

RESSALVA

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

03/12/2022



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

RAYANA DUARTE KHOURY

**PROGRESSÃO DA LESÃO PERIAPICAL EM ANIMAIS SOB
CONDIÇÕES DE ESTRESSE E MODULAÇÃO INFLAMATÓRIA
ATRAVÉS DE BLOQUEADOR ADRENÉRGICO E INIBIDOR
SELETIVO DA RECAPTAÇÃO DA SEROTONINA**

RAYANA DUARTE KHOURY

**PROGRESSÃO DA LESÃO PERIAPICAL EM ANIMAIS SOB CONDIÇÕES DE
ESTRESSE E MODULAÇÃO INFLAMATÓRIA ATRAVÉS DE BLOQUEADOR
ADRENÉRGICO E INIBIDOR SELETIVO DA RECAPTAÇÃO DA SEROTONINA**

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

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

Orientadora: Profa. Tit. Marcia Carneiro Valera

Coorientador: Prof. Dra. Renata Falchete do Prado

São José dos Campos

2021

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2022]. 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

Progressão da lesão periapical em animais sob condições de estresse e modulação inflamatória através de bloqueador adrenérgico e inibidor seletivo da recaptação da serotonina / Rayana Duarte Khoury. - São José dos Campos : [s.n.], 2021.
107 f. : il.

Tese (Doutorado em Odontologia Restauradora) - Pós-Graduação em Odontologia Restauradora - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2021.

Orientador: Marcia Carneiro Valera

Coorientador: Renata Falchete Do Prado

1. Periodontite apical. 2. Estresse crônico. 3. Inibidor seletivo da recaptação da serotonina. 4. Bloqueador beta-adrenérgico. 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. Leopoldo Cosme Silva

Universidade Federal de Alagoas (UFAL)

Faculdade de Odontologia

Campus Maceió

Prof. Tit. João Eduardo Gomes Filho

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Faculdade de Odontologia de Araçatuba

Campus de Araçatuba

Prof. Adj. Eduardo Bresciani

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Prof. Adj. Emmanuel João Nogueira Leal da Silva

Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Faculdade de Odontologia

Campus Rio de Janeiro

São José dos Campos, 03 de dezembro de 2021.

DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho aos meus pais **Fack e Deise**. A vocês, pai e mãe, que me apoiam incondicionalmente e que são meu maior exemplo de coragem e simplicidade. Me ensinaram que a educação é o melhor tipo de herança. Estiveram ao meu lado em todas as minhas dúvidas e incertezas, e permitiram que eu trilhasse os caminhos que eu mesma escolhi, mesmo que isso representasse uma longa distância entre nós. Tudo o que hoje eu sou e conquistei, devo única e exclusivamente a vocês. Minha eterna e mais sincera gratidão por todo sacrifício. Amo vocês.*

“Se eu vi mais longe, foi por estar sobre ombros de gigantes.”

Isaac Newton

AGRADECIMENTO ESPECIAL

*Agradeço à minha orientadora **Profa. Marcia Carneiro***

***Valera** por ter acreditado na minha capacidade sem muito me conhecer e que me abriu as portas para a primeira oportunidade de seguir o sonho de me tornar professora. Obrigada pela confiança no meu trabalho, pela disponibilidade e dedicação. Agradeço o apoio incondicional prestado a mim e aos meus colegas, sempre se envolvendo de forma interessada e pertinente na realização dos nossos trabalhos. As suas críticas construtivas, conversas e reflexões foram fundamentais para a minha formação como pesquisadora e educadora, e para o meu crescimento pessoal. Seu exemplo como profissional e seu amor à docência me inspiram a ser uma profissional competente, de caráter e humana. Foi uma verdadeira honra ser sua orientada e espero que a nossa parceria seja para a vida. Serei eternamente grata à Deus por ter colocado a senhora no meu caminho.*

Obrigada por tudo Professora!

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, por me dar forças para viver, por me capacitar e poder trazer essa vitória para minha vida. Sei que ao Seu lado, irei muito mais longe. Agradeço por abençoar com muita saúde a mim, meus pais e irmãos, e por tê-los protegido de todos os males para que eu pudesse seguir com o coração tranquilo durante essa jornada.

Aos meus pais, **Faek e Deise**, por todo o suor do trabalho dedicado a investir na minha educação e dos meus irmãos. A vocês que nos deram a vida e nos ensinaram a vivê-la com simplicidade, dignidade e honestidade. A vocês que renunciaram aos seus sonhos, para que pudéssemos realizar os nossos. A minha gratidão por vocês jamais será traduzida em palavras. Que Deus me conceda a graça de retribuir todo amor, carinho e dedicação que vocês tiveram por mim.

Aos meus amados irmãos **Raony e Rayra**, que também me incentivaram a seguir este caminho da docência. Vocês são sem dúvida a melhor parte de mim. A nossa amizade é verdadeira e eterna e isso me dá forças para seguir em frente. Vocês são a minha melhor companhia, o meu porto seguro e a certeza de que nunca estarei só nesse mundo. Agradeço também a minha cunhada **Helena**, pelas trocas e conversas. Você é para mim uma grande inspiração, como mulher e profissional competente.

À minha querida avó **Zilda**, que é meu maior exemplo de força e independência. Me orgulho muito e me inspiro com a sua história. Obrigada pela companhia de tantos anos, pelas orações diárias e por me encher de carinho cada vez que retorno para casa. Te amo muito vovó.

Ao meu marido **Paulo**, por me apoiar incondicionalmente e ser um grande incentivador na minha carreira profissional como pesquisadora e docente. Obrigada pela compreensão, pela parceria e por me dar tanto carinho! Eu tenho muito orgulho da nossa história e de ver o quanto crescemos e conquistamos juntos. Reconheço todo o seu sacrifício para que eu pudesse estar aqui hoje, contando essa vitória. Dividir a vida com você durante esses anos tornou essa trajetória muito mais leve! Te amo muito meu amor.

Ao **Leopoldo**, meu grande amigo desde os tempos de faculdade e que acabou se tornando um grande parceiro da vida acadêmica. É uma grande honra para mim ter você como amigo, padrinho de casamento, e ao mesmo tempo poder dividir com você as experiências da pós-graduação. Obrigada por tanta partilha, pelo incentivo e pelo tempo ensaiando comigo aulas, apresentações etc. Para mim é um grande orgulho poder contar com você hoje, como membro da minha banca de doutorado.

Aos meus amigos **Amjad, Bruna, Cassia, Esteban**. Conviver com vocês foi a melhor parte da pós-graduação. Fico muito feliz pela amizade e parceria que cultivamos. Tenho certeza de que será para

sempre. Agradeço em especial à **Giovanna Minhoto**, a quem devo parte deste trabalho. Obrigada pelo comprometimento, por toda ajuda e paciência. A sua amizade e parceria foi um verdadeiro presente para mim durante a pós-graduação e que agora espero levar comigo para a vida.

Aos demais colegas da pós-graduação, **Carol Gagliardi, Carol Trefiglio, Gustavo Guerrero, Fernando, Felipe M., Felipe A. e Thaís**, que dividiram comigo as tardes e noites no laboratório de Endodontia e que tornaram essa experiência ainda mais divertida.

A **Profa. Dra. Renata Falchete do Prado**, que como minha co-orientadora foi uma grande contribuinte para o meu crescimento como pesquisadora desde o mestrado. Obrigada Re, nunca vou me esquecer da sua enorme participação na minha formação.

Aos demais professores da disciplina de Endodontia: **Prof. Cláudio Antonio Talge Carvalho e Profa. Adj. Ana Paula Martins Gomes**, por todo conhecimento clínico e científico compartilhado, pelos ensinamentos transmitidos e atenção dispensada sempre que solicitada. Pela atenção, dedicação e exemplo, sempre com uma palavra de incentivo. Vocês certamente contribuíram para minha formação acadêmica e me inspiram como docente.

As professoras que fizeram parte da minha banca de qualificação, **Profa. Ana Lia Anbinder e Profa Juliana Junqueira**, pelos apontamentos pertinentes que engradeceram este estudo. Agradeço também pela disponibilidade em me ajudar sempre que as procurei. Vocês são excelentes profissionais e terão minha eterna admiração.

A **Profa. Patrícia Pimentel de Barros** que me auxiliou em grande parte desse projeto. Obrigada por compartilhar seu tempo e seus conhecimentos contribuindo de maneira determinante para a realização deste trabalho. Apesar do pouco tempo que trabalhamos juntas, nossas conversas foram fundamentais para que eu pudesse expandir meus horizontes sobre o futuro que esta por vir. Você se tornou uma inspiração para mim e espero poder continuar com a nossa parceria para além do doutorado!

Ao **Prof. Adj. Eduardo Bresciani**, a sua infinita paciência, carisma e a grande amizade que cultivamos durante esse tempo. Há pessoas que marcam a nossa trajetória, que despertam algo especial em nós, que abrem nossos olhos de modo irreversível e transformam a nossa maneira de ver a vida. Você foi uma dessas pessoas! Os seus ensinamentos foram muito além dos conteúdos de estatística e soube despertar a minha admiração de um modo único. Muito obrigada por tudo e por ter aceitado fazer parte da minha banca.

Ao **Prof. Dr. João Eduardo Gomes Filho e Prof. Dr. Emmanuel João Nogueira Leal da Silva** por terem aceitado prontamente fazer parte da minha banca, contribuindo com seus vastos conhecimentos na avaliação deste trabalho. É uma honra contar com a participação de vocês neste

dia. Muito obrigada pela disponibilidade.

À todos os funcionários do Instituto de Ciência e Tecnologia da UNESP, às técnicas do departamento **Josiana Carneiro**, e à secretária do departamento, **Liliane Franchitto**, ao pessoal da Secretaria da Pós-Graduação, **Bruno Tanaka**, **Sandra Cordeiro e Carolina Reis** 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 dos alunos dentro desta instituição. Ao **Sr. Carlos Guedes** do Apoio à Fapesp por sempre 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. Dra. Rebeca Di Nicoló**, e ao Programa de Pós-graduação em Odontologia Restauradora, sob coordenação do **Prof. Adj. Alexandre Luiz Souto Borges**.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pelo apoio recebido no início do doutorado (Código de Financiamento 001) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - **FAPESP**- que me concedeu a bolsa de doutorado (Processo nº 2018/10339-0).

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

*"Para ser grande, sê inteiro:
nada Teu exagera ou exclui.
Sê todo em cada coisa. Põe quanto és
No mínimo que fazes.
Assim em cada lago a lua toda
Brilha, porque alta vive."*

Fernando Pessoa

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	11
LISTA DE TABELAS	13
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	14
RESUMO	15
ABSTRACT	16
1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	22
2.1 Bloqueadores beta-adrenérgicos.....	22
2.2 Inibidores seletivos da recaptação da serotonina.....	24
3 PROPOSIÇÃO	28
3.1 Geral	28
3.2 Específica.....	28
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
4.1 Animais.....	29
4.1.1 Grupos experimentais.....	29
4.2 Indução do estresse crônico	31
4.3 Indução da Periodontite Apical	32
4.4 Massa corporal dos animais.....	33
4.5 Eutanásia e coleta das amostras	34
4.6 Análise dos níveis séricos de corticosterona por Radioimunoensaio	36
4.7 Análise dos níveis séricos hormonais e inflamatórios por ensaio multiplex.....	37
4.8 Análise da estrutura óssea periapical por micro-CT	38
4.9 Análise histológica.....	40
4.10 Análise da expressão gênica de citocinas inflamatórias na lesão periapical por RT-PCR.....	42
4.10.1 Extração de RNA.....	44
4.10.2 Reação de Transcrição Reversa (RT-PCR).....	45
4.10.3 PCR em Tempo Real (qPCR)	46
4.10.3.1 Análise da eficiência da reação de PCR em Tempo Real.....	46
4.10.3.2 Reação de PCR	46

4.11 Análise estatística	48
5 RESULTADOS.....	50
5.1 Massa corporal	50
5.2 Níveis séricos de corticosterona por RIA.....	53
5.3 Níveis séricos hormonais e inflamatórios por ensaio Multiplex	54
5.4 Estrutura óssea periapical por micro-CT	59
5.5 Análise histológica.....	61
5.6 Expressão gênica de biomarcadores da reabsorção óssea e citocinas inflamatórias por RT-PCR.....	66
6 DISCUSSÃO	70
6.1 Modelo animal de PA e estresse crônico	71
6.2 Monitoramento da massa corporal	72
6.3 Dosagem hormonal de biomarcadores de estresse.....	73
6.4 Níveis séricos de citocinas inflamatórias.....	77
6.5 Avaliação histológica e microtomográfica da lesão periapical	78
6.6 Avaliação da expressão gênica de biomarcadores da reabsorção óssea e citocinas inflamatórias por RT-PCR.....	80
7 CONCLUSÃO	87
REFERÊNCIAS.....	88
ANEXO.....	107

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma do desenho do estudo	31
Figura 2 – Indução da PA	33
Figura 3 – Identificação dos animais	34
Figura 4 – Processamento técnico para obtenção do soro sanguíneo	35
Figura 5 – Dissecção das amostras	36
Figura 6 – Imagem do programa DataViewer® utilizada para visualização da orientação padrão da imagem em três planos.....	39
Figura 7 – Representação ilustrativa do ROI personalizado delineado manualmente circundando a lesão periapical com margem de segurança no eixo sagital	40
Figura 8 – Imagens representativas da análise histomorfométrica da lesão periapical	41
Figura 9 – Imagem extraída do website para a seleção de controle endógeno	44
Figura 10 – Representação gráfica da estatística inferencial referente aos valores de massa corporal dos animais no início do experimento	51
Figura 11 – Representação gráfica da estatística inferencial referente aos valores de massa corporal dos animais ao final do experimento	51
Figura 12 – Representação gráfica da estatística inferencial referente aos valores de ganho de massa corporal dos animais durante o experimento	52
Figura 13 – Representação gráfica da evolução do ganho de massa corporal dos animais ao longo do experimento	52
Figura 14 – Representação gráfica da estatística inferencial referente aos valores de corticosterona sérica (ng/ml) dos animais	54
Figura 15 – Representação gráfica da estatística inferencial referente aos valores dos níveis séricos dos biomarcadores de estresse analisados por ensaio Multiplex	56
Figura 16 – Representação gráfica da estatística inferencial referente aos valores dos níveis séricos de citocinas inflamatórias nos grupos NS e SS analisados por ensaio Multiplex.....	58
Figura 17 – Representação gráfica da estatística inferencial referente aos valores dos níveis séricos de citocinas inflamatórias nos grupos estressados (SS, SF, SP e SFP) analisados por ensaio Multiplex	59

Figura 18 – Representação gráfica da estatística inferencial referente aos valores dos parâmetros analisados por micro-CT	61
Figura 19 – Representação dos aspectos histológicos de cada grupo após coloração com hematoxilina e eosina.....	63
Figura 20 – Representação gráfica da estatística inferencial referente aos valores dos parâmetros histológicos avaliados	65
Figura 21 - Expressão gênica de RANKL OPG e TRAP	67
Figura 22 - Expressão gênica das citocinas inflamatórias IL-6 IL-10 e IL-17	68
Figura 23 - Expressão gênica de MMP-8 e MMP-13.....	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores de massa corporal dos animais no início (g), ao final do experimento (g) e ganho de massa corporal (%) representados pela média e desvio padrão (DP) de cada grupo	50
Tabela 2 – Valores do nível de corticosterona sérica (ng/ml) analisados por RIA representados pela média e desvio padrão (DP) de cada grupo.....	53
Tabela 3 – Valores dos níveis séricos de hormônios biomarcadores de estresse analisados por ensaio Multiplex e representados pela média e desvio padrão (DP) de cada grupo.....	55
Tabela 4 – Valores dos níveis séricos de citocinas inflamatórias analisados por ensaio Multiplex e representados pela média e desvio padrão (DP) de cada grupo	57
Tabela 5 – Valores obtidos em relação aos diferentes parâmetros analisados por micro-CT representados pela média e desvio padrão (DP) de cada grupo	60
Tabela 6 – Valores obtidos em relação aos diferentes parâmetros histológicos analisados em cada grupo.....	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
IL	Interleucina
ISRS	Inibidor seletivo da recaptação de serotonina
OPG	Osteoprotegerina
PA	Periodontite Apical
RANK	Receptor ativador do fator nuclear kappa B
RANKL	Ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa B
RT-PCR	Reação em cadeia da polimerase de transcrição reversa
TLR4	Receptor Toll-like 4
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
TRAP	Fosfatase ácida resistente ao tartarato

Khoury RD. Progressão da lesão periapical em animais sob condições de estresse e modulação inflamatória através de bloqueador adrenérgico e inibidor seletivo da recaptação da serotonina [tese]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2021.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi analisar os efeitos do estresse crônico sobre a periodontite apical (PA) induzida em ratos, e avaliar os efeitos do uso da Fluoxetina (antidepressivo da classe dos inibidores da recaptação de serotonina) e do Propranolol (bloqueador beta-adrenérgico), associados ou não, na modulação inflamatória e na reabsorção óssea periapical de ratos estressados. Foram utilizados 40 ratos divididos em cinco grupos: Grupo controle não-estressado (NS); Grupo controle estressado com administração de solução fisiológica (SS); Grupo estressado com administração de Fluoxetina (SF); Grupo estressado com administração de Propranolol (SP); Grupo estressado com administração de Fluoxetina e Propranolol (SFP). Os animais dos grupos estressados foram submetidos ao protocolo de estresse crônico imprevisível durante 6 semanas e as respectivas medicações foram administradas diariamente, via gavagem, ao longo de todo o período experimental. A PA foi induzida em todos os grupos após 21 dias do início do protocolo de estresse e ao final da 6ª semana, os animais foram eutanasiados e as hemimandíbulas e hemimaxilas removidas. Posteriormente foram realizadas as seguintes análises: a) da massa corporal; b) dos níveis séricos de corticosterona por radioimunoensaio; c) dos níveis séricos hormonais e inflamatórios por ensaio Multiplex; e) histomorfométrica por coloração com hematoxilina e eosina; f) da estrutura óssea periapical através de microtomografia computadorizada (micro-CT); g) da expressão gênica de biomarcadores relacionados à atividade osteoclástica, citocinas inflamatórias e metaloproteinases na região periapical por RT-PCR. Ao final do experimento os animais estressados apresentaram menor ganho de massa corporal, níveis séricos de ACTH significativamente mais altos, atividade inflamatória mais intensa e maiores volumes de lesão periapical quando comparados aos animais do grupo controle NS. Os grupos tratados SF, SP e SFP apresentaram menores volumes de lesão periapical quando comparados ao grupo controle SS, e o grupo SP apresentou menor intensidade do infiltrado inflamatório. O teste de RT-PCR mostrou maior expressão de RANKL e TRAP no grupo controle SS, bem como maior expressão de IL-6, IL-10 e IL-17 e MMP-8 quando comparado ao grupo controle NS. Na comparação em relação ao grupo controle SS, o grupo SF apresentou maior expressão de OPG, e menor expressão de IL-6 e IL-17; o grupo SP apresentou maior expressão de OPG e menor expressão de IL-6, IL-10, IL-17, MMP-8 e MMP-13, e o grupo SFP apresentou menor expressão de RANKL, TRAP, IL-6, IL-10, IL-17, MMP-8 e MMP-13. Foi concluído que o estresse crônico influenciou negativamente a patogênese da PA e ambos os medicamentos avaliados, bem como sua associação, tiveram efeitos positivos na prevenção da perda óssea e modulação inflamatória.

Palavras-chave: Periodontite apical. Estresse crônico. Inibidor seletivo da recaptação de serotonina. Bloqueador beta-adrenérgico.

Khoury RD. Progression of periapical lesion in animals under stress conditions and inflammatory modulation through adrenergic blocker and selective serotonin reuptake inhibitor [doctorate thesis]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2021.

ABSTRACT

The aim of this study was to analyze the effects of chronic stress on induced apical periodontitis (AP) in rats, and to evaluate the effects of the use of fluoxetine (antidepressant known as selective serotonin reuptake inhibitor), and of Propranolol (beta-adrenergic blocker), associated or not, in inflammatory modulation and periapical bone resorption in stressed rats. Forty rats were divided into five groups: Unstressed control group (NS); Stressed control group with saline solution administration (SS); Stressed group with administration of Fluoxetine (SF); Stressed group with administration of Propranolol (SP); Stressed group with administration of Fluoxetine and Propranolol (SFP). The animals in the stressed groups were submitted to the unpredictable chronic stress paradigm for 6 weeks and the respective medications were administered daily, via gavage, throughout the entire experimental period. AP was induced in all groups, 21 days after the beginning of the stress paradigm, and at the end of the 6th week, the animals were euthanized and the hemi-mandibles removed for the following analyses: a) body weight b) serum corticosterone levels by radioimmunoassay; c) hormone and inflammatory serum levels by Multiplex assay; e) histomorphometric staining with hematoxylin and eosin; f) the periapical bone structure through computerized microtomography; g) gene expression related to osteoclastic activity, inflammatory cytokines and metalloproteinases in the periapical region by RT-PCR. At the end of the experiment, the stressed animals showed lower body weight gain, significantly higher levels of ACTH, more intense inflammatory infiltrate and higher volumes of periapical lesion when compared to animals in the NS control group. The treated groups SF, SP and SFP had smaller volumes of periapical lesion when compared to the SS control group and the SP group had lower intensity of inflammatory infiltrate. The RT-PCR test showed higher expression of RANKL and TRAP in the stressed control group, as well as higher expression of IL-6, IL-10, IL-17 and MMP-8 when compared to the NS control group. In comparison with the SS control group, the SF group showed higher expression of OPG, and lower expression of IL-6 and IL-17; the SP group showed higher expression of OPG and lower expression of IL-6, IL-10, IL-17, MMP-8 and MMP-13 and the SFP group showed lower expression of RANKL, TRAP, IL-6, IL-10, IL-17, MMP-8 and MMP-13. It was concluded that chronic stress negatively influenced the pathogenesis of apical periodontitis and both medications evaluated, as well as its association, had positive effects in preventing bone loss and inflammatory modulation.

Keywords: Apical periodontitis. Chronic stress. Selective serotonin reuptake inhibitors. Adrenergic beta-blocker.

1 INTRODUÇÃO

A periodontite apical (PA) de origem endodôntica é uma doença inflamatória caracterizada pela resposta imune do hospedeiro frente à infecção microbiana no sistema de canais radiculares (Nair, 2004). As toxinas bacterianas e os subprodutos metabólicos nocivos que egressam dos canais radiculares para a região periapical ativam o sistema imune através da interação com receptores de reconhecimento padrão ou Toll-like 4 (TLR4), que estão presentes em diversas células do hospedeiro (Rôças et al., 2014). A reação inflamatória decorrente dessa interação, embora importante para localizar e eliminar o microrganismo, induz a liberação de diversos mediadores inflamatórios, incluindo citocinas, quimiocinas e neuropeptídeos. Esses mediadores modulam de forma independente ou cooperativa a atividade proteolítica e ativam os mecanismos de reabsorção óssea, resultando no desenvolvimento de lesões osteolíticas características da PA (Fukada et al., 2009; Graves et al., 2011; Menezes et al., 2006).

A resposta imunoinflamatória frente a infecção endodôntica é uma interação dinâmica altamente complexa entre os mecanismos de defesa do hospedeiro e as injúrias microbianas. A ativação das vias não antigênicas e antigênicas induz as respostas imunológicas inata e adaptativa, respectivamente, que combinam elementos celulares protetores e destrutivos durante o processo inflamatório periapical (Gemmell et al., 2007; Kinane et al., 2007; Kornman et al., 1997). Nesse sentido, a reabsorção óssea induzida pela inflamação nos tecidos periapicais é também acompanhada pelo recrutamento de células do sistema imunológico, que constituem uma linha de defesa contra a disseminação da invasão microbiana oriunda do canal radicular (Márton et al., 2000). Portanto, a ação simultânea das respostas imunológicas pró e anti-inflamatória é determinante para a patogênese da PA, uma vez que os mecanismos moleculares envolvidos podem influenciar na intensidade das respostas de defesa do hospedeiro e no equilíbrio dinâmico entre a proteção contra infecção, progressão da lesão e reparo tecidual (Francisconi et al., 2016; Márton et al., 2000).

Estudos epidemiológicos demonstram que a PA afeta os indivíduos de uma população de diferentes maneiras (Färkkilä et al., 2019; Kirkevang, Wenzel, 2003).

Estes dados reforçam a premissa de que embora o papel das bactérias seja bem estabelecido na etiologia e no desenvolvimento da PA, a severidade, a progressão e o reparo da doença periapical podem ser fortemente determinados por fatores que estão relacionados à resposta individual do hospedeiro (Karteva, Manchorova-Veleva, 2020). Nesse contexto, diversas pesquisas têm sido realizadas ao longo das últimas décadas a fim de identificar diferentes fatores de risco, de natureza biológica, comportamental ou ambiental, que possam interferir na resposta imunológica do hospedeiro e, conseqüentemente, influenciar a patogênese da PA (Azuma et al., 2017; Cintra et al., 2018; Dal-Fabbro et al., 2019; Pinto et al., 2020b, 2020a; Segura-Egea et al., 2015).

Fatores psicossociais como estresse, ansiedade e depressão, também vêm sendo frequentemente apontados como fatores de risco adicionais uma vez que se mostram capazes de desencadear respostas imunológicas que favorecem a ocorrência ou exacerbação de alterações inflamatórias, incluindo a periodontite (Ardila, Guzmán, 2016; Bakri et al., 2013; Boyapati, Wang, 2007; Mousavijazi Mahvash et al., 2013; Rosania et al., 2009). Apesar de alguns estudos observacionais apoiarem este tipo de correlação, os mecanismos de influência dos fatores psicológicos ainda não foram devidamente elucidados na literatura (Castro et al., 2020). Na Endodontia, estudos recentes em modelos animais sugeriram que o estresse pode favorecer a progressão da PA (Gomes et al., 2019; Khoury et al., 2020). No entanto, as evidências disponíveis ainda são escassas e frágeis devido às variações metodológicas e a falta de padronização na definição de exposição aos estressores (Minhoto et al., 2021).

O conceito de estresse foi introduzido pela primeira vez por Hans Selye (1946, 1936). Por definição, o estresse é uma condição dinâmica caracterizada por um conjunto de reações fisiológicas do organismo, em resposta a diferentes estímulos (estressores), que podem ser de natureza física ou emocional. Entretanto, em determinadas situações, essas reações podem exceder a capacidade do indivíduo de lidar efetivamente com a situação e, portanto, o padrão e a magnitude da resposta do hospedeiro frente ao estresse podem ser influenciados por diversos fatores, como a duração da exposição ao estresse (agudo ou crônico), o tipo de estresse (físico ou psicológico), gênero do paciente, e outros fatores (Joëls, Baram, 2009).

O estresse e outras condições psicossociais relacionadas, como a ansiedade e depressão, são problemas que estão cada vez mais prevalentes na vida moderna (Chang, Lu, 2007). A Associação Americana de Psicologia (2013), relatou que 90% dos jovens americanos são estressados sendo que 20% da população americana apresentam alto nível de estresse. Além disso, de acordo com o estudo realizado pelo Instituto de Psicologia e Controle do Stress (2014), 34,26% dos brasileiros consideram que estão experimentando estresse extremo. Da mesma forma, a PA também apresenta alta prevalência mundial considerando que metade da população mundial apresenta pelo menos um dente com infecção endodôntica (Tibúrcio-Machado et al., 2020).

Diante da grande diversidade de fatores estressores, de âmbito psicológico e emocional, juntamente com as dificuldades de adaptação do indivíduo, 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 (Glaser, Kiecolt-Glaser, 2005). As consequências da resposta ao estresse são geralmente adaptativas e cessam após algum tempo. No entanto, quando o estresse é crônico ou de longa duração, a ativação excessiva das vias neuroendócrinas relacionadas ao estresse induz a liberação, também excessiva, de determinados hormônios e neurotransmissores que podem exercer efeitos prejudiciais sobre as funções imunológicas (Dhabhar, 2002; Dhabhar et al., 2010; Dhabhar, McEwen, 1997; Frick et al., 2009; Webster Marketon, Glaser, 2008). Nesse sentido, os agentes causadores de estresse podem influenciar na patogênese das doenças infecciosas através de dois mecanismos: ou por causarem estados afetivos negativos (depressão), os quais teriam efeitos diretos no comportamento; ou por modularem a resposta do sistema imune frente à infecção através da liberação de hormônios ou neurotransmissores no sangue (Bakri et al., 2013; Mousavijazi Mahvash et al., 2013; Rohini et al., 2015).

Os eixos hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) e o Sistema Nervoso Simpático (SNS) são as principais vias neurais ativadas por fatores de estresse físico e psicológico (Ader et al., 1995; Black, 1994; Chrousos, 1995). A ativação do eixo HPA resulta em aumento dos níveis circulatórios do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) produzido pela hipófise, bem como dos hormônios mineralocorticoides e glicocorticoides (principalmente cortisol em humanos e corticosterona em roedores),

derivados do córtex adrenal. Em contraste, a ativação do SNS resulta na liberação de catecolaminas (epinefrina e norepinefrina) dos terminais nervosos simpáticos, incluindo o trato gastrointestinal e os tecidos linfoides. Segundo Webster Marketon e Glaser (2008), o aumento de hormônios neuroendócrinos relacionados ao estresse afeta as funções imunológicas através da inibição da quimiotaxia de neutrófilos, macrófagos, células apresentadoras de antígenos, células natural-killer (NK), linfócitos T e B, além de regular negativamente a produção de citocinas necessárias para a geração de respostas imunes adaptativas.

Nesse sentido, diversas pesquisas no campo da neuroimunomodulação vêm sendo realizadas a fim de investigar o efeito de diferentes agentes terapêuticos sobre as vias neuroendócrinas ativadas em resposta ao estresse. Estes estudos destacam a relevância do tratamento farmacológico do estresse e suportam a hipótese de que certas drogas psicotrópicas podem reverter, de forma direta ou indireta, os efeitos adversos desencadeados pelas psicopatias e modular a resposta do hospedeiro sobre determinadas doenças inflamatórias, incluindo a periodontite (Golub et al., 1998; Holzhausen et al., 2002; Leitão et al., 2005; Reddy et al., 2003).

Os inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRSs) representam uma classe de fármacos amplamente utilizada no tratamento da depressão (Aguilar et al., 2013). A Fluoxetina é um medicamento antidepressivo da classe dos ISRSs desenvolvida para aumentar a sinalização central da serotonina, uma via conhecida por favorecer o acúmulo de massa óssea (Calil, 2001; Oury et al., 2010; Yadav et al., 2009). Além disso, estudos também mostraram alguns efeitos pleiotrópicos da Fluoxetina que apresentou propriedades adicionais como efeitos analgésico, anti-inflamatório e imunomodulador (Abdel-Salam et al., 2003; Roumestan et al., 2007; Yaron et al., 1999). Segundo Sacre et al. (2010), a Fluoxetina é capaz de inibir seletivamente alguns receptores sinalizadores (ex. Toll-like) presentes nas células e reduzir a produção de citocinas inflamatórias.

A via de sinalização adrenérgica também tem sido alvo de diversos estudos que visam a modulação inflamatória diante do quadro de estresse (Khoury et al., 2020; Lu et al., 2016). As catecolaminas liberadas durante a descarga adrenérgica induzida pelo estresse se ligam aos receptores adrenérgicos presentes nas células humanas, incluindo osteoblastos e osteoclastos (Moore et al., 1993; Takeda et al., 2002).

Os bloqueadores beta-adrenérgicos, constituem uma classe terapêutica que apresentam como principal mecanismo de ação, o bloqueio dos receptores beta-adrenérgicos. O Propranolol é um medicamento bloqueador beta-adrenérgico formalmente indicado como coadjuvante no tratamento de pacientes hipertensos com cardiopatia associadas. Entretanto, diversos estudos já demonstraram a sua capacidade em exercer efeitos positivos na regulação da reabsorção óssea (Okada et al., 2010; Rodrigues et al., 2012).

Diante do exposto, verifica-se a importância de elucidar os mecanismos biológicos pelos quais o estresse crônico pode debilitar a saúde sistêmica ou exacerbar a progressão da doença visto que tais investigações podem auxiliar no desenvolvimento de tratamentos biocomportamentais e farmacológicos destinados a melhorar ou eliminar os efeitos nocivos do estresse crônico sobre determinadas doenças inflamatórias, como por exemplo, a PA.

7 CONCLUSÃO

Foi concluído a partir da presente pesquisa que o estresse crônico influenciou negativamente a patogênese da PA e que ambas as medicações avaliadas, bem como suas associações tiveram efeitos positivos na prevenção da perda óssea e modulação inflamatória.

REFERÊNCIAS*

- Abdel-Salam OME, Nofal SM, El-Shenawy SM. Evaluation of the anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of different antidepressants in the rat. *Pharmacol Res.* 2003;48(2):157–65. PMID: 12798668.
- Ader R, Cohen N, Felten D. Psychoneuroimmunology: interactions between the nervous system and the immune system. *Lancet (London, England).* 1995;345(8942):99–103. PMID: 7815892.
- Aguiar JCA, Gomes EPP, Fonseca-Silva T, Velloso NA, Vieira LT, Fernandes MF, et al. Fluoxetine reduces periodontal disease progression in a conditioned fear stress model in rats. *J Periodontal Res.* 2013;48(5):632–7. doi: 10.1111/jre.12049. PMID: 23425324.
- Alliston T, Derynck R. Interfering with bone remodelling. *Nature.* 2002;416(6882):686–7. doi: 10.1038/416686a. PMID: 11961535.
- American Psychological Association [Internet]. Stress in America [cited 2021 Jan 15]. Available from: <https://www.apa.org/news/press/releases/stress/2012/full-report.pdf>.
- Ardila CM, Guzmán IC. Association of Porphyromonas gingivalis with high levels of stress-induced hormone cortisol in chronic periodontitis patients. *J Investig Clin Dent.* 2016;7(4):361–7. doi: 10.1111/jicd.12175. PMID: 26194628.
- Armario A, Escorihuela R, Nadal R. Long-term neuroendocrine and behavioural effects of a single exposure to stress in adult animals. *Neurosci Biobehav Rev.* 2008;32(6):1121–35. doi: 10.1016/J.NEUBIOREV.2008.04.003. PMID: 18514314.
- Arya S, Duhan J, Tewari S, Sangwan P, Ghalaut V, Aggarwal S. Healing of apical periodontitis after nonsurgical treatment in patients with type 2 diabetes. *J Endod.* 2017;43(10):1623–7. doi: 10.1016/J.JOEN.2017.05.013. PMID: 28803674.
- Aydin H, Mutlu N, Akbas NGB. Treatment of a major depression episode suppresses markers of bone turnover in premenopausal women. *J Psychiatr Res.* 2011;45(10):1316–20. doi: 10.1016/j.jpsychires.2011.04.005.
- Ayensu WK, Pucilowski O, Mason GA, Overstreet DH, Rezvani AH, Janowsky DS. Effects of chronic mild stress on serum complement activity, saccharin preference, and corticosterone levels in Flinders lines of rats. *Physiol Behav.* 1995;57(1):165–9. doi: 10.1016/0031-9384(94)00204-I.
- 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;83:230–5. doi: 10.1016/j.archoralbio.2017.08.001. PMID: 28818706.
- Bachis A, Cruz M, Nosheny R, Mocchetti I. Chronic unpredictable stress promotes neuronal apoptosis in the cerebral cortex. *Neurosci Lett.* 2008;442(2):104–8. doi:

10.1016/J.NEULET.2008.06.081. PMID: 18621098.

Bakri I, Douglas CWI, Rawlinson A. The effects of stress on periodontal treatment: A longitudinal investigation using clinical and biological markers. *J Clin Periodontol*. 2013;40(10):955–61. doi: 10.1111/jcpe.12142. PMID: 23952266.

Bangsgaard E, Ottesen J. Patient specific modeling of the HPA axis related to clinical diagnosis of depression. *Math Biosci*. 2017;287:24–35. doi: 10.1016/J.MBS.2016.10.007. PMID: 27816534.

Bekhbat M, Glasper ER, Rowson S, Kelly SD, Neigh GN. Measuring corticosterone concentrations over a physiological dynamic range in female rats. *Physiol Behav*. 2018;194:73–6. doi: 10.1016/J.PHYSBEH.2018.04.033. PMID: 29730284.

Belibasakis GN, Rechenberg DK, Zehnder M. The receptor activator of NF- κ B ligand-osteoprotegerin system in pulpal and periapical disease. *Int Endod J*. 2013;46(2):99–111. doi: 10.1111/j.1365-2591.2012.02105.x. PMID: 22900632.

Bertrand E, Smadja C, Mauborgne A, Roques BP, Daugé V. Social interaction increases the extracellular levels of [Met]enkephalin in the nucleus accumbens of control but not of chronic mild stressed rats. *Neuroscience*. 1997;80(1):17–20. doi: 10.1016/S0306-4522(97)00136-X.

Black P, Garbutt L. Stress, inflammation and cardiovascular disease. *J Psychosom Res*. 2002;52(1):1–23. doi: 10.1016/S0022-3999(01)00302-6. PMID: 11801260.

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

Blatteau J-E, de Maistre S, Lambrechts K, Abraini J, Risso J-J, Vallée N. Fluoxetine stimulates anti-inflammatory IL-10 cytokine production and attenuates sensory deficits in a rat model of decompression sickness. *J Appl Physiol*. 2015;119(12):1393–9. doi: 10.1152/japplphysiol.00602.2015.

Bliziotis M, Gunness M, Eshleman A, Wiren K. The role of dopamine and serotonin in regulating bone mass and strength: studies on dopamine and serotonin transporter null mice. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2002;2(3):291–5. PMID: 15758457.

Blossom V, Gokul M, Kumar N, Kini R, Nayak S, Bhagyalakshmi K. Chronic unpredictable stress-induced inflammation and quantitative analysis of neurons of distinct brain regions in Wistar rat model of comorbid depression. *Vet World*. 2020;13(9):1870–4. doi: 10.14202/VETWORLD.2020.1870-1874. PMID: 33132599.

Bonnet N, Bernard P, Beaupied H, Bizot JC, Trovero F, Courteix D, et al. Various effects of antidepressant drugs on bone microarchitecture, mechanical properties and bone remodeling. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2007;221(1):111–8. doi: 10.1016/j.taap.2007.02.005. PMID: 17383703.

Boyapati L, Wang H-LL. The role of stress in periodontal disease and wound healing. *Periodontol 2000*. 2007;44(1):195–210. doi: 10.1111/j.1600-0757.2007.00211.x.

PMID: 17474934.

Boyce BF, Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Arch Biochem Biophys*. 2008;473(2):139–46. doi: 10.1016/j.abb.2008.03.018. PMID: 18395508.

Branco-de-Almeida LS, Franco GC, Castro ML, Dos Santos JG, Anbinder AL, Cortelli SC, et al. Fluoxetine inhibits inflammatory response and bone loss in a rat model of ligature-induced periodontitis. *J Periodontol*. 2012;83(5):664–71. doi: 10.1902/jop.2011.110370. PMID: 21966942.

Brandish PE, Anderson K, Baltus GA, Bai C, Bungard CJ, Bunting P, et al. The preclinical efficacy, selectivity and pharmacologic profile of MK-5932, an insulin-sparing selective glucocorticoid receptor modulator. *Eur J Pharmacol*. 2014;724:102–11. doi: 10.1016/j.ejphar.2013.12.031.

Brismar K, Hylander B, Eliasson K, Rössner S, Wetterberg L. Melatonin secretion related to side-effects of β -blockers from the central nervous system. *Acta Med Scand*. 2009;223(6):525–30. doi: 10.1111/j.0954-6820.1988.tb17690.x.

Brito L, Teles F, Teles R, Totola A, Vieira L, Sobrinho A. T-lymphocyte and cytokine expression in human inflammatory periapical lesions. *J Endod*. 2012;38(4):481–5. doi: 10.1016/j.joen.2011.12.010. PMID: 22414833.

Broverman RL, Nguyen K-HT, da Silveira A, Brinkley LL, Macauley SP, Zeng T, et al. Changes in the expression of extracellular matrix (ECM) and matrix metalloproteinases (MMP) of proliferating rat parotid acinar cells. *J Dent Res*. 1998;77(7):1504–14. doi: 10.1177/00220345980770070501.

Bustin SA, Benes V, Garson JA, Hellemans J, Huggett J, Kubista M, et al. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time pcr experiments. *Clin Chem*. 2009;55(4):611–22. doi: 10.1373/clinchem.2008.112797.

Buxton OM, Lee CW, L'Hermite-Balériaux M, Turek FW, Van Cauter E. Exercise elicits phase shifts and acute alterations of melatonin that vary with circadian phase. *Am J Physiol Integr Comp Physiol*. 2003;284(3):R714–24. doi: 10.1152/ajpregu.00355.2002.

Calil HM. Fluoxetine: a suitable long-term treatment. *J Clin Psychiatry*. 2001;62 Suppl 2:24–9. PMID: 11599644.

Carneiro E, Parolin AB, Wichnieski C, Rosa EAR, Silva Neto UX, Westphalen VPD, et al. Expression levels of the receptor activator of NF- κ B ligand and osteoprotegerin and the number of gram-negative bacteria in symptomatic and asymptomatic periapical lesions. *Arch Oral Biol*. 2017;73:166–71. doi: 10.1016/j.archoralbio.2016.10.004. PMID: 27771584.

Castro MML, Ferreira R de O, Fagundes NCF, Almeida APCPSC, Maia LC, Lima RR. Association between psychological stress and periodontitis: a systematic review. *Eur J Dent*. 2020;14(1):171–9. doi: 10.1055/s-0039-1693507. PMID: 32069501.

Cavigelli SA, Bao AD, Bourne RA, Caruso MJ, Caulfield JI, Chen M, et al. Timing matters: the interval between acute stressors within chronic mild stress modifies behavioral and physiologic stress responses in male rats. *Stress*. 2018;21(5):453–63. doi: 10.1080/10253890.2018.1459557.

Chakravarti A, Raquil M-A, Tessier P, Poubelle PE. Surface RANKL of Toll-like receptor 4–stimulated human neutrophils activates osteoclastic bone resorption. *Blood*. 2009;114(8):1633–44. doi: 10.1182/blood-2008-09-178301.

Chang K, Lu L. Characteristics of organizational culture, stressors and wellbeing: The case of Taiwanese organizations. *J Manag Psychol*. 2007;22(6):549–68. doi: 10.1108/02683940710778431.

Chen K, Kolls JK. Interleukin-17A (IL17A). *Gene*. 2017;614:8–14. doi: 10.1016/j.gene.2017.01.016.

Chojnacki C, Walecka-Kapica E, Klupinska G, Pawlowicz M, Blonska A, Chojnacki J. Effects of fluoxetine and melatonin on mood, sleep quality and body mass index in postmenopausal women - PubMed. *J Physiol Pharmacol*. 2015;66(5):665–71. PMID: 26579572.

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

Cintra LTA, Estrela C, Azuma MM, Queiroz IOA, Kawai T, Gomes-Filho JE. Endodontic medicine: Interrelationships among apical periodontitis, systemic disorders, and tissue responses of dental materials. *Braz Oral Res*. 2018;32(suppl 1):66–81. doi: 10.1590/1807-3107bor-2018.vol32.0068. PMID: 30365609.

Cintra LTA, Samuel RO, Azuma MM, Queiróz IAO, Ervolino E, Sumida DH, et al. Multiple apical periodontitis influences serum levels of cytokines and nitric oxide. *J Endod*. 2016;42(5):747–51. doi: 10.1016/J.JOEN.2016.01.022. PMID: 27059651.

Cintra LTA, Samuel RO, Azuma MM, Ribeiro CP, Narciso LG, de Lima VMF, et al. Apical periodontitis and periodontal disease increase serum IL-17 levels in normoglycemic and diabetic rats. *Clin Oral Investig*. 2014a;18(9):2123–8. doi: 10.1007/s00784-014-1192-7. PMID: 24464218.

Cintra LTA, da Silva Facundo AC, Prieto AKC, Sumida DH, Narciso LG, Mogami Bomfim SR, et al. Blood profile and histology in oral infections associated with diabetes. *J Endod*. 2014b;40(8):1139–44. doi: 10.1016/j.joen.2014.01.034.

Čolić M, Gazivoda D, Vučević D, Vasilijić S, Rudolf R, Lukić A. Proinflammatory and immunoregulatory mechanisms in periapical lesions. *Mol Immunol*. 2009;47(1):101–13. doi: 10.1016/j.molimm.2009.01.011.

Cosme-Silva L, Dal-Fabbro R, Cintra LTA, Ervolino E, Piazza F, Bomfim SM, et al. Reduced bone resorption and inflammation in apical periodontitis evoked by dietary supplementation with probiotics in rats. *Int Endod J*. 2020;53(8):1084–92. doi: 10.1111/IEJ.13311. PMID: 32436602.

Cosme-Silva L, Dal-Fabbro R, Cintra LTA, dos Santos VR, Duque C, Ervolino E, et al. Systemic administration of probiotics reduces the severity of apical periodontitis. *Int Endod J*. 2019;52(12):1738–49. doi: 10.1111/iej.13192.

Cotti E, Dessì C, Piras A, Flore G, Deidda M, Madeddu C, et al. Association of endodontic infection with detection of an initial lesion to the cardiovascular system. *J Endod*. 2011;37(12):1624–9. doi: 10.1016/j.joen.2011.09.006.

Curzon G, Gibson E, Oluyomi A. Appetite suppression by commonly used drugs depends on 5-HT receptors but not on 5-HT availability. *Trends Pharmacol Sci*. 1997;18(1):21–5. doi: 10.1016/S0165-6147(96)01003-6. PMID: 9114726.

Cutolo M, Maestroni GJ. The melatonin-cytokine connection in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2005;64(8):1109–11. doi: 10.1136/ARD.2005.038588. PMID: 16014678.

Dai J, Pan JY, Liao N, Shi J, Zeng Q, Huang L, et al. Influence of miR-155 on behaviors of depression mice through regulating Wnt/-catenin signaling pathway. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2020;24(3):1398–407. doi: 10.26355/eurrev_202002_20197. PMID: 32096189.

Dal-Fabbro R, Marques-de-Almeida M, Cosme-Silva L, Ervolino E, Cintra LTA, Gomes-Filho JE. Chronic alcohol consumption increases inflammation and osteoclastogenesis in apical periodontitis. *Int Endod J*. 2019;52(3):329–36. doi: 10.1111/iej.13014. PMID: 30218448.

Danin J, Linder LE, Lundqvist G, Andersson L. Tumor necrosis factor-alpha and transforming growth factor-beta1 in chronic periapical lesions. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*. 2000;90(4):514–7. doi: 10.1067/moe.2000.108958.

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. PMID: 19571591.

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

Dhabhar FS, Malarkey WB, Neri E, McEwen BS. Stress-induced redistribution of immune cells-From barracks to boulevards to battlefields: A tale of three hormones - Curt Richter Award Winner. *Psychoneuroendocrinology*. 2012;37(9):1345–68. doi: 10.1016/j.psyneuen.2012.05.008. PMID: 22727761.

Dhabhar FS, McEwen BS. Acute stress enhances while chronic stress suppresses cell-mediated immunity in vivo: A potential role for leukocyte trafficking. *Brain Behav Immun*. 1997;11(4):286–306. doi: 10.1006/brbi.1997.0508. PMID: 9512816.

Dhabhar FS, Saul AN, Daugherty C, Holmes TH, Bouley DM, Oberyshyn TM. Short-term stress enhances cellular immunity and increases early resistance to squamous cell carcinoma. *Brain Behav Immun*. 2010;24(1):127–37. doi:

10.1016/j.bbi.2009.09.004. PMID: 19765644.

Dionisie V, Filip GA, Manea MC, Manea M, Riga S. The anti-inflammatory role of SSRI and SNRI in the treatment of depression: a review of human and rodent research studies. *Inflammopharmacology*. 2020. doi: 10.1007/s10787-020-00777-5.

Färkkilä E, Rautemaa-Richardson R, Färkkilä A, Grönholm L, Lauhio A. Evaluation of risk factors for oral infection with potential for spread in a 1-year cohort study. *Clin Oral Investig*. 2019;23(2):905–11. doi: 10.1007/s00784-018-2518-7. PMID: 29948280.

Fox MA, Andrews AM, Wendland JR, Lesch K-P, Holmes A, Murphy DL. A pharmacological analysis of mice with a targeted disruption of the serotonin transporter. *Psychopharmacology (Berl)*. 2007;195(2):147–66. doi: 10.1007/s00213-007-0910-0. PMID: 17712549.

Francisconi CF, Vieira AE, Biguetti CC, Glowacki AJ, Trombone APF, Letra A, et al. Characterization of the protective role of regulatory T cells in experimental periapical lesion development and their chemoattraction manipulation as a therapeutic tool. *J Endod*. 2016;42(1):120–6. doi: 10.1016/j.joen.2015.09.022. PMID: 26589811.

Frick LR, Barreiro Arcos ML, Rapanelli M, Zappia MP, Brocco M, Mongini C, et al. Chronic restraint stress impairs T-cell immunity and promotes tumor progression in mice. *Stress*. 2009;12(2):134–43. doi: 10.1080/10253890802137437. PMID: 18609297.

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;24(1):25–31. doi: 10.1111/j.1399-302X.2008.00469.x. PMID: 19121066.

Fuller RW, Snoddy HD. Fluoxetine enantiomers as antagonists of p-chloroamphetamine effects in rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 1986;24(2):281–4. doi: 10.1016/0091-3057(86)90351-5.

Gaffen SL. Biology of recently discovered cytokines: interleukin-17--a unique inflammatory cytokine with roles in bone biology and arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2004;6(6):240–7. doi: 10.1186/ar1444.

García-Iglesias BB, Mendoza-Garrido ME, Gutiérrez-Ospina G, Rangel-Barajas C, Noyola-Díaz M, Terrón JA. Sensitization of restraint-induced corticosterone secretion after chronic restraint in rats: involvement of 5-HT₇ receptors. *Neuropharmacology*. 2013;71:216–27. doi: 10.1016/j.neuropharm.2013.03.013. PMID: 23542440.

Gazivoda D, Dzopalic T, Bozic B, Tatomirovic Z, Brkic Z, Colic M. Production of proinflammatory and immunoregulatory cytokines by inflammatory cells from periapical lesions in culture. *J Oral Pathol Med*. 2009;38(7):605–11. doi: 10.1111/j.1600-0714.2009.00788.x. PMID: 19453841.

Gebara MA, Shea MLOO, Lipsey KL, Teitelbaum SL, Civitelli R, Müller DJ, et al. Depression, antidepressants, and bone health in older adults: a systematic review. *J*

Am Geriatr Soc. 2014;62(8):1434–41. doi: 10.1111/jgs.12945. PMID: 25039259.

Gemmell E, Yamazaki K, Seymour GJ. The role of T cells in periodontal disease: homeostasis and autoimmunity. *Periodontol* 2000. 2007;43(1):14–40. doi: 10.1111/j.1600-0757.2006.00173.x. PMID: 17214833.

Ghosh S, Choudhury S, Chowdhury O, Mukherjee S, Das A, Sain A, et al. Inflammation-induced behavioral changes is driven by alterations in Nrf2-dependent apoptosis and autophagy in mouse hippocampus: role of fluoxetine. *Cell Signal*. 2020;68. doi: 10.1016/j.cellsig.2019.109521. PMID: 31881324.

Glaser R, Kiecolt-Glaser JK. Stress-induced immune dysfunction: Implications for health. *Nat Rev Immunol*. 2005;5(3):243–51. doi: 10.1038/nri1571. PMID: 15738954.

Golub LM, Lee H-M, Ryan ME, Giannobile WV, Payne J, Sorsa T. Tetracyclines inhibit connective tissue breakdown by multiple non-antimicrobial mechanisms. *Adv Dent Res*. 1998;12(1):12–26. doi: 10.1177/08959374980120010501. PMID: 9972117.

Gomes-Filho JE, Wayama MT, Dornelles RCM, Ervolino E, Coclete GA, Duarte PCT, et al. Effect of raloxifene on periapical lesions in ovariectomized rats. *J Endod*. 2015;41(5):671–5. doi: 10.1016/j.joen.2014.11.027. PMID: 25576209.

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

Goshen I, Kreisel T, Ben-Menachem-Zidon O, Licht T, Weidenfeld J, Ben-Hur T, et al. Brain interleukin-1 mediates chronic stress-induced depression in mice via adrenocortical activation and hippocampal neurogenesis suppression. *Mol Psychiatry*. 2008;13(7):717–28. doi: 10.1038/SJ.MP.4002055. PMID: 17700577.

Graves DT, Oates T, Garlet GP. Review of osteoimmunology and the host response in endodontic and periodontal lesions. *J Oral Microbiol*. 2011;3(1):5304. doi: 10.3402/jom.v3i0.5304. PMID: 21547019.

Grippo AJ, Francis J, Beltz TG, Felder RB, Johnson AK. Neuroendocrine and cytokine profile of chronic mild stress-induced anhedonia. *Physiol Behav*. 2005;84(5):697–706. doi: 10.1016/J.PHYSBEH.2005.02.011. PMID: 15885245.

Habib M, Shaker S, El-Gayar N, Aboul-Fotouh S. The effects of antidepressants “Fluoxetine and Imipramine” on vascular abnormalities and toll like receptor-4 expression in diabetic and non-diabetic rats exposed to chronic stress. *PLoS One*. 2015;10(3). doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0120559. PMID: 25826421.

Haney EM, Warden SJ, Bliziotes MM. Effects of selective serotonin reuptake inhibitors on bone health in adults: time for recommendations about screening, prevention and management? *Bone*. 2010;46(1):13–7. doi: 10.1016/j.bone.2009.07.083. PMID: 19664737.

Hannas AR, Pereira JC, Granjeiro JM, Tjäderhane L. The role of matrix

metalloproteinases in the oral environment. *Acta Odontol Scand*. 2007;65(1):1–13. doi: 10.1080/00016350600963640.

Hayman AR. Tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) and the osteoclast/immune cell dichotomy. *Autoimmunity*. 2008;41(3):218–23. doi: 10.1080/08916930701694667.

Herman J, Adams D, Prewitt C. Regulatory changes in neuroendocrine stress-integrative circuitry produced by a variable stress paradigm. *Neuroendocrinology*. 1995;61(2):180–90. doi: 10.1159/000126839. PMID: 7753337.

Herman J, McKlveen J, Ghosal S, Kopp B, Wulsin A, Makinson R, et al. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical stress response. *Compr Physiol*. 2016;6(2):603–21. doi: 10.1002/CPHY.C150015. PMID: 27065163.

Holsboer F, Barden N. Antidepressants and hypothalamic-pituitary-adrenocortical regulation. *Endocr Rev*. 1996;17(2):187–205. doi: 10.1210/EDRV-17-2-187. PMID: 8706631.

Holzhausen M, Rossa Júnior C, Marcantonio Júnior E, Nassar PO, Spolidório DMP, Spolidório LC. Effect of selective cyclooxygenase-2 inhibition on the development of ligature-induced periodontitis in rats. *J Periodontol*. 2002;73(9):1030–6. doi: 10.1902/jop.2002.73.9.1030. PMID: 12296588.

Hong C, Chen L, Kong W, Zhang D, Wang L, Zhao J, et al. Behavioral and neurochemical changes in rats with recurrent depression induced by chronic unpredictable stress. *Neuro Endocrinol Lett*. 2021;42(6):387–94. PMID: 34713688.

Hou L -T, Liu C -M, Rossomando EF. Crevicular interleukin-1 β in moderate and severe periodontitis patients and the effect of phase I periodontal treatment. *J Clin Periodontol*. 1995;22(2):162–7. doi: 10.1111/j.1600-051X.1995.tb00128.x. PMID: 7775673.

Howait M, Albassam A, Yamada C, Sasaki H, Bahammam L, Azuma MM, et al. Elevated expression of macrophage migration inhibitory factor promotes inflammatory bone resorption induced in a mouse model of periradicular periodontitis. *J Immunol*. 2019;202(7):2035–43. doi: 10.4049/jimmunol.1801161.

Instituto de Psicologia e Controle do Stress [Internet]. Stress Brasil [cited 2021 Jan 15]. Available from: <http://www.estresse.com.br/pesquisa/stress-brasil/>.

Jakovljevic A, Knezevic A, Karalic D, Soldatovic I, Popovic B, Milasin J, et al. Pro-inflammatory cytokine levels in human apical periodontitis: Correlation with clinical and histological findings. *Aust Endod J*. 2015;41(2):72–7. doi: 10.1111/aej.12072. PMID: 25163634.

Jara C, Hartmann R, Böttcher D, Souza T, Gomes M, Figueiredo J. Influence of apical enlargement on the repair of apical periodontitis in rats. *Int Endod J*. 2018;51(11):1261–70. doi: 10.1111/IEJ.12949. PMID: 29737545.

Jiang P, Zhang W, Li H, Cai H, Liu Y, Chen L. Stress and vitamin D: altered vitamin

D metabolism in both the hippocampus and myocardium of chronic unpredictable mild stress exposed rats. *Psychoneuroendocrinology*. 2013;38(10):2091–8. doi: 10.1016/J.PSYNEUEN.2013.03.017. PMID: 23608137.

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

Jorge EG, Tanomaru-Filho M, Gonçalves M, Tanomaru MJ. Detection of periapical lesion development by conventional radiography or computed tomography. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2008;106(1). doi: 10.1016/J.TRIPLEO.2008.03.020. PMID: 18585613.

José Jaime H-P, Venus B-C, Graciela J-R, Tania H-HO, Lucía M-M. Young-adult male rats' vulnerability to chronic mild stress is reflected by anxious-like instead of depressive-like behaviors. *Neurosci J*. 2016;2016:1–12. doi: 10.1155/2016/5317242.

Kalatzis-Sousa NG, Spin-Neto R, Wenzel A, Tanomaru-Filho M, Faria G. Use of micro-computed tomography for the assessment of periapical lesions in small rodents: a systematic review. *Int Endod J*. 2017;50(4):352–66. doi: 10.1111/iej.12633.

Karteva T, Manchorova-Veleva N. The role of the immune response in chronic marginal and apical periodontitis. *Folia Med (Plovdiv)*. 2020;62(2):238–43. doi: 10.3897/folmed.62.e39599. PMID: 32666754.

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

Khoury RD, Prado RF, Matos FS, Meireles BR, Cardoso FG da R, Oliveira LDL, et al. The influence of adrenergic blockade in rats with apical periodontitis under chronic stress conditions. *Arch Oral Biol*. 2020;110:104590. doi: 10.1016/J.ARCHORALBIO.2019.104590. PMID: 31743801.

Kinane DF, Demuth DR, Gorr SU, Hajishengallis GN, Martin MH. Human variability in innate immunity. *Periodontol 2000*. 2007;45(1):14–34. doi: 10.1111/j.1600-0757.2007.00220.x. PMID: 17850446.

Kirkevang LL, Wenzel A. Risk indicators for apical periodontitis. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2003;31(1):59–67. doi: 10.1034/j.1600-0528.2003.00032.x. PMID: 12542433.

Kishimoto T, Akira S, Narazaki M, Taga T. Interleukin-6 family of cytokines and gp130. *Blood*. 1995;86(4):1243–54. PMID: 7632928.

Klein DC, Sugden D, Weller JL. Postsynaptic alpha-adrenergic receptors potentiate the beta-adrenergic stimulation of pineal serotonin N-acetyltransferase. *Proc Natl Acad Sci*. 1983;80(2):599–603. doi: 10.1073/pnas.80.2.599.

Konkle A, Baker S, Kentner A, Barbagallo L, Merali Z, Bielajew C. Evaluation of the effects of chronic mild stressors on hedonic and physiological responses: sex and

strain compared. *Brain Res.* 2003;992(2):227–38. doi: 10.1016/J.BRAINRES.2003.08.047. PMID: 14625061.

Koob G. Stress, corticotropin-releasing factor, and drug addiction. *Ann N Y Acad Sci.* 1999;897:27–45. doi: 10.1111/J.1749-6632.1999.TB07876.X. PMID: 10676433.

Kornman KS, Page RC, Tonetti MS. The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol 2000.* 1997;14(1):33–53. doi: 10.1111/j.1600-0757.1997.tb00191.x. PMID: 9567965.

Kou Y, Li C, Yang P, Li D, Lu X, Liu H, et al. The W9 peptide inhibits osteoclastogenesis and osteoclast activity by downregulating osteoclast autophagy and promoting osteoclast apoptosis. *J Mol Histol.* 2021. doi: 10.1007/s10735-021-10030-0.

Kubera M, Lin A-H, Kenis G, Bosmans E, van Bockstaele D, Maes M. Anti-inflammatory effects of antidepressants through suppression of the interferon- γ /interleukin-10 production ratio. *J Clin Psychopharmacol.* 2001;21(2):199–206. doi: 10.1097/00004714-200104000-00012.

Kubera M, Maes M, Budziszewska B, Basta-Kaim A, Lešekiewicz M, Grygier B, et al. Inhibitory effects of amantadine on the production of pro-inflammatory cytokines by stimulated in vitro human blood. *Pharmacol Reports.* 2009;61(6):1105–12. doi: 10.1016/S1734-1140(09)70173-2.

Kvarta M, Bradbrook K, Dantrassy H, Bailey A, Thompson S. Corticosterone mediates the synaptic and behavioral effects of chronic stress at rat hippocampal temporoammonic synapses. *J Neurophysiol.* 2015;114(3):1713–24. doi: 10.1152/JN.00359.2015. PMID: 26180121.

Kwilasz AJ, Grace PM, Serbedzija P, Maier SF, Watkins LR. The therapeutic potential of interleukin-10 in neuroimmune diseases. *Neuropharmacology.* 2015;96:55–69. doi: 10.1016/j.neuropharm.2014.10.020.

Lee S, Remark LH, Buchalter DB, Josephson AM, Wong MZ, Litwa HP, et al. Propranolol reverses impaired fracture healing response observed with selective serotonin reuptake inhibitor treatment. *J Bone Miner Res.* 2020;35(5):932–41. doi: 10.1002/jbmr.3950. PMID: 31881108.

Leitão RFC, Ribeiro RA, Chaves H V, Rocha FAC, Lima V, Brito GAC. Nitric oxide synthase inhibition prevents alveolar bone resorption in experimental periodontitis in rats. *J Periodontol.* 2005;76(6):956–63. doi: 10.1902/jop.2005.76.6.956. PMID: 15948691.

Lin Y, Liu A, Xu Y, Tie L, Yu H, Li X. Effect of chronic unpredictable mild stress on brain–pancreas relative protein in rat brain and pancreas. *Behav Brain Res.* 2005;165(1):63–71. doi: 10.1016/j.bbr.2005.06.034.

Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{(-Delta Delta C(T))} Method. *Methods.* 2001;25(4):402–8. doi: 10.1006/meth.2001.1262. PMID: 11846609.

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

Lu H, Xu M, Wang F, Liu S, Gu J, Lin S, et al. Chronic stress accelerates ligature-induced periodontitis by suppressing glucocorticoid receptor- α signaling. *Exp Mol Med*. 2016;48(3):e223. doi: 10.1038/emmm.2015.127. PMID: 27012709.

Lu H, Xu M, Wang F, Liu S, Gu J, Lin S. Chronic stress enhances progression of periodontitis via α 1-adrenergic signaling: a potential target for periodontal disease therapy. *Exp Mol Med*. 2014;46(10):e118. doi: 10.1038/emmm.2014.65. PMID: 25323788.

Lu Y, Ho CS, Liu X, Chua AN, Wang W, McIntyre RS, et al. Chronic administration of fluoxetine and pro-inflammatory cytokine change in a rat model of depression. *PLoS One*. 2017;12(10). doi: 10.1371/journal.pone.0186700. PMID: 29049348.

Luo DD, An SC, Zhang X. Involvement of hippocampal serotonin and neuropeptide Y in depression induced by chronic unpredicted mild stress. *Brain Res Bull*. 2008;77(1):8–12. doi: 10.1016/j.brainresbull.2008.05.010.

Maes M. The immunoregulatory effects of antidepressants. *Hum Psychopharmacol Clin Exp*. 2001;16(1):95–103. doi: 10.1002/hup.191.

Magariños A, McEwen B, Flügge G, Fuchs E. Chronic psychosocial stress causes apical dendritic atrophy of hippocampal CA3 pyramidal neurons in subordinate tree shrews. *J Neurosci*. 1996;16(10):3534–40. doi: 10.1523/JNEUROSCI.16-10-03534.1996. PMID: 8627386.

Mann JJ. Role of the serotonergic system in the pathogenesis of major depression and suicidal behavior. *Neuropsychopharmacology*. 1999;21(2 Suppl):99S–105S. doi: 10.1016/S0893-133X(99)00040-8. PMID: 10432495.

Marrin K, Drust B, Gregson W, Morris CJ, Chester N, Atkinson G. Diurnal variation in the salivary melatonin responses to exercise: relation to exercise-mediated tachycardia. *Eur J Appl Physiol*. 2011;111(11):2707–14. doi: 10.1007/s00421-011-1890-7.

Martins L, Spreafico C, Tanobe P, Tavares T, Castro M, Franco G, et al. Influence of adrenergic neuromodulation during induction of periodontitis in rats. *J Int Acad Periodontol*. 2017;19(3):80–8.

Márton IJ, Kiss C, Márton IJ, Kiss C. Protective and destructive immune reactions in apical periodontitis. *Oral Microbiol Immunol*. 2000;15(3):139–50. doi: 10.1034/j.1399-302X.2000.150301.x. PMID: 11154396.

Matos FS, Prado RF, Khoury RD, Oliveira LD, Valera MC, Tomson PL, et al. Anti-inflammatory and anti-resorptive efficacy of adrenergic blockers on late replanted rat incisors. *Dent Traumatol*. 2020;36(3):253–63. doi: 10.1111/edt.12523. PMID: 31647601.

Matsui H, Yamasaki M, Nakata K, Amano K, Nakamura H. Expression of MMP-8 and MMP-13 in the development of periradicular lesions. *Int Endod J*. 2011;44(8):739–45. doi: 10.1111/j.1365-2591.2011.01880.x.

Matsuki Y, Yamamoto T, Hara K. Detection of inflammatory cytokine messenger RNA (mRNA)-expressing cells in human inflamed gingiva by combined in situ hybridization and immunohistochemistry. *Immunology*. 1992;76(1):42–7. PMID: 1628899.

Matsuzaki G, Umemura M. Interleukin-17 family cytokines in protective immunity against infections: role of hematopoietic cell-derived and non-hematopoietic cell-derived interleukin-17s. *Microbiol Immunol*. 2018;62(1):1–13. doi: 10.1111/1348-0421.12560.

McCauley LK, Nohutcu RM. Mediators of periodontal osseous destruction and remodeling: principles and implications for diagnosis and therapy. *J Periodontol*. 2002;73(11):1377–91. doi: 10.1902/jop.2002.73.11.1377. PMID: 12479643.

McEwen BS. Protective and damaging effects of stress mediators: central role of the brain. *Dialogues Clin Neurosci*. 2006;8(4):367–81. PMID: 17290796.

Mendes DC, de Oliveira Poswar F, de Oliveira MVM, Haikal DS, da Silveira MF, de Barros Lima Martins AME, et al. Analysis of socio-demographic and systemic health factors and the normative conditions of oral health care in a population of the Brazilian elderly. *Gerodontology*. 2012;29(2):e206–14. doi: 10.1111/j.1741-2358.2010.00446.x.

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;102(3):404–9. doi: 10.1016/j.tripleo.2005.10.054. PMID: 16920551.

Menezes R, Garlet TP, Letra A, Bramante CM, Campanelli AP, Figueira R de C, et al. Differential patterns of receptor activator of nuclear factor kappa B ligand/osteoprotegerin expression in human periapical granulomas: possible association with progressive or stable nature of the lesions. *J Endod*. 2008a;34(8):932–8. doi: 10.1016/j.joen.2008.05.002. PMID: 18634923.

Menezes R, Garlet TP, Trombone APF, Repeke CE, Letra A, Granjeiro JM, et al. The potential role of suppressors of cytokine signaling in the attenuation of inflammatory reaction and alveolar bone loss associated with apical periodontitis. *J Endod*. 2008b;34(12):1480–4. doi: 10.1016/j.joen.2008.09.003.

Michetti J, Maret D, Mallet J-P, Diemer F. Validation of cone beam computed tomography as a tool to explore root canal anatomy. *J Endod*. 2010;36(7):1187–90. doi: 10.1016/j.joen.2010.03.029.

Minhoto G, Khoury R, Orozco E, Prado R, Valera M. Effect of chronic unpredictable stress on the progression of experimental apical periodontitis in rats. *Int Endod J*. 2021;54(8):1342–52. doi: 10.1111/IEJ.13515. PMID: 33724486.

Minkowitz B, Boskey AL, Lane JM, Pearlman HS, Vigorita VJ. Effects of propranolol on bone metabolism in the rat. *J Orthop Res*. 1991;9(6):869–75. doi: 10.1002/jor.1100090613. PMID: 1919850.

Misra M, le Clair M, Mendes N, Miller KK, Lawson E, Meenaghan E, et al. Use of SSRIs may impact bone density in adolescent and young women with anorexia nervosa. *CNS Spectr*. 2010;15(9):579–86. doi: 10.1017/S1092852900000559.

Mojtabai R, Olfson M. Proportion of antidepressants prescribed without a psychiatric diagnosis is growing. *Health Aff*. 2011;30(8):1434–42. doi: 10.1377/hlthaff.2010.1024. PMID: 21821561.

Monteiro da Silva AM, Oakley DA, Newman HN, Nohl FS, Lloyd HM. Psychosocial factors and adult onset rapidly progressive periodontitis. *J Clin Periodontol*. 1996;23(8):789–94. doi: 10.1111/j.1600-051X.1996.tb00611.x.

Moore RE, Smith CK, Bailey CS, Voelkel EF, Tashjian AH. 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;23(3):301–15. PMID: 7908582.

Mousavijazi Mahvash, Naderan A, Ebrahimpour M, Sadeghipour M. Association between psychological stress and stimulation of inflammatory responses in periodontal disease - PubMed. *J Dent (Tehran)*. 2013;10(1):103–11.

Muscat R, Willner P. Suppression of sucrose drinking by chronic mild unpredictable stress: a methodological analysis. *Neurosci Biobehav Rev*. 1992;16(4):507–17. doi: 10.1186/s40360-019-0336-4.

Nair PNR. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2004;15(6):348–81. doi: 10.1177/154411130401500604. PMID: 15574679.

Nakajima K, Hamada N, Takahashi Y, Sasaguri K, Tsukinoki K, Umemoto T, et al. Restraint stress enhances alveolar bone loss in an experimental rat model. *J Periodontal Res*. 2006;41(6):527–34. doi: 10.1111/j.1600-0765.2006.00901.x. PMID: 17076777.

Nakashima T, Kobayashi Y, Yamasaki S, Kawakami A, Eguchi K, Sasaki H, et al. Protein expression and functional difference of membrane-bound and soluble receptor activator of nf-kb ligand: modulation of the expression by osteotropic factors and cytokines. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000;275(3):768–75. doi: 10.1006/bbrc.2000.3379. PMID: 10973797.

Nestler EJ, Hyman SE. Animal models of neuropsychiatric disorders. *Nat Neurosci*. 2010;13(10):1161–9. doi: 10.1038/nn.2647.

Nicot N, Hausman J-F, Hoffmann L, Evers D. Housekeeping gene selection for real-time RT-PCR normalization in potato during biotic and abiotic stress. *J Exp Bot*. 2005;56(421):2907–14. doi: 10.1093/jxb/eri285.

Ohgi Y, Futamura T, Kikuchi T, Hashimoto K. Effects of antidepressants on alternations in serum cytokines and depressive-like behavior in mice after lipopolysaccharide administration. *Pharmacol Biochem Behav.* 2013;103(4):853–9. doi: 10.1016/j.pbb.2012.12.003.

Okada Y, Hamada N, Kim Y, Takahashi Y, Sasaguri K, Ozono S, et al. Blockade of sympathetic β -receptors inhibits *Porphyromonas gingivalis*-induced alveolar bone loss in an experimental rat periodontitis model. *Arch Oral Biol.* 2010;55(7):502–8. doi: 10.1016/j.archoralbio.2010.04.002. PMID: 20593554.

Ortuño MJ, Robinson ST, Subramanyam P, Paone R, Huang Y-Y, Guo XE, et al. Serotonin-reuptake inhibitors act centrally to cause bone loss in mice by counteracting a local anti-resorptive effect. *Nat Med.* 2016;22(10):1170–9. doi: 10.1038/nm.4166. PMID: 27595322.

Ottenweller JE, Natelson BH, Pitman DL, Drastal SD. Adrenocortical and behavioral responses to repeated stressors: toward an animal model of chronic stress and stress-related mental illness. *Biol Psychiatry.* 1989;26(8):829–41. doi: 10.1016/0006-3223(89)90123-6. PMID: 2590694.

Oury F, Yadav VK, Wang Y, Zhou B, Liu XS, Guo XE, et al. CREB mediates brain serotonin regulation of bone mass through its expression in ventromedial hypothalamic neurons. *Genes Dev.* 2010;24(20):2330–42. doi: 10.1101/gad.1977210. PMID: 20952540.

Padro C, Sanders V. Neuroendocrine regulation of inflammation. *Semin Immunol.* 2014;26(5):357–68. doi: 10.1016/J.SMIM.2014.01.003. PMID: 24486056.

Pariante C, Lightman S. The HPA axis in major depression: classical theories and new developments. *Trends Neurosci.* 2008;31(9):464–8. doi: 10.1016/J.TINS.2008.06.006. PMID: 18675469.

de Paula-Silva FWG, Santamaria M, Leonardo MR, Consolaro A, da Silva LAB. Cone-beam computerized tomographic, radiographic, and histologic evaluation of periapical repair in dogs' post-endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;108(5):796–805. doi: 10.1016/j.tripleo.2009.06.016. PMID: 19734073.

Perić I, Stanisavljević A, Gass P, Filipović D. Fluoxetine reverses behavior changes in socially isolated rats: role of the hippocampal GSH-dependent defense system and proinflammatory cytokines. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2017;267(8):737–49. doi: 10.1007/s00406-017-0807-9. PMID: 28474231.

Peruzzo DC, Benatti BB, Ambrosano GMBB, Nogueira-Filho GR, Sallum EA, Casati MZ, et al. A systematic review of stress and psychological factors as possible risk factors for periodontal disease. *J Periodontol.* 2007;78(8):1491–504. doi: 10.1902/jop.2007.060371. PMID: 17668968.

Pinto KP, Ferreira CM, Maia LC, Sassone LM, Fidalgo TKS, Silva EJNL. Does tobacco smoking predispose to apical periodontitis and endodontic treatment need? A systematic review and meta-analysis. *Int Endod J.* 2020a;53(8):1068–83. doi:

10.1111/iej.13316. PMID: 32344459.

Pinto KP, Ferreira CMA, Guimarães AFC, Lima CO, Pires FR, Sassone LM, et al. Effects of alcohol and nicotine consumption on the development of apical periodontitis in rats: a correlative micro-computed tomographic, histological and immunohistochemical study. *Int Endod J*. 2020b;53(9):1238–52. doi: 10.1111/iej.13344. PMID: 32516436.

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;43(10):1651–6. doi: 10.1016/j.joen.2017.05.014. PMID: 28756960.

Rebouças E de L, Costa JJ do N, Passos MJ, Passos JR de S, Hurk R van den, Silva JRV. Real time PCR and importance of housekeeping genes for normalization and quantification of mRNA expression in different tissues. *Braz Arch Biol Technol*. 2013;56(1):143–54. doi: 10.1590/S1516-89132013000100019.

Reddy MS, Geurs NC, Gunsolley JC. Periodontal host modulation with antiproteinase, anti-inflammatory, and bone-sparing agents. A systematic review. *Ann Periodontol*. 2003;8(1):12–37. doi: 10.1902/annals.2003.8.1.12. PMID: 14971246.

Remus JL, Stewart LT, Camp RM, Novak CM, Johnson JD. Interaction of metabolic stress with chronic mild stress in altering brain cytokines and sucrose preference. *Behav Neurosci*. 2015;129(3):321–30. doi: 10.1037/BNE0000056. PMID: 25914924.

Rizzoli R, Cooper C, Reginster J, Abrahamsen B, Adachi JD, Brandi ML, et al. Antidepressant medications and osteoporosis. *Bone*. 2012;51(3):606–13. doi: 10.1016/j.bone.2012.05.018. PMID: 22659406.

Rôças IN, Siqueira JF, Del Aguila CA, Provenzano JC, Guilherme BPS, Gonçalves LS. Polymorphism of the CD14 and TLR4 genes and post-treatment apical periodontitis. *J Endod*. 2014;40(2):168–72. doi: 10.1016/j.joen.2013.10.006. PMID: 24461398.

Rodrigues W, Miguel C, Lazo-Chica J, Trindade Da Silva C, Vieira C, Clemente-Napimoga J, et al. Interleukin-6, tumor necrosis factor- α , C-reactive protein, and hematological parameters in experimental periodontal disease after β -adrenergic blockade. *J Indian Soc Periodontol*. 2019;23(6):511–6. doi: 10.4103/jisp.jisp_77_19.

Rodrigues WF, Madeira MFM, da Silva TA, Clemente-Napimoga JT, Miguel CB, Dias-da-Silva VJ, et al. Low dose of propranolol down-modulates bone resorption by inhibiting inflammation and osteoclast differentiation. *Br J Pharmacol*. 2012;165(7):2140–51. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01686.x. PMID: 21950592.

Rohini G, Kalaivani S, Kumar V, Rajasekar SA, Tuckaram J, Pandey V. Estimation and comparison of serum cortisol levels in periodontally diseased patients and periodontally healthy individuals: A clinical-biochemical study. *J Pharm Bioallied Sci*. 2015;7(6):S457–60. doi: 10.4103/0975-7406.163501.

Rosania AE, Low KG, McCormick CM, Rosania DA. Stress, depression, cortisol, and

periodontal disease. *J Periodontol*. 2009;80(2):260–6. doi: 10.1902/jop.2009.080334. PMID: 19186966.

Roumestan C, Michel A, Bichon F, Portet K, Detoc M, Henriquet C, et al. Anti-inflammatory properties of desipramine and fluoxetine. *Respir Res*. 2007;8(1):35. doi: 10.1186/1465-9921-8-35. PMID: 17477857.

Sacre S, Medghalchi M, Gregory B, Brennan F, Williams R. Fluoxetine and citalopram exhibit potent antiinflammatory activity in human and murine models of rheumatoid arthritis and inhibit toll-like receptors. *Arthritis Rheum*. 2010;62(3):683–93. doi: 10.1002/art.27304. PMID: 20131240.

Salinas-Muñoz M, Garrido-Flores M, Baeza M, Huamán-Chipana P, García-Sesnich J, Bologna R, et al. Bone resorptive activity in symptomatic and asymptomatic apical lesions of endodontic origin. *Clin Oral Investig*. 2017;21(8):2613–8. doi: 10.1007/s00784-017-2062-x. PMID: 28261746.

Samuel RO, Ervolino E, Queiroz ÍO de A, Azuma MM, Ferreira GT, Cintra LTA. Th1/Th2/Th17/Treg balance in apical periodontitis of normoglycemic and diabetic rats. *J Endod*. 2019;45(8):1009–15. doi: 10.1016/J.JOEN.2019.05.003. PMID: 31227229.

Sapolsky R, Krey L, McEwen B. Glucocorticoid-sensitive hippocampal neurons are involved in terminating the adrenocortical stress response. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1984;81(19):6174–7. doi: 10.1073/PNAS.81.19.6174. PMID: 6592609.

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

Seifert CF, Wiltrout TR. Calcaneal bone mineral density in young adults prescribed selective serotonin reuptake inhibitors. *Clin Ther*. 2013;35(9):1412–7. doi: 10.1016/j.clinthera.2013.07.423. PMID: 23958172.

Selye H. The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation. *J Clin Endocrinol Metab*. 1946;6:117–230. doi: 10.1210/jcem-6-2-117. PMID: 21025115.

Selye H. A syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature*. 1936;138(3479):32. doi: 10.1038/138032a0.

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

Silva TA, Garlet GP, Fukada SY, Silva JS, Cunha FQ. Chemokines in oral inflammatory diseases: apical periodontitis and periodontal disease. *J Dent Res*. 2007;86(4):306–19. doi: 10.1177/154405910708600403.

Simonneaux V, Ribelayga C. Generation of the melatonin endocrine message in mammals: a review of the complex regulation of melatonin synthesis by norepinephrine, peptides, and other pineal transmitters. *Pharmacol Rev*.

2003;55(2):325–95. doi: 10.1124/pr.55.2.2.

Sousa NGK, Cardoso CR de B, Silva JS da, Kuga MC, Tanomaru-Filho M, Faria G. Association of matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) with the expression of matrix metalloproteinases-1, -2 and -9 during periapical lesion development. *Arch Oral Biol*. 2014;59(9):944–53. doi: 10.1016/j.archoralbio.2014.05.021. PMID: 24927330.

Stashenko P, Teles R, D'Souza R. Periapical inflammatory responses and their modulation. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1998;9(4):498–521. doi: 10.1177/10454411980090040701.

Suzuki T, Higgins PJ, Crawford DR. Control selection for RNA quantitation. *Biotechniques*. 2000;29(2):332–7. doi: 10.2144/00292rv02.

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

Tani-Ishii N, Wang C, Tanner A, Stashenko P. Changes in root canal microbiota during the development of rat periapical lesions. *Oral Microbiol Immunol*. 1994;9(3):129–35. doi: 10.1111/J.1399-302X.1994.TB00048.X. PMID: 7936717.

Tibúrcio-Machado CS, Michelon C, Zanatta FB, Gomes MS, Marin JA, Bier CA. The global prevalence of apical periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *Int Endod J*. 2020;iej.13467. doi: 10.1111/iej.13467.

Ulrich-Lai Y, Figueiredo H, Ostrander M, Choi D, Engeland W, Herman J. Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2006;291(5). doi: 10.1152/AJPENDO.00070.2006. PMID: 16772325.

Vitale G, Ruggieri V, Filaferro M, Frigeri C, Alboni S, Tascetta F, et al. Chronic treatment with the selective NOP receptor antagonist [Nphe1,Arg14,Lys15]N/OFQ-NH2 (UFP-101) reverses the behavioural and biochemical effects of unpredictable chronic mild stress in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 2009;207(2):173–89. doi: 10.1007/s00213-009-1646-9.

Voznesenskaia TG, Safonova VA, Platonova NM. [Disorder of eating behavior and comorbid syndromes in obesity and methods of their correction]. *Zhurnal Nevrol i Psikiatrii Im SS Korsakova*. 2000;100(12):49–52. PMID: 11195539.

Wan C, Yuan G, Yang J, Sun Q, Zhang Li, Zhang J, et al. MMP9 deficiency increased the size of experimentally induced apical periodontitis. *J Endod*. 2014;40(5):658–64. doi: 10.1016/j.joen.2014.01.003.

Wang CY, Tani-Ishii N, Stashenko P. Bone-resorptive cytokine gene expression in periapical lesions in the rat. *Oral Microbiol Immunol*. 1997;12(2):65–71. doi: 10.1111/j.1399-302X.1997.tb00619.x. PMID: 9227128.

Warden SJ, Nelson IR, Fuchs RK, Blizotes MM, Turner CH. Serotonin (5-

hydroxytryptamine) transporter inhibition causes bone loss in adult mice independently of estrogen deficiency. *Menopause*. 2008;15(6):1176–83. doi: 10.1097/gme.0b013e318173566b. PMID: 18725867.

Warden SJ, Robling AG, Sanders MS, Bliziotes MM, Turner CH, Rohling AG, et al. Inhibition of the serotonin (5-hydroxytryptamine) transporter reduces bone accrual during growth. *Endocrinology*. 2005;146(2):685–93. doi: 10.1210/en.2004-1259. PMID: 15539550.

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

Willner P. The chronic mild stress (CMS) model of depression: History, evaluation and usage. *Neurobiol Stress*. 2016;6:78–93. doi: 10.1016/J.YNSTR.2016.08.002. PMID: 28229111.

Willner P, Moreau JL, Nielsen CK, Papp M, Sluzewska A. Decreased hedonic responsiveness following chronic mild stress is not secondary to loss of body weight. *Physiol Behav*. 1996;60(1):129–34. doi: 10.1016/0031-9384(95)02256-2. PMID: 8804652.

Willner P, Muscat R, Papp M. Chronic mild stress-induced anhedonia: a realistic animal model of depression. *Neurosci Biobehav Rev*. 1992;16(4):525–34. PMID: 1480349.

Willner P, Towell A, Sampson D, Sophokleous S, Muscat R. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology (Berl)*. 1987;93(3):358–64. doi: 10.1007/BF00187257. PMID: 3124165.

Wong DT, Bymaster FP, Engleman EA. Prozac (fluoxetine, Lilly 110140), the first selective serotonin uptake inhibitor and an antidepressant drug: twenty years since its first publication. *Life Sci*. 1995;57(5):411–41. PMID: 7623609.

Wong DT, Bymaster FP, Reid LR, Fuller RW, Perry KW. Inhibition of serotonin uptake by optical isomers of fluoxetine. *Drug Dev Res*. 1985;6(4):397–403. doi: 10.1002/ddr.430060412.

Wong DT, Perry KW, Bymaster FP. Case history: the discovery of fluoxetine hydrochloride (Prozac). *Nat Rev Drug Discov*. 2005;4(9):764–74.

Wu Q, Magnus JH, Liu J, Bencaz AF, Hentz JG. Depression and low bone mineral density: a meta-analysis of epidemiologic studies. *Osteoporos Int*. 2009;20(8):1309–20. doi: 10.1007/s00198-009-0918-x. PMID: 19343469.

Wu Y, Zhu L, Wei H, Peng B. Regulation of matrix metalloproteinases, tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1, and extracellular metalloproteinase inducer by interleukin-17 in human periodontal ligament fibroblasts. *J Endod*. 2013;39(1):62–7. doi: 10.1016/j.joen.2012.09.025.

Xiong H, Wei L, Peng B. The presence and involvement of interleukin-17 in apical periodontitis. *Int Endod J*. 2019;iej.13112. doi: 10.1111/iej.13112.

Xu R, Guo D, Zhou X, Sun J, Zhou Y, Fan Y, et al. Disturbed bone remodelling activity varies in different stages of experimental, gradually progressive apical periodontitis in rats. *Int J Oral Sci*. 2019;11(3). doi: 10.1038/S41368-019-0058-X. PMID: 31451690.

Yadav VK, Oury F, Suda N, Liu Z-W, Gao X-B, Confavreux C, et al. A serotonin-dependent mechanism explains the leptin regulation of bone mass, appetite, and energy expenditure. *Cell*. 2009;138(5). doi: 10.1016/j.cell.2009.06.051. PMID: 19737523.

Yang S, Zhu L, Xiao L, Shen Y, Wang L, Peng B, et al. Imbalance of interleukin-17+ T-cell and Foxp3+ regulatory T-cell dynamics in rat periapical lesions. *J Endod*. 2014;40(1):56–62. doi: 10.1016/j.joen.2013.09.033. PMID: 24331992.

Yaron I, Shirazi I, Judovich R, Levartovsky D, Caspi D, Yaron M. Fluoxetine and amitriptyline inhibit nitric oxide, prostaglandin E2, and hyaluronic acid production in human synovial cells and synovial tissue cultures. *Arthritis Rheum*. 1999;42(12):2561–8. doi: 10.1002/1529-0131(199912)42:12<2561::AID-ANR8>3.0.CO;2-U. PMID: 10616001.

Yoneda N, Noiri Y, Matsui S, Kuremoto K, Maezono H, Ishimoto T, et al. Development of a root canal treatment model in the rat. *Sci Rep*. 2017;7(1). doi: 10.1038/S41598-017-03628-6. PMID: 28607360.

Zhang W, Guo Y, Han W, Yang M, Wen L, Wang K, et al. Curcumin relieves depressive-like behaviors via inhibition of the NLRP3 inflammasome and kynurenine pathway in rats suffering from chronic unpredictable mild stress. *Int Immunopharmacol*. 2019;67:138–44. doi: 10.1016/J.INTIMP.2018.12.012. PMID: 30551030.

Zhang W, Liu S, Li H, Cai H. Chronic unpredictable mild stress affects myocardial metabolic profiling of SD rats. *J Pharm Biomed Anal*. 2012;70:534–8. doi: 10.1016/J.JPBA.2012.04.032. PMID: 22658902.

Zhao YW, Pan YQ, Tang MM, Lin WJ. Blocking p38 signaling reduces the activation of pro-inflammatory cytokines and the phosphorylation of p38 in the habenula and reverses depressive-like behaviors induced by neuroinflammation. *Front Pharmacol*. 2018;9(MAY). doi: 10.3389/fphar.2018.00511.

Zheng H, Liu Y, Li W, Yang B, Chen D, Wang X, et al. Beneficial effects of exercise and its molecular mechanisms on depression in rats. *Behav Brain Res*. 2006;168(1):47–55. doi: 10.1016/J.BBR.2005.10.007. PMID: 16290283.

Zivanovic S, Papic M, Vucicevic T, Miletic Kovacevic M, Jovicic N, Nikolic N, et al. Periapical lesions in two inbred strains of rats differing in immunological reactivity. *Int Endod J*. 2021. doi: 10.1111/iej.13638.