

Atendendo a solicitação do(a) autor(a),
o texto completo desta tese/dissertação
será disponibilizado somente a partir de
12/04/2025.

At the author's request, the full text of
this thesis/dissertation will not be
available until Apr 12, 2025.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

GIOVANNA BIGNOTO MINHOTO

**EFEITO DA SINVASTATINA E DO PROPRANOLOL NO
DESENVOLVIMENTO DA LESÃO PERIAPICAL DE RATOS
SUBMETIDOS AO ESTRESSE**

2023

GIOVANNA BIGNOTO MINHOTO

**EFEITO DA SINVASTATINA E DO PROPRANOLOL NO DESENVOLVIMENTO
DA LESÃO PERIAPICAL DE RATOS SUBMETIDOS AO ESTRESSE**

Tese apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de DOUTOR, pelo Programa de Pós-Graduação em ODONTOLOGIA RESTAURADORA.

Área: Endodontia. Linha de pesquisa: Estudos Clínicos e Laboratoriais de Materiais e Técnicas Endodônticas.

Orientadora: Profa. Titular Marcia Carneiro Valera

Coorientadora: Dra Rayana Duarte Khoury

São José dos Campos

2023

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2023]. Disponível em <http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao>

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Minhoto, Giovanna Bignoto

Efeito da sinvastatina e do propranolol no desenvolvimento da lesão periapical de ratos submetidos ao estresse / Giovanna Bignoto Minhoto. - São José dos Campos : [s.n.], 2023.
77 f. : il.

Tese (Doutorado em Odontologia Restauradora) - Pós-Graduação em Odontologia Restauradora - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2023.

Orientador: Marcia Carneiro Valera

Coorientador: Rayana Duarte Khoury

1. Periodontite Apical. 2. Estresse crônico. 3. Sinvastatina. 4. Propranolol. 5. Microtomografia. I. Valera, Marcia Carneiro, orient. II. Khoury, Rayana Duarte, coorient. III. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. IV. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. V. Universidade Estadual Paulista (Unesp). VI. Título.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Titular Marcia Carneiro Valera (Orientadora)

Universidade Estadual Paulista (UNESP)

Instituto de ciência e tecnologia

Campus de São José dos Campos

Luana Marotta Reis de Vasconcelos

Universidade Estadual Paulista (UNESP)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos campos

Leopoldo Cosme Silva

Universidade Federal de Alagoas (UFAL)

Maceió

Felipe de Souza Matos

Universidade Federal de Campina grande

Santa Cecília

Emmanuel João Nogueira Leal da Silva

Universidade do Grande Rio (UNIGRANRIO)

São José dos Campos, 07 de Março de 2023.

DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho aos meus pais, **Enio Salim Minhoto e Elci Aparecida Bignoto**,
que com tanto sacrifício investiram em minha formação, permitindo que eu pudesse
escolher os meus caminhos.*

Que me deram apoio incondicional do início da minha vida até o momento.

*À minha querida irmã **Amanda Bignoto Minhoto** que sempre se fez presente.*

À vocês devo tudo que já conquistei e que ainda irei conquistar!!

AGRADECIMENTO ESPECIAL

*À minha orientadora de Mestrado e Doutorado, **Profª Titular Marcia Carneiro Valera.***

Agradeço por ter confiado e acrediado em mim desde o meu início na pós-graduação. Me lembro do meu segundo ano de mestrado, onde a senhora confiando em mim, me passou responsabilidades grandes que me fizeram crescer tanto.. e o crescimento foi notório por todos ao redor. Saiba que isso foi muito importante para minha vida e para minha carreira.

Agradeço pelo apoio incondicional nos momentos de angústias, incertezas e inseguranças que vivi ao longo desses cinco anos de pós-graduação. Pelos momentos em que me chamou na sua sala, com muita calma e tranquilidade, chamava para um café e desempenhando o papel de orientadora, me orientou tanto para vida quanto para o trabalho.

Obrigada por tudo, sou muito grata.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me dar forças todos os dias para que eu enfrente cada nova batalha.

Por me dar coragem e força de vontade para que eu siga mesmo diante dos obstáculos da vida.

Aos meus **familiares**, que sempre foram muito carinhosos e incentivadores dos meus sonhos, obrigada por cada demonstração de carinho e cuidado.

Especialmente a minha vó **Elza Salim Minhoto** que vibra e torce por mim a cada vitória, obrigada por me colocar nas suas orações. Ao meu tio **Eder Salim Minhoto**, que tanto me inspirou e me incentivou a seguir este caminho. Aos meus avós **Helcio, Djalma e Neide** que sei que torcem por mim aí de cima.

À minha mãe, **Elci**, que com tanto carinho foi meu refugio ao longo desses 10 anos na UNESP, que me ouviu todas as vezes que precisei, que me deu conforto e segurança. Obrigada por ter me dado muito mais que a mão e não ter me deixado desistir. Obrigada pelas noites que a gente jogava conversa fora e por ter ficado ao meu lado naqueles momentos difíceis que só nós duas sabemos. Devo tudo à você. Ao meu pai **Enio**, que sempre confiou em mim, que sempre me incentivou. Obrigada por abrir mão dos seus sonhos as vezes a favor dos nossos sonhos. Obrigada por cada vez que você disse: “Gica, não se preocupa, eu estou aqui para o que precisar.” Saiba que isso fez muita diferença.

À minha irmã, **Amanda**, obrigada pela parceria, obrigada por cuidar de mim. Eu tenho certeza que você é uma das pessoas que mais torce pela minha felicidade e saiba que é recíproco.

Ao meu namorado **Alexandre**, agradeço pelo apoio incondicional ao longo desses 3 anos, obrigada por acreditar em mim nos momentos em que meus olhos se cegam.

Obrigada por cuidar tão bem de mim e da gente. Agradeço também pela compreensão nos momentos difíceis, pela segurança que me deu nessa reta final da pós. Reconheço todos os seus esforços para que eu pudesse correr atrás dos meus sonhos e espero poder retribuir agora na sua jornada. Tenho muito orgulho da história que estamos escrevendo e sei que juntos iremos mais longe.

Ao meu padrasto **Vagner** e a minha madrasta **Simone**, obrigada por cuidarem dos meus pais, principalmente pelo amor e carinho com eles no momento em que me ausento. Obrigada pelo carinho que sentem por mim, a jornada fica mais leve com vocês por perto.

Agradeço a **Marina, Marcelle, Flávia e Renata** que apesar da distância sempre se fizeram presente e sempre me incentivaram. Obrigada pelo carinho mesmo de longe.

Aos meus amigos de pós-graduação, **Amjad, Esteban, Bruna e Cássia**, que me acolheram de braços abertos na vida de pós-graduação e que foram minha família na UNESP. Vocês fizeram falta nesse final.

À minha amiga **Rayana**, que foi bem mais que uma colega de trabalho, que me ensinou absolutamente tudo que precisei para desenvolver minha tese. Obrigada pelos nossos almoços e cafés, onde podíamos conversar sem julgamentos e com muito apoio mútuo. Sabe que sem você, teria sido bem mais difícil, sei que nossa amizade irá permanecer.

Às minhas eternas companheiras de apartamento, **Laís e Victória**, vocês aguentaram meus momentos difíceis ao longo de 4 anos, me deram tanto apoio e não me deixaram desistir. Sei que nossa amizade continuará apesar da distância e do caminho de cada uma. Torço pela felicidade de vocês.

À professora **Luana**, que me ensinou do básico o que era pesquisa, que confiou em mim e me deu as primeiras oportunidades. Obrigada por toda ajuda concedida mesmo quando eu já não era mais sua orientada. Meu carinho e admiração por você só crescem.

Ao professor **Emmanuel João Nogueira Leal da Silva**, que juntamente com sua aluna **Carolina Oliveira de Lima**, estiveram à disposição e fizeram parte deste trabalho, sendo peças fundamentais para que este trabalho pudesse ser realizado.

Aos alunos de iniciação que sempre estavam dispostos a ajudar.

À **Faculdade de odontologia de São José dos Campos** – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, através de sua diretora **Prof. Dra.**

Rebeca Di Nicoló, e ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia Restauradora, sob coordenação do **Prof. Adj. Alexandre Luiz Souto Borges**.

À **Capes** pela concessão de bolsa de doutorado.

E a todos aqueles que direta ou indiretamente colaboraram na execução deste trabalho.

"Conhecimento não é aquilo que você sabe, mas o que você faz com aquilo que
você sabe." (Aldous Huxley)

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	13
1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1 Modelos de indução de estresse crônico em ratos	20
2.2 Ação da Sinvastatina na perda óssea e no estresse crônico em ratos	22
2.3 Utilização de betabloqueadores adrenérgicos no estresse crônico em ratos	25
3 PROPOSIÇÃO	28
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
4.1 Parte 1.....	29
4.1.1 Animais.....	29
4.1.2 Indução do estresse crônico	30
4.1.3 Avaliação da periapicopatia	32
4.1.4 Avaliação comportamental da indução do estresse crônico.....	34
4.1.5 Eutanásia.....	35
4.1.6 Análise microtomográfica da região periapical.....	35
4.1.7 Análise histológica e histomorfométrica.....	37
4.1.8 Análise estatística.....	39
4.2 Parte 2	39
4.2.1 Animais	39
4.2.2 Administração das medicações.....	41
4.2.3 Indução do estresse crônico.....	41

4.2.4 Indução da periapicopatia e eutanásia.....	42
4.2.5 Avaliação comportamental da indução do estresse crônico	42
4.2.6 Análise microtomográfica da região periapical.....	43
4.2.7 Análise histológica e histomorfométrica.....	44
4.2.8 Análise estatística.....	45
5 RESULTADOS.....	46
5.1 Parte 1.....	46
5.1.1 Análises comportamentais	46
5.1.1.1 Ganho de peso.....	46
5.1.1.2 Labirinto em Y.....	47
5.1.1.3 Teste de campo aberto	47
5.1.2 Microtomografia computadorizada.....	48
5.1.3 Análise histológica e histomorfométrica.....	50
5.2 Parte 2.....	53
5.2.1 Análises comportamentais.....	53
5.2.1.1 Ganho de peso.....	53
5.2.1.2 Labirinto em Y	54
5.2.1.3 Teste de campo aberto	55
5.2.2 Microtomografia computadorizada.....	56
5.2.3 Análise histológica e histomorfométrica.....	58
6 DISCUSSÃO	61
7 CONCLUSÃO.....	68
REFERÊNCIAS.....	69
ANEXO.....	77

Minhoto GB. Efeito da sinvastatina e do propranolol no desenvolvimento da lesão periapical de ratos submetidos ao estresse [tese]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2023.

RESUMO

Uma vez que o estresse crônico pode estimular o sistema nervoso simpático, diminuindo a resposta imune, favorecendo a perda óssea frente a um processo inflamatório, os objetivos deste estudo foram: 1) Avaliar os efeitos de modelos de indução de estresse no desenvolvimento da periodontite apical (P.a) e avaliar o nível de estresse gerado pelos mesmos; 2) A partir do melhor protocolo de estresse obtido foi avaliado o perfil inflamatório da PA induzida em animais sob condições de estresse, utilizando sistemicamente a Sinvastatina, Propranolol e a Sinvastatina associada ao propranolol. Na primeira parte foram utilizados 32 ratos Wistar (N=8) divididos aleatoriamente em: SE: sem estresse, sem periodontite apical (P.a); SE+P.a: sem estresse, com P.A; EP+P.a: Estresse previsível + P.a; EI+P.a: estresse imprevisível + P.a. Os animais foram submetidos ao estresse crônico por 42 dias sendo que no dia 21 foi induzida a P.a. Para comprovação do estresse foram utilizadas análises de peso e comportamentais de campo aberto (CA) e labirinto em y (Y). Foram realizadas análises micro tomográfica e histológica para avaliar o efeito de ambas as metodologias sobre a progressão da P.a. Os dados foram avaliados estatisticamente. Observou-se que não houve diferença no ganho de peso entre os animais SE e SE+P.a. Em relação aos grupos estressados o grupo estresse imprevisível apresentou menor ganho de peso quando comparado ao grupo sem estresse. Nos testes comportamentais, Y e CA observou-se um mesmo padrão de comportamento nos animais do grupo SE e SE+P.a ($p>0.05$). Verificou-se diferenças entre os grupos SE+P.a e EI +P.a no volume da lesão periapical, mas não houve diferença entre os protocolos de estresse. A Análise histológica mostrou maior área de P.a nos animais do grupo EI+P.a o que também foi observado pela análise microtomográfica. Na segunda etapa foram utilizados 48 animais divididos em 5 grupos (N=8): SE+P.a: sem estresse e com P.a; E+SS: Estresse + Periodontite Apical + soro; E+SN: Estresse + Periodontite Apical + Sinvastatina; E+P: Estresse + Periodontite Apical + Propranolol e S+SN+P: Estresse + Periodontite Apical + Sinvastatina + Propranolol. O protocolo de estresse utilizado foi o estresse crônico imprevisível por 42 dias. Realizou-se análises de peso e comportamentais de labirinto em y e campo aberto. Após a eutanásia foram realizadas as análises microtomográfica e a análise histológica e histomorfométrica. Os valores obtidos foram analisados estatisticamente. Observou-se que todos os grupos medicados apresentaram ganho de peso maior do que o grupo solução salina. No grupo Sinvastatina e no grupo Propranolol, os animais apresentaram maior atividade locomotora do que no grupo Solução salina. O volume da P.a foi significativamente menor nos grupos Sinvastatina e Propranolol quando comparado ao grupo solução salina. Na análise histológica observou-se que a área da lesão foi significativamente menor nos animais do grupo Sinvastatina quando comparado ao da solução salina, bem como menor intensidade e extensão do infiltrado inflamatório. Concluindo-se que o estresse crônico imprevisível aumenta a perda óssea periapical em animais com PA induzida. Além disso, concluiu-se que tanto a Sinvastatina quanto o Propranolol reduz o estresse crônico, reduzindo a

perda óssea nestes animais.

Palavras-chave: Periodontite apical. Estresse crônico. Sinvastatina. Propranolol
Microtomografia.

Minhoto GB. Effect of Simvastatin and Propranolol on the development of periapical lesions in rats subjected to stress [doctorate thesis]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2023.

ABSTRACT

Since chronic stress can stimulate the sympathetic nervous system, decreasing the immune response, favoring bone loss in the face of an inflammatory process, the objectives of this study were: 1) To evaluate the effects of stress induction models on the development of apical periodontitis (P.a) and assess the level of stress generated by them; 2) Based on the best stress protocol obtained, the inflammatory profile of BP induced in animals under stress conditions was evaluated, systemically using Simvastatin, Propranolol and Simvastatin associated with propranolol. In the first part, 32 Wistar rats (N=8) were randomly divided into: SE: without stress, without apical periodontitis (P.a); SE+P.a: without stress, with P.A; EP+P.a: Predictable stress + P.a; EI+P.a: unpredictable stress + P.a. The animals were subjected to chronic stress for 42 days, and on the 21st, P.a. To prove the stress, weight and behavioral analyzes of open field (CA) and maze in y (Y) were used. Micro tomographic and histological analyzes were performed to evaluate the effect of both methodologies on the progression of P.a. Data were statistically evaluated. It was observed that there was no difference in weight gain between SE and SE+P.a animals. In relation to the stressed groups, the unpredictable stress group showed less weight gain when compared to the non-stress group. In the behavioral tests, Y and CA, the same pattern of behavior was observed in animals from the SE and SE+P.a groups ($p>0.05$). There were differences between groups SE+P.a and EI +P.a in the volume of the periapical lesion, but there was no difference between the stress protocols. The histological analysis showed a greater area of P.a in the animals from the EI+P.a group, which was also observed by the microtomographic analysis. In the second stage, 48 animals were divided into 5 groups (N=8): SE+P.a: without stress and with P.a; E+SS: Stress + Apical Periodontitis + serum; E+SN: Stress + Apical Periodontitis + Simvastatin; E+P: Stress + Apical Periodontitis + Propranolol and S+SN+P: Stress + Apical Periodontitis + Simvastatin + Propranolol. The stress protocol used was unpredictable chronic stress for 42 days. Weight and behavioral analyzes of y-maze and open field were performed. After euthanasia, microtomographic analysis and histological and histomorphometric analysis were performed. The values obtained were statistically analyzed. It was observed that all medicated groups had greater weight gain than the saline group. In the Simvastatin group and in the Propranolol group, the animals showed greater locomotor activity than in the Saline group. The BP volume was significantly lower in the Simvastatin and Propranolol groups when compared to the saline group. In the histological analysis, it was observed that the area of the lesion was significantly smaller in the animals of the Simvastatin group when compared to the saline solution, as well as lower intensity and extension of the inflammatory infiltrate. Concluding that unpredictable chronic stress increases periapical bone loss in animals with induced AP. In addition, it was concluded that both Simvastatin and Propranolol reduce chronic stress, reducing bone loss in these animals.

Keywords: Apical periodontitis. Chronic stress. Simvastatin. Propranolol. Microtomography.

1 INTRODUÇÃO

A periodontite apical é uma doença associada à infecção de longo prazo do canal radicular, causando uma resposta imune inflamatória dos tecidos periapicais (Siqueira, Rôças, 2007). A interação complexa entre bactérias e a defesa do organismo leva a destruição destes tecidos da região apical (Segura-Egea et al., 2015). Estas lesões podem ser identificadas através da rarefação óssea periapical visível radiograficamente também chamada de periodontite apical (PA). Embora as bactérias por si só agriçam diretamente o tecido periapical, através da liberação de toxinas, a inflamação representa uma resposta imunopatológicas, guiadas por mediadores químicos inflamatórios (Graves et al., 2011; Francisconi et al., 2016).

Os mediadores químicos são conhecidos como citocinas inflamatórias, que são reguladas de acordo com o sistema imunológico do hospedeiro (Jakovljevic et al., 2015). Estes mediadores podem ser pró- inflamatórios ou anti-inflamatórios, de acordo com os receptores atingidos e os mecanismos desencadeados. Além disso, alterações na produção de citocinas são correlacionadas com alterações no sistema RANK/RANKL/OPG que regulam a diferenciação e ativação dos osteoclastos.

O excesso da liberação das citocinas pró-inflamatórias e do aumento da proporção RANKL/OPG no organismo podem dar início ou potencializar a patogênese de diversas doenças que são ativadas e exacerbadas pelos mesmos mediadores inflamatórios no organismo (Brod et al., 1991). Na área da endodontia, diversas alterações sistêmicas com o envolvimento da liberação das mesmas citocinas, estão sendo estudadas em associação as periodontites apicais, como: diabetes (Segura-Egea et al., 2015, 2019; Pérez-Losada et al., 2020), doenças cardiovasculares (Chauhan et al., 2019), osteoporose (Ayed et al., 2018), entre outras. Verifica-se portanto que o aumento da liberação de citocinas inflamatórias nas doenças sistêmicas possui relação com as periodontites apicais. Devido ao aumento de casos de estresse e depressão no mundo moderno, o estudo do envolvimento de doenças psicossociais nas periodontites apicais também se faz necessário.

O estresse é caracterizado por uma ameaça potencial ou real que requer mudanças comportamentais (Joëls, Baram, 2009). Apesar do estresse ser uma reação fisiológica, em excesso pode trazer malefícios ao organismo, pois causa

estimulação excessiva do sistema nervoso simpático que por sua vez leva a uma diminuição da resposta imune (Lu et al., 2014a). Apesar de ser observada a correlação entre o estresse e a progressão das doenças periodontais, na área da endodontia apenas três estudos que avaliam a relação do estresse com as periodontites apicais, sendo que 2 estudos mostram essa relação (Gomes et al., 2019; Khoury et al., 2020; Minhoto et al., 2021).

Khoury et al. (2020) utilizaram modelo de estresse crônico imprevisível e realizaram a indução do estresse quase concomitante a indução da periodontite apical. Além disso, foi analisado apenas um período de eutanásia, de 32 dias. Os autores não observaram uma influência direta do estresse na lesão periapical embora tenham notado uma menor atividade osteoclástica com o uso de uma medicação beta-bloqueadora adrenérgica (propranolol), confirmando a participação do sistema nervoso no metabolismo ósseo (Khoury et al., 2020).

Gomes et al. (2019) utilizaram modelo de estresse crônico previsível mediado pelo condicionamento ao medo, através de uma caixa de condicionamento com choque nos pés dos animais, a indução do estresse teve início quase que concomitante a indução da lesão periapical e o período de análise foi de 56 dias. Os autores verificaram diferença histológica da área da lesão periapical mas não observaram diferença na estrutura óssea através da análise radiográfica, não sendo avaliada a estrutura óssea de forma tridimensional através da microtomografia computadorizada (Gomes et al., 2019).

Embora a influência do estresse sobre a periodontite apical, não tenha sido devidamente comprovada, acredita-se que a divergência de resultados entre os trabalhos existentes se justifique pelas diferenças metodológicas de indução de estresse e no desenho do estudo uma vez que em ambos os estudos os autores induziram a lesão periapical concomitante a indução de estresse.

Considerando que o desenvolvimento de ambas as condições, estresse e periodontite apical, possuem diferentes cinéticas de desenvolvimento, consideramos a importância de estudar o desenvolvimento da periodontite apical em um organismo com quadro de estresse previamente estabelecido. Diante disso, em nosso último trabalho, investigamos o efeito do estresse crônico durante o desenvolvimento da lesão periapical em diferentes períodos de eutanásia. Observamos que após 21 dias da indução da periodontite apical, o volume, bem como a área da lesão periapical é

significativamente maior; o infiltrado inflamatório é predominantemente severo e há maior número de células osteoclásticas na periferia do osso nos animais estressados (Minhoto et al., 2021).

No entanto, sabe-se que a resposta ao estresse é muito complexa uma vez que diversos mediadores químicos relacionados ao estresse têm sido descritos na literatura, incluindo neurotransmissores (por exemplo, noradrenalina e serotonina), peptídeos [por exemplo, hormônio liberador de corticotropina (CRH), outros membros da família CRH e vasopressina] e hormônios esteróides (por exemplo, cortisol em humanos e corticosterona em roedores). Como consequência da existência de múltiplos mediadores, existem também diversos nichos de ação específica para cada mediador e a interação entre eles é que regula a notável capacidade do cérebro de responder, e se adaptar, a um ambiente dinâmico. Segundo Joels e Baram (Joëls, Baram, 2009), o padrão e a magnitude da resposta do hospedeiro frente ao estresse podem ser influenciados por diversos fatores como a duração da exposição ao estresse (agudo ou crônico) e o tipo de estresse (físico, químico ou psicológico). A grande variedade de tipos e contextos de estresse (histórico genético, a idade e sexo do animal estressado) bem como fatores adicionais, como o ponto no ritmo circadiano em que o evento estressante ocorre, podem exercer diferentes efeitos em relação a liberação hormonal e funções imunes, o que reforça a complexidade desse fenômeno fisiológico sobre o organismo e no desenvolvimento de enfermidades (Ostrander et al., 2006; Dumitrescu, 2016).

Na literatura os modelos de estresse variam de acordo com algumas características que se referem à natureza (psicológico, químico ou físico), intensidade (agudo ou crônico) e duração do estresse, podendo, portanto, influenciar nos mediadores que são liberados por diferentes estressores bem como a suas consequências. Trow et al. (2019), propuseram avaliar as diferenças nos comportamentos dos animais submetidos ao estresse crônico previsível e imprevisível. A hipótese testada era de que o estresse imprevisível levaria a um estresse generalizado com alterações comportamentais mais significativas, e que impediriam a adaptação dos animais aos estímulos estressores. Diferente do que eles esperavam, o estresse imprevisível não mostrou um efeito de medo generalizado, diferente do que foi observado no modelo de estresse previsível condicionado por medo. Em vista dessa complexidade os autores ressaltam que o envolvimento de

tantos componentes, bem como a interação entre diferentes mediadores, justifica a variabilidade de distúrbios relacionados ao estresse como depressão, medo e ansiedade (Trow et al., 2019).

Estudos recentes na área da neuroimunologia mostraram que a ação de algumas medicações, como a 3-Hidróxi-3-Metilglutaril- Coenzima A Redutase (estatinas), podem inibir uma série de processos inflamatórios conhecidos por causarem danos cerebrais (Balduini et al., 2003; Chen et al., 2007). Além disso, mostram inibição da ativação da micróglia e astrócitos após injúrias como o estresse (Lindberg et al., 2005). As estatinas são uma classe de agentes redutores de colesterol utilizadas para tratamento de dislipidemia e redução do risco de doenças cardiovasculares (Lei et al., 2014). A administração desta substância tem mostrado atenuar comportamentos depressivos por meio da inibição da ativação da micróglia com diminuição da liberação de citocinas inflamatórias, por meio da inibição da via RANK/RANKL/OPG (Yu et al., 2019).

Yu et al. (2019) concluíram também que a administração de 20mg/kg/dia de Sinvastatina em animais preveniu o comportamento depressivo, além de prevenir a neuroinflamação induzida pelo estresse crônico, pela supressão da atividade da micróglia e levando a diminuição da liberação de citocinas pró inflamatórias (Yu et al., 2019).

Durante esta última década, diversos são os estudos que mostram uma correlação do efeito da Sinvastatina no combate ao distúrbio de ansiedade, depressão e estresse (Shadmehr, Khademi, 2013; ElBatsh, 2015; Naserzadeh et al., 2019). Shadmehr e Khademi em 2013 mostraram que a Sinvastatina tem o potencial de redução da expressão de RANKL e o aumento da expressão de OPG em lesões periapicais induzidas em ratos (Shadmehr, Khademi, 2013). Sendo assim, este fármaco alia sua ação anti-inflamatória à ação antidepressiva e sobre o estresse (Yokoyama et al., 2004; Abeles, Pillinger, 2006). Kwan et al. (2014) realizaram um estudo com a finalidade de observar seu efeito antidepressivo e de controle da ansiedade em ratos. Observaram que após 4 semanas os animais encontravam-se estressados, o que foi comprovado por meio da análise comportamental. Entretanto, estas alterações comportamentais foram revertidas através da administração de Sinvastatina, sugerindo que esta medicação possui resultados semelhantes aos antidepressivos (Kwan et al., 2009).

ElBatsh (2015) avaliou o efeito antidepressivo da Sinvastatina em animais diabéticos, que apresentavam alterações comportamentais como, maior tempo de imobilidade; este efeito foi revertido pela ação da Sinvastatina. Além disso, mostrou redução nos níveis sanguíneos de corticosterona. Concluiu-se que esta medicação tem ação antidepressiva em ratos diabéticos, através das alterações sanguíneas de corticosterona e de serotonina no hipocampo (ElBatsh, 2015). Em outro trabalho, observou-se através de estudo comportamental de natação forçada que os animais apresentaram comportamento depressivo quando expostos ao traumatismo craniano, este estado foi revertido através da administração da sinvastatina intraperitoneal diária (Lim et al., 2017). Além destes efeitos sobre o estresse, estudos mostram que a sinvastatina tem potencial anti-inflamatório e na modulação do sistema imunológico (Yokoyama et al., 2004; Abeles, Pillinger, 2006).

Referente a dosagem de Sinvastatina utilizada em ratos, a literatura mostra a dosagem variando desde 1 até 20 mg/kg/dia, mostrando os melhores resultados com a dosagem de 20 mg/kg/dia tanto para os efeitos anti reabsortivos como antidepressivos.

Uma possível via de ativação da micróglia induzida pelo estresse se dá pela ativação destas células pela recepção de sinais noradrenérgicos no cérebro de animais estressado, que por sua vez tem a liberação aumentada de hormônios adrenérgicos, principalmente, a noradrenalina. Os estudos mostram que o estresse pode ser bloqueado pela administração de um betabloqueador adrenérgico, como o propranolol (Blandino et al., 2006; Wohleb et al., 2011), que por sua vez, também inibe a produção de citocinas pró-inflamatórias em células da micróglia (Wang et al., 2010).

Diversos estudos mostram a eficácia da utilização de betabloqueador adrenérgico (Propranolol) no tratamento de indivíduos estressados com a finalidade de diminuir a progressão da perda óssea. Logo, estes estudos comprovam a indução da perda óssea aumentada em indivíduos estressados a partir do sistema nervoso simpático (Yirmiya et al., 2006; Lu et al., 2014a; Haffner-Luntzer et al., 2019a). Entretanto, os estudos que utilizam o beta bloqueador adrenérgico (propranolol) utilizam dosagens muito variadas. A partir do levantamento bibliográfico das doses utilizadas verificou-se que a dosagem que mostra controle da perda óssea corresponde a de até 1mg/kg/dia. Khoury et al. em 2020, apesar de ser o único trabalho na endodontia que avalia a utilização do propranolol com a finalidade de

retardar a perda óssea nas periodontites apicais, verificaram uma tendência a diminuir o número de células osteoclásticas dos animais estressados que receberam administração de propranolol (Khoury et al., 2020). No entanto, estes autores utilizaram a dosagem de 0,1mg/kg/dia.

Nesse contexto, justificamos o presente estudo diante da necessidade de dar continuidade na nossa linha de pesquisa, que avalia a relação entre o estresse e a progressão da lesão periapical uma vez que fatores estressores de âmbito psicológico e emocional, como o pânico, a ansiedade e depressão estão cada vez mais presentes na vida humana moderna. Portanto, com base nos estudos citados e na experiência adquirida em nossos estudos prévios, avaliaremos os efeitos do estresse sobre as lesões periapicais através da análise de diferentes metodologias de indução de estresse. Além disso, avaliaremos a ação antidepressiva e antirreabsortiva de duas medicações, Sinvastatina, Propranolol, e sua associação.

7 CONCLUSÃO

Após análise dos resultados do presente estudo conclui-se que:

- 1) O estresse crônico imprevisível induz efeitos comportamentais de estresse crônico mais significativo que o estresse previsível;
- 2) O estresse crônico imprevisível aumenta a perda óssea periapical em animais com periodontite apical induzida
- 3) A Administração de Sinvastatina reduz comportamentos compatíveis com estresse crônico em animais submetidos ao estresse crônico imprevisível, bem como reduz a perda óssea periapical em ratos com periodontite apical induzida;
- 4) A Administração de Propranolol reduz comportamentos compatíveis com estresse crônico em animais submetidos ao estresse crônico imprevisível, bem como reduz a perda óssea periapical em ratos com periodontite apical induzida.
- 5) A administração de ambas as medicações, Propranolol e Sinvastatina, não mostrou alterações na perda óssea periapical em ratos com periodontite apical induzida.

REFERÊNCIAS*

Abeles AM, Pillinger MH. Statins as antiinflammatory and immunomodulatory agents: A future in rheumatologic therapy? *Arthritis Rheum.* 2006;54(2):393–407. doi: 10.1002/art.21521.

Adell A, Trullas R, Gelpi E. Time course of changes in serotonin and noradrenaline in rat brain after predictable or unpredictable shock. *Brain Res.* 1988;459(1):54–9. doi: 10.1016/0006-8993(88)90285-5.

Agostini J V, Tinetti ME, Han L, McAvay G, Foody JAM, Concato J. Effects of statin use on muscle strength, cognition, and depressive symptoms in older adults. *J Am Geriatr Soc.* 2007;55(3):420–5. doi: 10.1111/J.1532-5415.2007.01071.X.

AK K, PC G, Z S. The open field test for measuring locomotor activity and anxiety-like behavior. *Methods Mol Biol.* 2019;1916:99–103. doi: 10.1007/978-1-4939-8994-2_9.

Ayed MS, Shafiq SS, Diab HM, Alahmari AD, Divakar DD. Assessing periapical dental radiographs as a screening parameter for early indications of osteoporosis in postmenopausal periodontal patients and root surface evaluation using spectrochemical analysis. *Saudi Med J.* 2018;39(7):719–24. doi: 10.15537/smj.2018.7.22453.

Balduini W, Mazzoni E, Carloni S, De Simoni MG, Perego C, Sironi L, et al. Prophylactic but not delayed administration of simvastatin protects against long-lasting cognitive and morphological consequences of neonatal hypoxic-ischemic brain injury, reduces interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α mRNA induction, and does not affect endothelial nitric oxide synthase expression. *Stroke.* 2003;34(8):2007–12. doi: 10.1161/01.STR.0000080677.24419.88.

De Berardis D, Conti CMV, Serroni N, Moschetta FS, Carano A, Salerno RM, et al. The role of cholesterol levels in mood disorders and suicide. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2009;23(3):133–40.

Blandino P, Barnum CJ, Deak T. The involvement of norepinephrine and microglia in hypothalamic and splenic IL-1 β responses to stress. *J Neuroimmunol.* 2006;173(1–2):87–95. doi: 10.1016/j.jneuroim.2005.11.021.

Breivik T, Thrane PS, Murison R, Gjermo P. Emotional stress effects on immunity, gingivitis and periodontitis. *Eur J Oral Sci.* 1996;104(4):327–34. doi: 10.1111/j.1600-0722.1996.tb00087.x.

Brod SA, Benjamin D, Hafler DA. Restricted T cell expression of IL-2/IFN- γ mRNA in human inflammatory disease. *J Immunol.* 1991;147(3).

Campos AC, Fogaça M v., Aguiar DC, Guimarães FS. Animal models of anxiety disorders and stress. *Braz J Psychiatry*. 2013;35(SUPPL.2). doi: 10.1590/1516-4446-2013-1139.

Castro MML, Nascimento PC, Souza-Monteiro D, Santos SM, Arouck MB, Garcia VB, et al. Blood oxidative stress modulates alveolar bone loss in chronically stressed rats. *Int J Mol Sci*. 2020;21(10). doi: 10.3390/ijms21103728.

Chauhan N, Mittal S, Tewari S, Sen J, Laller K. Association of Apical Periodontitis with Cardiovascular Disease via Noninvasive Assessment of Endothelial Function and Subclinical Atherosclerosis. *J Endod*. 2019;45(6):681–90. doi: 10.1016/j.joen.2019.03.003.

Chen SF, Hung TH, Chen CC, Lin KH, Huang YN, Tsai HC, et al. Lovastatin improves histological and functional outcomes and reduces inflammation after experimental traumatic brain injury. *Life Sci*. 2007;81(4):288–98. doi: 10.1016/j.lfs.2007.05.023.

Cintra LTA, Samuel RO, Facundo ACS, Prieto AKC, Sumida DH, Bomfim SRM, et al. Relationships between oral infections and blood glucose concentrations or HbA1c levels in normal and diabetic rats. *Int Endod J*. 2014;47(3):228–37. doi: 10.1111/iej.12136.

Citó M do C de O, da Silva FCC, Silva MIG, Moura BA, Macêdo DS, Woods DJ, et al. Reversal of cocaine withdrawal-induced anxiety by ondansetron, buspirone and propranolol. *Behav Brain Res*. 2012;231(1):116–23. doi: 10.1016/j.bbr.2012.01.056.

Dragoş D, Tănăsescu MD. The effect of stress on the defense systems. *J Med Life*. 2010;3(1):10–8.

Dumitrescu AL. Depression and inflammatory periodontal disease considerations-an interdisciplinary approach. *Front Psychol*. 2016;7(MAR). doi: 10.3389/fpsyg.2016.00347.

EH L, CY H, SH K, KL H, LH C, LD L, et al. Simvastatin alleviates the progression of periapical lesions by modulating autophagy and apoptosis in osteoblasts. *J Endod*. 2012;38(6):757–63. doi: 10.1016/J.JOEN.2012.02.023.

ElBatsh MM. Antidepressant-like effect of simvastatin in diabetic rats. *Can J Physiol Pharmacol*. 2015;93(8):649–56. doi: 10.1139/cjpp-2014-0560.

Fawzy Fahim V, Wadie W, Shafik AN, Ishak Attallah M. Role of simvastatin and insulin in memory protection in a rat model of diabetes mellitus and dementia. *Brain Res Bull*. 2019;144:21–7. doi: 10.1016/J.BRAINRESBULL.2018.10.012.

Francisconi CF, Vieira AE, Biguetti CC, Glowacki AJ, Trombone APF, Letra A, et al. Characterization of the protective role of regulatory T cells in experimental periapical

lesion development and their chemoattraction manipulation as a therapeutic tool. *J Endod.* 2016;42(1):120–6. doi: 10.1016/j.joen.2015.09.022.

Gaspersic R, Stiblar-Martincic D, Skaleric U, Gašperšič R, Štiblar-Martinčič D, Skalerič U. Influence of restraint stress on ligature-induced periodontitis in rats. *Eur J Oral Sci.* 2002;110(2):125–9. doi: 10.1034/j.1600-0722.2002.11153.x.

Genco RJ, Ho AW, Grossi SG, Dunford RG, Tedesco LA. Relationship of stress, distress and inadequate coping behaviors to periodontal disease. *J Periodontol.* 1999;70(7):711–23. doi: 10.1902/jop.1999.70.7.711.

Gomes ESB, Farias LC, Silveira LH, Jesus CÍ de, Rocha RG da, Ramos GV, et al. Conditioned fear stress increases bone resorption in apical periodontitis lesions in Wistar male rats. *Arch Oral Biol.* 2019;97:35–41. doi: 10.1016/j.archoralbio.2018.10.004.

Graves DT, Oates T, Garlet GP. Review of osteoimmunology and the host response in endodontic and periodontal lesions. *J Oral Microbiol.* 2011;3(1):5304. doi: 10.3402/jom.v3i0.5304.

Haffner-Luntzer Melanie, Foertsch S, Fischer V, Prystaz K, Tschaffon M, Mödinger Y, et al. Chronic psychosocial stress compromises the immune response and endochondral ossification during bone fracture healing via β -AR signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2019;116(17):8615–22. doi: 10.1073/pnas.1819218116.

Haffner-Luntzer M, Foertsch S, Fischer V, Prystaz K, Tschaffon M, Mödinger Y, et al. Chronic psychosocial stress compromises the immune response and endochondral ossification during bone fracture healing via β -AR signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2019;116(17):8615–22. doi: 10.1073/PNAS.1819218116.

Haile CN, GrandPre T, Kosten TA. Chronic unpredictable stress, but not chronic predictable stress, enhances the sensitivity to the behavioral effects of cocaine in rats. *Psychopharmacology (Berl).* 2001;154(2):213–20. doi: 10.1007/S002130000650.

Hoogwegt MT, Theuns DAMJ, Kupper N, Jordaens L, Pedersen SS. Relation of statin therapy to psychological functioning in patients with an implantable cardioverter defibrillator. *Am J Cardiol.* 2013;111(8):1169–74. doi: 10.1016/J.AMJCARD.2012.12.047.

Hu C, Luo Y, Wang H, Kuang S, Liang G, Yang Y, et al. Re-evaluation of the interrelationships among the behavioral tests in rats exposed to chronic unpredictable mild stress. *PLoS One.* 2017;12(9):e0185129.

Hua LEH, Yuan HC, Heng KS, Liang HK, Hsiu CL, Deh LL, et al. Simvastatin alleviates the progression of periapical lesions by modulating autophagy and apoptosis in osteoblasts. *J Endod.* 2012;38(6):757–63.

Jakovljevic A, Knezevic A, Karalic D, Soldatovic I, Popovic B, Milasin J, et al. Pro-inflammatory cytokine levels in human apical periodontitis: Correlation with clinical and histological findings. *Aust Endod J*. 2015;41(2):72–7. doi: 10.1111/aej.12072.

Jin J, Zhang X, Lu Z, Li Y, Lopes-Virella MF, Yu H, et al. Simvastatin inhibits lipopolysaccharide-induced osteoclastogenesis and reduces alveolar bone loss in experimental periodontal disease. *J Periodontal Res*. 2014;49(4):518–26. doi: 10.1111/jre.12132.

Joëls M, Baram TZ. The neuro-symphony of stress. *Nat Rev Neurosci*. 2009;10(6):459–66. doi: 10.1038/nrn2632.

Takehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol*. 1965;20(3):340–9. doi: 10.1016/0030-4220(65)90166-0.

Katori Y, Shibata S, Kawase T, Cho BH, Murakami G. Transient appearance of tyrosine hydroxylase immunoreactive cells in the midline epithelial seam of the human fetal secondary palate. *Cleft Palate Craniofac J*. 2012;49(4):414–24. doi: 10.1597/10-121.

Khoury RD, Prado RF do, Matos F de S, Meireles BR de, Cardoso FG da R, Oliveira LD de, et al. The influence of adrenergic blockade in rats with apical periodontitis under chronic stress conditions. *Arch Oral Biol*. 2020;110. doi: 10.1016/j.archoralbio.2019.104590.

Kilic F, Ozatik Y, Kaygisiz B, Baydemir C, Erol K. Acute antidepressant and anxiolytic effects of simvastatin and its mechanisms in rats. *Neurosciences (Riyadh)*. 2012;17(1):39–43.

Koprdivá R, Bögi E, Belovičová K, Sedláčková N, Okuliarová M, Ujházy E, et al. Chronic unpredictable mild stress paradigm in male Wistar rats: effect on anxiety- and depressive-like behavior. *Neuro Endocrinol Lett*. 2016;37(Suppl1):103–10.

Kwan LS, Heng KS, Ling LY, Liang HK, Ting LY, Hsiung CM, et al. Simvastatin as a Novel Strategy To Alleviate Periapical Lesions. *J Endod*. 2009;35(5):657–62. doi: 10.1016/j.joen.2009.02.004.

Lei Q, Peng WN, You H, Hu ZP, Lu W. Statins in nervous system-associated diseases: Angels or devils? *Pharmazie*. 2014;69(6):448–54. doi: 10.1691/ph.2014.3892.

Lim SW, Shiue YL, Liao JC, Wee HY, Wang CC, Chio CC, et al. Simvastatin therapy in the acute stage of traumatic brain injury attenuates brain trauma-induced depression-like behavior in rats by reducing neuroinflammation in the hippocampus. *neurocrit care*. 2017;26(1):122–32. doi: 10.1007/s12028-016-0290-6.

Lin P-Y, Chang AYW, Lin T-K. Simvastatin treatment exerts antidepressant-like effect in rats exposed to chronic mild stress. *Pharmacol Biochem Behav.* 2014;124:174–9. doi: 10.1016/j.pbb.2014.06.006.

Lin S, Kok S, Lee Y, Hou K, Lin Y, Chen M, et al. Simvastatin as a novel strategy to alleviate periapical lesions. *J Endod.* 2009;35(5):657–62. doi: 10.1016/J.JOEN.2009.02.004.

Lindberg C, Crisby M, Winblad B, Schultzberg M. Effects of statins on microglia. *J Neurosci Res.* 2005;82(1):10–9. doi: 10.1002/jnr.20615.

Lu Huaixiu, Xu M, Wang F, Liu S, Gu J, Lin S. Chronic stress enhances progression of periodontitis via α 1-adrenergic signaling: a potential target for periodontal disease therapy. *Exp Mol Med.* 2014a;46:e118. doi: 10.1038/emm.2014.65.

Lu H, Xu M, Wang F, Liu S, Gu J, Lin S. Chronic stress enhances progression of periodontitis via α 1-adrenergic signaling: a potential target for periodontal disease therapy. *Exp Mol Med.* 2014b;46(10). doi: 10.1038/EMM.2014.65.

Marin MT, Cruz FC, Planeta CS. Chronic restraint or variable stresses differently affect the behavior, corticosterone secretion and body weight in rats. *Physiol Behav.* 2007;90(1):29–35. doi: 10.1016/j.physbeh.2006.08.021.

Minhoto GB, Khoury RD, Orozco EIF, Prado RF, Valera MC. Effect of chronic unpredictable stress on the progression of experimental apical periodontitis in rats. *Int Endod J.* 2021;54(8):1342–52. doi: 10.1111/iej.13515.

Naserzadeh R, Abad N, Ghorbanzadeh B, Dolatshahi M, Mansouri MT. Simvastatin exerts antidepressant-like activity in mouse forced swimming test: Role of NO-cGMP-KATP channels pathway and PPAR-gamma receptors. *Pharmacol Biochem Behav.* 2019;180:92–100. doi: 10.1016/j.pbb.2019.03.002.

Okada Y, Hamada N, Kim Y, Takahashi Y, Sasaguri K, Ozono S, et al. Blockade of sympathetic β -receptors inhibits *Porphyromonas gingivalis*-induced alveolar bone loss in an experimental rat periodontitis model. *Arch Oral Biol.* 2010;55(7):502–8. doi: 10.1016/j.archoralbio.2010.04.002.

Ostrander MM, Ulrich-Lai YM, Choi DC, Richtand NM, Herman JP. Hypoactivity of the Hypothalamo-Pituitary-Adrenocortical Axis during Recovery from Chronic Variable Stress. *Endocrinology.* 2006;147(4):2008–17. doi: 10.1210/en.2005-1041.

Papakostas GI, Petersen T, Sonawalla SB, Merens W, Iosifescu D V., Alpert JE, et al. Serum cholesterol in treatment-resistant depression. *Neuropsychobiology.* 2003;47(3):146–51. doi: 10.1159/000070584.

Parsaik AK, Singh B, Hassan Murad M, Singh K, Mascarenhas SS, Williams MD, et al. Statins use and risk of depression: A systematic review and meta-analysis. *J Affect Disord*. 2014;160:62–7. doi: 10.1016/j.jad.2013.11.026.

Pellow S, File SE. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: A novel test of anxiety in the rat. *Pharmacol Biochem Behav*. 1986;24(3):525–9. doi: 10.1016/0091-3057(86)90552-6.

Pérez-Losada F de L, Estrugo-Devesa A, Castellanos-Cosano L, Segura-Egea JJ, López-López J, Velasco-Ortega E. Apical periodontitis and diabetes mellitus type 2: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Med*. 2020;9(2):540. doi: 10.3390/jcm9020540.

Peruzzo DC, Benatti BB, Ambrosano GMB, Nogueira-Filho GR, Sallum EA, Casati MZ, et al. A Systematic review of stress and psychological factors as possible risk factors for periodontal disease. *J Periodontol*. 2007;78(8):1491–504. doi: 10.1902/jop.2007.060371.

Rodrigues W, Madeira M, Silva T da, Clemente-Napimoga J, Miguel C, Dias-da-Silva V, et al. Low dose of propranolol down-modulates bone resorption by inhibiting inflammation and osteoclast differentiation. *Br J Pharmacol*. 2012;165(7):2140–51. doi: 10.1111/J.1476-5381.2011.01686.X.

Rosania AE, Low KG, McCormick CM, Rosania DA. Stress, depression, cortisol, and periodontal disease. *J Periodontol*. 2009;80(2):260–6. doi: 10.1902/jop.2009.080334.

Santos T, Baungratz M, Haskel S, Lima D de, Cruz JN da, Magro D, et al. Behavioral interactions of simvastatin and fluoxetine in tests of anxiety and depression. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2012;8:413–22. doi: 10.2147/NDT.S31714.

Scales BS, Huffnagle GB. The microbiome in wound repair and tissue fibrosis. *J Pathol*. 2013;229(2):323–31. doi: 10.1002/path.4118.

Scarpato RK, Dondoni L, Böttcher DE, Grecca FS, Figueiredo JAP, Batista EL. Apical periodontium response to enamel matrix derivative as an intracanal medication in rat immature teeth with pulp necrosis: Radiographic and histologic findings. *J Endod*. 2012;38(4):449–53. doi: 10.1016/j.joen.2011.12.041.

Segura-Egea JJ, Cabanillas-Balsera D, Jiménez-Sánchez MC, Martín-González J. Endodontics and diabetes: association versus causation. *Int Endod J*. 2019;52(6):790–802. doi: 10.1111/iej.13079.

Segura-Egea JJ, Martín-González J, Castellanos-Cosano L. Endodontic medicine: Connections between apical periodontitis and systemic diseases. *Int Endod J*. 2015;48(10):933–51. doi: 10.1111/iej.12507.

Shadmehr E, Khademi A. Effect of Simvastatin on kinetics of Osteoprotegrin/receptor activator nuclear kappa B Ligand mRNA expression in periapical lesions. *Int Endod J*. 2013;46(11):1077–82. doi: 10.1111/iej.12101.

Siqueira JF, Rôças IN. Bacterial pathogenesis and mediators in apical periodontitis. *Braz Dent J*. 2007;18(4):267–80. doi: 10.1590/s0103-64402007000400001.

Stashenko P, Yu SM, Wang CY. Kinetics of immune cell and bone resorptive responses to endodontic infections. *J endod*. 1992;18(9). doi: 10.1016/S0099-2399(06)80841-1.

Thakur T, Gulati K, Rai N, Ray A. Experimental studies on possible regulatory role of nitric oxide on the differential effects of chronic predictable and unpredictable stress on adaptive immune responses. *Int Immunopharmacol*. 2017;50:236–42. doi: 10.1016/J.INTIMP.2017.07.002.

Trow JE, Jones AM, McDonald RJ. Comparison of the effects of repeated exposures to predictable or unpredictable stress on the behavioural expression of fear in a discriminative fear conditioning to context task. *Physiol Behav*. 2019;208. doi: 10.1016/j.physbeh.2019.05.017.

Vance JE. Dysregulation of cholesterol balance in the brain: contribution to neurodegenerative diseases. *Dis Model Mech*. 2012;5(6):746–55. doi: 10.1242/DMM.010124.

Wang J, Li J, Sheng X, Zhao H, Cao XD, Wang YQ, et al. β -adrenoceptor mediated surgery-induced production of pro-inflammatory cytokines in rat microglia cells. *J Neuroimmunol*. 2010;223(1–2):77–83. doi: 10.1016/j.jneuroim.2010.04.006.

Willner P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: A 10-year review and evaluation. *Psychopharmacology (Berl)*. 1997;134(4):319–29. doi: 10.1007/s002130050456.

Wohleb ES, Hanke ML, Corona AW, Powell ND, Stiner LM, Bailey MT, et al. β -Adrenergic receptor antagonism prevents anxiety-like behavior and microglial reactivity induced by repeated social defeat. *J Neurosci*. 2011;31(17):6277–88. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0450-11.2011.

Yang C, Kok S, Wang H, Chang J, Lai E, Shun C, et al. Simvastatin alleviates bone resorption in apical periodontitis possibly by inhibition of mitophagy-related osteoblast apoptosis. *Int Endod J*. 2019;52(5):676–88. doi: 10.1111/IEJ.13055.

Yirmiya R, Goshen I, Bajayo A, Kreisel T, Feldman S, Tam J, et al. Depression induces bone loss through stimulation of the sympathetic nervous system. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(45):16876–81. doi: 10.1073/PNAS.0604234103.

Yokoyama T, Miyauchi K, Kurata T, Satoh H, Daida H. Inhibitory efficacy of pitavastatin on the early inflammatory response and neointimal thickening in a porcine coronary after stenting. *Atherosclerosis*. 2004;174(2):253–9. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2004.01.039.

Young-Xu Y, Chan KA, Liao JK, Ravid S, Blatt CM. Long-term statin use and psychological well-being. *J Am Coll Cardiol*. 2003;42(4):690–7. doi: 10.1016/S0735-1097(03)00785-X.

Yu X Ben, Zhang HN, Dai Y, Zhou ZY, Xu R ai, Hu LF, et al. Simvastatin prevents and ameliorates depressive behaviors via neuroinflammatory regulation in mice. *J Affect Disord*. 2019;245:939–49. doi: 10.1016/j.jad.2018.11.086.

Zucchi FCR, Kirkland SW, Jadavji NM, van Waes LT, Klein A, Supina RD, et al. Predictable stress versus unpredictable stress: a comparison in a rodent model of stroke. *Behav Brain Res*. 2009;205(1):67–75. doi: 10.1016/J.BBR.2009.06.030.