatividade de certos órgãos (Selye, 1975). Assim, é compreensível o facto de os indivíduos diferirem em termos de sensibilidade e vulnerabilidade a certos tipos de condições, e de reagirem e interpretarem estas de forma distinta (Lazarus & Folkman, 1984).

Os agentes causadores de *stress* variam ao longo da vida e estão presentes em diferentes locais e situações (Matos & Jacome, 1998 cited in da Costa & Pinto, 2017).

O *stress* ocupacional pode ser percebido como um estado psicológico que reflete a relação entre o indivíduo e o ambiente do seu trabalho. A maioria das pessoas passa, aproximadamente, um terço do tempo total de cada dia, de segunda a sexta, a trabalhar (Nilsen *et al.*, 2014), pelo que, os agentes desencadeadores e potenciadores de *stress* externos estão muitas vezes ligados à ocupação profissional exercida. Um ambiente barulhento constitui uma situação potencialmente *stressante*, sendo o ruído industrial um dos agentes descrito em diversos estudos (Berglund & Lindvall, 1995; Lurie *et al.*, 2007).

Segundo Leventhall (2004), o *stress* pode ser dividido em *stress* cataclísmico, *stress* pessoal ou *stress* de fundo. O *stress* de fundo inclui eventos persistentes, que podem tornar-se frequentes no quotidiano, sendo o RBF classificado como um *stressor* de fundo.

O *stress* pode ser classificado como agudo ou crónico. O *stress* agudo é de curta duração e espontâneo, sendo, por norma, intenso. Por outro lado, o *stress* crónico estende-se no tempo, como é frequente no *stress* ocupacional, e está relacionado com os problemas no indivíduo. Devido à menor intensidade, comparativamente com o agudo, pode tornar-se indetetável para o indivíduo (Bell & Ross, 2014).

A resposta mais imediata à exposição ao agente agressor, é dada pelo sistema nervoso autónomo (SNA), através dos componentes simpático e parassimpático, provocando alterações rápidas no estado fisiológico fisiológicos por meio da inervação neural dos órgãos terminais. Importante salientar que a excitação do SNA diminui rapidamente, devido à ativação parassimpática reflexa, resultando em respostas de curta duração (Ulrich-Lai & Herman, 2009). No entanto, o *stress* também ativa o eixo HHA. Tanto o SNA como o eixo HHA possuem ações complementares através de todo o organismo (Zuardi, 2009 cited in Cavacas, 2014).

7. Hábitos parafuncionais

As atividades produzidas pelo sistema mastigatório podem dividir-se em funcionais e parafuncionais. A atividade funcional inclui as funções fisiológicas normais como falar, comer, deglutir, respirar ou mastigar, que são essenciais no sistema oromandibular, e que não o danificam. Por outro lado, a atividade parafuncional não desempenha uma função necessária e envolve funções hiperativas anormais conduzidas pelas estruturas mastigatórias (língua, dentes, músculos orais, etc.), (Mills, 2011 cited in Alharby *et al.*, 2018) que podem levar a danos nos tecidos locais. Os comportamentos parafuncionais apresentam um impacto negativo tanto na saúde oral como na dentária, levando a uma deterioração do estado geral do sistema estomatognático.

O bruxismo, roer as unhas (onicofagia), morder os lábios e bochechas e mamar de forma não nutritiva (polegar, qualquer dígito ou chupeta) são alguns dos hábitos parafuncionais (Fragoso *et al.*, 2010 cited in Alharby *et al.*, 2018).

O bruxismo é um dos distúrbios dentários mais relevantes, complexos e destrutivos (*American Academy of Sleep Medicine*, 1997 cited in Demjaha *et al.*, 2019), que apresenta uma prevalência crescente e é observado em todas as faixas etárias, mas

que parece diminuir com a progressão da idade. Refere-se ao hábito oral inconsciente de apertar ou ranger os dentes de forma rítmica e disfuncional ao executar movimentos que não fazem parte da função mastigatória (*The glossary of prosthodontic terms*, 2005 cited in Alharby *et al.*, 2018), e que tem efeitos deletérios nas estruturas mastigatórias e oromandibulares. O aparecimento do bruxismo é altamente variável em duração e intensidade no próprio paciente e entre pacientes diferentes, e a força de contacto entre os dentes pode ser três vezes maior que a atividade funcional normal do sistema mastigatório (Demjaha *et al.*, 2019).

De acordo com a *American Academy of Orofacial Pain*, o bruxismo é uma atividade parafuncional que pode ser classificada como diurna ou noturna, com diferentes etiologias, fisiopatologia, fatores de risco, implicações clínicas e planos de tratamento (American Academy of Orofacial Pain, 2018). Quando ocorre durante o dia é chamado bruxismo diurno, se ocorrer durante o sono, é designado bruxismo noturno. Quanto à direção, os movimentos podem ser horizontais e verticais. No bruxismo noturno, os movimentos podem ser horizontais ou verticais, no entanto, no bruxismo diurno, são realizados apenas movimentos verticais (Kapusevska, 2014 cited in Demjaha *et al.*, 2019).

O bruxismo pode ser categorizado como primário ou secundário. Classifica-se como bruxismo primário quando não ocorrem causas médicas claras, distúrbios sistêmicos ou psiquiátricos. O bruxismo secundário está associado a distúrbios clínicos, distúrbios neurológicos ou psiquiátricos associados a fatores iatrogénicos ou outros tipos de distúrbios do sono (Klasser *et al.*, 2015).

Também pode ser classificado, dependendo da prevalência de contração muscular, como cêntrico ou excêntrico (Klasser *et al.*, 2015). O bruxismo cêntrico consiste em pressionar os dentes de forma contínua por um determinado período de tempo, ocorrendo uma destruição das estruturas de suporte, bem como o aparecimento de problemas nos masséteres e na ATM, prevalecendo a contração muscular isométrica. No bruxismo excêntrico, prevalece a contração muscular isotónica e ocorre desgaste no bordo incisal dos dentes, particularmente nos dentes anteriores (*American Academy of Sleep Medicine*, 1997 cited in Demjaha *et al.*, 2019). No entanto, nem todos os casos de desgaste do bordo incisal resultam de uma atividade parafuncional (Klasser *et al.*, 2015).

A etiologia do bruxismo é multifatorial (American Academy of Orofacial Pain, 2018). Vários fatores como a anatomia, a morfologia e a oclusão dentária foram associados ao bruxismo. Também fatores psicológicos parecem desencadear o

desenvolvimento de bruxismo, uma vez que foram encontrados mais sintomas de ansiedade e de depressão em pessoas com bruxismo, comparativamente com pessoas que não sofrem deste distúrbio (Lobbezoo *et al.*, 2006 cited in Alharby *et al.*, 2018). Segundo Rosales *et al.* (2002), nos ratos expostos ao *stress* emocional, verificou-se um maior número de sintomas associados ao bruxismo, comparativamente com os de controlo. Portanto, fatores psicossociais, como o stress, e fatores fisiopatológicos, como doenças, trauma, genética, tabagismo, álcool, ingestão de cafeína, certos medicamentos e drogas ilícitas e distúrbios do sono estão também frequentemente presentes na etiologia do bruxismo (Shetty *et al.*, 2010 cited in Alharby *et al.*, 2018).

A *American sleep disorders association* menciona a presença de desgaste dentário, sons dentários ou desconforto dos músculos da mandíbula, não sendo estes explicados por outra doença (Thorpy, 2012 cited in Alharby *et al.*, 2018). As forças parafuncionais afetam diretamente o esmalte dos dentes, tornando-se evidente um desgaste anormal, sendo esta a evidência mais comum de bruxismo. Este desgaste pode afetar apenas um dente ou ser comum a toda a dentição (Machado *et al.*, 2014; Wahlund *et al.*, 2015 cited in Demjaha *et al.*, 2019). No entanto, este desgaste não é resultado apenas do bruxismo, pelo que não pode ser considerado um fator decisivo. Pode ocorrer desgaste dos dentes devido à abrasão e/ou erosão, resultantes de uma escovagem traumática ou de uma escova excessivamente dura, ou da ingestão de substâncias ácidas, normalmente provenientes da dieta, respetivamente. Assim, deve ser tido em atenção e verificar se o dente antagonista também se encontra desgastado, danificado ou reduzido (Attanasio, 1997 cited in Demjaha *et al.*, 2019). Mais à frente é feita uma revisão mais detalhada acerca este tema.

Podem ocorrer, ainda, como sinais clínicos de bruxismo, fraturas de dentes ou de restaurações dentárias. Entre as principais lesões encontram-se alterações nos dentes (fraturas de dentes ou de restaurações dentárias), no periodonto, nos músculos mastigatórios, na ATM, dores de cabeça, efeitos comportamentais e psicológicos (Kapusevska, 2015 cited in Demjaha *et al.*, 2019).

Um diagnóstico precoce do bruxismo é de extrema relevância, tanto no tratamento como na prevenção de uma possível evolução. Deve ser realizado um diagnóstico diferencial, centrado na etiologia e nos sinais clínicos observados durante o exame clínico do paciente, e que inclua a história clínica. O tratamento varia de paciente para paciente (De Luca Canto, 2015 cited in Demjaha *et al.*, 2019), sendo que não há um tratamento eficaz generalizado para eliminar ou reduzir o seu aparecimento (Carlsson & Magnusson,

1999 cited in Demjaha *et al.*, 2019). Assim, o tratamento para o bruxismo requer uma abordagem multidisciplinar (Lobbezoo *et al.*, 2008 cited in Demjaha *et al.*, 2019).

8. Desgaste dentário

O desgaste dentário consiste na perda progressiva de tecidos dentários duros, como o esmalte e a dentina. É um processo complexo com etiologia multifatorial, refletindo muitas vezes as modificações resultantes de situações potencialmente *stressantes* do quotidiano (Al-Zarea, 2012 cited in Cavacas, 2014). Ocorre através de três processos – abrasão, atrito e erosão- classificados como mecânicos ou químicos e como intrínsecos ou extrínsecos (Shellis & Addy, 2014). A abrasão é um desgaste mecânico extrínseco, causado por fatores além da mastigação e / ou bruxismo, ou seja, resultam da interação entre os dentes e outros materiais e incluem, por exemplo, procedimentos de higiene oral e hábitos como roer unhas ou canetas (Wetselaar & Lobbezoo, 2016).

O atrito advém da função e / ou parafunção (por exemplo, bruxismo), devido ao contacto dente a dente (Wetselaar *et al.*, 2011 cited in Wetselaar & Lobbezoo, 2016). Tanto a abrasão como o atrito podem contribuir simultaneamente para o desgaste oclusal (Kaidonis, 2008 cited in Shellis & Addy, 2014). A erosão é um desgaste químico intrínseco e extrínseco, causado principalmente pela desmineralização do tecido duro, através de substâncias ácidas intrínsecas ou extrínsecas (Ganss, 2006 cited in Wetselaar & Lobbezoo, 2016). As lesões não cariosas supra referenciadas raramente agem sozinhas, interagindo entre si (Shellis & Addy, 2014). Pressupõe-se ainda que na abfração (lesão cervical não cariosa), um quarto processo que também deve ser considerado, a carga oclusal anormal predispõe o esmalte cervical ao desgaste mecânico e químico (Grippio, 1991 cited in Shellis & Addy, 2014).

O desgaste fisiológico dos dentes é um processo lento que normalmente não leva a sintomas subjetivos, mas quando se torna patológico, pode ocorrer hipersensibilidade dentária e / ou dor dentária. Além disso, o desgaste patológico dos dentes pode resultar em dificuldades na mastigação / alimentação, numa estética oro-facial prejudicada devido à perda de tecido duro dentário, desintegração do tecido duro dentário e deterioração das restaurações dentárias (Wetselaar & Lobbezoo, 2016).

Há um aumento da prevalência do desgaste dentário como sinal de envelhecimento normal, uma vez que a esperança média de vida da população nos dias que correm é maior e, conseqüentemente, a dentição natural é mantida por mais tempo na cavidade oral

(Cavacas *et al.*, 2015). A prevalência do desgaste dentário severo em adultos aumenta de 3% aos 20 anos para 17% aos 70 anos (Van't Spijker *et al.*, 2009 cited in Wetselaar *et al.*, 2019).

Os danos provados pelo desgaste dentário são irreversíveis, pelo que é importante que o diagnóstico seja feito precocemente e que sejam tomadas medidas preventivas adequadas (Loomans *et al.*, 2017).

Os hábitos parafuncionais (como o bruxismo), juntamente com as causas mecânicas (abrasão pela pasta de dentes, fricção lingual, atrição, regurgitação crónica que causa erosão dentária, entre outros) são os fatores mais frequentemente associados ao desgaste dentário (Vieira *et al.*, 2006 cited in Cavacas *et al.*, 2015). Foi encontrada uma correlação entre a exposição ao ruído industrial e entre os hábitos parafuncionais (Kovacevic, 1989 cited in Cavacas *et al.*, 2015). Os hábitos parafuncionais têm sido descritos por vários autores como um processo autodestrutivo causado pelo *stress*. Assim, segundo Kovacevic e Belojevic (2006), a exposição ao ruído industrial pode estar significativamente relacionada com a abrasão dentária, uma vez que ocorre uma repetição sustentada da contração muscular mastigatória, devido ao *stress* e, conseqüentemente, às atividades parafuncionais. Devido ao ruído industrial ocorrem, segundo Cavacas *et al.* (2013), lesões ao nível do complexo pulpo-dentinário, resultando num processo que pode acelerar o envelhecimento dos dentes, quer pelo impacto das pulsações de pressão acústica, quer pelo aumento do *stress* que indiretamente acelera o desgaste dentário.

II. OBJETIVOS E HIPÓTESES

O presente estudo tem como objetivo caracterizar, sob o ponto de vista histológico, a influência do ruído industrial sobre as células da polpa de dentes de rato *Wistar*, através da análise quantitativa dessas mesmas células. De referir que pretende dar continuidade à análise qualitativa efetuada por Leonardo (2019), no seguimento dos estudos de Cavacas (2014) e Cavacas *et al.* (2015).

As hipóteses de estudo são:

Hipótese nula (H_0): não existem diferenças quantitativas ao nível da densidade celular pulpar dos dentes submetidos ao ruído industrial;

Hipótese alternativa (H_1): existem diferenças quantitativas ao nível da densidade celular pulpar dos dentes submetidos ao ruído industrial.

III. MATERIAIS E MÉTODOS

O material do presente estudo foi preparado em estudos anteriores de Cavacas (2014).

1. Modelo animal

Foram utilizados 50 ratos *Wistar* adultos, 25 machos e 25 fêmeas, obtidos através do laboratório *Charles River* em Barcelona, Espanha. Os ratos *Wistar* foram dispostos em gaiolas, nas quais se podiam movimentar livremente, em grupos de dois, do mesmo género. Tiveram livre acesso a água e relativamente à alimentação, esta consistiu em ração “*standard*” para roedores. Foram mantidos ciclos diários com 12 horas de luz e 12 horas de escuridão (Cavacas, 2014).

Os animais foram tratados de acordo com a diretiva da União Europeia para proteção aos animais utilizados para estudos científicos e experimentais (86/609/EEC, substituída pela 2010/63/EU), e de acordo com a transposição para a legislação Portuguesa para os mesmos efeitos (Portaria no 1005/92, de 23 de Outubro) (Cavacas, 2014).

2. Protocolo Experimental

2.1. Exposição ao ruído industrial

Os animais foram expostos ao ruído industrial num período de tempo variável compreendido entre 1 e 7 meses, simulando o horário laboral normal (8 horas/dia, 5 dias/semana com os fins-de-semana em silêncio). Os ratos foram divididos em 5 grupos com igual número de género: 10 dos 50 animais foram mantidos em silêncio para controlo, enquanto que os 40 restantes foram divididos em quatro grupos de 10 animais cada e submetidos ao ruído ao longo de 1, 3, 5 e 7 meses (tabela 1).

Tabela 1. Tempo de exposição total ao ruído industrial para cada grupo (em horas) (adaptada de Cavacas, 2014).

Grupo	Número de animais	Horas de exposição ao RBF
Controlo	10	0 horas (silêncio)
1 mês	10	160 horas
3 meses	10	480 horas
5 meses	10	800 horas
7 meses	10	1120 horas

De modo a simular o ambiente ocupacional a que os operários estão submetidos foi utilizado o ruído de uma fábrica têxtil do norte de Portugal. O ruído presente no local de trabalho foi gravado e reproduzido através da utilização de um conjunto eletroacústico baseado num sistema de computador, com uma placa de aquisição de dados DT2823 e cartão SB Live 5.1, um microfone B&K 4165 com pré-amplificador, um amplificador de 2 canais, um “subwoofer” e 16 altifalantes tipo monitor (Cavacas, 2014).

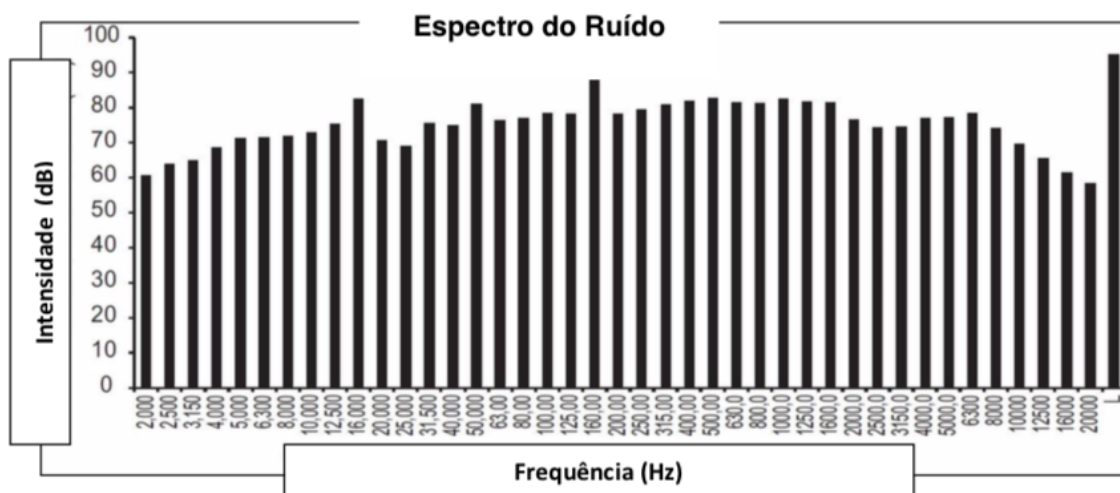


Figura 9. Espectro de distribuição das frequências e intensidades gravadas e reproduzidas no ambiente ao qual foram expostos os animais (adaptado de Oliveira et al., 2005 cited in Cavacas, 2014).

3. Macro e microscopia

Após a exposição dos 40 animais ao ruído industrial, foram selecionados e extraídos dentes por animal. Os dentes extraídos foram primeiros e segundos molares. A

extração dos dentes foi feita de acordo com os princípios cirúrgicos aplicados em Medicina Dentária (Cavacas, 2014).

Posteriormente, foram fixados em formol tamponado a 10% para observação em microscopia ótica e foram descalcificados em ácido nítrico a 10% durante 48h. Depois do completo processamento, os dentes foram incluídos, cortados longitudinalmente, no sentido mesio-distal, e corados com a coloração de Hematoxilina-Eosina (HE) (Cavacas, 2014).

4. Tipo de estudo e amostra

O presente estudo é uma investigação aplicada, quantitativa, quase-experimental.

A amostra do estudo compõe-se por 38 lâminas, preparadas anteriormente no estudo de Cavacas (2014).

5. Critérios

As amostras incluídas foram aquelas onde era visível a região da polpa, com um corte longitudinal.

As amostras excluídas do estudo foram as que apresentavam um corte oblíquo.

A análise restringiu-se apenas à polpa, contabilizando-se todas as células pulpare, nomeadamente fibroblastos e odontoblastos.

A cúspide selecionada foi a cúspide central, nas amostras com 3 cúspides, e a cúspide mais volumosa nas amostras com 2 cúspides.

6. Observação ao microscópio ótico

Os cortes histológicos foram observados em microscópio ótico Leica® DMLB, com uma ampliação de 400x (40x objetiva e 10x ocular) e uma escala de 100µm. Seguidamente, as amostras foram fotografadas com Leica® DFC290 HD, utilizando o *software Leica Application Suite*, no Laboratório de Morfologia do Instituto Universitário Egas Moniz, sempre pelo mesmo observador.

7. ImageJ

As amostras fotografadas foram analisadas e quantificadas através do *software ImageJ* (1.53a), iniciando-se com a medição de 100µm, em linha reta, a partir da primeira célula (odontoblasto) do vértice da cúspide para a base, estabelecendo assim a região a quantificar (figura 10A). Prosseguiu-se com a contagem e marcação manual de células (núcleos) (figura 10B). Seguidamente, foi calculada a área correspondente às células quantificadas (figura 10C). Com o intuito de minimizar os erros, foram analisadas oito imagens por dia, sempre pelo mesmo observador.

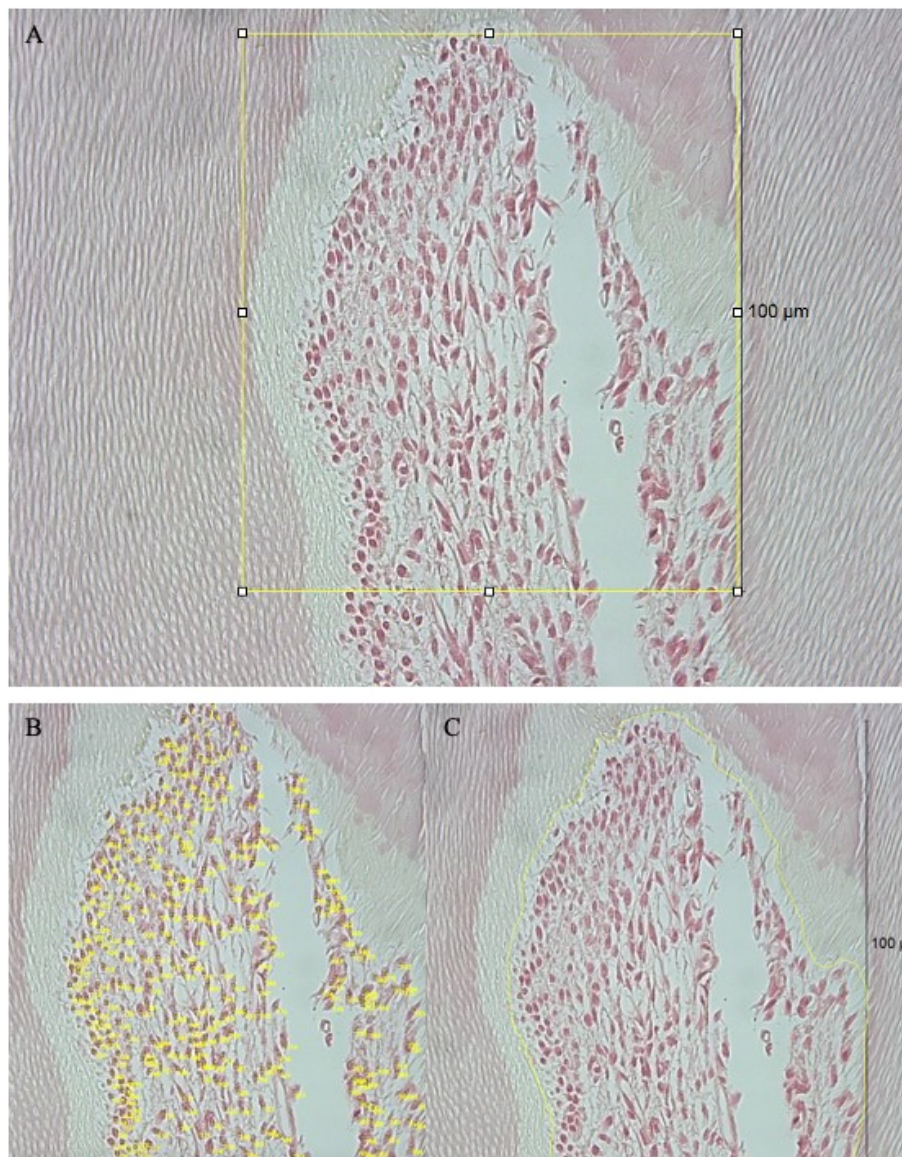


Figura 10. Representativa das ferramentas utilizadas no ImageJ. (A) mostra a região pulpar analisada, com base na escala de 100µm; em (B) pode-se observar a contagem manual das células; (C) exibe como foi medida a área, abrangendo apenas as células que vão ser quantificadas.

8. Análise estatística

Foi criada uma base de dados no programa *Microsoft Excel*[®] versão 16.41 (20091302) com os dados recolhidos e, para a sua análise estatística, recorreu-se ao *software IBM SPSS*[®] (*Statistical Package for the Social Sciences*) Statistics 26.

Dentro de cada um dos meses, existem dois grupos: o grupo controlo e o grupo de exposição. Os valores obtidos, em cada mês, correspondem a amostras distintas. Desta forma, pretendeu-se comparar a densidade celular pulpar em cada mês, para perceber se existiam diferenças significativas entre os grupos.

Procedeu-se, dentro de cada grupo, ao cálculo da média, desvio padrão, mediana, variância, erro padrão, mínimo e máximo, amplitude, amplitude interquartil, assimetria e curtose. O intervalo de confiança para a média foi de 95%.

O requisito mínimo estabelecido para a comparação foi existirem, pelo menos, 3 amostras tanto no grupo controlo como no exposto. Assim, a comparação estatística apenas foi possível aos 3 e aos 7 meses, e foi efetuada através do teste não paramétrico de *Mann-Whitney*. O nível de significância estatística estabelecido foi de 5%.

IV. RESULTADOS

Para a presente investigação foram seleccionadas amostras de molares de ratos *Wistar*. As amostras foram recolhidas e preparadas, em estudos anteriores, pela Prof. Doutora Maria Alzira Cavacas. Para análise, foram facultadas 42 lâminas, observando-se à *posteriori* se obedeciam aos critérios de inclusão e de exclusão. Foram excluídas 4 lâminas por apresentarem cortes histológicos oblíquos e incluídas as restantes 38, uma vez que apresentavam cortes longitudinais. Das lâminas incluídas, 17 correspondem ao grupo de controlo e 21 pertencem ao grupo exposto ao ruído (figura 11). Dentro do 1º mês, existem 5 amostras de controlo e 2 de exposição; no 3º mês 4 de controlo e 6 de exposição; ao 5º mês, dentro do grupo de controlo e do de exposição, existem 2 e 8 amostras, respetivamente; e, por último, no 7º mês observam-se 6 amostras de controlo e 5 de exposição.

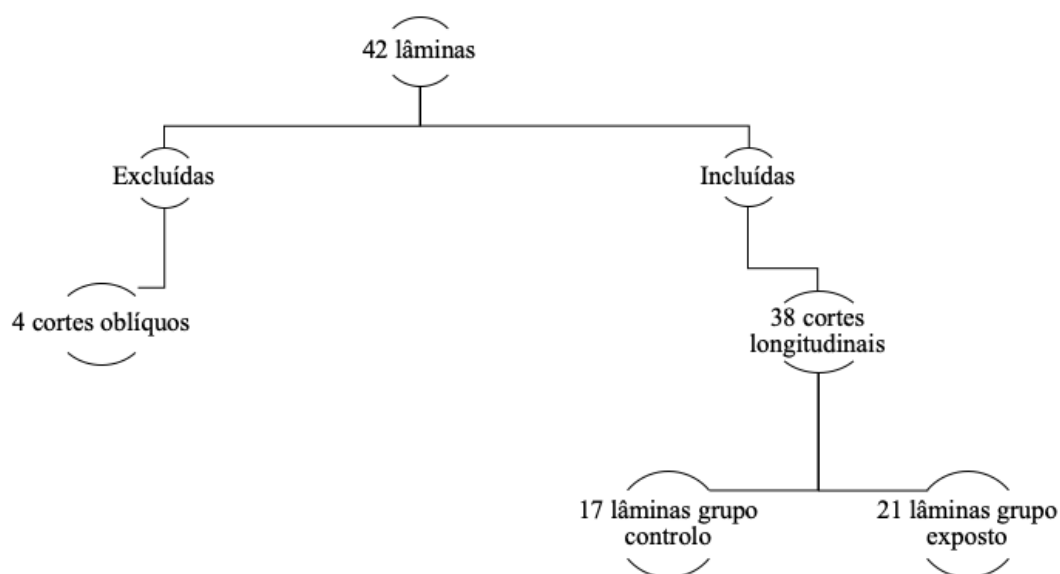


Figura 11. Representação esquemática da seleção das amostras no estudo.

Após a observação ao microscópio ótico, constatou-se que as amostras não apresentavam um número constante de cúspides. Enquanto umas amostras continham 3 cúspides, outras possuíam apenas 2 (figura 12). Para o estudo, definiu-se como critério para as amostras com 3 cúspides, a seleção da cúspide central e, para as amostras com 2 cúspides, a cúspide mais volumosa.

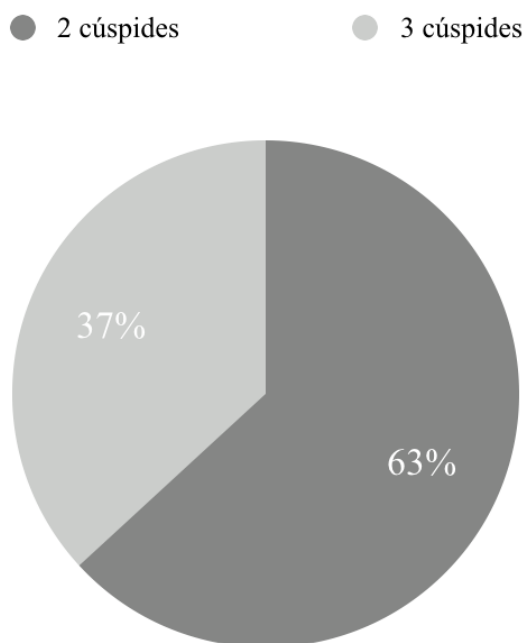


Figura 12. Percentagem de dentes com 2 e com 3 cúspides na amostra do estudo.

1. Resultados da análise histológica

1.1. 1º Mês

Na figura 13 pode ser observada a polpa dentária dos ratos do grupo controlo (figura 13A) e a dos ratos expostos ao ruído (figura 13B). Ao nível da polpa dentária são visíveis diferentes células, nomeadamente, odontoblastos e fibroblastos. Ambas as figuras correspondem ao 1º mês e sugerem a existência de diferenças ao nível da densidade celular pulpar. Através da observação da tabela 2, parece verificar-se uma diminuição no número de células por unidade de área (μm^2) no grupo exposto ao ruído industrial, quando comparado com o grupo controlo.

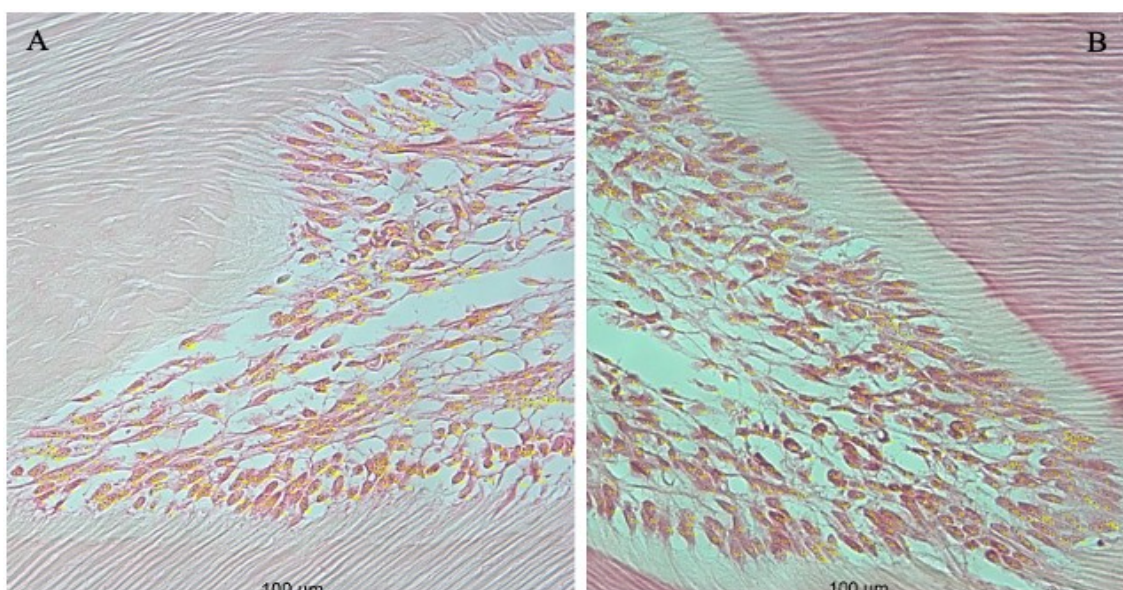


Figura 13. Microfotografias de cortes transversais de dentes de rato Wistar, onde é possível observar as células na porção coronária da polpa dentária. Amostras representativas de 1 mês de controlo (A) e 1 mês de exposição (B) (HE, 40x).

Tabela 2. Dados relativos ao 1º mês.

	Nº células	Área (μm^2)	Células/ μm^2
	1º mês		
Controlo	350	3803,106	9,203
	368	5474,822	6,722
	460	4732,388	9,720
	532	5648,052	9,419
	558	5701,030	9,788
Exposição	488	6458,593	7,556
	591	8098,076	7,298

1.2. 3º Mês

As imagens que incorporam a figura 14, são representativas do 3º mês, pertencendo uma ao grupo controlo (figura 14A) e outra ao grupo exposto ao ruído industrial (figura 14B). Pela observação das imagens parece haver diferenças na densidade celular entre os grupos, confirmando-se, pela análise da tabela 3, que, no grupo exposto ao ruído, existe um menor número de células por unidade de área (μm^2).

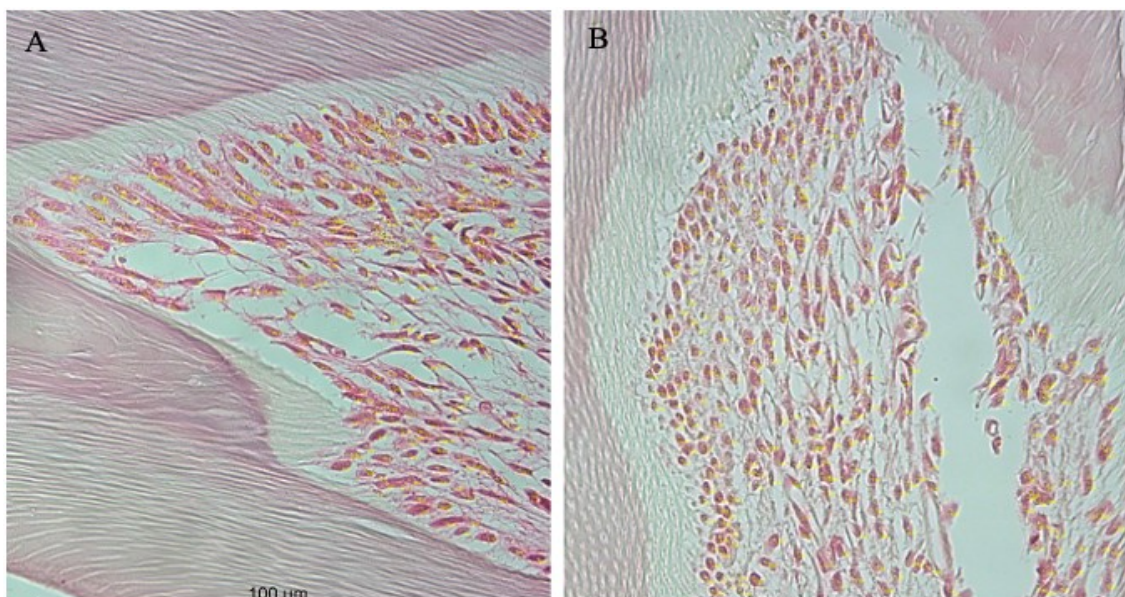


Figura 14. Microfotografias de cortes transversais de dentes de rato Wistar, onde é possível observar as células na porção coronária da polpa dentária. Amostras representativas de 3 meses de controle (A) e 3 meses de exposição (B) (HE, 40x).

Tabela 3. Dados relativos ao 3º mês.

	Nº células	Área (μm^2)	Células/ μm^2
	3º mês		
Controlo	394	5280,668	7,461
	519	6582,658	7,884
	410	5309,575	7,722
	487	6879,438	7,079
Exposição	349	5931,852	5,883
	340	5451,624	6,237
	331	6353,332	5,210
	361	6009,117	6,008
	289	4650,736	6,214
	303	5929,360	5,110

1.3. 5º Mês

Na figura 15 constam duas amostras da zona coronária da polpa dentária de ratos *Wistar*, selecionadas ao nível da cúspide mais volumosa do dente, e ambas pertencem ao 5º mês. Na figura 15A (controle) parece haver uma maior densidade celular comparativamente com a figura 15B (exposta). Com base na tabela 4, pode-se verificar

que, apesar de poder haver uma diminuição na densidade celular pulpar no grupo exposto ao ruído, esta diminuição parece ser menos acentuada em comparação com os meses anteriormente mencionados.

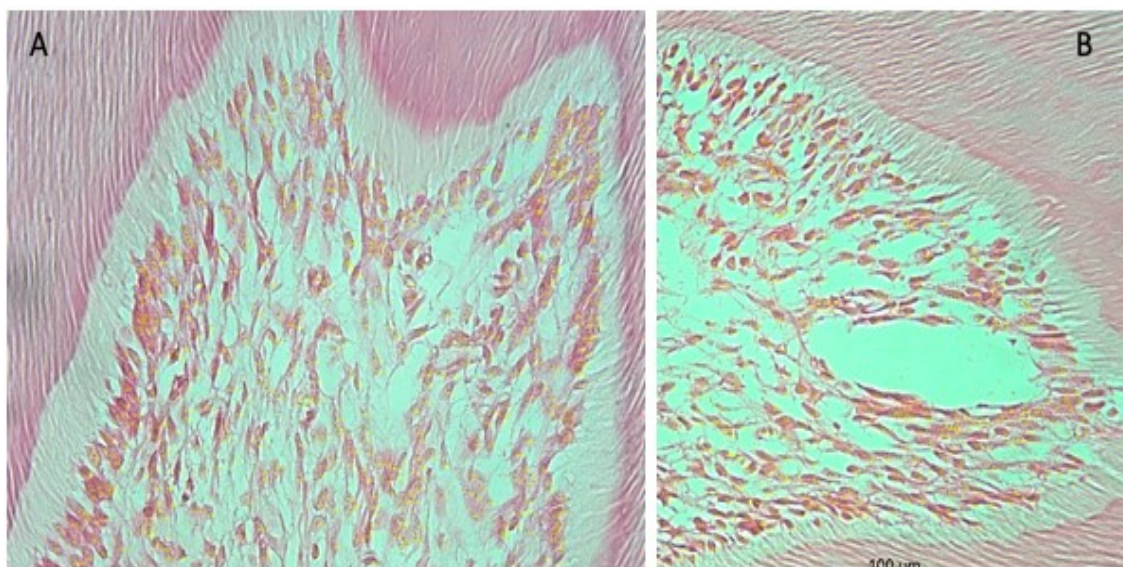


Figura 15. Microfotografias de cortes transversais de dentes de rato Wistar, onde é possível observar as células na porção coronária da polpa dentária. Amostras representativas de 5 meses de controlo (A) e 5 meses de exposição (B) (HE, 40x).

Tabela 4. Dados relativos ao 5º mês.

	Nº células	Área (μm^2)	Células/ μm^2
	5º mês		
Controlo	587	7845,565	7,482
	481	6210,519	7,745
Exposição	435	6050,958	7,189
	344	3469,719	9,914
	251	4677,777	5,366
	228	3575,452	6,377
	536	8518,848	6,292
	228	4040,510	5,643
	247	3870,170	6,382
	432	6441,655	6,706

1.4. 7º Mês

O 7º mês pode ser representado, histologicamente, pela figura 16. As imagens 16A e 16B representam a polpa dentária do grupo controle e do grupo exposto, respetivamente. No que diz respeito à densidade das células localizadas na polpa, não existem diferenças visíveis entre os grupos observados. Considerando a tabela 5, na qual está representada a razão entre o número de células contabilizadas e a área que abrange as células quantificadas, parece verificar-se uma semelhança entre a densidade celular pulpar do grupo de controlo e do grupo exposto.

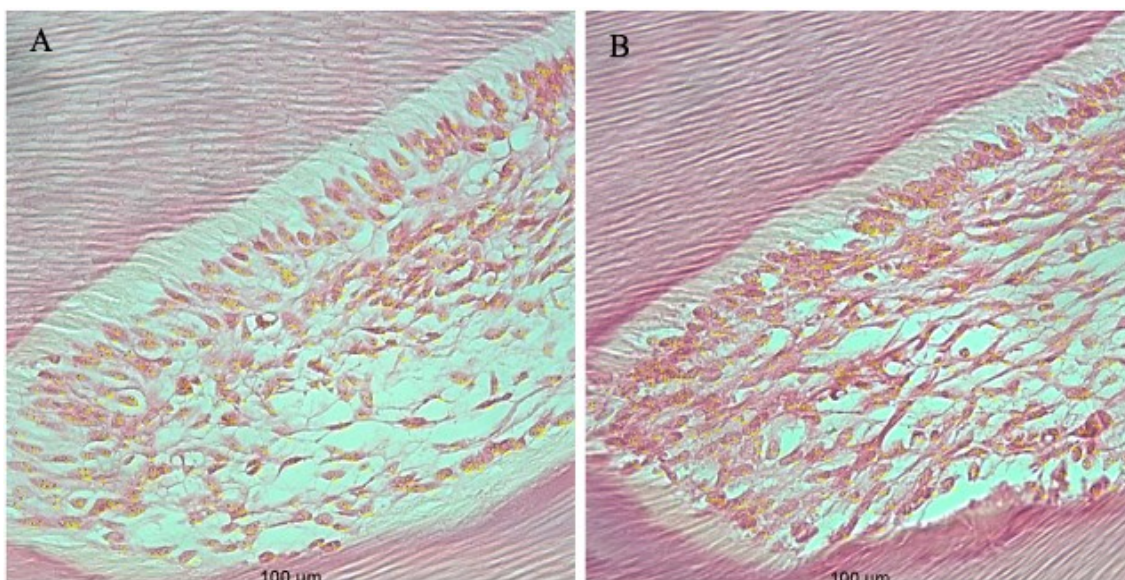


Figura 16. Microfotografias de cortes transversais de dentes de rato Wistar, onde é possível observar as células na porção coronária da polpa dentária. Amostras representativas de 7 meses de controlo (A) e 7 meses de exposição (B) (HE, 40x).

Tabela 5. Dados relativos ao 7º mês.

	Nº células	Área (μm^2)	Células/ μm^2
	7º mês		
Controlo	417	4049,782	10,297
	600	9775,364	6,138
	436	5398,869	8,076
	485	7985,866	6,073
	332	5141,363	6,457
	352	4897,519	7,187
Exposição	320	4323,176	7,402
	434	5250,272	8,266
	395	6441,964	6,132
	326	6478,259	5,032
	419	6652,182	6,299

2. Resultados da análise estatística

Dentro de cada mês, foi realizado o cálculo da média, do desvio padrão, da mediana, da variância, do erro padrão, do mínimo e do máximo, da amplitude, da amplitude interquartil, da assimetria e da curtose para o grupo controlo e para o grupo exposto.

Com o intuito de verificar se existiam diferenças significativas, a comparação entre os resultados dos dois grupos (controlo e exposição) foi efetuada através do teste não paramétrico de *Mann-Whitney*. Como o requisito mínimo estabelecido para a comparação foi existirem, pelo menos, 3 amostras tanto no grupo controlo como no exposto, a comparação estatística apenas foi possível ao 3º e ao 7º mês.

2.1. 1º mês

Na tabela 7 podem observar-se várias medidas estatísticas, que permitem a análise de alguns valores que se consideram relevantes.

Demonstrou-se que, em média, foram contabilizadas 8,9704 células por μm^2 no grupo de controlo enquanto que no grupo exposto foram quantificadas, em média, 7,4270 células por μm^2 . Assim, em média, foram quantificadas menos 1,5434 células por μm^2 no grupo exposto comparativamente com o grupo de controlo.

Em torno da média, pode-se observar um desvio padrão de 0,57188 para o grupo controlo e de 0,12900 para o grupo exposto. O facto do desvio padrão do grupo controlo ser maior do que o do grupo exposto indica que, neste último grupo, os valores tendem a estar mais próximos da média, enquanto que no grupo controlo os valores encontram-se mais dispersos.

A mediana é uma medida de localização central relativa à distribuição dos dados que, no caso do grupo controlo é de 9,4190 e no grupo exposto de 7,4270. Através da observação destes dados verifica-se que, no caso do grupo exposto a média e a mediana coincidem, indicando que a distribuição dos dados é simétrica. Por outro lado, no grupo controlo, deduz-se que a distribuição dos dados foi enviesada para a esquerda devido a um valor mais pequeno do que os restantes (*outlier*) e, por isso, a média é inferior à mediana.

Tabela 6. Resumo de processamento de casos para o 1º mês.

Grupo		Casos					
		Válido		Omisso		Total	
		N	Porcentagem	N	Porcentagem	N	Porcentagem
Densidade celular (1 mês)	Controlo	5	83,3%	1	16,7%	6	100,0%
	Exposição	2	25,0%	6	75,0%	8	100,0%

Tabela 7. Medidas estatísticas do grupo controlo e do grupo exposto para o 1º mês.

Grupo 1		Estatística Grupo Controlo	Desvio padrão Grupo Controlo	Estatística Grupo Exposto	Desvio padrão Grupo Exposto
Média		8,9704	0,57188	7,4270	0,12900
95% de Intervalo de Confiança para Média	Limite inferior	7,3826		5,7879	
	Limite superior	10,5582		9,0661	
5% da média aparada		9,0499		.	
Mediana		9,4190		7,4270	
Variância		1,635		0,033	
Erro padrão		1,27877		0,18243	
Mínimo		6,72		7,30	
Máximo		9,79		7,56	
Amplitude		3,07		0,26	
Amplitude interquartil		1,79		.	
Assimetria		-2,051	0,913	.	.
Curtose		4,323	2,000	.	.

2.2. 3º Mês

Após serem calculadas diversas medidas estatísticas (tabela 8), foi efetuado o teste de *Mann-Whitney* para comparar os dois grupos (controlo e exposto). O valor de p é uma probabilidade que mede a evidência contra a hipótese nula. Essa hipótese consiste em não haver diferenças estatisticamente significativas entre o grupo controlo e o grupo exposto ao ruído. Para se determinar se existem diferenças significativas, procedeu-se à comparação do valor de p com o nível de significância – que neste caso é 0,05. Assim, conclui-se que, aos 3 meses, existem diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos, uma vez que $p < 0,05$ ($p = 0,010$), rejeitando a hipótese nula (tabela 10).

Tabela 8. Medidas estatísticas do grupo controle e do grupo exposto para o 3º mês.

Grupo 3		Estatística Grupo Controle	Desvio padrão Grupo Controle	Estatística Grupo Exposto	Desvio padrão Grupo Exposto
Média		7,5365	0,17564	5,7770	0,20278
95% de Intervalo de Confiança para Média	Limite inferior	6,9776		5,2557	
	Limite superior	8,0954		6,2983	
5% da média aparada		7,5426		5,7885	
Mediana		7,5915		5,9455	
Variância		0,123		0,247	
Erro padrão		0,35127		0,49670	
Mínimo		7,08		5,11	
Máximo		7,88		6,24	
Amplitude		0,81		1,13	
Amplitude interquartil		0,67		1,03	
Assimetria		-0,736	1,014	-0,697	0,845
Curtose		-0,450	2,619	-1,816	1,741

Tabela 9. Postos 3º mês.

	Grupo	N	Posto médio	Soma de classificações
Densidade celular (3 meses)	Controle	4	8,50	34,00
	Exposição	6	3,50	21,00
	Total	10		

Tabela 10. Teste não paramétrico: Teste de Mann-Whitney para o grupo 3.

	Densidade celular pulpar (3 meses)
U de Mann-Whitney	0,000
Wilcoxon W	21,000
Z	-2,558
Significância Sig. (bilateral)	0,011
Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]	0,010

2.3. 5º Mês

Na tabela 12 podem observar-se várias medidas estatísticas, que permitem a análise de alguns valores considerados relevantes.

Demonstrou-se que, em média, foram contabilizadas 7,6135 células por μm^2 no grupo de controlo enquanto que no grupo exposto foram quantificadas, em média, 6,7336 células por μm^2 . Assim, em média, foram quantificadas menos 0,8799 células por μm^2 no grupo exposto comparativamente com o grupo de controlo.

Em torno da média, pode-se observar um desvio padrão de 0,13150 para o grupo controlo e de 0,49693 para o grupo exposto. O facto de o desvio padrão do grupo exposto ser maior do que o do grupo de controlo indica que, neste último grupo, os valores tendem a estar mais próximos da média, enquanto que no grupo exposto os valores encontram-se mais dispersos.

A mediana é uma medida de tendência central relativa à distribuição dos dados que, no caso do grupo controlo é de 7,6135 e no grupo exposto de 6,3795. Através da observação destes dados verifica-se que, no caso do grupo de controlo a média e a mediana coincidem, indicando que a distribuição dos dados é simétrica. Por outro lado, no grupo exposto, deduz-se que a distribuição dos dados foi enviesada para a direita devido a valores maiores e menores do que os restantes (*outliers*) e, por isso, a média é maior do que a mediana.

Tabela 11. Resumo de processamento de casos para o 5º mês.

Grupo		Casos					
		Válido		Omisso		Total	
		N	Porcentagem	N	Porcentagem	N	Porcentagem
Densidade celular (5 meses)	Controlo	2	33,3%	4	66,7%	6	100,0%
	Exposição	8	100,0%	0	0,0%	8	100,0%

Tabela 12. Medidas estatísticas do grupo controle e do grupo exposto para o 5º mês.

Grupo 5		Estatística Grupo Controlo	Desvio padrão Grupo Controlo	Estatística Grupo Exposto	Desvio padrão Grupo Exposto
Média		7,6135	0,13150	6,7336	0,49693
95% de Intervalo de Confiança para Média	Limite inferior	5,9426		5,5586	
	Limite superior	9,2844		7,9087	
5% da média aparada		.		6,6329	
Mediana		7,6135		6,3795	
Variância		0,035		1,976	
Erro padrão		0,18597		1,40553	
Mínimo		7,48		5,37	
Máximo		7,75		9,91	
Amplitude		0,26		4,55	
Amplitude interquartil		.		1,26	
Assimetria		.	.	1,937	0,752
Curtose		.	.	4,530	1,481

2.4. 7º Mês

Depois do cálculo de algumas medidas estatísticas para o grupo controle e para o grupo exposto (tabela 13), realizou-se o teste *Mann-Whitney* para comparar um grupo com o outro. A hipótese nula consiste em não haver diferenças estatisticamente significativas entre o grupo controle e o grupo exposto ao ruído. Verificou-se que não existem diferenças estatisticamente significativas, uma vez que $p > 0,05$ ($p = 0,662$), não podendo ser rejeitada a hipótese nula (tabela 15).

Tabela 13. Medidas estatísticas do grupo controle e do grupo exposto para o 7º mês.

Grupo 7		Estatística Grupo Controle	Desvio padrão Grupo Controle	Estatística Grupo Exposto	Desvio padrão Grupo Exposto
Média		7,3713	0,66164	6,6262	0,55604
95% de Intervalo de Confiança para Média	Limite inferior	5,6705		5,0824	
	Limite superior	9,0721		8,1700	
5% da média aparada		7,2809		6,6237	
Mediana		6,8220		6,2990	
Variância		2,627		1,546	
Erro padrão		1,62067		1,24334	
Mínimo		6,07		5,03	
Máximo		10,30		8,27	
Amplitude		4,22		3,23	
Amplitude interquartil		2,51		2,25	
Assimetria		1,449	0,845	0,145	0,913
Curtose		1,803	1,741	-0,613	2,000

Tabela 14. Postos 7º mês.

	Grupo	N	Posto médio	Soma de classificações
Densidade celular (7 meses)	Controle	6	6,50	39,00
	Exposição	5	5,40	27,00
	Total	11		

Tabela 15. Teste não paramétrico: Teste de Mann-Whitney para o grupo 7.

	Densidade celular pulpar (7 meses)
U de Mann-Whitney	12,000
Wilcoxon W	27,000
Z	-0,548
Significância Sig. (bilateral)	0,584
Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]	0,662

V. DISCUSSÃO

Diversos estudos têm apontado o ruído como um agente agressor que provoca várias modificações nos tecidos biológicos. Existem vários artigos referentes aos efeitos do ruído industrial nos distúrbios do sono, incômodo, desconforto, irritabilidade, hipoacusia, sensibilidade e doenças cardiovasculares (Alves *et al.*, 2020). No entanto, também foram relatadas alterações no sistema estomatognático, sobretudo, na glândula parótida (Oliveira *et al.*, 2007), no periodonto (Mendes *et al.*, 2007, 2009, 2014) e alterações morfológicas dentárias (Cavacas, 2014), entre elas, um maior desgaste dentário (Cavacas *et al.*, 2013, 2015) e alterações no complexo pulpo-dentinário, com alterações histológicas e morfológicas e sugestivas de um envelhecimento precoce do dente (Leonardo, 2019). Assim sendo, o presente estudo pretende dar continuidade à avaliação da densidade celular pulpar em dentes submetidos ao ruído industrial, procurando quantificar as alterações celulares ao nível da polpa. Como amostra foram utilizados dentes de rato *Wistar*. Vários investigadores descreveram semelhanças, entre os dentes de rato e os dentes humanos, ao nível histológico e fisiológico, em forma e função (Schour & Massler, 1962 cited in Murray *et al.*, 2002a). Além disso, os dentes destes animais parecem ser um modelo adequado para o estudo das alterações relacionadas com a idade nas células da polpa dentária, uma vez que seria difícil obter um número adequado de amostras de dentes humanos relativos a diferentes grupos etários expostos ao ruído industrial.

Foi realizada uma contagem do número de células da região da polpa dentária de 38 lâminas de dentes de ratos *Wistar*, medindo 100µm, em linha reta, a partir da primeira célula (odontoblasto) do vértice da cúspide para a base. Posteriormente foi medida a área pulpar, de forma a abranger apenas as células quantificadas. Tanto a contagem do número de células como a medição da área foram efetuadas através do *software ImageJ*. O *ImageJ*, anteriormente conhecido como *NIH Image*, é um dos primeiros pioneiros na análise de imagens (Schneider *et al.*, 2012). É um programa de edição, processamento e análise científica de imagem baseado em JAVA com download gratuito, é do domínio público e de código aberto, não necessitando de licença de utilização.

Através da contagem do número de células da região da polpa e da área correspondente às células quantificadas, obteve-se a densidade celular pulpar. Para comparação, foram tidas em conta as lâminas de controlo e as lâminas de exposição ao ruído industrial, e foram analisadas as alterações na densidade celular pulpar

correspondentes ao 1º, 3º, 5º e 7º meses. Na análise estatística, o requisito mínimo estabelecido para a comparação é a existência de, pelo menos, 3 amostras em ambos os grupos. Assim, a comparação estatística apenas é possível aos 3 e aos 7 meses.

Histologicamente, a polpa dentária apresenta uma zona central e uma zona periférica, observadas tanto na polpa coronária como na radicular. A avaliação quantitativa restringiu-se à área coronária, englobando a zona central e a zona periférica. Assim sendo, foram quantificados odontoblastos, sub-odontoblastos e fibroblastos. Os odontoblastos formam a camada odontoblástica e surgem como células localizadas na região mais externa da polpa dentária. Avançando internamente, encontramos as células subodontoblásticas que podem dividir-se, diferenciar-se em células “tipo” odontoblastos com atividade reparadora e estabelecer uma barreira protetora (Berkovitz *et al.*, 2018;). Os fibroblastos são as células mais numerosas na polpa. São responsáveis pela formação de fibras de colagénio e de substância fundamental. Quanto à morfologia esta é muito variável, no entanto, pode ser descrita como estrelada e com prolongamentos extensos que, através de junções intercelulares, são unidos aos prolongamentos de outros fibroblastos ou de odontoblastos (Kumar, 2015).

Nesta investigação verificou-se uma diminuição da densidade celular nos dentes expostos ao ruído comparativamente com os de controlo. No entanto, observou-se que essa diminuição não é constante ao longo dos meses. De acordo com os resultados obtidos, no primeiro e no terceiro mês parece haver uma diminuição acentuada da densidade celular. No quinto mês, parece manter-se uma diminuição da densidade celular, embora menos acentuada e, no sétimo mês, parece verificar-se uma semelhança entre os resultados do grupo de controlo e do grupo exposto.

As alterações histológicas observadas podem dever-se a vários fatores: a uma resposta do organismo ao ruído industrial, - que pode ocorrer devido ao *stress* psicológico e/ou à vibração física das estruturas do tecido - ao envelhecimento fisiológico da polpa do dente controlo ou, ainda, a uma resposta adaptativa do organismo e do complexo pulpo-dentinário ao agente agressor.

Vários estudos comprovam que o aumento do *stress* pode estar relacionado com a exposição crónica ao RBF (Berglund & Lindvall, 1995; Leventhall, 2004; Lurie *et al.*, 2007). Outros evidenciam que a exposição ao ruído industrial e os hábitos parafuncionais estão correlacionados (Kovacevic, 1989 cited in Cavacas *et al.*, 2015), sendo que os hábitos parafuncionais têm sido descritos por vários autores como um processo autodestrutivo causado pelo *stress*. Segundo os estudos de Rosales *et al.* (2002), tomando

em conta os ratos expostos ao *stress* emocional, e quando comparados com os de controlo, verifica-se que os primeiros apresentam mais sintomas associados ao bruxismo. Kovacevic e Belojevic (2006), demonstraram que a exposição ao ruído industrial pode estar significativamente relacionada com a abrasão dentária, uma vez que ocorre uma repetição sustentada da contração muscular mastigatória devido ao *stress* e, consequentemente, às atividades parafuncionais. Segundo a investigação de Leonardo (2019), nos dentes submetidos ao ruído industrial, verificou-se uma diminuição da densidade celular pulpar, devido a uma diminuição do volume da câmara pulpar, como consequência do aumento da secreção de dentina terciária pelos odontoblastos. A investigação mencionada corrobora os estudos de Cavacas *et al.* (2013), nos quais se observaram lesões ao nível do complexo pulpo-dentinário causadas pelo ruído industrial. Este pode acelerar o envelhecimento dos dentes pelo impacto direto das pulsações de pressão acústica, ou pelo aumento do *stress* que indiretamente acelera o desgaste dentário.

Na literatura, são descritas várias alterações no complexo pulpo-dentinário, relacionadas com a idade. A polpa dentária diminui em volume, torna-se mais fibrosa, menos vascularizada e menos inervada, a densidade celular diminui e a incidência de calcificações pulpares aumenta (Berkovitz *et al.*, 2018).

De acordo com os resultados obtidos através da análise estatística, verificam-se diferenças significativas na densidade celular pulpar entre o grupo de exposição e de controlo aos 3 meses ($p=0,010$). A diminuição da densidade celular verificada vai de encontro aos diversos estudos que evidenciaram que o dente responde aos agentes agressores através do complexo pulpo-dentinário (Bleicher, 2014; Murray *et al.*, 2002a, 2002b). Muito do que é conhecido sobre a relação entre a idade e a densidade celular pulpar é baseado em estudos realizados em ratos (Lavelle & Moore, 1969; Murray *et al.*, 2002a; Pinzon *et al.*, 1967) e em humanos (Couve, 1986; Couve & Schmachtenberg, 2011; Daud *et al.*, 2014; Murray *et al.*, 2002b). Vários estudos quantitativos mostraram uma redução do número total de células da polpa dentária com o aumento da idade. Fröhlich (1970) cited in Murray *et al.* (2000), refere que, nos humanos, existe uma redução de 50% das células da polpa entre os 20 e os 70 anos. Nos estudos com ratos, de acordo com Pinzon *et al.* (1967), verifica-se uma diminuição de 75% das células pulpares, comparando os ratos mais velhos com os mais novos. Já Lavelle e Moore (1969) mostram uma perda de 26% do número total de todas as populações de células pulpares em molares de ratos entre os 28 e os 751 dias de idade, e uma redução de 21% dos odontoblastos nos ratos mais velhos. No geral, a diminuição da densidade celular pulpar pode ser justificada

pela resposta adaptativa do complexo pulpo-dentinário à redução de volume da câmara pulpar. Este estreitamento tem sido associado tanto ao envelhecimento como a influências ambientais (caso do ruído industrial).

Apesar de, nesta investigação, não ter sido realizada a distinção entre as populações de células pulpares, segundo o estudo de Murray *et al.* (2002a), a densidade dos odontoblastos pode diminuir até 40% e a dos subodontoblastos até 43%. No entanto, a densidade dos fibroblastos pode sofrer um aumento de 32%, à medida que a idade avança, sugerindo que a densidade dos fibroblastos não é tão bem regulada comparativamente com as restantes células pulpares.

A análise histológica desta investigação restringiu-se à região coronária da polpa. Porém, Daud *et al.* (2014), constatou que a densidade celular da polpa é maior na coroa do que na raiz. Apesar da densidade celular pulpar diminuir com a idade, tanto na coroa como na raiz, verifica-se uma redução mais acentuada da densidade celular pulpar na região da raiz, corroborando os estudos de Murray *et al.* (2002a) e Murray *et al.* (2002b) com células da polpa dentária humana e de ratos.

No sétimo mês de exposição, de acordo com os resultados da análise estatística, não se verificaram diferenças significativas entre o grupo exposto e o grupo controlo ($p=0,662$). Estes resultados podem ser explicados pela capacidade de resposta adaptativa do tecido pulpar do dente ao agente agressor ou a condições *stressantes*, assim como pelo envelhecimento fisiológico pulpar do dente controlo.

O *stress* pode ser definido como uma resposta a determinados estímulos externos (*stressores*), que resulta em mudanças adaptativas ou desadaptativas necessárias para recuperar a homeostase e / ou estabilidade. A exposição a agentes agressores (irritantes) como o ruído, pode conduzir a diversas alterações fisiológicas, conduzindo a uma ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA). O termo “habituação” refere-se a qualquer diminuição na capacidade de resposta a um estímulo repetido (Thoma *et al.*, 2017). Quando não há uma habituação do eixo HHA, este continua a ser ativado, podendo levar ao desgaste do indivíduo (McEwen, 1998; Sapolsky *et al.*, 2000 cited in Roos *et al.*, 2019). Contudo, os animais são capazes de se adaptar à exposição repetida ao mesmo estímulo, podendo ocorrer uma habituação do eixo HHA. De acordo com Wüst *et al.* (2005), existe uma habituação adaptativa ao *stress* repetido (diminuição das respostas do cortisol) em 52% dos indivíduos examinados. Estes dados corroboram os estudos de Cavacas (2014) e Oliveira *et al.* (2009), nos quais também parece haver uma resposta de adaptação e de habituação aos estímulos agressores. A investigação experimental de

Cavacas (2014), mostrou que, a partir do quarto mês de exposição ao ruído industrial, o desgaste continuou a acontecer, mas de uma forma menos severa. Também nos estudos de Oliveira *et al.* (2009) foi verificado que, após sete meses de exposição, os animais exibiam uma inversão da resposta adrenal ao *stress* provocado pelo ruído, uma vez que mostravam um aumento da densidade de gotículas de lípidos quando comparados aos controles.

Na figura 17 pode ser observada a sequência de fenômenos passíveis de representar os efeitos do ruído industrial na polpa dentária.

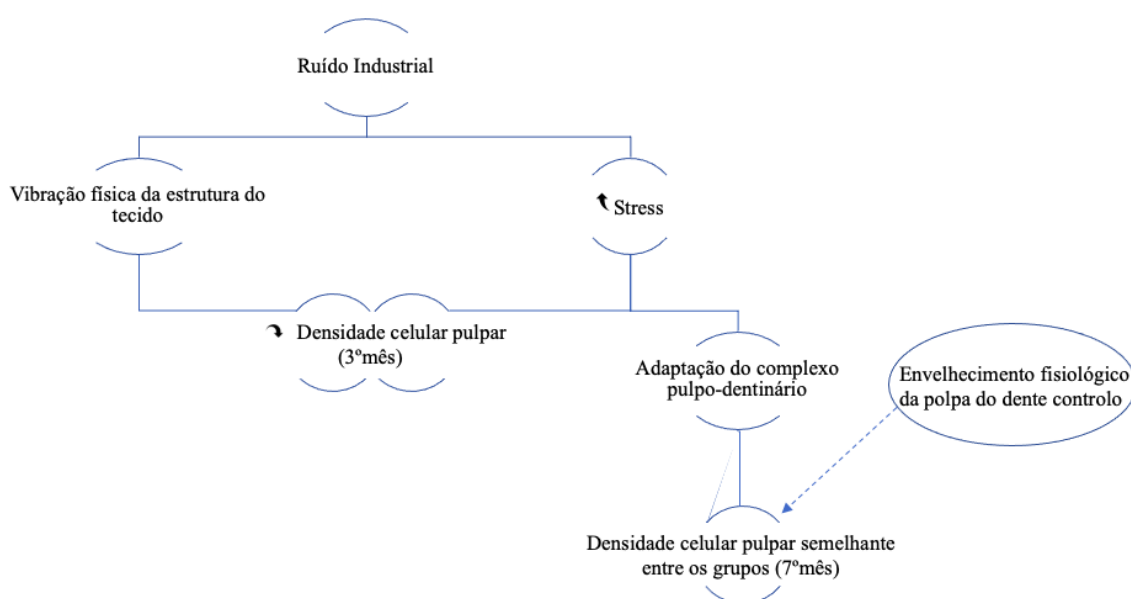


Figura 17. Esquema resumo dos efeitos do ruído industrial na polpa dentária.

Deve ser reconhecido que, além das mudanças na densidade celular, o envelhecimento pode ter um efeito na morfologia e na atividade das células pulpares. Segundo Leonardo (2019), os odontoblastos rearranjam-se em células pseudoestratificadas, de forma ovóide e curtas em comprimento. Tornam-se mais senescentes, levando a uma diminuição da atividade dentinogénica e, conseqüentemente, a uma perda de funcionalidade (Couve & Schmachtenberg, 2011).

Os odontoblastos danificados são, possivelmente, eliminados por morte celular apoptótica ou necrótica (Terman *et al.*, 2006) e são substituídos por células semelhantes a odontoblastos da região subodontoblástica (Baume, 1980; Bjorndal & Darvann, 1999; Bjorndal & Mjör, 2001; Mitsiadis & Rahiotis, 2004; Smith *et al.*, 1995 cited in Couve & Schmachtenberg, 2011). As células subodontoblásticas, que possuem núcleos ovais

grandes e citoplasma eosinófilo, tornam-se, progressivamente, mais achatadas e com escasso citoplasma. Os fibroblastos surgem achatados e fusiformes (Daud, 2014; Hossain, 2017).

Face ao acima exposto, é crucial compreender o efeito do envelhecimento e as alterações quantitativas e morfológicas nas células da polpa dentária, uma vez que têm influência na vitalidade e na capacidade de reparação do complexo pulpo-dentinário (Murray *et al.*, 2002a). No entanto, sabe-se que a densidade de odontoblastos e de células “tipo” odontoblastos é fundamental para o processo de reparação do complexo pulpo-dentinário (Byers & Westenbroek, 2011), e esta parece ser dependente da idade (Murray *et al.*, 2000).

De acordo com os resultados obtidos, o ruído industrial é capaz de provocar alterações quantitativas na densidade celular pulpar de dentes de rato *Wistar*. Nos dentes submetidos ao ruído industrial, verificou-se uma diminuição na densidade celular pulpar, compatível com um envelhecimento precoce.

VI. CONCLUSÃO

O principal intuito deste projeto foi confirmar e entender a importância das alterações que ocorrem nos dentes quando expostos a um agente agressor externo, como se encontra refletido no objetivo geral da presente investigação. Este consiste em caracterizar e analisar, sob o ponto de vista histológico, a influência do ruído industrial sobre as células da polpa de dentes de rato *Wistar*, através da realização de uma análise quantitativa dessas mesmas células.

Os resultados obtidos vão ao encontro da Hipótese alternativa (H1), rejeitando a hipótese nula (H0), uma vez que se verificou a existência de diferenças quantitativas ao nível da densidade celular pulpar dos dentes de rato *Wistar* submetidos ao ruído industrial.

O ruído corresponde a um estímulo externo capaz de provocar alterações morfológicas, nomeadamente histológicas ao nível do complexo pulpo-dentinário. As alterações encontradas provenientes da quantificação das células da polpa dentária dos ratos *Wistar*, nomeadamente, a diminuição da densidade celular pulpar, correspondem às modificações encontradas nos dentes mais envelhecidos. Assim, pode-se concluir que a exposição ao ruído industrial parece desencadear um envelhecimento precoce dos dentes. Este envelhecimento pode ocorrer quer pelo aumento do *stress*, que leva a uma hiperatividade dos músculos mastigatórios e, conseqüentemente, à manifestação de hábitos parafuncionais, quer pela vibração física das estruturas.

Quanto a limitações a apontar, salienta-se, por um lado, a escassez de dados nos grupos em análise, tendo sido feita a comparação estatística apenas de dois grupos, e por outro, o facto de haver dentes com um diferente número de cúspides. Há dentes com três cúspides e outros com duas, levando à existência de dois critérios distintos para a comparação. Assim, poderá ser adotada, para uma investigação futura, a seleção de dentes com um número igual de cúspides, ou a quantificação de todas as cúspides, de cada dente, e calculada a média desses resultados.

Após a conclusão do estudo, pensa-se ser pertinente sugerir a continuidade do mesmo. Assim sendo, num estudo idêntico, mas prospetivo, será interessante, aquando da quantificação, diferenciar as populações de células da polpa dentária. E, por outro lado, estender a quantificação à região da polpa radicular.

VII. BIBLIOGRAFIA

Agência Portuguesa do Ambiente (2009). *Nota técnica para avaliação do factor ambiental ruído em AIA de pedreiras e minas a céu aberto*. APA

Agência Portuguesa do Ambiente. (2011). *Diretrizes para elaboração de mapas de ruído*. Lisboa: APA.

Akansel, N., & Kaymakçi, S. (2008). Effects of intensive care unit noise on patients: a study on coronary artery bypass graft surgery patients. *Journal of clinical nursing*, 17(12), 1581–1590. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2702.2007.02144.x>

Alharby, A., Alzayer, H., Almahlawi, A., Alrashidi, Y., Azhar, S., Sheikho, M., Alandijani, A., Aljohani, A., & Obied, M. (2018). Parafunctional Behaviors and Its Effect on Dental Bridges. *Journal of clinical medicine research*, 10(2), 73–76. <https://doi.org/10.14740/jocmr3304w>

Alves-Pereira, M. (1999). Noise-induced extra-aural pathology: a review and commentary. *Aviation, space, and environmental medicine*, 70(3 Pt 2), A7–A21.

Alves-Pereira, M., & Castelo Branco, N. A. (2007). Vibroacoustic disease: biological effects of infrasound and low-frequency noise explained by mechanotransduction cellular signalling. *Progress in biophysics and molecular biology*, 93(1-3), 256–279. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2006.07.011>

Alves-Pereira, M., Melo, J. J., & Castelo Branco, N. A. (2004). Public transportation and low frequency noise: a health hazard? *Proceedings 11th International Congress on Sound and Vibration*, 1761-1766.

Alves, J. A. (2017). *Os impactes da poluição sonora na saúde e na sustentabilidade dos lugares: estudo de caso no município de Guimarães* (Tese de doutoramento, Faculdade do Minho). <http://hdl.handle.net/1822/50849>

Alves, J. A., Paiva, F. N., Silva, L. T., & Remoaldo, P. (2020). Low-Frequency Noise and Its Main Effects on Human Health—A Review of the Literature between 2016 and 2019. *Applied Sciences* 10(15). <https://doi.org/10.3390/app10155205>

Alves, J. A., Silva, L. T., & Remoaldo, P. C. C. (2015). The Influence of Low-Frequency Noise Pollution on the Quality of Life and Place in Sustainable Cities: A Case Study from Northern Portugal. *Sustainability*, 7(10), 13920–13946. <http://dx.doi.org/10.3390/su71013920>

American Academy of Orofacial Pain (2018). *Orofacial Pain: Guidelines for Assessment, Diagnosis, and Management* (6th Edition). Quintessence Publishing

Andrade, D., Finkler, C., Closs, M., Marini, A. L., & Capp, E. (1998). Efeitos do ruído industrial no organismo. *Revista de atualização científica*, 10 (1), 17-20. <http://hdl.handle.net/10183/119240>

Andrade, R., Cunha, M., & Reis, A. (2017). Análise morfofuncional do sistema estomatognático em usuários de prótese total convencional do Centro Integrado de Saúde - CIS. *Revista CEFAC*, 19(5), 712-725. <https://doi.org/10.1590/1982-021620171955817>

Antunes, E., Borrecho, G., Oliveira, P., Alves de Matos, A. P., Brito, J., Águas, A., & Martins dos Santos, J. (2013). Effects of low-frequency noise on cardiac collagen and cardiomyocyte ultrastructure: an immunohistochemical and electron microscopy study. *International journal of clinical and experimental pathology*, 6(11), 2333–2341. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24228094/>

Babisch, W. (2014). Updated exposure-response relationship between road traffic noise and coronary heart diseases: a meta-analysis. *Noise & health*, 16(68), 1–9. <https://doi.org/10.4103/1463-1741.127847>

Baliatsas, C., van Kamp, I., van Poll, R., & Yzermans, J. (2016). Health effects from low-frequency noise and infrasound in the general population: Is it time to listen? A systematic review of observational studies. *The Science of the total environment*, 163–169. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.065>

Basner, M., Babisch, W., Davis, A., Brink, M., Clark, C., Janssen, S., & Stansfeld, S. (2014). Auditory and non-auditory effects of noise on health. *The Lancet*, 383(9925), 1325–1332. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61613-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61613-X)

Bell, A., & Ross, K.M. (2014). The Neuro Psycho Physiological Effects of Chronic and Excessive Stress. *American International Journal of Social Science*, 3(1), 159–173.

Berglund, B. & Lindvall, T. (1995). Community Noise. *Archives of the Center for Sensory Research*, 2, 1-195.

Berglund, B., Hassmén, P., & Job, R. F. (1996). Sources and effects of low-frequency noise. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 99(5), 2985–3002. <https://doi.org/10.1121/1.414863>

Berkovitz, B., Holland, G., & Moxham, B. (2018). *Oral Anatomy, Histology and Embryology* (5th edition). Elsevier

Berman, L. H., & Hargreaves, K. M. (2015). *Cohen's Pathways of the Pulp* (11th Edition). Mosby Elsevier.

Bistafa, S. R. (2011). *Acústica aplicada ao controle do ruído* (2^a Edição). Edgard Blucher.

Bleicher F. (2014). Odontoblast physiology. *Experimental cell research*, 325(2), 65–71. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2013.12.012>

Bluhm, G. L., Berglund, N., Nordling, E., & Rosenlund, M. (2007). Road traffic noise and hypertension. *Occupational and environmental medicine*, 64(2), 122–126. <https://doi.org/10.1136/oem.2005.025866>

Boer, L., & Schroten, A. (2007). *Traffic noise reduction in Europe - Health effects, social costs and technical and policy options to reduce road and rail traffic noise*. CE Delft publications.

Byers, M. R., & Westenbroek, R. E. (2011). Odontoblasts in developing, mature and ageing rat teeth have multiple phenotypes that variably express all nine voltage-gated sodium channels. *Archives of oral biology*, 56(11), 1199–1220. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2011.04.014>

Carnicelli, M. V. F. (1994). Exposição ocupacional à vibração transmitida através das mãos: uma revisão sobre o distúrbio vascular periférico. *Revista Brasileira de Saúde Ocupacional*, 22, 35-44.

Carvalho, A., & Rocha, C. (2008). *Manual técnico para elaboração de planos municipais de redução de ruído*. Agência Portuguesa do Ambiente.

Casas, W. P., Cordeiro, E. P., Mello, T. C., & Zannin, P. H. T. (2014). Noise mapping as a tool for controlling industrial noise pollution. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 73, 262-266.

Castelo Branco, N. A., & Alves-Pereira, M. (2004). Vibroacoustic disease. *Noise & health*, 6(23), 3–20.

Cavacas, M. A. (2014). *Alterações morfológicas dentárias provocadas pelo ruído industrial* (Tese de doutoramento, Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar da Universidade do Porto). <https://repositorio-aberto.up.pt/handle/10216/73632>

Cavacas, M. A., Tavares, V., Borrecho, G., Oliveira, M. J., Oliveira, P., Águas, A., & Dos Santos, J. M. (2015). Industrial Noise and Tooth Wear – Experimental Study. *International Journal of Medical Sciences*, 12(3), 264–269. <https://doi.org/10.7150/ijms.11309>

Cavacas, M., A., Tavares, V., Oliveira, M., J., Oliveira, P., Sezinando, A., & Martins dos Santos, J. (2013). Effects of industrial noise on circumpulpar dentin--a field emission scanning electron microscopy and energy dispersive spectroscopy analysis. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 6(12), 2697-2702. <http://hdl.handle.net/10400.26/6219>

Chiego, D. J. (2019). *Essentials of Oral Histology and Embryology: A Clinical Approach* (5th Edition). Elsevier

Comissão Europeia. (2009). *Guia indicativo de boas práticas para a aplicação da Directiva 2003/10/CE “Ruído no trabalho.”* Serviço das Publicações da União Europeia

Couve, E. (1986). Ultrastructural Changes During the Life Cycle of Human Odontoblasts. *Archives of Oral Biology*, 31 (10), 643-651. [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(86\)90093-2](https://doi.org/10.1016/0003-9969(86)90093-2)

Couve, E., & Schmachtenberg, O. (2011). Autophagic activity and aging in human odontoblasts. *Journal of dental research*, 90(4), 523–528. <https://doi.org/10.1177/0022034510393347>

Couve, E., Osorio, R., & Schmachtenberg, O. (2013). The amazing odontoblast: activity, autophagy, and aging. *Journal of dental research*, 92(9), 765–772. <https://doi.org/10.1177/0022034513495874>

Cox, P. G., Rayfield, E. J., Fagan, M. J., Herrel, A., Pataky, T. C., & Jeffery, N. (2012). Functional evolution of the feeding system in rodents. *PloS one*, 7(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036299>

D’Agosto, M. A. (2015). *Transporte, uso de energia e impactos ambientais: Uma abordagem introdutória*. Elsevier.

da Costa, B. R. C., & Pinto, I. C. J. F. (2017). Stress, Burnout and Coping in Health Professionals: A Literature Review. *Journal of Psychology and Brain Studies*, 1(4), 1-8.

da Silva, A. S. M. (2009). *Acústica Ambiental: análise de ruído urbano* (Dissertação de Mestrado, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto). <http://hdl.handle.net/10216/59333>

Daud, S., Nambiar, P., Hossain, M. Z., Rahman, M. R., & Bakri, M. M. (2014). Changes in cell density and morphology of selected cells of the ageing human dental pulp. *Gerodontology*, 33(3), 315–321. <https://doi.org/10.1111/ger.12154>

Ministério do Trabalho e da Solidariedade Social (2006). Decreto-Lei no 182/2006 de 06 de Setembro. *Diário da República* no 172/2006 – I Série, 6584-6593.

Demjaha, G., Kapusevska, B., & Pejkovska-Shahpaska, B. (2019). Bruxism Unconscious Oral Habit in Everyday Life. *Open access Macedonian journal of medical sciences*, 7(5), 876–881. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2019.196>

European Parliament and of the Council (2002). Directive 2002/49/EC relating to the assessment and management of environmental noise. *Official Journal of the European Communities*, 189, 12–25.

Eriksson, C., Pershagen, G., & Nilsson, M. (2018). Biological mechanisms related to cardiovascular and metabolic effects by environmental noise. *WHO Regional Office for Europe*.

Fonseca, J., Martins dos Santos, J., Oliveira, P., Laranjeira, N., Águas, A. & Castelo-Branco, N. (2012). Noise-induced gastric lesions: a light and electron microscopy study of the rat gastric wall exposed to low frequency noise. *Arquivos de Gastroenterologia*, 49(1), 82-88. <https://doi.org/10.1590/S0004-28032012000100014>

Frasquilho, M. (2005). Medicina, médicos e pessoas: Compreender o stresse para prevenir o burnout. *Acta Médica Portuguesa*, 18, 433–444.

Gomes, V., & Rodrigues, C. (2017). Ruído ocupacional em Portugal – periodicidade das medições e da avaliação de riscos. *48º Congresso Espanhol de Acústica - TECNIACÚSTICA® 2017 e o Encontro Ibérico de Acústica*. 1-7. <http://hdl.handle.net/10400.21/8708>

Hossain, M. Z., Daud, S., Nambiar, P., Razak, F. A., Ab-Murat, N., Saub, R. & Bakri, M. M. (2017). Correlation between numbers of cells in human dental pulp and age: implications for age estimation. *Archives of Oral Biology*, 80, 51-55. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.03.018>

Instituto do Ambiente (2004). *O Ruído e a Cidade*. Ministério das Cidades, Ordenamento do Território e Ambiente.

Jafari, M. J., Khosrowabadi, R., Khodakarim, S., & Mohammadian, F. (2019). The Effect of Noise Exposure on Cognitive Performance and Brain Activity Patterns. *Open access Macedonian journal of medical sciences*, 7(17), 2924–2931. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2019.742>

Klasser, G. D., Rei, N., & Lavigne, G. J. (2015). Sleep bruxism etiology: the evolution of a changing paradigm. *Journal Canadian Dental Association*, 81, f2. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25633110/>

Kovacevic, M., & Belojevic, G. (2006). Tooth abrasion in workers exposed to noise in the Montenegrin textile industry. *Industrial health*, 44(3), 481–485. <https://doi.org/10.2486/indhealth.44.481>

Kumar, G. S. (2015). *Orban's Oral Histology & Embryology* (14th Edition). Elsevier

Landrigan, P. J., Fuller, R., Acosta, N., Adeyi, O., Arnold, R., Basu, N. N., Baldé, A. B., Bertollini, R., Bose-O'Reilly, S., Boufford, J. I., Breysse, P. N., Chiles, T., Mahidol, C., Coll-Seck, A. M., Cropper, M. L., Fobil, J., Fuster, V., Greenstone, M., Haines, A., ... Zhong, M. (2018). The Lancet Commission on pollution and health. *Lancet*, 391(10119), 462–512. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32345-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32345-0)

Lavelle, C. L., & Moore, W. J. (1969). Comparison of cell numbers in pulps of rodent incisors and molars. *Journal of dental research*, 48(4), 597. <https://doi.org/10.1177/00220345690480041901>

Lazarus, R. S., & Folkman, S. (1984). *Stress, appraisal and coping*. Springer publishing company.

Lazarus, R. S., Baker, R. W., Broverman, D. M., & Mayer, J. (1957). Personality and psychological stress. *J.Pers.* 25, 559-577 B29,451/57. <https://doi.org/10.1111/j.1467-6494.1957.tb01548.x>

Lazarus, R. S., Speisman, J. C., Mordkoff, A. M., & Davison, L. A. (1962). A laboratory study of psychological stress produced by a motion picture film. *Psychological Monographs: General and Applied*, 76(34), 1–35. <https://doi.org/10.1037/h0093861>

Leonardo, A. M. (2019). *Avaliação da densidade celular pulpar em dentes de rato Wistar submetidos ao ruído industrial* (Tese de mestrado, Instituto Universitário Egas Moniz). <http://hdl.handle.net/10400.26/30541>

Leventhall, G. (2004). Low frequency noise and annoyance. *Noise Health*, 6, 59–72.

Leventhall, G., Pelmear, P., & Benton, S. (2003) A review of published research on low frequency noise and its effects. *Department for Environment, Food and Rural Affairs*, 88.

Loomans, B., Opdam, N., Attin, T., Bartlett, D., Edelhoff, D., Frankenberger, R., Benic, G., Ramseyer, S., Wetselaar, P., Sterenborg, B., Hickel, R., Pallesen, U., Mehta, S., Banerji, S., Lussi, A., & Wilson, N. (2017). Severe Tooth Wear: European Consensus Statement on Management Guidelines. *The journal of adhesive dentistry*, 19(2), 111–119. <https://doi.org/10.3290/j.jad.a38102>

Lurie, O., Zadik, Y., Einy, S., Tarrasch, R., Raviv, G., & Goldstein, L. (2007). Bruxism in military pilots and non-pilots: tooth wear and psychological stress. *Aviation, space, and environmental medicine*, 78(2), 137–139.

Macena, W. G., Hermano, L. O., & Costa, T. C. (2018). Alterações fisiológicas decorrentes do envelhecimento. *Revista Mosaicum*, 15(27), 223-238. <https://doi.org/10.26893/rm.v15i27.64>

Magloire, H., Couble, M. L., Romeas, A., & Bleicher, F. (2004). Odontoblast primary cilia: facts and hypotheses. *Cell biology international*, 28(2), 93–99. <https://doi.org/10.1016/j.cellbi.2003.11.006>

Martins dos Santos, J., Grande, N. R., Castelo Branco, N. A., Zagalo, C. & Oliveira, P. (2002). Vascular lesions and vibroacoustic disease. *European Journal of Anatomy*, 6, 17-21. <http://www.eurjanat.com/web/paper.php?id=02010017>

Martins dos Santos, J., Grande, N.R., Castelo Branco, N. A. A., Zagalo, C., Oliveira, P. & Alves-Pereira, M. (2004). Lymphatic lesions and vibroacoustic disease. *European Journal of Lymphology and Related Problems*, 12, 17-20.

Martins dos Santos, J., Oliveira, P., Fonseca J., Castelo Branco, N., Alves- Pereira, M. & Grande, N. (2005). Noise-induced duodenal lesions. *European Journal of Anatomy*, 9, 29–33. <http://www.eurjanat.com/web/paper.php?id=05010029>

Martins, D. P. & Alencar, M. S. (2013). Análise de Ruído Sonoro em Ambiente Industrial: Uma Nova Abordagem. *Encontro Anual do IECOM em Comunicações, Redes e Criptografia*. <https://doi.org/10.12702/encom2013-a03>

Maynard, R. L., & Downes, N. (2019). *Anatomy and histology of the laboratory rat in toxicology and biomedical research*. Elsevier.

Mendes, J. J. M. (2009). *Caracterização das alterações morfológicas do ligamento periodontal e osso alveolar do rato sujeito a ruído de baixa frequência* (Tese de doutoramento, Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar da Universidade do Porto). <http://hdl.handle.net/10216/20103>

Mendes, J. J., Oliveira, P. M., de Brito, J. A., Neves Águas, A. M., & Martins Dos Santos, J. A. (2014). Noise rich in low frequency components, a new comorbidity for periodontal disease? An experimental study. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 18(4), 503–507. <https://doi.org/10.4103/0972-124X.138729>

- Mendes, J., Martins dos Santos, J., Oliveira, P., & Castelo Branco, N. (2007). Low frequency noise effects on the periodontium of the Wistar rat – a light microscopy study. *European Journal of Anatomy*, 11, 27-30. <http://www.eurjanat.com/web/paper.php?id=07010027>
- Münzel, T., Schmidt, F. P., Steven, S., Herzog, J., Daiber, A., & Sørensen, M. (2018). Environmental Noise and the Cardiovascular System. *Journal of the American College of Cardiology*, 71(6), 688–697. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2017.12.015>
- Murray, P. E., About, I., Lumley, P. J., Franquin, J. C., Remusat, M., & Smith, A. J. (2000). Human odontoblast cell numbers after dental injury. *Journal of dentistry*, 28(4), 277–285. [https://doi.org/10.1016/s0300-5712\(99\)00078-0](https://doi.org/10.1016/s0300-5712(99)00078-0)
- Murray, P. E., Matthews, J. B., Sloan, A. J., & Smith, A. J. (2002a). Analysis of incisor pulp cell populations in Wistar rats of different ages. *Archives of oral biology*, 47(10), 709–715. [https://doi.org/10.1016/s0003-9969\(02\)00055-9](https://doi.org/10.1016/s0003-9969(02)00055-9)
- Murray, P. E., Stanley, H. R., Matthews, J. B., Sloan, A. J., & Smith, A. J. (2002b). Age-related odontometric changes of human teeth. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 93(4), 474–482. <https://doi.org/10.1067/moe.2002.120974>
- Nilsen, C., Andel, R., Fors, S., Meinow, B., Darin Mattsson, A., & Kåreholt, I. (2014). Associations between work-related stress in late midlife, educational attainment, and serious health problems in old age: a longitudinal study with over 20 years of follow-up. *BMC public health*, 14, 878. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-14-878>
- Obata, J., Morita, S., Hirose, K-I., & Matsumoto, H. (1934). The effects of noise upon human efficiency. *Journal of the Acoustical Society of America*, 5, 255-261. <https://doi.org/10.1121/1.1915682>

Ohazama, A., Haycraft, C. J., Seppala, M., Blackburn, J., Ghafoor, S., Cobourne, M., Martinelli, D. C., Fan, C-M., Peterkova, R., Lesot, H., Yoder, B. K., & Sharpe, P. T. (2009). Primary cilia regulate Shh activity in the control of molar tooth number. *Development*, 136(6), 897–903. <https://doi.org/10.1242/dev.027979>

Öhrström, E., Skånberg, A., Svensson, H., & Gidlöf-Gunnarsson, A. (2006). Effects of road traffic noise and the benefit of access to quietness. *Journal of Sound and Vibration*, 295(1–2), 40–59. <https://doi.org/10.1016/j.jsv.2005.11.034>

Oliveira, M. J., Monteiro, M. P., Ribeiro, A. M., Pignatelli, D., & Águas, A. P. (2009). Chronic exposure of rats to occupational textile noise causes cytological changes in adrenal cortex. *Noise & health*, 11(43), 118–123. <https://doi.org/10.4103/1463-1741.50697>

Oliveira, M. R., Freitas, D., Carvalho, A. P., Guimarães, L., Pinto, A. & Águas, A.P. (2012) Exposure to industrial wideband noise increases connective tissue in the rat liver. *Noise Health*, 14, 227-229.

Oliveira, P. M. A., Pereira da Mata, A. D. S., Martins dos Santos, J. A. M., Silva Marques D. N., Branco, N. C., Silveira J. M. L., & Correia da Fonseca, J. C. D. (2007). Low-frequency noise effects on the parotid gland of the Wistar rat. *Oral Diseases*, 13, 468-473. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2006.01322.x>

Pinzon, R. D., Kozlov, M., & Burch, W. P. (1967). Histology of rat molar pulp at different ages. *Journal of dental research*, 46(1), 202–208. <https://doi.org/10.1177/00220345670460011101>

Porto, G. G., Vasconcelos, B. C., Andrade, E. S., & Silva-Junior, V. A. (2010). Comparison between human and rat TMJ: anatomic and histopathologic features. *Acta cirurgica brasileira*, 25(3), 290–293. <https://doi.org/10.1590/s0102-86502010000300012>

- Roos, L. G., Janson, J., Sturmbauer, S. C., Bennett, J. M., & Rohleder, N. (2019). Higher trait reappraisal predicts stronger HPA axis habituation to repeated stress. *Psychoneuroendocrinology*, *101*, 12–18. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2018.10.018>
- Rosales, V. P., Ikeda, K., Hizaki, K., Naruo, T., Nozoe, S., & Ito, G. (2002). Emotional stress and brux-like activity of the masseter muscle in rats. *European journal of orthodontics*, *24*(1), 107–117. <https://doi.org/10.1093/ejo/24.1.107>
- Sadir, M. A., Bignotto, M. M., & Lipp, M. E. N. (2010). Stress e qualidade de vida: influência de algumas variáveis pessoais, *20*(45), 73-81. <https://doi.org/10.1590/S0103-863X2010000100010>
- Saliba, T. M. (2018). *Manual Prático de Avaliação e Controle do Ruído: PPRA* (10ª Edição). LTr.
- Schneider, C. A., Rasband, W. S., & Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature methods*, *9*(7), 671–675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
- Selye H. (1998). A syndrome produced by diverse nocuous agents. 1936. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences*, *10*(2), 230–231. <https://doi.org/10.1176/jnp.10.2.230a>
- Selye, H. (1936). The syndrome produced by diverse noxious agents. *Nature*, *138*, 32-34.
- Selye, H. (1956). *The stress of life*. McGraw-Hill
- Shellis, R. P., & Addy, M. (2014). The interactions between attrition, abrasion and erosion in tooth wear. *Monographs in oral science*, *25*, 32–45. <https://doi.org/10.1159/000359936>

Suckow, M., Hankenson, F. C., Wilson, R., & Foley, P. (2019). *The Laboratory Rat* (3rd Edition). Elsevier

Takahashi, Y., Kanada, K., Yonekawa, Y., & Harada, N. (2005). A study on the relationship between subjective unpleasantness and body surface vibrations induced by high-level low-frequency pure tones. *Industrial health*, 43(3), 580–587. <https://doi.org/10.2486/indhealth.43.580>

Terman, A., Gustafsson, B., & Brunk, U. T. (2006). The lysosomal-mitochondrial axis theory of postmitotic aging and cell death. *Chemico-biological interactions*, 163(1-2), 29–37. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2006.04.013>

Thoma, M. V., Gianferante, D., Hanlin, L., Fiksdal, A., Chen, X., & Rohleder, N. (2017). Stronger hypothalamus-pituitary-adrenal axis habituation predicts lesser sensitization of inflammatory response to repeated acute stress exposures in healthy young adults. *Brain, behavior, and immunity*, 61, 228–235. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2016.11.030>

Treuting, P. M., Dintzis, S. M., & Montine, K. S. (2018). *Comparative anatomy and histology: A mouse, rat, and human atlas* (2nd Edition). Elsevier.

Ulrich-Lai, Y. M., & Herman, J. P. (2009). Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nature reviews. Neuroscience*, 10(6), 397–409. <https://doi.org/10.1038/nrn2647>

Wetselaar, P., & Lobbezoo, F. (2016). The tooth wear evaluation system: a modular clinical guideline for the diagnosis and management planning of worn dentitions. *Journal of oral rehabilitation*, 43(1), 69–80. <https://doi.org/10.1111/joor.12340>

Wetselaar, P., Manfredini, D., Ahlberg, J., Johansson, A., Aarab, G., Papagianni, C. E., Sevilla, M. R., Koutris, M., & Lobbezoo, F. (2019). Associations between tooth wear and dental sleep disorders: A narrative overview. *Journal of oral rehabilitation*, 46(8), 765–775. <https://doi.org/10.1111/joor.12807>

World Health Organization. (2010). *Health and environment in Europe: progress assessment*. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe

World Health Organization. Regional Office for Europe. (2011). *Burden of Disease from Environmental Noise: Quantification of healthy life years lost in Europe*. WHO

Wüst, S., Federenko, I. S., van Rossum, E. F., Koper, J. W., & Hellhammer, D. H. (2005). Habituation of cortisol responses to repeated psychosocial stress-further characterization and impact of genetic factors. *Psychoneuroendocrinology*, 30(2), 199–211. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2004.07.002>