

EFEITO DO ESTRESSE CRÔNICO E BENZODIAZEPÍNICOS NO REPARO ÓSSEO: ESTUDO HISTOLÓGICO EM RATOS

EFFECT OF CHRONIC STRESS AND BENZODIAZEPINES ON BONE REPAIR: HISTOLOGIC STUDY IN RATS

Maria Cristina Rosifini **ALVES-REZENDE**¹
Ricardo **KUSUDA**²
Gustavo Galhego **MARI**³
Luciana Mara Negrão **ALVES**⁴
Márcio Leandro Von Dreiffus **MARINHO**⁴
Renata Callestini **FELIPINI**¹
Roberta **OKAMOTO**¹
Tetuo **OKAMOTO**¹
Luís Guilherme Rosifini **ALVES-REZENDE**⁵
Tales Cândido **GARCIA-DA-SILVA**⁶
Ana Paula Rosifini **ALVES-CLARO**¹

RESUMO

Aceita-se o estresse como um fator ambiental capaz de predispor o indivíduo à depressão. Os benzodiazepínicos têm sido prescritos como drogas eficazes nessas situações. O propósito deste trabalho foi estudar histologicamente o efeito do estresse crônico e drogas benzodiazepínicas sobre o reparo ósseo. Cavidades ósseas foram criadas em ambas as tíbias de 40 ratos machos, divididos em 2 grupos: Controle e Tratado. Neste, o estímulo estressor foi aplicado nos 40 dias pré-operatórios e em todos os dias pós-operatórios até o sacrifício, pela manhã por 2 horas, por meio da imobilização por contenção. Esses animais também receberam benzodiazepínico do grupo Diazepam, diariamente, na concentração de 5mg/Kg/peso corporal nos 15 dias pré-operatórios. Em grupos de cinco, os animais foram sacrificados aos 7, 14, 30 e 60 dias pós-operatórios. Aos 7 dias pós-operatórios, enquanto o grupo controle exibia tecido conjuntivo rico em fibroblastos, o grupo tratado mostrava tecido conjuntivo neoformado, com escassos fibroblastos e vasos capilares ao lado de linfócitos e macrófagos. Aos 14 dias pós-operatórios, o Grupo Controle exibiu trabeculado ósseo neoformado enquanto o Grupo Tratado evoluiu para trabéculas ósseas delgadas, com numerosos osteoblastos em suas bordas. Aos 30 dias pós-operatórios a reparação óssea está completa em ambos os grupos. Aos 60 dias pós-operatórios as características observadas nos grupos controle e tratado são semelhantes ao período anterior, porém com osteogênese mais avançada.

UNITERMOS: Sistema hipotálamo-hipofisário, Sistema hipófise-supra-renal, Moduladores do Gaba, Cicatrização de feridas

INTRODUÇÃO

No início do século XX Selye descreveu um padrão estereotipado de respostas fisiológicas, caracterizado por reações de alarme, adaptação e esgotamento, apresentado pelos organismos frente a estímulos sensoriais ou psicológicos, ao qual ele denominou estresse^{5,40}.

Aceita-se o estresse como um dos principais fatores ambientais capazes de predispor o indivíduo à depressão^{2,14,27}. Post³⁸ afirma que em cerca de 60% dos casos os episódios depressivos são precedidos

pela ocorrência de fatores estressantes, principalmente de origem psicossocial. Kendler et al.²⁶ sugerem que fatores genéticos aumentem a sensibilidade individual a eventos estressantes.

Em pacientes deprimidos, o controle inibitório da atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal parece estar comprometido^{19,20,24,28}. Starkman et al.⁴⁴ lembram que indivíduos com síndrome de Cushing apresentam déficits cognitivos e alterações na estrutura e função hipocâmpais, semelhantes às aquelas encontradas em pacientes deprimidos. Inúmeras

1 - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Unesp

2 - Programa de Pós Graduação em Fisiologia/ Faculdade de Medicina/ Universidade de São Paulo

3 - Cirurgião-Dentista – Graduado pela Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Unesp

4 - Programa de Pós-Graduação em Odontologia/ Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Unesp

5 - Curso de Medicina – Universidade de Ribeirão Preto, São Paulo

6 - Curso de Odontologia – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Unesp

evidências favorecem a hipótese de que a neurotransmissão serotoninérgica seja sensível a diferentes estresses e que esteja envolvida com os processos de adaptação a eventos aversivos^{17,18,34}.

Para Sapolsky³⁹ os efeitos deletérios do estresse crônico também podem ser observados no Sistema Nervoso Central (SNC), sendo que o hipocampo parece ser a área cerebral mais afetada, devido à grande quantidade de receptores para os hormônios glicocorticóides, os esteróides do estresse. Além de sua vulnerabilidade, o hipocampo é uma estrutura muito plástica e adaptável, capaz de uma reorganização estrutural considerável, como por exemplo, o remodelamento de dendritos e mesmo neurogênese de neurônios granulares no giro denteado em resposta ao estresse prolongado^{30,31,32,33,46}.

Brown et al.¹³ sugerem forte correlação entre elevados níveis de cortisol, depressão, atrofia hipocampal e prejuízo cognitivo. A redução do volume hipocampal tem sido observada em estudos de imagem (MRI) em pacientes com depressão⁴², bem como em pacientes portadores de distúrbios de estresse pós-traumático (PTSD)^{10,11}, nos quais a atrofia hipocampal pode levar às conseqüências cognitivas, tais como prejuízos na memória explícita^{9,12}.

No início dos anos 60, foram introduzidos na terapêutica os derivados benzodiazepínicos (BZD), que por sua grande eficácia, relativa seletividade de efeitos, baixíssima toxicidade e menor capacidade de produzirem dependência, representam um avanço considerável no tratamento farmacológico da ansiedade, justificando a denominação de drogas ansiolíticas²². Os benzodiazepínicos (BZD), além da ação ansiolítica, têm ação sedativa e anti-convulsivante. A ação ansiolítica é ligada à mudanças na excitabilidade das estruturas límbicas; já a ação sedativa deve-se a uma depressão geral da atividade neuronal.

Atribui-se ao GABA (ácido gama-aminobutírico), principal neurotransmissor inibitório do sistema nervoso central (SNC), envolvimento importantíssimo nos processos de ansiedade. Presente em quase todas as regiões do cérebro, apresenta concentração variada conforme a região. A inibição da síntese do GABA ou o bloqueio de seus neurotransmissores no SNC, resultam em estimulação intensa, manifestada através de convulsões generalizadas. A relação entre o GABA e a ansiedade evidencia-se no fato de que todos os ansiolíticos conhecidos, afora o meprobamato, facilitam sua ação. Seu efeito ansiolítico seria fruto de alterações provocadas em diversas estruturas do sistema límbico, inclusive a amígdala e o hipocampo. Ao se combinar com o receptor, o neurotransmissor GABA altera-lhe a conformação e essa deformação transmite-se ao canal de cloro, abrindo-o. Em conseqüência, íons cloro penetram na célula, onde sua concentração é menor que no exterior. Com isso ocorre hiperpolarização da membrana pós-sináptica que inibe os disparos do neurônio pós-sináptico por dificultar a despolarização

de sua membrana, necessária à geração de impulso nervoso. Ao se combinarem com seus receptores, os benzodiazepínicos (BZD) produzem uma deformação que afeta o receptor de GABA, tornando-o mais apto a receber esse neurotransmissor. Em decorrência de sua maior afinidade com seu receptor, o GABA tem sua ação ampliada, passando a ativar com mais facilidade o canal de cloro^{6,7,16,21,22,23,36,37}.

A cicatrização de uma ferida é um mecanismo primário de sobrevivência, perfeitamente ajustada ao coágulo de fibrina inicialmente formado. O reparo de cavidades ósseas pode ser morfológicamente dividido em três fases: exsudativa (caracterizada pela formação do coágulo de fibrina), proliferativa (marcada pela proliferação fibroblástica e capilar) e reparadora (com síntese de colágeno e ossificação)¹.

Tem sido sugerido que o estresse provoca aumento da fibrinólise, graças à ação das catecolaminas sobre as células endoteliais, estimulando a liberação dos ativadores de plasminogênio⁸.

O equilíbrio dos mecanismos de hemostasia e fibrinólise joga um papel fundamental no curso natural da reparação dos tecidos. Durante a coagulação sanguínea, graças a um intrincado mecanismo enzimático em cascata, fatores ou proteínas plasmáticas, fatores plaquetários e fatores teciduais se combinam para converter, na presença de íons cálcio, a protrobina em trombina, a qual por sua vez converte o fibrinogênio em fibrina⁴⁵.

Por outro lado, atuando antagônica e harmonicamente ao mecanismo de coagulação sanguínea, o sistema enzimático fibrinolítico representa um processo dinâmico na dissolução do coágulo sanguíneo pelo organismo. O sistema fibrinolítico pode ser descrito como um mecanismo formado por ativadores (ativadores do plasminogênio) que atuam sobre o plasminogênio, uma enzima proteolítica relativamente inativa, resultando na ativação da plasmina, enzima proteolítica ativa. Regulados por inibidores que ocorrem naturalmente no plasma (os antiativadores), os ativadores do plasminogênio são encontrados em todos os fluidos corporais, incluindo urina, fluido gengival e saliva^{29,35}. Em contrapartida, a atividade plasmínica está sob controle de um grupo de alfa-globulinas presentes no plasma circulante: as antiplasminas⁴³.

Quando na coagulação sanguínea a fibrina é formada, o ativador do plasminogênio e a plasmina são adsorvidos ao coágulo de modo sequencial e ordenado. A fibrina aumenta essencialmente a concentração local de plasminogênio por criar uma interação adicional entre o ativador de plasminogênio e seu substrato. Na presença de fibrina, a afinidade entre o ativador de plasminogênio e o plasminogênio é bastante elevada, indicando que uma eficiente ativação pode ocorrer⁴¹.

Alves-Rezende e Okamoto³ verificaram experimentalmente em alvéolos dentais de ratos,

ação depressora do estresse agudo pré e pós-operatório sobre a cicatrização da ferida alveolar, graças à desorganização do coágulo sanguíneo. Estes autores relacionaram tais achados à fibrinólise sistêmica (disparada pelos ativadores do plasminogênio liberados pelas células endoteliais em resposta ao aumento das catecolaminas) e local (disparada pelos ativadores do plasminogênio presentes na saliva e fluido gengival ou liberados pelas células lesadas no ato cirúrgico).

Alves-Rezende e Okamoto²⁻⁴ destacam que o aumento da fibrinólise no estresse estaria diretamente relacionado ao aumento maciço dos níveis dos ativadores do plasminogênio, os quais, incorporados ao coágulo sanguíneo, explicariam sua dissolução e/ou desorganização.

Alves-Rezende et al.² observaram significativo atraso na reparação de ferida óssea de ratos submetidos a estresse crônico.

Bombonato⁸ observou atraso significativo na formação de tecido ósseo em alvéolos dentais de ratos estressados cronicamente, por duas horas diárias, nos cinco dias pós-operatórios até o ato sacrifício. Outrossim observou também aceleração média em torno de 25% na reabsorção do coágulo sanguíneo de alvéolos dentais de ratos tratados com benzodiazepínicos (BZD). Verificou ainda que o atraso médio na neoformação óssea foi de apenas 9%, demonstrando que esta droga, quando administrada nas doses habituais, apresenta uma excelente tolerância pelo organismo, interferindo muito pouco na cicatrização alveolar. Resultados semelhantes foram encontrados por Alves-Rezende et al.¹ e Kohatsu et al.²⁵

Considerando o grande número de pacientes estressados, que fazem uso habitual de ansiolíticos benzodiazepínicos, submetidos às cirurgias bucais, o propósito deste trabalho foi estudar histologicamente o efeito de benzodiazepínicos (BZD) sobre o reparo de defeitos ósseos em tíbias de ratos sob estresse crônico.

MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizados 40 ratos machos (*Rattus norvegicus*, variedade Wistar), com peso entre 150 e 200 gramas. Durante todo o período experimental os animais foram alimentados com ração granulada Produtor (Anderson Clayton S.A.) e água à vontade, e mantidos em caixas plásticas de 40x32x17 cm, em condições controladas de iluminação (12 horas de luz/ 12 horas de escuro) e temperatura (21 a 25°C).

Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos com vinte animais cada que receberam os seguintes tratamentos:

Grupo 1: ratos controle submetidos à realização de defeitos ósseos experimentais em ambas as tíbias;

Grupo 2: ratos submetidos a estresse crônico e tratados com benzodiazepínicos submetidos à realização de defeitos ósseos experimentais em ambas as tíbias.

Os animais do Grupo 2 receberam estímulo estressor durante 2 horas diárias no período da manhã por imobilização em tubos de PVC conforme metodologia proposta por Alves-Rezende e Okamoto^{1,2,3,4}, nos quarenta dias pré-operatórios e em todos os dias pós-operatórios até o sacrifício. Esses animais também receberam benzodiazepínico do grupo Diazepam (Valium, Roche, Rio de Janeiro, Brasil), na dosagem de 5 mg/Kg de peso corporal, nos quinze dias pré-operatórios que antecederam o ato cirúrgico. A droga foi administrada por via intraperitoneal sempre às 08:00 horas da manhã.

Para os procedimentos cirúrgicos os animais foram pesados, sedados e anestesiados com solução composta de 1,0ml de cloridrato de tiazina – Rompum Bayer S.A. (0,02 g do sal) e 0,5ml de Ketamina – Dopalen – Agribands do Brasil Ltda (0,05g do sal), administrados lentamente via intramuscular, com seringa descartável, na dosagem de 0,1ml para cada 100g de massa corpórea. Após tricotomia foram submetidos a incisão de aproximadamente 1,5cm com divulsão da tela subcutânea e do tecido muscular. Atingida a tíbia e realizou-se a osteotomia com broca esférica carbide número 7004, montada em alta rotação, sob refrigeração constante; o defeito ósseo foi aproximadamente do mesmo diâmetro da broca. Após a osteotomia fez-se a lavagem do defeito produzido com cloreto de sódio estéril e sutura convencional com fio mononylon 4-0.

Em grupos de cinco, os animais foram sacrificados aos 7,14,30 e 60 dias pós-operatórios. Após o sacrifício, ambas as tíbias foram seccionadas com tesoura de ponta romba e, após a remoção dos excessos de tecidos duros e moles, foram fixadas em formalina a 10%. A seguir, foram descalcificadas em solução de citrato de sódio e ácido fórmico em partes iguais, e incluídas em parafina para possibilitar a microtomia. Os cortes semi-seriados com 6 micrometros de espessura foram corados com hematoxilina-eosina para estudo histológico.

RESULTADOS

7 dias pós-operatórios

O grupo controle exhibe a cavidade cirúrgica preenchida por tecido conjuntivo denso, rico em fibroblastos, permeado por delicadas trabéculas ósseas neoformadas (Figura 1). No grupo tratado é possível observar pequena área de coágulo sanguíneo desorganizado ao lado de tecido conjuntivo denso, permeado por moderado número de fibroblastos (Figura 2).

14 dias pós-operatórios

As lojas cirúrgicas encontram-se preenchidas por tecido ósseo neoformado no Grupo Controle e trabéculas ósseas delgadas, com numerosos osteoblastos em suas bordas no Grupo Tratado (Figuras 3 e 4).

30 dias pós-operatórios

A reparação óssea está completa e as cavidades cirúrgicas encontram-se totalmente preenchidas por tecido ósseo secundário nos grupos controle e tratado (Figuras 5 e 6).

60 dias pós-operatórios

As características observadas nos grupos controle e tratado são semelhantes ao período anterior, porém com osteogênese mais avançada (Figuras 7 e 8).

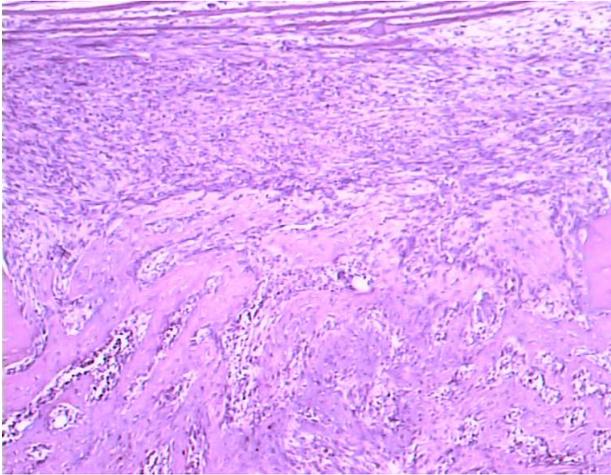


Figura 1 – Grupo Controle - 07 dias - 10x

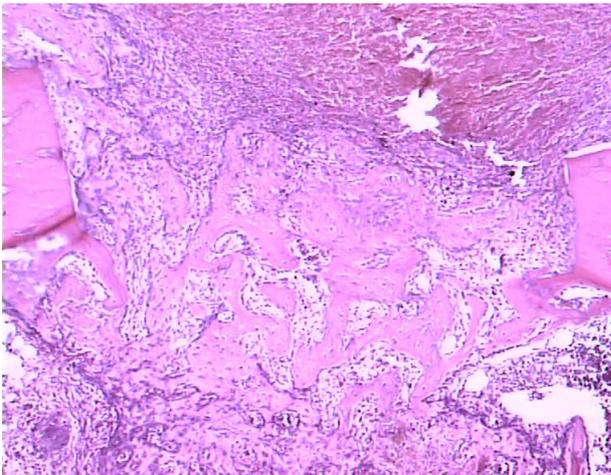


Figura 2 – Grupo Tratado - 07 dias - 10x

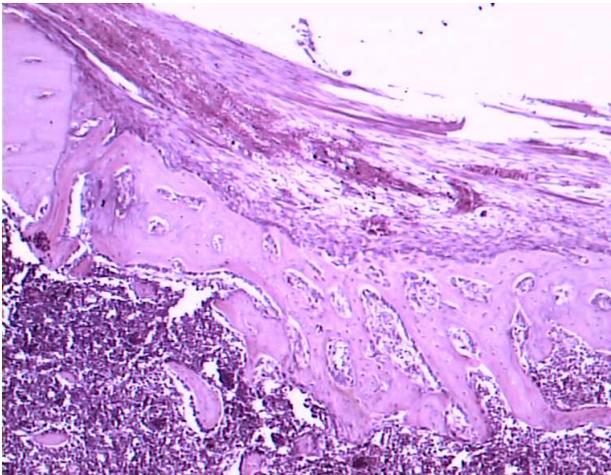


Figura 3 – Grupo Controle - 14 dias - 10x

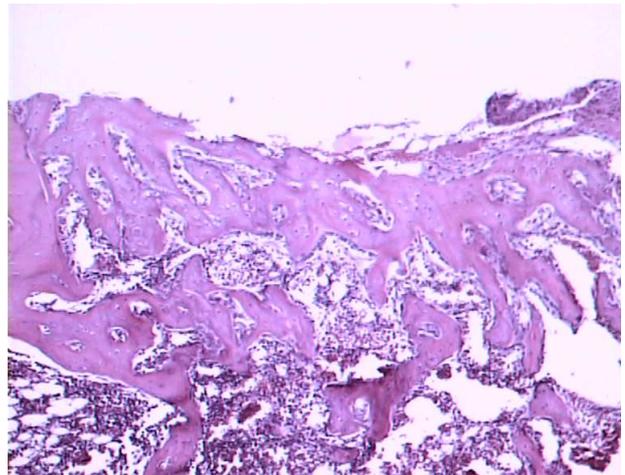


Figura 4 – Grupo Tratado - 14 dias - 10x

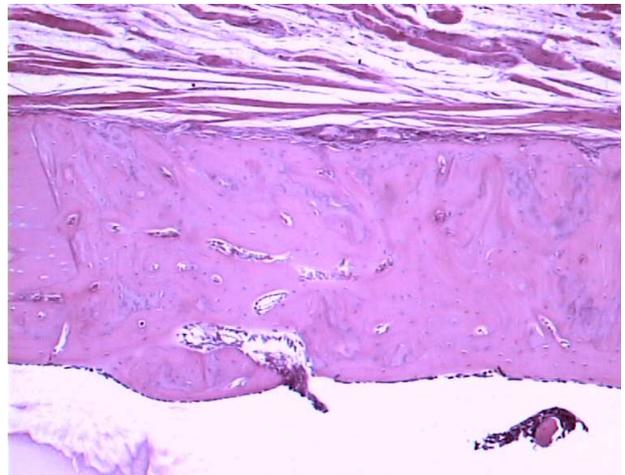


Figura 5 – Grupo Controle - 30 dias - 10x

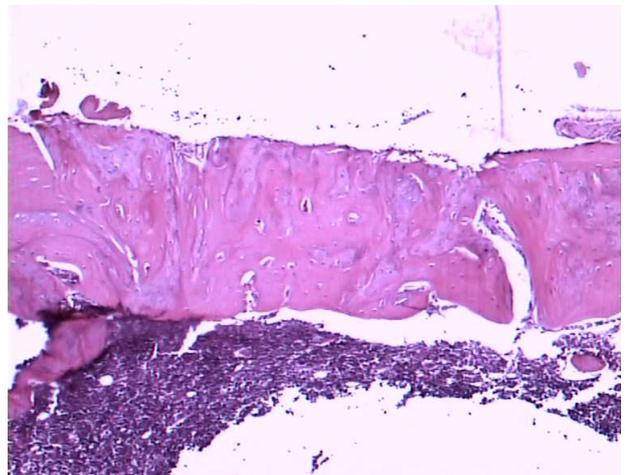


Figura 6 – Grupo Tratado - 30 dias - 10x

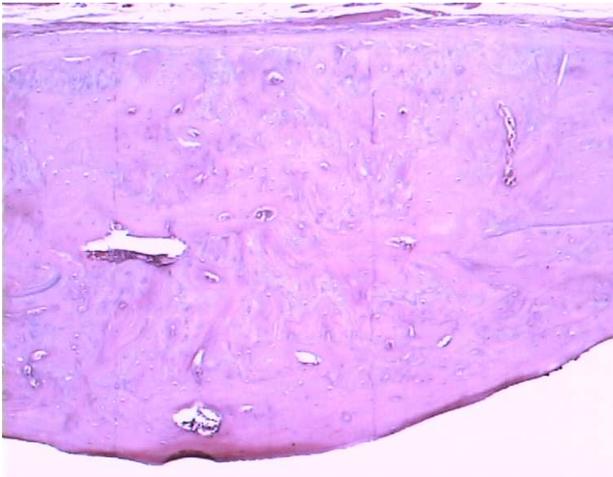


Figura 7 – Grupo Controle - 60 dias - 10x

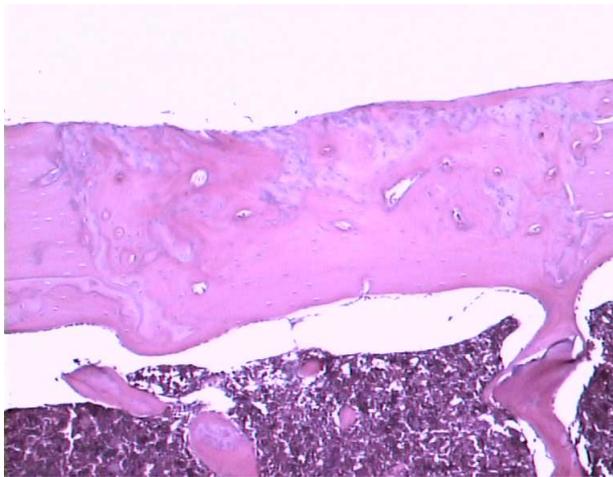


Figura 8 – Grupo Tratado - 60 dias - 10x

DISCUSSÃO

Bernik⁷ e Huf et al.²³ acreditam que entre 1 e 3% de toda a população ocidental já os tenha consumido regularmente por mais de um ano benzodiazepínicos. Para Paprocki³⁷ o consumo crescente de benzodiazepínicos parece ser resultado de um período particularmente turbulento que caracteriza as últimas décadas da humanidade. Segundo o autor, a diminuição progressiva da resistência da humanidade para tolerar tanto estresse, a introdução profusa de novas drogas e a pressão propagandística crescente por parte da indústria farmacêutica ou, ainda, hábitos de prescrição inadequada por parte dos médicos podem ter contribuído para o aumento da procura pelos benzodiazepínicos.

Os resultados obtidos neste trabalho mostram que o grupo tratado, exibiu achados histológicos semelhantes ao Grupo Controle, demonstrando que a administração do benzodiazepínico minimizou os efeitos deletérios de estresse sobre a cicatrização da ferida. De fato, Alves-Rezende et al.² estudando os efeitos do estresse crônico sobre o reparo de feridas ósseas relataram diminuição na taxas de formação dos tecidos conjuntivo e ósseo, repercutindo em

atraso na cicatrização da loja experimental. O decréscimo na fibrinogênese em situações de estresse crônico é atribuído por Alves-Rezende e Okamoto²⁻⁴ e Bombonato⁸ não somente ao atraso na organização do coágulo sanguíneo, como também à inibição do crescimento fibroblástico, com alteração na formação do tecido de granulação.

No presente trabalho, no grupo tratado, tecidos qualitativamente semelhantes àqueles encontrados no grupo controle foram observados já aos 7 dias pós-operatórios. Com o decorrer dos períodos de observação este padrão de semelhança se manteve, culminando com a reparação óssea do defeito cirúrgico também aos 30 dias pós-operatórios.

É importante destacar que no grupo controle o reparo ósseo foi semelhante ao descrito por outros investigadores^{1,2,3,4,15}. Assim, a análise histológica mostrou aos 7 dias pós-operatórios evidente osteogênese. Aos 30 dias pós-operatórios a reparação óssea estava completa e a loja cirúrgica preenchida por trabeculado ósseo espesso, com espaços medulares praticamente definidos, que se mostram diminutos aos 60 dias pós-operatórios.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos e na metodologia empregada para a realização deste trabalho podemos concluir que :

- A reabsorção do coágulo sanguíneo no Grupo Tratado foi semelhante ao Grupo Controle;
- A formação do tecido conjuntivo no Grupo Tratado foi semelhante ao Grupo Controle;
- A formação do tecido ósseo no Grupo Tratado foi semelhante ao Grupo Controle.

ABSTRACT

Stress is an environmental factor that may predispose individuals to depression. Benzodiazepines have been prescribed as effective drugs in these situations. The purpose of this study was histological evaluate of the effect of chronic stress and benzodiazepine drugs on bone healing. Bone cavities were created in both tibias of 40 male rats were divided into two groups: Control and Treaty. In this, the stressor stimulus was applied 40 days pre-operative and all post-operative days until sacrifice in the morning for 2 hours, by immobilizing restraint. These animals also received diazepam benzodiazepine group, daily, at a concentration of 5mg/Kg/peso body within 15 days of preoperative. In groups of five animals were sacrificed at 7, 14, 30 and 60 days post-surgery. At 7 days postoperatively, while the control group exhibited tissue rich in fibroblasts, the treated group showed newly formed tissue with few fibroblasts and capillaries along with lymphocytes and macrophages. At 14 days post-surgery, the control group showed newly formed trabecular bone while the treated group progressed to

thin trabecular bone with numerous osteoblasts on their borders. At 30 days post-operative bone healing is complete in both groups. At 60 days post-operative characteristics observed in the treated and control groups are similar to the previous period, but with more advanced osteogenesis.

UNITERMS: *Hypothalamo-hypophyseal system; Pituitary-adrenal system; GABA modulators; Wound healing.*

REFERÊNCIAS

1. Alves-Rezende MCR, Kusuda R, Alves LMN, Fellipini RC, Okamoto T, Okamoto R, Alves-Rezende LGR, Túrcio KHL, Alves-Claro APR. Uso de benzodiazepínicos no pré-operatório : efeito sobre o reparo ósseo. Rev Odontol Araçatuba. 2009; 30: 14-8.
2. Alves-Rezende MCR, Kusuda RK, Alves LMN, Okamoto T, Okamoto R, Alves-Rezende LGR, Alves-Claro APR. Efeito do estresse crônico de contenção sobre o reparo de cavidades ósseas: estudo histológico em tíbias de ratos. Rev Odontol Araçatuba. 2009; 30: 71-6.
3. Alves-Rezende MCR, Okamoto T. Influência do estresse no processo de reparo em feridas de extração dental: estudo histológico em ratos. Rev Odontol Unesp. 1989; 18:119-30.
4. Alves-Rezende MCR, Okamoto T. Effects of fibrin adhesive material(Tissucol) on alveolar healing in rats under stress. Braz Dental J. 1997; 8:13-9.
5. Ballone GJ. Curso sobre estresse. In: PsiquWeb psiquiatria geral, 2002. Disponível em: <http://www.psiqweb.med.br/cursos/stress1.html>. Acesso em: 25 nov. 2009
6. Berger FM. Effect of antianxiety drugs on fear and stress. Behav Sci. 1980; 25:315-21.
7. Bernik MA. Benzodiazepínicos: quatro décadas de experiência. São Paulo: Edusp; 1999. 242p.
8. Bombonato KF. Estudo histométrico do efeito do estresse e do tratamento com diazepam no reparo alveolar de ratos. [Dissertação]. Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. 1998.
9. Bremner JD, Narayan M, Anderson ER, Staib LH, Miller HL, Charney DS. Hippocampal volume reduction in major depression. Am J Psychiatry. 2000; 157:115-8.
10. Bremner JD, Randall P, Scott TM, Bronen RA, Seibyl JP, Southwick SM, et al. MRI-based measurement of hippocampal volume in patients with combat-related posttraumatic stress disorder. Am J Psychiatry. 1995;152: 973-81.
11. Bremner JD, Randall P, Vermetten E, Staib L, Bronen RA, Mazure C, et al. Magnetic resonance imaging-based measurement of hippocampal volume in posttraumatic stress disorder related to childhood physical and sexual abuse: a preliminary report. Biol Psychiatry. 1997;41:23-32.
12. Bremner JD, Scott TM, Delaney RC, Southwick SM, Mason JW, Johnson DR, et al. Deficits in short-term memory in posttraumatic stress disorder. Am J Psychiatry. 1993;150:1015-9.
13. Brown ES, Woolston D, Frol A, Bobadilla L, Khan DA, Hanczyc M, et al. Hippocampal volume, spectroscopy, cognition and mood in patients receiving corticosteroid therapy. Biol Psychiatry. 2004; 55:538-45.
14. Burt DB, Zembar MJ, Niederehe G. Depression and memory impairment: a meta-analysis of the association, its pattern, and specificity. Psychol Bull. 1995; 117:285-305.
15. Canalis E. Effect of glicocorticoids on type I collagen snthesis alkaline phosphatase activity and deoxyribonucleic acid content in cultured rat calvariae. Endocrinol.1983; 12: 931-9.
16. Centro Brasileiro de Informação de Medicamentos Psicotrópicos (CEBRID) -Universidade Federal De São Paulo (UNIFESP). Departamento de Psicofarmacologia. Perguntas e respostas: drogas estimulantes - anfetaminas. Disponível em < <http://www.unifesp.br/dpsicobio/cebrid/index.php>.> Acesso em: 25 set. 2010
17. Chaouloff F, Berton O, Mormède P. Serotonin and stress. Neuropsychopharmacol. 1999;21:28S-32S.
18. Deakin JFW, Graeff FG. 5-HT and mechanisms of defense. J Psychopharm. 1991;5:305-15.
19. De Boer SF, Van Der Gugten J, Slangen JL. BDZ receptor-mediated effects on plasma catecholamine and cortisone contents under basal and stress conditions. Psychopharmacol. 1988; 96:14.
20. Di Martino V. Occupational stress: a preventive approach. Cond Work Digest. 1992; 11: 3-22.
21. Goodman LS, Gilman A. The pharmacological basis of therapeutics. 8.ed. New York: Pergamon Press; 1990.
22. Graeff FG. Drogas psicotrópicas e seu modo de ação. 2.ed. São Paulo: E.P.U.; 1989.
23. Huf G, Lopes CS, Rosenfeld S. O uso prolongado de benzodiazepínicos em mulheres de um centro de convivência para idosos. Cad. Saúde Pública. 2000; 16: 351-62.
24. Joca SRL, Padovan CM, Guimarães FS. Activation of postsynaptic5-HT1A receptors in the dorsal hippocampus prevents learned helplessness development. Brain Res. 2003; 978:177-84.
25. Kohatsu LI, Ágrede CG, Moraes LC, Moraes MEL. Avaliação dos efeitos do benzodiazepínico na reparação óssea por meio de radiografias digitais em ratos submetidos a estresse. Rev Odontol Univ São Paulo. 2007; 19:28-32.
26. Kendler KS, Kessler RC, Walters EE, Maclean C, Nela MC, Hesth AC, Eaves LJ. Stressful life

- events, genetic liability, and onset of an episode of major depression in women. *Am J Psych*. 1995;152:833-42.
27. Komesaroff PA, Funder JW. Differential glucocorticoid effects on catecholamine response to stress. *Endocrinol Metab*. 1994; 29:118-28.
 28. Lazarus RS, Lazarus BN. *Passion and reason: making sense of our emotions*. New York: Oxford University Press; 1994.
 29. Lucas ON, Fujita D, Bremner F. Plasminogen activator in the normal gingiva of dog. *J Period Res*. 1975; 10: 203-10.
 30. Magariños AM, Verdugo JM, McEwen BS. Chronic stress alters synaptic terminal structure in hippocampus. *Proc Natl Acad Sci*. 1997; 94:14002-8.
 31. McEwen BS. The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. *Brain Res*. 2000; 886:172-89.
 32. McEwen BS, Magarinos AM, Reagan LP. Studies of hormone action in the hippocampal formation: possible relevance to depression and diabetes. *J Psychosom Res*. 2002;53(4):883-90.
 33. McEwen BS, Magarinos AM. Stress effects on morphology and function of the hippocampus. *Ann N Y Acad Sci*. 1997 Jun 21;821:271-84.
 34. Mervaala E, Fohr J, Kononen M, Valkonen-Korhonen M, Vainio P, Partanen K. Quantitative MRI of the hippocampus and amygdala in severe depression. *Psychol Med*. 2000;30(1):117-25.
 35. Moody GH. Plasminogen in human saliva. *Int J Oral Surg*. 1982; 11:110-3.
 36. Noto AR, Carlini EA, Mastroianni PC, Alves VC, Galduróz JC, Kuroiwa W. Analysis of prescription and dispensation of psychotropic medications in two cities in the state of São Paulo, Brazil. *Rev Bras Psiquiatr*. 2002; 24:68-73
 37. Paprocki J. O emprego de ansiolíticos benzodiazepínicos pelo clínico geral e por especialistas não psiquiatras. *Rev ABP-APAL* 1990; 64:305-12.
 38. Post RM. Transduction of psychosocial stress into the neurobiology of recurrent affective disorder. *Am J Psych* 1992; 149(8):999-1010.
 39. Sapolski RM, Uno H, Rebert CS, Finch CE. Hippocampal damage associated with prolonged glucocorticoid exposure in primates. *J Neurosci* 1990;10(9):2897-902.
 40. Selye H. The general adaptation syndrome and the disease of adaptation. *J Clin Endocrinol*. 1946; 6: 117-52.
 41. Shaheen AA Hamdy MA, Kheir-Eldin AA, Lindstrom EI-Fattah AAA. Effect of pretreatment with vitamin E or diazepam on brain metabolism of stressed rats. *Biochem Pharmacol*. 1993; 46:194-7.
 42. Sheline YI, Wang PW, Gado MH, Csernansky JG, Vannier MW. Hippocampal atrophy in recurrent major depression. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93(9):3908-13.
 43. Sherry S. Fibrinolysis. *Ann Rev Med*. 1968; 19:247-59.
 44. Starkman MN, Gebarski SS, Berent S, Schteingart DE. Hippocampal formation volume, memory dysfunction, and cortisol levels in patients with Cushing's syndrome. *Biol Psychiatry* 1992; 32(9):756-65.
 45. Teitelbaum SL, Malone JD, Kahn AJ. Glucocorticoid enhancement of bone resorption by rat peritoneal macrophages in vitro. *Endocrinol*. 1981;108: 795-9.
 46. Yap JJ, Takase LF, Kochman LJ, Fornal CA, Miczek KA, Jacobs BL. Repeated brief social defeat episodes in mice: effects on cell proliferation in the dentate gyrus. *Behav Brain Res*. 2006;172(2):344-50.

Endereço para correspondência

Maria Cristina Rosifini Alves Rezende

Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese
 Faculdade de Odontologia de Araçatuba (Unesp)
 rezende@foa.unesp.br