

RESSALVA

Atendendo solicitação do (a) autor
(a), o texto completo desta tese será
disponibilizado a partir de

01/06/2018



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

RAYANA DUARTE KHOURY

**O ESTRESSE CRÔNICO E A VIA DE SINALIZAÇÃO ADRENÉRGICA NO
DESENVOLVIMENTO DA LESÃO PERIAPICAL**

2017

RAYANA DUARTE KHOURY

**O ESTRESSE CRÔNICO E A VIA DE SINALIZAÇÃO ADRENÉRGICA NO
DESENVOLVIMENTO DA LESÃO PERIAPICAL**

Dissertação 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 MESTRE, pelo Programa de Pós-Graduação em ODONTOLOGIA RESTAURADORA, Área de Endodontia.

Orientadora: Profa. Tit. Marcia Carneiro Valera

Coorientadora: Prof. Dra. Renata Falchete do Prado

São José dos Campos

2017

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2017]. 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).

Khoury, Rayana Duarte

O estresse crônico e a via de sinalização adrenérgica no desenvolvimento da lesão periapical. / Rayana Duarte Khoury. - São José dos Campos : [s.n.], 2017.

70 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Odontologia Restauradora) - Pós-Graduação em Odontologia Restauradora - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2017.

Orientadora: Marcia Carneiro Valera

Coorientadora: Renata Falchete Do Prado

1. Estresse crônico. 2. Lesão periapical. 3. Bloqueadores adrenérgicos. 4. Propranolol. 5. Fentolamina. I. Valera, Marcia Carneiro, orient. II. Prado, Renata Falchete Do, 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. Tit. Marcia Carneiro Valera (Orientadora)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Prof. Adj. Eduardo Bresciani

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Profa. Dra. Mariella Vieira Pereira Leão

Universidade de Taubaté (UNITAU)

São José dos Campos, 01 de Dezembro de 2017.

DEDICATÓRIA

Aos meus amados pais, Faek e Deise, que me apoiaram incondicionalmente e dedicaram suas vidas em prol da educação dos filhos. À vocês que me ensinaram que a educação é a melhor herança, que estiveram ao meu lado em todas as minhas dúvidas e incertezas, que sempre acreditaram indubitavelmente na minha capacidade e que por fim, permitiram que eu trilhasse os caminhos que eu mesma escolhi, mesmo que isso representasse uma longa distância entre nós e sempre carregada de muita saudade. Tudo o que sou e conquistei devo à vocês. Pai e Mãe, muito obrigada por todo sacrifício!

Aos meus irmãos, Raony e Rayra, que sempre se mostraram os meus melhores amigos. À vocês que fizeram parte da construção da minha personalidade e dividiram comigo os melhores momentos da vida. Vocês me dão a certeza de que nunca estarei só.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

*Agradeço à minha orientadora **Profa. Titular Marcia Carneiro Valera** por ter acreditado na minha capacidade sem muito me conhecer e concedendo a mim a primeira oportunidade de seguir a carreira acadêmica.*

Obrigada pela confiança e pela dedicação, que de forma tão interessada, muitas vezes precisou abdicar dos momentos de lazer para realizar as correções de cada um dos meus trabalhos.

As suas críticas construtivas, as discussões e reflexões foram fundamentais ao longo de todo o percurso para o meu crescimento como pesquisadora e educadora e até mesmo pessoal. O seu incomparável amor ao trabalho e respeito diante dos colegas, alunos e pacientes me inspiram a ser uma profissional competente, de caráter e humana.

Foi uma verdadeira honra ser sua orientada. Serei eternamente grata por isso.

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, que abençoou com muita saúde a mim e meus familiares para que eu pudesse seguir com a “mente quieta, espinha ereta e o coração tranquilo” durante tantos anos de estudo longe de casa. Por ter me abençoado com uma família tão querida e incentivadora. Obrigada pela graça de mais uma conquista.

Aos meus pais, **Faek e Deise**, por todo o suor do trabalho dedicado a investir na minha educação e dos meus irmãos. À vocês que nos deram a vida e nos ensinaram a vivê-la com dignidade e honestidade. À vocês que renunciaram aos seus sonhos, para que muitas vezes, pudéssemos realizar os nossos. Pela longa espera e compreensão durante nossas longas viagens e pelo amor e carinho sempre presentes no nosso retorno. Uma gratidão que jamais seria traduzida em palavras. Amo vocês.

Aos meus irmãos **Raony e Rayra**, que também me incentivaram a seguir na pós-graduação. Sempre conversando e trocando ideias. A nossa amizade é verdadeira e eterna, e isso sem dúvida me dá força para seguir em frente. E à minha nova irmã **Tina**, pelas várias conversas e também por me inspirar a ser uma profissional competente.

À minha querida avó **Zilda**, que tanto me inspira com a sua história de vida. Obrigada pela companhia de tantos anos, pelas orações e por todo carinho a cada vez que retorno para casa. Te amo vó.

Ao meu noivo **Paulo**, meu maior companheiro desde a faculdade e principalmente ao longo desses últimos dois anos. Sou imensamente grata por toda a paciência que você teve durante esse período me compreendendo nos momentos de ausência mesmo estando tão perto. Você dividiu comigo os momentos mais difíceis e sempre estive ao meu lado me transmitindo tranquilidade e me ensinando a diminuir o tamanho dos problemas. Sou muito feliz por ter te encontrado e espero ansiosa o nosso momento. Agradeço também à sua família, seus pais **Sérgio e Suely** e irmãos **Lu e Marina**, pelo carinho e torcida de sempre.

À todas as minhas grandes amigas da graduação pela sólida amizade que ainda persiste. Especialmente, **Arielle, Bruna, Evelyn, Flávia, Lurian, Priscylla e Stephanie** obrigada pela amizade, por tantos momentos de descontração, pelas conversas constantes, palavras de apoio e incentivo e principalmente por entenderem os meus momentos de ausência.

Ao **Du** e a **Débora**, companheiros de pedal, pelos passeios e bate-papos infundáveis, que também foram essenciais para manter nossa mente tranquila durante essa caminhada.

Ao amigo da graduação **Leopoldo Cosme Silva** que foi um verdadeiro incentivador na minha escolha em seguir a carreira acadêmica. Léó, você sem dúvida contribuiu muito para isso. Obrigada

por me ajudar dividindo comigo os momentos que “só a gente entende” e pelas inúmeras gargalhadas que tornam bem mais leves os momentos de tensão típicos dessa fase (Ain).

Aos colegas que ingressaram comigo no mestrado **Amjad Abu Hasna e Tatiane Bittencourt** e fizeram parte deste momento tão importante se tornando bons amigos.

À **Cassia, Daiana e Esteban**, que foram super receptivos desde o início da nossa convivência. Fico muito feliz pela amizade que formamos e que tenho certeza que será para sempre. Obrigada pela parceria e pela paciência, vocês foram fundamentais para que eu me sentisse acolhida.

À **Fernanda Carvalho** pela afinidade que nos aproximou e amizade que construímos e que se manteve mesmo após a sua saída da pós-graduação.

Aos demais colegas e amigos da pós-graduação, **Alessandra Manchini, Andrea Maselli, Ayla Correia, Bruna Jordão, Carlos Henrique Ferrari, Christian Marin, Dayana Campanelli, Diego Rabelo, Felipe Paiva, Jaiane Monteiro, Laís Landim, Laura Meirelles, Maria José de Castro, Marina Gullo, Monique França, Rafael Rocha, Ricardo Abreu, Tânia Mara e Thais Alves**, pela amizade e por toda a aprendizagem que compartilhamos. Foi muito bom conhecer e conviver com vocês.

Ao **Felipe Matos**, que além de companheiro nesta pesquisa, se mostrou um grande amigo me “salvando” em vários momentos, dividindo comigo todos os “perrengues” e sempre me tranquilizando diante das minhas “crises”. Muito obrigada Fe, por toda disponibilidade e amizade. Não haveria pessoa melhor para ser meu parceiro nesses últimos dois anos. Foi muito bom trabalhar com você.

A **Profa. Dra. Renata Falchete do Prado**, que como minha co-orientadora foi uma grande contribuinte para o meu crescimento como pesquisadora. Obrigada Re, pela confiança, pela paciência de me ensinar passo a passo de cada procedimento, responder as minhas inúmeras perguntas e compartilhar tantos conhecimentos comigo. Foi um prazer imenso trabalhar com você e o seu amor pelo trabalho me inspira.

Ao **João Maurício e Larissa**, que desde o início me apoiaram e incentivaram a ingressar no mestrado. A amizade de vocês foi muito importante para mim principalmente na minha chegada a São José dos Campos. E através de vocês ganhei outros dois grandes amigos, **Natália e Virgílio** que também fizeram com que me sentisse acolhida na nova cidade.

Ao **Prof. Cláudio Antônio Talge Carvalho**, por todo conhecimento clínico e científico compartilhado. Pela atenção, dedicação e exemplo, sempre com uma palavra de incentivo. Muito obrigada Professor. Aos demais professores da disciplina de Endodontia: **Prof. Adj. Ana Paula Martins Gomes, Prof. Adj. Carlos Henrique Ribeiro Camargo, e Prof. Dr. Frederico Canato Martinho**, pela contribuição

na minha formação acadêmica, pelos ensinamentos transmitidos e atenção dispensada sempre que solicitada.

À **Profa. Dra. Flávia Cardoso** que além de ter me confiado tantos trabalhos, se tornou uma grande amiga, me incentivando e inspirando a ser uma profissional de excelência. Muito obrigada Flá, pelas conversas, por toda disponibilidade e por não medir esforços em compartilhar seus conhecimentos de forma tão interessada e dedicada. Tenho certeza que nós formamos uma ótima parceria.

Ao **Prof. Adj. Eduardo Bresciani** por ter aceitado fazer parte da minha banca, e pela sua disponibilidade de sempre toda vez que o procurava para tirar as frequentes dúvidas sobre estatística. Obrigada pela paciência ao dividir os seus conhecimentos estatísticos de forma leve e agradável. Na minha visão de aluna, isso é ser um verdadeiro Professor.

Ao **Prof. Dr. João Eduardo Gomes-Filho** por ter aceitado prontamente fazer parte da minha banca, contribuindo com seu vasto conhecimento na avaliação deste trabalho. É uma honra contar com o Sr. na minha banca. Muito obrigada pela sua disponibilidade.

À todos os funcionários do Instituto de Ciência e Tecnologia da UNESP, às técnicas do departamento **Fernanda Brito e Josiana Carneiro**, à secretária do departamento, **Liliane Franchitto**, ao pessoal da Secretaria da Pós-Graduação, **Bruno Tanaka, Sandra Cordeiro e Carolina Rei** e ao **Ivan Damasceno** (que também colaborou nesta Seção) pelas informações e atenção prestadas, ao pessoal da esterilização e às funcionárias da limpeza. Vocês são parte fundamental na realização do trabalho de cada um dentro desta instituição. Muito obrigada.

Ao **Sr. Carlos Guedes e Michelle Ramos** do Apoio à Fapesp pela disponibilidade em me atender prontamente fornecendo informações e orientações imprescindíveis. Vocês facilitam muito a realização do nosso trabalho. Muito obrigada.

À Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, através de seu Diretor, **Prof. Dr. Estevão Tomomitsu Kimpara**, 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 mestrado. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - **FAPESP**- que me concedeu a bolsa de mestrado (Processo nº 2016/05821-0).

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

MUITO OBRIGADA!

" Coração de estudante
Há que se cuidar da vida
Há que se cuidar do mundo
Tomar conta da amizade
Alegria e muito sonho
Espalhados no caminho
Verdes, plantas, sentimento
Folhas, coração, juventude e fé ".
Milton Nascimento

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	10
RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	12
1 INTRODUÇÃO	13
2 ARTIGOS	18
2.1 Artigo – Khoury RD, Matos FS, Prado RF, Carvalho CAT, Valera MC. Efeito do estresse crônico na progressão da lesão periapical / <i>Effect of chronic stress in the progression of periapical lesion*</i>	18
2.2 Artigo – Khoury RD, Matos FS, Prado RF, Carvalho CAT, Valera MC. Expressão de receptores adrenérgicos e osteoclastos em lesões periapicais sob condições de estresse crônico: um estudo <i>in vivo</i> / <i>Expression of adrenergic receptors and osteoclasts in periapical lesions under chronic stress conditions: an in vivo study*</i>	36
3 CONSIDERAÇÕES GERAIS	54
REFERÊNCIAS.....	60
ANEXO.....	69

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

α 1-AR	Receptor α 1-Adrenérgico
α 2-AR	Receptor α 2 Adrenérgico
β -AR	Receptor β 2-Adrenérgico
HPA	Hipotálamo-hipófise-adrenal
IL-1 β	Interleucina 1 β
IL-6	Interleucina 6
OPG	Osteoprotegerina
RANK	Receptor ativador do fator nuclear kappa- β
RANKL	Ligante do receptor do fator nuclear kappa β
SNS	Sistema Nervoso Simpático
TNF	Fator de necrose tumoral

Khoury RD. O estresse crônico e a via de sinalização adrenérgica no desenvolvimento da lesão periapical [dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2017.

RESUMO

Os objetivos deste estudo são: 1) Esclarecer a possível associação entre o estresse crônico e a estimulação do Sistema Nervoso Simpático (SNS) e investigar sua interferência no desenvolvimento e progressão da lesão periapical; 2) Avaliar a quantidade de receptores para os neurotransmissores na região periapical; 3) Elucidar uma via farmacológica de modulação inflamatória através do uso de bloqueadores adrenérgicos. Trinta e dois ratos Wistar foram submetidos à modelo animal de lesão periapical através da exposição da cavidade pulpar e em seguida foram aleatoriamente divididos em 4 grupos: sem estresse (NS); estresse + solução salina (SS); estresse + β -bloqueador ($S\beta$); estresse + α -bloqueador ($S\alpha$). Os grupos SS, $S\beta$ e $S\alpha$ foram submetidos à modelo animal de estresse crônico durante 28 dias e receberam injeções diárias de solução salina, propranolol (β bloqueador adrenérgico) e fentolamina (α bloqueador adrenérgico), respectivamente. Após 28 dias os animais foram eutanasiados e procedeu-se as seguintes análises: a) dos níveis séricos de corticosterona através de Radioimunoensaio; b) histomorfométrica por coloração com hematoxilina e eosina; c) da estrutura óssea periapical através de microtomografia computadorizada (micro-CT); d) expressão de receptores β e α adrenérgicos; e) da atividade osteoclástica através de histoquímica para fosfatase ácida resistente ao tartarato (TRAP). Os resultados obtidos mostram um aumento do nível sérico de corticosterona dos animais do grupo SS sendo estatisticamente significativo comparados aos animais do grupo NS (sem estresse) ($p < .05$). Nenhuma diferença estatística foi observada a nível histológico uma vez que todos os animais apresentaram infiltrado inflamatório moderado e área de lesão periapical similares. A análise por micro-CT também mostrou similaridade da área e volume da lesão periapical em todos grupos. Através da histoquímica para TRAP verificou-se uma quantidade significativamente menor de osteoclastos nos grupos que receberam bloqueadores adrenérgicos ($S\beta$ e $S\alpha$) ($p < .05$). Conclui-se que não houve influência significativa do estresse crônico no desenvolvimento e progressão da lesão periapical e a administração de bloqueadores adrenérgicos apesar de não ter sido capaz de modular a resposta inflamatória, diminuiu significativamente o número de osteoclastos na região periapical.

Palavras-chave: Estresse crônico. Lesão periapical. Bloqueadores adrenérgicos. Propranolol. Fentolamina.

Khoury RD. Chronic stress and the adrenergic signaling pathway on the development of periapical lesion [dissertation]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2017.

ABSTRACT

The objectives of this study are: 1) To clarify the possible association between chronic stress (CS) and stimulation of the Sympathetic Nervous System (SNS) and to investigate its interference in the development and progression of periapical lesion; 2) To evaluate the amount of receptors for neurotransmitters in the periapical region; 3) To elucidate a pharmacological pathway of inflammatory modulation through the use of adrenergic blockers. Thirty- two Wistar rats were submitted to animal model of periapical lesion through exposure of the pulp cavity and were then randomly divided into 4 groups: no stress (NS); stress + saline solution (SS); stress + β -blocker ($S\beta$); stress + α -blocker ($S\alpha$). The SS, $S\beta$ and $S\alpha$ groups were submitted to animal model of CS for 28 days and received daily injections of saline solution, propranolol (β blocker adrenergic) and phentolamine (α adrenergic blocker), respectively. After 28 days the animals were euthanized and the following analysis were carried out: a) serum corticosterone levels through Radioimmunoassay; b) histomorphometric by staining with hematoxylin and eosin; c) periapical bone structure through micro computed tomography; d) expression of β and α adrenergic receptors; e) osteoclast activity by histochemistry for tartrate resistant acid phosphatase (TRAP). The results obtained show an increase in the seric corticosterone level of the animals of the SS group being statistically significant compared to the NS group animals (without stress). No statistical difference was observed histologically since all animals had moderate inflammatory infiltrate and similar periapical lesion area. Micro-CT analysis also showed similarity of the area and volume of the periapical lesion in all groups. Through histochemistry for TRAP, a significantly lower amount of osteoclasts was observed in the groups receiving adrenergic blockers ($S\beta$ and $S\alpha$). It was concluded that there was no significant influence of chronic stress on the development and progression of the periapical lesion and the administration of adrenergic blockers despite not being able to modulate the inflammatory response, significantly decreased the number of osteoclasts in the periapical region.

Keywords: Chronic stress. Periapical lesion. Adrenergic blockers. Propranolol. Phentolamine.

1 INTRODUÇÃO

A periodontite apical é uma doença inflamatória caracterizada pela resposta imune como consequência de uma infecção bacteriana e polpa dentária necrótica que resulta em reabsorção óssea periapical. A exposição da polpa dentária às bactérias e seus subprodutos pode provocar respostas inflamatórias inespecíficas, bem como reações imunológicas específicas nos tecidos perirradiculares, levando a destruição dos tecidos periapicais (Liapatas et al., 2003; Ricucci et al., 2006). A destruição dos tecidos moles e mineralizados é desencadeada por uma série de mediadores químicos que modulam de forma independente ou cooperativa a atividade proteolítica e a ativação dos mecanismos de reabsorção óssea (Graves et al., 2011; Fukada et al., 2008; Menezes et al., 2006). Portanto, a periodontite apical é originada da defesa imunológica do hospedeiro (Stashenko et al., 1992; Kawashima, Stashenko, 1999) frente a ação dos microrganismos e seus produtos.

Na área da Periodontia, diversas pesquisas têm sido realizadas nas últimas décadas a fim de esclarecer a etiologia da doença periodontal bem como os diversos fatores que podem interferir nas respostas imunoinflamatórias. Alguns fatores sistêmicos como diabetes mellitus, tabagismo, osteopenia, polimorfismos genéticos e maus hábitos de saúde foram associados as formas mais graves de doença periodontal sendo apontados como componentes importantes na estimulação da resposta inflamatória crônica da doença periodontal (Grossi et al., 1994, 1995; Genco et al., 1999; Preshaw, Bissett, 2013).

Além disso, fatores psicossociais como o estresse, ansiedade e depressão, têm sido relacionados à doença periodontal, e vem sendo frequentemente identificados como fatores de risco adicionais que podem afetar a progressão da doença periodontal (Boyapati, Wang, 2000; Rosania et al., 2009; Sabbah et al., 2011). Apesar de alguns estudos observacionais apoiarem este tipo de correlação, os mecanismos de influência dos fatores psicológicos ainda não foram devidamente elucidados na literatura (Gupta et al., 1993; Monteiro Da Silva et al., 1996; Moss et al., 1996).

Sendo assim, embora seja bem estabelecido que as bactérias são os principais agentes causadores da doença periodontal, sugere-se que a resposta

individual seja determinante para sua progressão, uma vez que, fatores de risco como os supracitados podem modificar não só a resposta imune do hospedeiro, como também influenciar na progressão, severidade e evolução da doença periodontal (Peruzzo et al., 2007). Até o momento não existem estudos disponíveis na literatura que investigam a possível influência do estresse crônico sobre a progressão da lesão periapical.

O estresse crônico resulta da pressão emocional vivida por um longo período de tempo, sobre a qual o indivíduo não possui controle (Gaspersic et al., 2002). Indivíduos que sofrem de estresse apresentam anormalidades de comportamento, como humor deprimido e sono prejudicado, juntamente com desregulação dos sistemas nervoso neuroendócrino e simpático que são por sua vez, vias eferentes críticas na regulação cerebral da imunidade. Segundo Joels e Baram (2009), o padrão e a magnitude da resposta do hospedeiro frente ao estresse parecem ser influenciados por diversos fatores, como a duração da exposição ao estresse (agudo ou crônico), o tipo de estresse (físico ou psicológico), gênero, entre outros.

Os eixos hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) e o Sistema Nervoso Simpático (SNS) são as principais vias neurais ativadas por fatores de estresse físicos psicológicos (Ader et al., 1995; Black, 1994; Chrousos, 1995). Durante o estresse ocorre a ativação simpática pelo eixo HPA, durante a qual existe um aumento na liberação dos hormônios neuroendócrinos, como os glicocorticoides (cortisol e corticosterona) e catecolaminas (epinefrina e norepinefrina) nos tecidos (Thaker et al., 2006) e plasma (Kondo, Togari, 2003). A síntese de noradrenalina (norepinefrina), bem como de molécula semelhante, a adrenalina (epinefrina) é catalisada pela enzima tirosina hidroxilase (Nagatsu et al., 1964; Nagatsu, 1995; Katori et al., 2012). Através da liberação desses hormônios diante da atividade excessiva do eixo autônomo simpático, o estresse pode ter efeitos prejudiciais sobre as funções imunológicas (Webster Marketon, Glaser, 2008; Dhabhar, 2009).

Modelos animais experimentais sugerem que o estresse crônico provoca o estado de inflamação através do aumento na liberação de citocinas pró-inflamatórias circulantes que por sua vez respondem a sinais específicos (Lu XT et al., 2013). As citocinas são proteínas sinalizadoras que transmitem informações entre as células imunológicas e também entre o sistema imunológico, o cérebro e o sistema

endócrino (Cannon, 2000).

Dentre as principais citocinas envolvidas no quadro de estresse associado à inflamação crônica podemos citar a interleucina-1 β (IL- β) fator de necrose tumoral- α (TNF- α), interleucina-6 (IL-6), que são por sua vez conhecidas por induzirem atividade osteoclástica. A expressão dessas citocinas são reguladas pelo fator nuclear kappa- β que é portanto o mediador responsável pelo estabelecimento deste quadro (Black, 2006; Pahl, 1999).

Uma das vias comuns de secreção de moléculas pró-inflamatória é através de receptores ligantes presentes em células secretadoras de citocinas (Hofbauer et al., 2001; Tay et al., 2004). A reabsorção óssea pode ser regulada via ativação do sistema RANK/RANKL/OPG (receptor ativador do fator nuclear kappa β / ligante do receptor do fator nuclear kappa β / osteoprotegerina). O RANK e seu ligante (RANKL) foram recentemente identificados e desempenham papel fundamental no desenvolvimento dos osteoclastos. A ligação do RANKL ao seu receptor RANK, expressado na superfície dos osteoclastos, impulsionam sinais de diferenciação dos pré-osteoclastos, promovendo assim a reabsorção óssea. A osteoprotegerina (OPG) por sua vez, é uma proteína secretada principalmente pelas células osteoblásticas, que atua como receptor “isca” do RANKL impedindo a ligação deste ao seu receptor verdadeiro RANK, preservando a integridade óssea (Teitelbaum, 2000; Theill et al., 2002; Alliston, Derynck, 2002).

Diversos estudos apontam a expressão de RANKL e OPG na periodontite apical, o que sugere o papel dessas moléculas durante o desenvolvimento da lesão periapical (Sabeti et al., 2005; Menezes et al., 2006; Vernal et al., 2006; Kawashima et al., 2007). Em geral, o equilíbrio entre a expressão de RANKL e OPG é determinante para a resposta biológica (Tay et al., 2004; Garlet GP et al., 2006; Jin et al., 2007, Dunn et al., 2007; Garlet TP et al., 2007). No entanto, até o momento não existem estudos que correlacionam a expressão de RANKL/OPG com a atividade real de reabsorção óssea e os perfis de expressão de RANKL/OPG em lesões periapicais permanecem desconhecidos.

A via de sinalização adrenérgica é também considerada uma outra via importante na secreção de moléculas pró inflamatórias. Essa por sua vez, é mediada pelos receptores alfa e beta-adrenérgicos que se ligam à norepinefrina, que por sua vez pode estar aumentada nos estados de estresse devido a ativação do sistema

simpato-adrenal (Nance, Sanders, 2007). A ligação dos receptores α e β adrenérgicos à norepinefrina ativa a secreção de citocinas pró-inflamatórias.

Lu H et al. (2014) demonstraram in vivo, que a indução de estresse crônico acelerou a progressão da doença periodontal por excitação do SNS, resultando na liberação da catecolamina neurotransmissora epinefrina, a qual se liga ao receptor α_1 na superfície das células do ligamento periodontal causando massiva liberação de mediadores inflamatórios que interferem na patogênese da doença periodontal.

Li et al. (2015) observaram que a norepinefrina pela via de ativação adrenérgica, apresenta efeito imunossupressor na função de macrófagos aumentando a síntese de IL-6 por estas células. Assim, Breivik et al. (2005) ao pesquisarem sobre a influência da via de sinalização adrenérgica em roedores com doença periodontal experimental, submetidos à simpatectomia, verificaram regeneração óssea e inibição da progressão da doença periodontal.

Os receptores adrenérgicos ou adrenoreceptores são alvos das catecolaminas, em especial a epinefrina e norepinefrina que se ligam a eles de acordo com a maior concentração e disponibilidade de cada tipo de receptor. Os receptores adrenérgicos são subdivididos em dois grandes grupos: α e β , e numerosos subgrupos (Furchgott, 1959; Rasmussen et al., 2011). Tecidos distintos exibem proporções diferentes de receptores α_1 , α_2 , β_1 , β_2 , entre outros (Brodde et al., 2001; Lu H et al., 2014). No entanto, dentre os diversos subgrupos de adrenoreceptores, destaca-se os receptores α_1 -adrenérgico (α_1 -AR) e β_2 adrenérgico (β_2 -AR), que são geralmente considerados como integrantes na comunicação cérebro-imunitária (Siniscalchi et al., 2010; Marvar et al., 2011).

Evidências demonstram que o SNS regula de forma positiva e negativa a formação e reabsorção óssea, respectivamente, através da sinalização de β_2 -AR (Ducy et al., 2000; Togari, 2002; Takeda et al., 2002; Togari et al., 2005; Takeuchi et al., 2001; Harada, Rodan, 2003; Elefteriou et al., 2005).

No entanto, apesar da literatura apontar uma íntima relação entre o estresse crônico e a exacerbação da resposta inflamatória mediada por receptores adrenérgicos, pouco se sabe sobre os efeitos do estresse e o consequente estímulo do SNS na progressão da periodontite apical.

Os β -bloqueadores adrenérgicos, constituem uma classe terapêutica que apresentam como mecanismo de ação o bloqueio dos receptores β -adrenérgicos.

Esse tipo de medicação tem sido indicada formalmente como coadjuvante no tratamento de pacientes hipertensos com cardiopatia associadas, uma vez que os receptores adrenérgicos são mais conhecidos pelo seu papel na regulação das funções do músculo liso cardiovascular (ESH/ESC Task Force for the Management of Arterial Hypertension, 2013). No entanto, após a demonstração histológica de fibras de norepinefrina no osso, estudos farmacológicos mostraram que ambas as células osteoblásticas e osteoclásticas possuem receptores para norepinefrina. Desde que os β 2-AR foram identificados em células osteoblásticas e osteoclásticas humanas (Moore et al., 1993; Takeda et al., 2002), levantou-se a hipótese de uma regulação simpática do metabolismo ósseo (Togari, 2002). Além disso, Fonseca et al. (2011) sugeriram que os β 2-AR não são os únicos adrenoreceptores envolvidos na regulação da remodelação óssea e mostraram que a sinalização pelos receptores α 2-adrenérgico também pode mediar as ações do SNS.

A fentolamina representa um bloqueador α -adrenérgico utilizado em diversos estudos (Fonseca et al., 2011; Lu H et al., 2014) e que possui como principal mecanismo de ação a inibição da capacidade das catecolaminas, como norepinefrina e epinefrina, em estimular a contração vascular (Grover et al., 2015).

Diante do exposto, fundamenta-se a hipótese não somente da modulação da resposta inflamatória na patogênese da periodontite apical via SNS como também a modulação da sinalização desse sistema através da administração de bloqueadores adrenérgicos.

Portanto, a presente pesquisa foi realizada a fim de avaliar os efeitos do estresse crônico no desenvolvimento da periodontite apical além de verificar a ação de bloqueadores α e β adrenérgicos na modulação da resposta inflamatória uma vez que não existe até o momento nenhum trabalho na literatura relacionado tais efeitos na área da Endodontia.

3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Fatores estressores de âmbito psicológico e emocional, como o pânico, a ansiedade e depressão estão cada vez mais presentes na vida humana moderna. Diante da grande diversidade de condições estressantes, juntamente com as dificuldades de adaptação do ser humano a certos agentes estressores, as condições de estresse e a sua complexa relação com o sistema imunológico têm recebido atenção especial por parte dos pesquisadores na área da saúde (Black, 1994; Dhabhar, 2002; Black, 2006; Kemeny, Schedlowski, 2007; Dhabar, 2009).

A modulação do sistema imune pelo Sistema Nervoso Central é bem estabelecida na literatura. De forma mais específica, estudos realizados no campo da Psiconeuroimunologia demonstraram que a resposta ao estímulo de estresse é mediado pela ativação do eixo HPA e também pelo SNS, que em desequilíbrio podem resultar em alterações do sistema imune. Diante desse quadro, algumas enfermidades podem se estabelecer como depressão, câncer, doenças inflamatórias crônicas, além de maior susceptibilidade a infecções causadas por microrganismos (Ostrander et al., 2006; Rosania et al., 2009; Lamkin, 2015; Dumitrescu, 2016).

Na Odontologia, a área da Periodontia tem se dedicado cada vez mais às investigações que esclareçam a complexa interação bidirecional entre o SNS e a resposta imune inflamatória. Estudos ao longo dos anos têm demonstrado a influência do estresse crônico, tão presente nos dias atuais, na progressão da doença periodontal (Boyapati, Wang, 2000; Rosania et al., 2009; Sabbah et al., 2011; Goyal et al., 2013; Lu H et al., 2014; Dumitrescu, 2016).

Sabe-se que a doença periodontal e a periodontite apical compartilham algumas semelhanças em termos de origem e composição da microbiota, que é em sua maior parte composta de microrganismos anaeróbios Gram-negativos (Siqueira, Rôças, 2014). Além disso, estudos têm demonstrado que manifestações agudas e crônicas, tanto da doença periodontal quanto da periodontite apical, elevam os níveis de mediadores inflamatórios (Caplan D, 2004; Caplan DJ et al., 2006). Dessa forma, supõe-se que a periodontite apical pode também estar associada as mesmas doenças sistêmicas relacionadas a doença periodontal (Segura-Egea et al., 2015).

A periodontite apical que por sua vez também é uma doença inflamatória, é

caracterizada pela resposta imune como consequência de uma infecção bacteriana e necrose pulpar que resulta em reabsorção óssea periapical (Stashenko et al., 1998; Zhang, Peng, 2005). No entanto, de forma contrária ao campo da Periodontia, até o momento não existem estudos na literatura que relacionam a influência do estresse no desenvolvimento e progressão da lesão periapical. Portanto, o presente estudo pode ser considerado como o primeiro passo para se obter evidências dessa relação a fim de buscar novas terapias que levam em consideração o estado emocional e psicológico do paciente.

O modelo animal de lesão periapical através da exposição da câmara pulpar é amplamente utilizado em diversos estudos (Azuma et al., 2017; Prieto et al., 2017; Samuel et al., 2017). Tal condição favorece a ocorrência de infecção bacteriana e consequente necrose pulpar, que provoca uma resposta inflamatória, e como consequência, ocorre o desenvolvimento da lesão periapical. A confiabilidade dessa metodologia foi confirmada nesse estudo através das imagens histológicas e microtomográficas que mostraram evidente estabelecimento da lesão periapical dentro do período experimental.

Diversos modelos animais experimentais de estresse têm sido desenvolvidos a fim de investigar os efeitos do estresse no desenvolvimento da doença periodontal (Shapira et al., 1999, 2000; Lu H et al., 2014). Na literatura os modelos podem variar de acordo com algumas características que se referem à natureza (psicológico, químico ou físico), intensidade (agudo ou crônico) e duração do estresse. Além disso, segundo alguns autores, os efeitos do estresse no organismo podem variar conforme o tipo de estresse em questão, exercer diferentes efeitos em relação a liberação hormonal e funções imunes, o que reforça a complexidade desse fenômeno fisiológico sobre o organismo e o desenvolvimento de enfermidades, como por exemplo, a lesão periapical (Ostrander et al., 2006; Goyal et al., 2013; Dumitrescu, 2016). Por exemplo, em um estudo realizado por Ostrander et al. (2006), nos animais submetidos a 7 dias de estresse crônico variável foi observado uma diminuição na atividade do eixo HPA quando submetidos a um novo estressor. Em outro estudo, também foi demonstrado que os efeitos de diferentes estressores aplicados sucessivamente podem interferir e que o estresse crônico pode eliminar os efeitos de estresse agudo (Cancela et al., 1995; Ferret et al., 1995; Aloisi et al., 1998). Diante disso, podemos dizer que estudos futuros a fim

de investigar a relação entre o estresse crônico e a periodontite apical, devem levar em consideração o intervalo entre a cessação do estresse crônico variável e o novo estresse, e também à natureza desse estímulo, ou até mesmo a junção desses dois fatores.

O estresse pode ser considerado agudo e crônico conforme a sua intensidade e tempo (Zelena et al., 1999). O estresse agudo é caracterizado por uma resposta imediata e de curto prazo podendo variar de segundos a poucos minutos (Sapolsky et al., 2000). Além disso, de acordo com Pruett (2003) o estresse relativamente agudo parece favorecer as funções imunológicas podendo induzir a resposta imune celular, através do aumento do número de células natural killer (NK) e de granulócitos (Kemeny, Schedlowski, 2007). O estresse crônico por sua vez, persiste por vários dias, semanas ou meses (Dhabhar, 2002). Existem evidências de que as respostas ao estresse crônico levam a uma expressiva imunossupressão (Jacobs et al., 2001), embora haja uma certa divergência na comunidade científica em relação ao tipo, duração e intensidade do estresse (Zelena et al., 1999).

No presente estudo, o modelo animal de estresse crônico foi realizado de acordo com o protocolo de Willner et al. (1992), com algumas alterações. Os procedimentos experimentais foram realizados durante 32 dias, uma vez que esse período é comprovadamente suficiente para observar o estabelecimento tanto da lesão periapical quanto do quadro de estresse crônico. Diante dos diversos modelos experimentais existentes, alguns parâmetros indicadores são utilizados a fim de comprovar a eficácia de tais modelos, como por exemplo a concentração de corticosterona, glicemia, aparecimento de úlcera, determinação da presença do hormônio adrenocorticotrófico e até mesmo avaliação comportamental. A determinação de cortisol é utilizada como indicador de estresse em seres humanos, enquanto que a de corticosterona é utilizada no caso de roedores (Besedovsky, del Rey, 1996).

Neste estudo, a concentração da corticosterona e avaliação do ganho de peso dos animais foram selecionados como parâmetros para determinar se o estresse crônico foi eficazmente aplicado. Nos resultados obtidos observamos uma diferença significativa entre os grupos controle NS e SS, uma vez que o grupo SS apresentou níveis séricos elevados de corticosterona quando comparado aos demais grupos, este dado está de acordo com estudos previamente realizados

(Lowrance et al., 2016). Curiosamente, o grupo Sa apresentou níveis de corticosterona similares ao grupo controle não estressado (NS). Este dado sugere um efeito positivo da fentolamina na liberação de glicocorticoides através do eixo HPA.

Levando em consideração os pesos dos animais, todos os grupos submetidos ao estudo apresentaram peso corporal similares inicialmente e quando avaliados no final do experimento, todos os grupos mostraram um aumento no ganho de peso, no entanto, o ganho foi significativamente menor nos grupos estressados quando comparados aos animais não-estressados. Estes resultados corroboram com estudos previamente realizados (Simch et al., 2008; Soletti et al., 2009).

O SNS quando ativado induz a liberação de catecolaminas que por sua vez são responsáveis pelo aumento da frequência cardíaca, da glicemia, do metabolismo celular, que são mecanismos de defesa do organismo frente ao estímulo de estresse (Webster Marketon, Glaser, 2008). A resposta adaptativa do estresse ativa rapidamente o SNS enquanto que o eixo HPA responde de forma mais lenta e estimulando a liberação de glicocorticoides, que dependendo dos níveis secretados podem deprimir o sistema imunológico (De Vente et al., 2003).

Na tentativa de impedir ou reverter os efeitos prejudiciais do estresse sobre o equilíbrio do sistema imune, tem sido considerada a busca por novas terapias que incluem a administração de antagonistas ou agonistas de receptores dos hormônios supracitados liberados durante o estresse. Primeiramente as pesquisas são realizadas em animais para que posteriormente, diante de resultados favoráveis *in vivo*, as alternativas terapêuticas possam ser testadas clinicamente com o objetivo de verificar a sua efetividade em seres humanos. Visando conter os efeitos do estresse sobre o sistema imune, o nosso estudo incluiu duas classes de bloqueadores adrenérgicos recentemente identificados na superfície óssea, o β -bloqueador propranolol e o α -bloqueador fentolamina (Moore et al., 1993; Takeda et al., 2002; Togari, 2002; Fonseca et al., 2011; Lu H et al., 2014; Grover et al., 2015). Os fármacos foram administrados por via subcutânea (propranolol) e intraperitoneal (fentolamina).

No presente trabalho, o efeito do estresse, bem como o uso de bloqueadores adrenérgicos foram avaliados através de análise microtomográfica,

histológica, imunohistoquímica.

A presença de infecção persistente resulta em cronificação da inflamação, tornando o infiltrado inflamatório da lesão periapical predominantemente mononuclear (Scales, Huffnagle, 2013). Através do exame histológico foi observado infiltrado inflamatório em todos os grupos. A intensidade e extensão do infiltrado foram avaliados através de scores e depois de aplicada a estatística, concluiu-se não haver diferença entre os grupos em termos de quantidade de células inflamatórias. Além do infiltrado inflamatório também avaliou-se o tamanho da lesão periapical através da análise histológica. No entanto, um fator importante a ser considerado nesses tipos de estudo é a precisão diagnóstica do tamanho da lesão periapical. de Oliveira et al. (2015), alertam para a baixa correlação existente entre a medida histomorfométrica e microtomográfica. Essa falta de correlação pode ser justificada uma vez que os cortes histológicos representam projeções bidimensionais de estruturas tridimensionais e podem portanto falhar na precisão da quantificação da medida (von Stechow et al., 2003). Por isso, além da avaliação histológica, o tamanho da lesão periapical também foi avaliado através de microtomografia computadorizada. No entanto, não foi observado diferença estatística nos valores volumétricos da lesão periapical entre os grupos.

As análises imunohistoquímica também mostraram que a imunomarcação dos receptores alfa e beta adrenérgicos não foram significativamente diferente entre os grupos. Esses resultados são conflitantes com o estudo de Lu H et al. (2014) que também avaliou a expressão de receptores adrenérgicos na doença periodontal sob condições de estresse. Os autores relataram um aumento dos níveis de receptores adrenérgicos após a indução do estresse, valendo ressaltar que a análise foi realizada no tecido mole, o que pode explicar os resultados contraditórios com o presente estudo.

De forma geral, podemos dizer que na presente pesquisa, verificou-se que o bloqueio adrenérgico não influenciou na reabsorção da lesão periapical dos animais submetidos à indução de estresse crônico, apesar de diminuir significativamente o número de osteoclastos. Os resultados inconclusivos apresentados corroboram com estudos prévios que não encontraram influência do bloqueio adrenérgico sobre a perda óssea, inclusive na doença periodontal induzida em ratos (Marenzana et al., 2007; Martins, 2011). Segundo Bonnet et al. (2008), os estudos que investigam a

influência da sinalização adrenérgica no metabolismo ósseo alertam para a complexidade da regulação da modelação óssea pelo SNS.

Apesar dos efeitos dos medicamentos utilizados no presente estudo, não apresentarem resultados congruentes diante do desenvolvimento da lesão periapical, podemos dizer que o nosso estudo representa um gatilho para uma melhor compreensão dos mecanismos da resposta do estresse sobre a periodontite apical que até o momento não foram abordados na literatura endodôntica.

Além da progressão da lesão periapical, pode-se ressaltar a necessidade de investigação quanto ao tempo de reparação das lesões periapicais que também pode sofrer intervenção sob condições de estresse. Foi demonstrado que indivíduos estressados apresentam maior tempo de reparo de lesões em geral devido ao aumento de cortisol, que por sua vez impede o processo de cura inibindo a comunicação celular e a produção de citocinas pró-inflamatórias no local da injúria (Webster Marketon, Glaser, 2008).

Por fim, durante a realização desse estudo verificamos que o campo de pesquisa sobre os efeitos do estresse e suas consequências no percurso de doenças inflamatórias, apesar de amplo, ainda é inexistente na área da Endodontia. A complexidade existente na ativação dessa rede de comunicação entre os sistemas nervoso e imune se deve ao envolvimento de inúmeros fatores como citocinas, neurotransmissores, receptores e fatores de transcrição intracelular, que por sua vez necessitam de maior elucidação sobre seus mecanismos de ação e diferentes funções em condições específicas.

Diante dos resultados desse estudo podemos observar o quanto essa relação entre o estresse crônico e a periodontite apical pode ser complexa e sem dúvida, intrigante. Desta forma, é imprescindível o entendimento da funcionalidade do organismo durante o estresse e seu impacto na resposta imune inflamatória para que possamos buscar novas terapias que auxiliem no tratamento da lesão periapical.

REFERÊNCIAS*

Ader R, Cohen N, Felten D. Psychoneuroimmunology: interactions between the nervous system and the immune system. *Lancet*. 1995 Jan 14;345(8942):99-103. PubMed PMID: 7815892.

Alliston T, Derynck R. Medicine: interfering with bone remodelling. *Nature*. 2002 Apr 18;416(6882):686-7. doi: 10.1038/416686a. PubMed PMID: 11961535.

Aloisi AM, Ceccarelli I, Lupo C. Behavioural and hormonal effects of restraint stress and formalin test in male and female rats. *Brain Res Bull*. 1998 Sep1;47(1):57-62. PubMed PMID: 9766390.

Azuma MM, Gomes-Filho JE, Prieto AKC, Samuel RO, de Lima VMF, Sumida DH, et al. Diabetes increases interleukin-17 levels in periapical, hepatic, and renal tissues in rats. *Arch Oral Biol*. 2017 Nov;83:230-235. doi: 10.1016/j.archoralbio.2017.08.001. PubMed PMID: 28818706.

Besedovsky HO, del Rey A. Immune-neuro-endocrine interactions: facts and hypotheses. *Endocr Rev*. 1996 Feb;17(1):64-102. doi: 10.1210/edrv-17-1-64PubMed PMID: 8641224.

Black PH. Central nervous system-immune system interactions: psychoneuroendocrinology of stress and its immune consequences. *Antimicrob Agents Chemother*. 1994 Jan;38(1):1-6. PubMed PMID: 8141561.

Black PH. The inflammatory consequences of psychologic stress: relationship to insulin resistance, obesity, atherosclerosis and diabetes mellitus, type II. *Med Hypotheses*. 2006;67(4):879-91. doi: 10.1016/j.mehy.2006.04.008. PubMed PMID: 16781084.

Boyapati L, Wang HL. The role of stress in periodontal disease and wound healing. *Periodontol 2000*. 2007;44:195-210. doi: 10.1111/j.1600-0757.2007.00211.x. PubMed PMID: 17474934.

Breivik T, Gundersen Y, Opstad PK, Fonnum F. Chemical sympathectomy inhibits periodontal disease in Fischer 344 rats. *J Periodontal Res*. 2005 Aug;40(4):325-30. doi: 10.1111/j.1600-0765.2005.00803.x. PubMed PMID: 15966910.

Brodde OE, Bruck H, Leineweber K, Seyfarth T. Presence, distribution and physiological function of adrenergic and muscarinic receptor subtypes in the human heart. *Basic Res Cardiol*. 2001 Nov;96(6):528-38. PubMed PMID: 11770070.

Cancela LM, Bregonzio C, Molina VA. Anxiolytic-like effect induced by chronic stress is reversed by naloxone pretreatment. *Brain Res Bull*. 1995;36(3):209-13. PubMed PMID: 7697372.

* Baseado em: International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical journals: Sample References [Internet]. Bethesda: US NLM; c2003 [atualizado 04 nov 2015; acesso em 25 jan 2017]. U.S. National Library of Medicine; [about 6 p.]. Disponível em: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Cannon JG. Inflammatory Cytokines in Nonpathological States. *News Physiol Sci*. 2000 Dec;15:298-303. PubMed PMID: 11390930.

Caplan DJ, Chasen JB, Krall EA, Cai J, Kang S, Garcia RI, et al. Lesions of Endodontic Origin and Risk of Coronary Heart Disease. *J dent res*. 2006;85(11):996-1000. doi: 10.1177/154405910608501104.

Caplan D. Epidemiologic issues in studies of association between apical periodontitis and systemic health. *Endodontic Topics*. 2004;8:15–35. doi:10.1111/j.1601-1546.2004.00087.x.

Chrousos GP. The hypothalamic-pituitary-adrenal and immune-mediated inflammation. *N Engl J Med*. 1995 May 18;332(20):1351-62. doi: 10.1056/NEJM199505183322008. PubMed PMID: 7715646.

de Oliveira KM, da Silva RA, K  chler EC, de Queiroz AM, Nelson Filho P, da Silva LA. Correlation between histomorphometric and micro-computed tomography analysis of periapical lesions in mice model. *Ultrastruct Pathol*. 2015 May;39(3):187-91. doi: 10.3109/01913123.2014.975389. PubMed PMID: 25569833.

De Vente W, Olff M, Van Amsterdam JGC, Kamphuis J, Emmelkamp P. Physiological differences between burnout patients and healthy controls: blood pressure, heart rate, and cortisol responses. *Occupational and Environmental Medicine*. 2003;60(Suppl 1):i54-i61. doi: 10.1136/oem.60.suppl_1.i54.

Dhabhar FS. Enhancing versus suppressive effects of stress on immune function: implications for immunoprotection and immunopathology. *Neuroimmunomodulation*. 2009;16(5):300-17. doi: 10.1159/000216188. PubMed PMID: 19571591.

Dhabhar FS. Stress-induced augmentation of immune function--the role of stress hormones, leukocyte trafficking, and cytokines. *Brain Behav Immun*. 2002 Dec;16(6):785-98. PubMed PMID: 12480507.

Ducy P, Amling M, Takeda S, Priemel M, Schilling AF, Beil FT, et al. Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass. *Cell*. 2000 Jan 21;100(2):197-207. PubMed PMID: 10660043.

Dumitrescu AL. Depression and Inflammatory Periodontal Disease Considerations- An Interdisciplinary Approach. *Front Psychol*. 2016 Mar 23;7:347. doi: 10.3389/fpsyg.2016.00347. eCollection 2016. PubMed PMID: 27047405.

Dunn MD, Park CH, Kostenuik PJ, Kapila S, Giannobile WV. Local delivery of osteoprotegerin inhibits mechanically mediated bone modeling in orthodontic tooth movement. *Bone*. 2007 Sep;41(3):446-55. doi: 10.1016/j.bone.2007.04.194. PubMed PMID: 17588510.

Eleftheriou F, Ahn JD, Takeda S, Starbuck M, Yang X, Liu X, et al. Leptin regulation of bone resorption by the sympathetic nervous system and CART. *Nature*. 2005 Mar 24;434(7032):514-20. doi: 10.1038/nature03398. PubMed PMID: 15724149.

ESH/ESC Task Force for the Management of Arterial Hypertension. 2013 Practice guidelines for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and the European Society of Cardiology (ESC): ESH/ESC Task Force for the Management of Arterial Hypertension. *J Hypertens*. 2013 Oct;31(10):1925-38. doi: 10.1097/HJH.0b013e328364ca4c. PubMed PMID: 24107724.

Ferretti C, Blengio M, Gamalero SR, Ghi P. Biochemical and behaviour changes induced by acute stress in a chronic variate stress model of depression: the effect of amitriptyline. *Eur J Pharmacol*. 1995 Jun 23;280(1):19-26. PubMed PMID: 7498250.

Fonseca TL, Jorgetti V, Costa CC, Capelo LP, Covarrubias AE, Moulatlet AC, et al. Double disruption of alpha2A- and alpha2C-adrenoceptors results in sympathetic hyperactivity and high-bone-mass phenotype. *J Bone Miner Res*. 2011 Mar;26(3):591-603. doi: 10.1002/jbmr.243. PubMed PMID: 20814988.

Fukada SY, Silva TA, Garlet GP, Rosa AL, da Silva JS, Cunha FQ. Factors involved in the T helper type 1 and type 2 cell commitment and osteoclast regulation in inflammatory apical diseases. *Oral Microbiol Immunol*. 2009 Feb;24(1):25-31. doi: 10.1111/j.1399-302X.2008.00469.x. PubMed PMID: 19121066.

Furchgott, RF. The receptors for epinephrine and norepinephrine (adrenergic receptors). *Pharmacol Rev*. 1959 Jun;11(2, Part 2):429-41; discussion 441-2. PubMed PMID: 13667424.

Garlet GP, Cardoso CR, Silva TA, Ferreira BR, Avila-Campos MJ, Cunha FQ, Silva JS. Cytokine pattern determines the progression of experimental periodontal disease induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* through the modulation of MMPs, RANKL, and their physiological inhibitors. *Oral Microbiol Immunol*. 2006 Feb;21(1):12-20. doi: 10.1111/j.1399-302X.2005.00245.x. PubMed PMID: 16390336.

Garlet TP, Coelho U, Silva JS, Garlet GP. Cytokine expression pattern in compression and tension sides of the periodontal ligament during orthodontic tooth movement in humans. *Eur J Oral Sci*. 2007 Oct;115(5):355-62. doi: 10.1111/j.1600-0722.2007.00469.x. PubMed PMID: 17850423.

Gaspersic R, Stiblar-Martincic D, Skaleric U. Influence of restraint stress on ligature-induced periodontitis in rats. *Eur J Oral Sci*. 2002 Apr;110(2):125-9. PubMed PMID: 12013555.

Genco RJ, Ho AW, Grossi SG, Dunford RG, Tedesco LA. Relationship of stress, distress and inadequate coping behaviors to periodontal disease. *J Periodontol*. 1999 Jul;70(7):711-23. doi: 10.1902/jop.1999.70.1.100. PubMed PMID: 10440631.

Goyal S, Gupta G, Thomas B, Bhat KM, Bhat GS. Stress and periodontal disease: The link and logic! *Ind Psychiatry J*. 2013;22(1):4-11. doi:10.4103/0972-6748.123585.

Graves DT, Oates T, Garlet GP. Review of osteoimmunology and the host response in endodontic and periodontal lesions. *J Oral Microbiol*. 2011 Jan 17;3. doi:10.3402/jom.v3i0.5304. PubMed PMID: 21547019.

Grossi SG, Genco RJ, Machtei EE, Ho AW, Koch G, Dunford R, et al. Assessment of risk for periodontal disease. II. Risk indicators for alveolar bone loss. *J Periodontol*. 1995 Jan;66(1):23-9. doi:10.1902/jop.1995.66.1.23. PubMed PMID: 7891246.

Grossi SG, Zambon JJ, Ho AW, Koch G, Dunford RG, Machtei EE, et al. Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. *J Periodontol*. 1994 Mar;65(3):260-7. doi: 10.1902/jop.1994.65.3.260. PubMed PMID: 8164120.

Grover HS, Gupta A, Saksena N, Saini N. Phentolamine mesylate: It's role as a reversal agent for unwarranted prolonged local analgesia. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*. 2015 Oct-Dec;33(4):265-8. doi: 10.4103/0970-4388.165646. PubMed PMID: 26381625.

Gupta OP, Tiwarri OS, Salimeno T Jr, Allen DR. Neuropsychiatric disorders and periodontal disease. *Ann Dent*. 1993 Winter;52(2):28-33. PubMed PMID: 8267376.

Harada S, Rodan GA. Control of osteoblast function and regulation of bone mass. *Nature*. 2003 May 15;423(6937):349-55. doi: 10.1038/nature01660. PubMed PMID: 12748654.

Hofbauer LC, Neubauer A, Heufelder AE. Receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin: potential implications for the pathogenesis and treatment of malignant bone diseases. *Cancer*. 2001 Aug 1;92(3):460-70. PubMed PMID: 11505389.

Jacobs R, Pawlak CR, Mikeska E, Meyer-Olson D, Martin M, Heijnen CJ, et al. Systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis patients differ from healthy controls in their cytokine pattern after stress exposure. *Rheumatology (Oxford)*. 2001 Aug;40(8):868-75. PubMed PMID: 11511755.

Jin Q, Cirelli JA, Park CH, Sugai JV, Taba M Jr, Kostenuik PJ, et al. RANKL inhibition through osteoprotegerin blocks bone loss in experimental periodontitis. *J Periodontol*. 2007 Jul;78(7):1300-8. doi: 10.1902/jop.2007.070073. PubMed PMID: 17608585.

Joëls M, Baram TZ. The neuro-symphony of stress. *Nat Rev Neurosci*. 2009 Jun;10(6):459-66. doi: 10.1038/nrn2632. doi: 10.1038/nrn2632. PubMed PMID: 19339973.

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 Jul;49(4):414-24. doi: 10.1597/10-121. PubMed PMID: 21740166.

Kawashima N, Stashenko P. Expression of bone-resorptive and regulatory cytokines in murine periapical inflammation *Arch Oral Biol*. 1999 Jan;44(1):55-66. PubMed PMID: 10075151.

Kawashima N, Suzuki N, Yang G, Ohi C, Okuhara S, Nakano-Kawanishi H, et al. Kinetics of RANKL, RANK and OPG expressions in experimentally induced rat periapical lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2007 May;103(5):707-11. doi: 10.1016/j.tripleo.2006.11.036. PubMed PMID: 17336108.

Kemeny ME, Schedlowski M. Understanding the interaction between psychosocial stress and immune-related diseases: a stepwise progression. *Brain Behav Immun*. 2007 Nov;21(8):1009-18. doi: 10.1016/j.bbi.2007.07.010. PubMed PMID: 17889502.

Kondo A, Togari A. In vivo stimulation of sympathetic nervous system modulates osteoblastic activity in mouse calvaria. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2003 Sep;285(3):E661-7. doi: 10.1152/ajpendo.00026.2003. PubMed PMID: 12900383.

Lamkin DM, Sung HY, Yang GS, David JM, Ma JC, Cole SW, Sloan EK. α 2-adrenergic blockade mimics the enhancing effect of chronic stress on breast cancer progression. *Psychoneuroendocrinology*. 2015;51:262-270. doi:10.1016/j.psyneuen.2014.10.004. PubMed PMID: 25462899.

Li M, Yao W, Li S, Xi J. Norepinephrine induces the expression of interleukin-6 via beta-adrenoreceptor-NAD(P)H oxidase system -NF-kappaB dependent signal pathway in U937 macrophages. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015 May 15;460(4):1029-34. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.02.172. PubMed PMID: 25843793.

Liapatas S, Nakou M, Rontogianni D. Inflammatory infiltrate of chronic periradicular lesions: an immunohistochemical study. *Int Endod J*. 2003 Jul;36(7):464-71. PubMed PMID: 12823701.

Lowrance SA, Ionadi A, McKay E, Douglas X, Johnson JD. Sympathetic nervous system contributes to enhanced corticosterone levels following chronic stress. *Psychoneuroendocrinology*. 2016 Jun;68:163-70. doi: 10.1016/j.psyneuen.2016.02.027. PubMed PMID: 26974501.

Lu H, Xu M, Wang F, Liu S, Gu J, Lin S. Chronic stress enhances progression of periodontitis via alpha1-adrenergic signaling: a potential target for periodontal disease therapy. *Exp Mol Med*. 2014 Oct 17;46:e118. doi: 10.1038/emm.2014.65. PubMed PMID: 25323788.

Lu XT, Zhao YX, Zhang Y, Jiang F. Psychological stress, vascular inflammation, and atherogenesis: potential roles of circulating cytokines. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2013 Jul;62(1):6-12. doi: 10.1097/FJC.0b013e3182858fac. doi: 10.1097/FJC.0b013e3182858fac. PubMed PMID: 23318990.

Marenzana M, De Souza RL, Chenu C. Blockade of beta-adrenergic signaling does not influence the bone mechano-adaptive response in mice. *Bone*. 2007 Aug;41(2):206-15. doi: 10.1016/j.bone.2007.04.184. PubMed PMID: 17543595.

Martins LG. Influência do sistema nervoso simpático na periodontite induzida e em glândula salivar de ratos [dissertação]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, UNESP – Univ Estadual Paulista; 2011.

Marvar PJ, Lob H, Vinh A, Zarreen F, Harrison DG. The central nervous system and inflammation in hypertension. *Curr Opin Pharmacol*. 2011 Apr;11(2):156-61. doi: 10.1016/j.coph.2010.12.001. PubMed PMID: 21196131.

Menezes R, Bramante CM, da Silva Paiva KB, Letra A, Carneiro E, Fernando Zambuzzi W, et al. Receptor activator NFkappaB-ligand and osteoprotegerin protein expression in human periapical cysts and granulomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006 Sep;102(3):404-9. doi: 10.1016/j.tripleo.2005.10.054. PubMed PMID: 16920551.

Monteiro da Silva AM, Oakley DA, Newman HN, Nohl FS, Lloyd HM. Psychosocial factors and adult onset rapidly progressive periodontitis. *J Clin Periodontol*. 1996 Aug;23(8):789-94. PubMed PMID: 8877667.

Moore RE, Smith CK 2nd, Bailey CS, Voelkel EF, Tashjian AH Jr. Characterization of beta-adrenergic receptors on rat and human osteoblast-like cells and demonstration that beta-receptor agonists can stimulate bone resorption in organ culture. *Bone Miner*. 1993 Dec;23(3):301-15. PubMed PMID: 7908582.

Moss ME, Beck JD, Kaplan BH, Offenbacher S, Weintraub JA, Koch GG, et al. Exploratory case-control analysis of psychosocial factors and adult periodontitis. *J Periodontol*. 1996 Oct;67(10 Suppl):1060-9. doi: 10.1902/jop.1996.67.10s.1060. PubMed PMID: 8910824.

Nagatsu T, Levitt M, Udenfriend S. Tyrosine hydroxylase. The initial step in norepinephrine biosynthesis. *J Biol Chem*. 1964 Sep;239:2910-7. PubMed PMID: 14216443.

Nagatsu T. Tyrosine hydroxylase: human isoforms, structure and regulation in physiology and pathology. *Essays Biochem*. 1995;30:15-35. PubMed PMID: 8822146.

Nance DM, Sanders VM. Autonomic innervation and regulation of the immune system (1987-2007). *Brain Behav Immun*. 2007 Aug;21(6):736-45. doi: 10.1016/j.bbi.2007.03.008. PubMed PMID: 17467231.

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 Apr;147(4):2008-17. doi: 10.1210/en.2005-1041. PubMed PMID: 16396985.

Pahl HL. Activators and target genes of Rel/NF-kappaB transcription factors. *Oncogene*. 1999 Nov 22;18(49):6853-66. doi: 10.1038/sj.onc.1203239. PubMed PMID: 10602461.

Peruzzo DC, Benatti BB, Ambrosano GM, 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 Aug;78(8):1491-504. doi: 10.1902/jop.2007.060371. PubMed PMID: 17668968.

Preshaw PM, Bissett SM. Periodontitis and diabetes: a two-way relationship. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2013 Dec;42(4):849-67. doi: 10.1016/j.ecl.2013.05.012. PubMed PMID: 24286953.

Prieto AKC, Gomes-Filho JE, Azuma MM, Sivieri-Araújo G, Narciso LG, Souza JC, et al. Influence of Apical Periodontitis on Stress Oxidative Parameters in Diabetic Rats. *J Endod*. 2017 Oct;43(10):1651-1656. doi: 10.1016/j.joen.2017.05.014. PubMed PMID: 28756960.

Pruett SB. Stress and the immune system. *Pathophysiology*. 2003 May;9(3):133-153. PubMed PMID: 14567930.

Rasmussen SG, DeVree BT, Zou Y, Kruse AC, Chung KY, Kobilka TS, et al. Crystal structure of the β_2 adrenergic receptor-Gs protein complex. *Nature*. 2011 Jul 19;477(7366):549-55. doi: 10.1038/nature10361. PubMed PMID: 21772288.

Ricucci D, Mannocci F, Ford TR. A study of periapical lesions correlating the presence of a radiopaque lamina with histological findings. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006 Mar;101(3):389-94. doi: 10.1016/j.tripleo.2005.08.026. PubMed PMID: 16504874.

Rosania AE, Low KG, McCormick CM, Rosania DA. Stress, depression, cortisol, and periodontal disease. *J Periodontol*. 2009 Feb;80(2):260-6. doi: 10.1902/jop.2009.080334. PubMed PMID: 19186966.

Sabbah W, Tsakos G, Chandola T, Newton T, Kawachi I, Sheiham A, et al. The relationship between social network, social support and periodontal disease among older Americans. *J Clin Periodontol*. 2011 Jun;38(6):547-52. doi: 10.1111/j.1600-051X.2011.01713.x. PubMed PMID: 21362014.

Sabeti M, Simon J, Kermani V, Valles Y, Rostein I. Detection of receptor activator of NF-kappa beta ligand in apical periodontitis. *J Endod*. 2005 Jan;31(1):17-8. PubMed PMID: 15613999.

Samuel RO, Gomes-Filho JE, Azuma MM, Sumida DH, de Oliveira SHP, Chiba FY, et al. Endodontic infections increase leukocyte and lymphocyte levels in the blood. *Clin Oral Investig*. 2017 Oct 11. doi: 10.1007/s00784-017-2222-z. Epub ahead of print] PubMed PMID: 29022128.

Sapolsky RM, Romero LM, Munck AU. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocr Rev.* 2000 Feb;21(1):55-89. doi: 10.1210/edrv.21.1.0389. PubMed PMID: 10696570.

Scales BS, Huffnagle GB. The microbiome in wound repair and tissue fibrosis. *J Pathol.* 2013 Jan;229(2):323-31. doi: 10.1002/path.4118. PubMed PMID: 23042513.

Segura-Egea JJ, Martín-González J, Castellanos-Cosano L. Endodontic medicine: connections between apical periodontitis and systemic diseases. *Int Endod J.* 2015 Oct;48(10):933-51. doi: 10.1111/iej.12507. PubMed PMID: 26174809.

Shapira L, Frolov I, Halabi A, Ben-Nathan D. Experimental stress suppresses recruitment of macrophages but enhanced their *P. gingivalis* LPS-stimulated secretion of nitric oxide. *J Periodontol.* 2000 Mar;71(3):476-81. doi: 10.1902/jop.2000.71.3.476. PubMed PMID: 10776937.

Shapira L, Houry-Haddad Y, Frolov I, Halabi A, Ben-Nathan D. The effect of stress on the inflammatory response to *Porphyromonas gingivalis* in a mouse subcutaneous chamber model. *J Periodontol.* 1999 Mar;70(3):289-93. doi: 10.1902/jop.1999.70.3.289. PubMed PMID: 10225545.

Simch RP, Gaio EJ, Rosing CK. Effect of body weight in the pathogenesis of ligature-induced periodontal disease in Wistar rats. *Acta Odontol Scand.* 2008 Jun;66(3):130-4. doi: 10.1080/00016350802004672. PubMed PMID: 18568470.

Siniscalchi M, Sasso R, Pepe AM, Dimatteo S, Vallortigara G, Quaranta A. Catecholamine plasma levels following immune stimulation with rabies vaccine in dogs selected for their paw preferences. *Neurosci Lett.* 2010 Jun 7;476(3):142-5. doi: 10.1016/j.neulet.2010.04.016. PubMed PMID: 20398737.

Siqueira JF, Rôças IN. Present status and future directions in endodontic microbiology. *Endod Topics.* 2014;30:3–22. doi:10.1111/etp.12060.

Soletti AC, Gaio EJ, Rosing CK. Effect of neonatal clomipramine in the pathogenesis of ligature-induced periodontitis in Lewis rats. *Acta Odontol Scand.* 2009;67(2):94-8. doi: 10.1080/00016350802683822. PubMed PMID: 19169913.

Stashenko P, Teles R, D'Souza R. Periapical inflammatory responses and their modulation. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1998;9(4):498-521. PubMed PMID: 9825224.

Stashenko P, Yu SM, Wang CY. Kinetics of immune cell and bone resorptive responses to endodontic infections. *J Endod.* 1992 Sep;18(9):422-6. doi: 10.1016/S0099-2399(06)80841-1. PubMed PMID: 9796508.

Takeda S, Eleftheriou F, Levasseur R, Liu X, Zhao L, Parker KL, et al. Leptin regulates bone formation via the sympathetic nervous system. *Cell.* 2002 Nov 1;111(3):305-17. PubMed PMID: 12419242.

Takeuchi T, Tsuboi T, Arai M, Togari A. Adrenergic stimulation of osteoclastogenesis mediated by expression of osteoclast differentiation factor in MC3T3-E1 osteoblast-like cells. *Biochem Pharmacol*. 2001 Mar 1;61(5):579-86. PubMed PMID: 11239501.

Tay JY, Bay BH, Yeo JF, Harris M, Meghji S, Dheen ST. Identification of RANKL in osteolytic lesions of the facial skeleton. *J Dent Res*. 2004 Apr;83(4):349-53. doi: 10.1177/154405910408300415. PubMed PMID: 15044512.

Teitelbaum SL. Bone resorption by osteoclasts. *Science*. 2000 Sep 1;289(5484):1504-8. PubMed PMID: 10968780.

Thaker PH, Han LY, Kamat AA, Arevalo JM, Takahashi R, Lu C, et al. Chronic stress promotes tumor growth and angiogenesis in a mouse model of ovarian carcinoma. *Nat Med*. 2006 Aug;12(8):939-44. doi: 10.1038/nm1447. PubMed PMID: 16862152.

Theill LE, Boyle WJ, Penninger JM. RANK-L and RANK: T cells, bone loss, and mammalian evolution. *Annu Rev Immunol*. 2002;20:795-823. doi: 10.1146/annurev.immunol.20.100301.064753. PubMed PMID: 11861618.

Togari A, Arai M, Kondo A. The role of the sympathetic nervous system in controlling bone metabolism. *Expert Opin Ther Targets*. 2005 Oct;9(5):931-40. doi: 10.1517/14728222.9.5.931. PubMed PMID: 16185149.

Togari A. Adrenergic regulation of bone metabolism: possible involvement of sympathetic innervation of osteoblastic and osteoclastic cells. *Microsc Res Tech*. 2002 Jul 15;58(2):77-84. doi: 10.1002/jemt.10121. PubMed PMID: 12203706.

Vernal R, Dezerega A, Dutzan N, Chaparro A, León R, Chandía S, et al. RANKL in human periapical granuloma: possible involvement in periapical bone destruction. *Oral Dis*. 2006 May;12(3):283-9. doi: 10.1111/j.1601-0825.2005.01191.x PubMed PMID: 16700737.

von Stechow D, Balto K, Stashenko P, Müller R. Three-dimensional quantitation of periradicular bone destruction by micro-computed tomography. *J Endod*. 2003 Apr;29(4):252-6. doi: 10.1097/00004770-200304000-00005. PubMed PMID: 12701773.

Webster Marketon JI, Glaser R. Stress hormones and immune function. *Cell Immunol*. 2008 Mar-Apr;252(1-2):16-26. doi: 10.1016/j.cellimm.2007.09.006. PubMed PMID: 18279846.

Zelena D, Haller J, Halász J, Makara GB. Social stress of variable intensity: physiological and behavioral consequences. *Brain Res Bull*. 1999 Feb;48(3):297-302. PubMed PMID: 10229337.

ANEXO A – Comprovante de artigo publicado

Your recent submission to JOE

1 mensagem

The Journal of Endodontics <eesserver@eesmail.elsevier.com>
 Responder a: The Journal of Endodontics <hargreaves@uthscsa.edu>
 Para: rayana.khoury@gmail.com

9 de novembro de 2017 15:43

Dear Dr. Rayana Khoury,

You have been listed as a Co-Author of the following submission:

Journal: Journal of Endodontics
 Corresponding Author: Marcia Valera
 Co-Authors: Rayana D Khoury, MS Student; Felipe S Matos, PhD student; Renata F Prado, PhD; Claudio Antonio T Carvalho, PhD; Flávia Goulart R Cardoso, PhD;
 Title: EFFECT OF CHRONIC STRESS IN THE PROGRESSION OF PERIAPICAL LESION

If you did not co-author this submission, please contact the Corresponding Author of this submission at marcia@fosjc.unesp.br; do not follow the link below.

An Open Researcher and Contributor ID (ORCID) is a unique digital identifier to which you can link your published articles and other professional activities, providing a single record of all your research.

We would like to invite you to link your ORCID ID to this submission. If the submission is accepted, your ORCID ID will be linked to the final published article and transferred to CrossRef. Your ORCID account will also be updated.

To do this, visit our dedicated page in EES. There you can link to an existing ORCID ID or register for one and link the submission to it:

<https://ees.elsevier.com/joe/l.asp?i=134900&l=U7EIJBNH>

More information on ORCID can be found on the ORCID website, <http://www.ORCID.org>, or on our help page: http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/2210/p/7923

Like other Publishers, Elsevier supports ORCID - an open, non-profit, community based effort - and has adapted its submission system to enable authors and co-authors to connect their submissions to their unique ORCID IDs.

Thank you,

Journal of Endodontics

ANEXO B – Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa



CERTIFICAMOS, que a proposta intitulada **"O Estresse crônico e a via de sinalização adrenérgica na progressão da periapicopatia e na reintegração pós-reimplante dentário: Um alvo terapêutico potencial?"** registrada com o nº 001 /2016 , sob a responsabilidade de **RENATA FALCHETE DO PRADO** e que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899 de 15 de julho de 2009 e com as Normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela **COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS** (CEUA – ICT – CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS CAMPOS-UNESP), em reunião de 11/03/2016.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da Autorização	01/04/2016 a 30/11/2017
Espécie/linhagem/raça	Rato/heterogênico Wistar
Nº de Animais	112
Peso/idade	400 grs / 90 dias
Sexo	MACHO
Origem	Biotério Central – Campus de Botucatu-UNESP

São José dos Campos, 11 de março de 2016


 Profa.Dra. **CRISTIANE YUMI KOGA ITO**
 Vice- Coordenadora

Av. Eng. Francisco José Longo, 777 – Jd. São Dimas
 CEP 12201-970 – F. (12) 3947-9028 / 9076
 Fax (12) 3947-9010 / guedes@fosjc.unesp.br / komori@fosjc.unesp.br