

EFEITO DO ESTRESSE CRÔNICO DE CONTENÇÃO SOBRE O REPARO DE CAVIDADES ÓSSEAS: ESTUDO HISTOLÓGICO EM TÍBIAS DE RATOS

*EFFECT OF CHRONIC STRESS OF RESTRAINT ON REPAIR OF BONE CAVITIES:
HISTOLOGICAL STUDY IN TIBIAE OF RATS*

Maria Cristina Rosifini **ALVES-REZENDE**¹

Ricardo **KUSUDA**³

Luciana Mara Negrão **ALVES**²

Renata Callestini **FELIPINI**¹

Roberta **OKAMOTO**¹

Tetuo **OKAMOTO**¹

Luís Guilherme Rosifini **ALVES-REZENDE**⁴

Tales Cândido **GARCIA-DA-SILVA**⁵

Ana Paula Rosifini **ALVES-CLARO**¹

O estresse do cotidiano, considerado pela OMS problema de ordem pública, acomete expressiva faixa populacional. O propósito deste trabalho foi estudar histologicamente o efeito do estresse crônico sobre o reparo ósseo. Cavidades ósseas foram criadas em ambas as tíbias de 40 ratos machos, divididos em 2 grupos: controle e estressado. 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. 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 estressado mostrava áreas de coágulo sanguíneo desorganizado. Aos 14 dias pós-operatórios, o Grupo controle evoluiu para trabeculado ósseo neoformado e o Grupo estressado para espículas delgadas. Aos 30 dias pós-operatórios a cavidade óssea mostrou-se totalmente reparada por tecido ósseo maduro no Grupo controle e, parcialmente reparada no Grupo estressado. Aos 60 dias pós-operatórios, osso maduro e bem diferenciado ocupava todos os espécimes. Com base nos resultados obtidos foi possível concluir que o estresse crônico atrasou a reparação óssea.

UNITERMOS: Sistema hipotálamo-hipofisário; Sistema hipófise-supra-renal; Cicatrização de feridas

INTRODUÇÃO

Sabe-se que os mecanismos de ação do estresse atuam negativamente no funcionamento físico^{10,20} e mental^{22,30} do organismo, na medida em que o estresse pode contribuir para a ontogênese de várias doenças físicas e psiquiátricas^{7,11,17,33,34}. Há também indicação de que um estado prolongado de estresse possa interferir no bem estar psicológico e na qualidade de vida das pessoas^{8,15}.

Para Berger³ o estresse do cotidiano implica necessariamente em tensão mental e ansiedade. Segundo Selye²⁷, o estresse produzido pela ansiedade é o total das respostas do organismo a

um estímulo que tende a alterar o equilíbrio existente. Desta forma, o estresse é o denominador comum de todas as reações de adaptação do corpo, isto é, o estado manifestado por todas as alterações inespecíficas produzidas em um sistema biológico³³.

Fundamentalmente, o estresse atua graças ao eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, o qual se encontra organizado funcionalmente na forma de arco reflexo neuroendócrino, com centro nos núcleos paraventriculares e vias aferentes de estimulação positiva e negativa. Acredita-se que todas estas aferências converjam para o sistema nervoso central

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

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

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

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

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

a nível de hipotálamo médio basal, onde ocorre um verdadeiro processamento de informações, culminando com a secreção pelos capilares primários da eminência média de uma série de peptídeos (CRFs), particularmente o CRH41, que possuem a capacidade de estimular a liberação de corticotrofina. Na sequência, via comunicação sanguínea portal, estes CRFs alcançam as células corticotróficas adenohipofisárias, desencadeando a ativação de um complexo processo enzimático que promove a síntese e a secreção do hormônio adenocorticotrófico (ACTH) e de outros derivados da proopiomelanocortina, representados pela beta-lipotrofina, beta-endorfina e alfa-MSH¹⁴.

Imediatamente após sua liberação na corrente sanguínea, o hormônio adenocorticotrófico (ACTH) inicia seus efeitos sobre as camadas corticais das adrenais, estimulando principalmente a secreção de hormônios esteróides (glico e mineralocorticóides) que agem periféricamente exercendo importantes efeitos na regulação do metabolismo glicídico, equilíbrio hidrossalino e nos processos inflamatórios e imunológicos, respondendo ainda pela retroalimentação negativa a nível hipofisário e hipotalâmico^{9,14}.

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 plasminogênio⁵.

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 fibrina³².

Por outro lado, atuando antagonista 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^{19,21}. Em contrapartida, a atividade plasmínica está sob controle de um grupo de alfa-globulinas presentes no plasma circulante: as antiplasminas²⁹.

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 ocorrer²⁸.

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).

Alves-Rezende, Okamoto¹ 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 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.

Bombonato⁴ 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.

Stringheto e Caruso²⁹ salientam que o estresse vem se tornando problema de saúde pública, já que acomete grande parte da população e sobrecarrega o sistema de atendimento médico por conta das complicações que provoca, comprometendo o cotidiano dos pacientes.

Considerando o grande número de pacientes estressados submetidos às cirurgias bucais na rotina diária de consultório, o propósito deste trabalho foi estudar histologicamente, o efeito do estresse crônico diário sobre o reparo ósseo em tíbias de ratos.

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 em dois grupos que receberam os seguintes tratamentos: Grupo 1

(Controle), no qual os animais foram submetidos à realização de defeitos ósseos experimentais em ambas as tíbias; Grupo 2 (tratado) composto por animais sob estresse crônico e 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 pela imobilização em tubos de PVC conforme metodologia proposta por Alves-Rezende e Okamoto^{1,2}. O estresse foi aplicado nos quarenta dias pré-operatórios e em todos os dias pós-operatórios até o sacrifício.

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

Sete dias pós-operatórios

A cavidade cirúrgica mostra-se preenchida por tecido conjuntivo denso, permeado por delicadas trabéculas ósseas neoformadas no Grupo controle (Figura 1). No Grupo estressado coágulo sanguíneo remanescente é observado junto a tecido conjuntivo indiferenciado, infiltrado por macrófagos de linfócitos (Figura 2).

Catorze dias pós-operatórios

No Grupo controle a loja cirúrgica encontra-se totalmente preenchida por tecido ósseo neoformado (Figura 3). No Grupo estressado a loja cirúrgica mostra-se ocupada parcialmente por trabéculas delgadas, com amplos espaços intertrabeculares (Figura 4).

Trinta dias pós-operatórios

A reparação óssea está completa e a cavidade cirúrgica encontra-se totalmente preenchida por tecido ósseo secundário no Grupo controle (Figura 5). No Grupo estressado, porém, o tecido ósseo secundário preenche parcialmente a loja cirúrgica (Figura 6).

Sessenta dias pós-operatórios

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

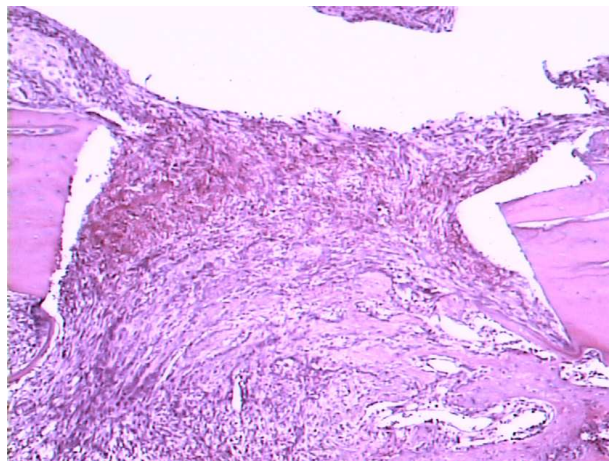


FIGURA 1- Sete Dias. Grupo Controle : Cavidade óssea preenchida por delicadas trabéculas ósseas neoformadas. HE. 160X.

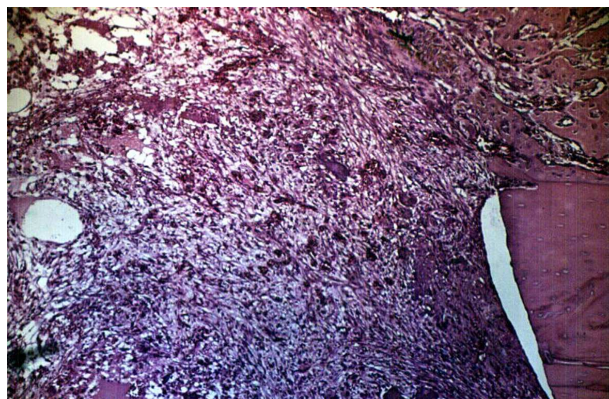


FIGURA 2- Sete Dias. Grupo Estressado : Cavidade óssea preenchida por coágulo sanguíneo desorganizado. HE. 160X.

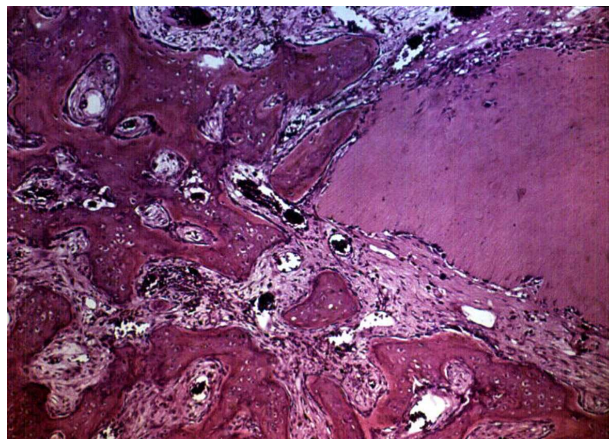


FIGURA 3- Catorze Dias. Grupo Controle : Trabéculas ósseas neoformadas com amplo espaço intertrabecular. HE. 160X.

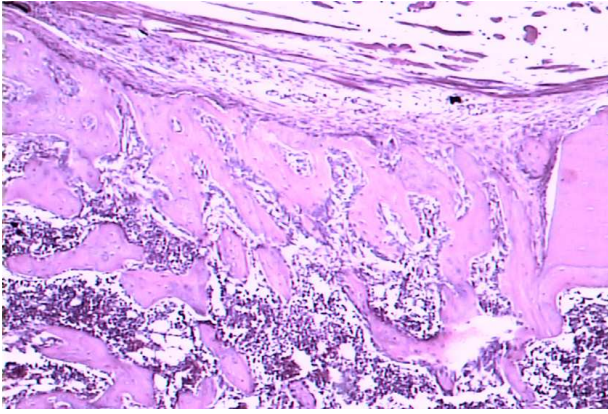


FIGURA 4- Catorze Dias. Grupo Estressado: Cavidade óssea preenchida por espículas ósseas delgadas. HE. 160X.



FIGURA 5- Trinta Dias. Grupo Controle : Loja cirúrgica totalmente preenchida por tecido ósseo com canais medulares bem definidos. HE. 160X.

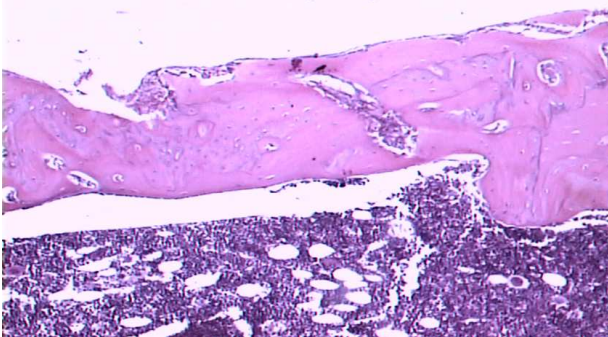


FIGURA 6. Trinta Dias. Grupo Estressado : Cavidade óssea parcialmente preenchida por trabéculas ósseas bem desenvolvidas, com atividade osteoblástica. HE. 160X.

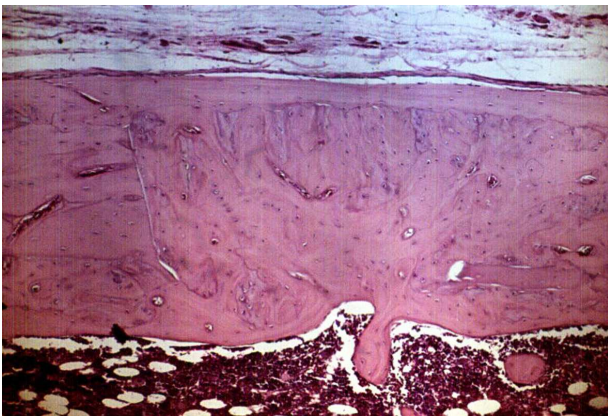


FIGURA 7- Sessenta Dias. Grupo Controle : Cavidade óssea preenchida por tecido ósseo maduro e bem desenvolvido. HE. 160X.

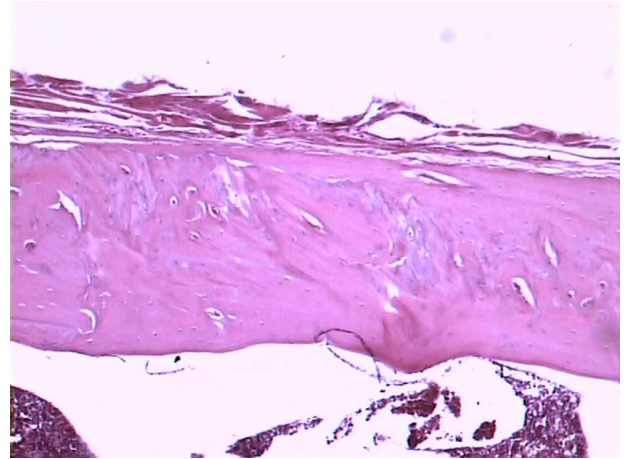


FIGURA 8- Sessenta Dias. Grupo Estressado : Cavidade óssea preenchida por tecido ósseo com canais medulares bem definidos. HE. 160X.

DISCUSSÃO

A resposta neuroendócrina ao estresse físico e psicológico inclui a liberação de adrenocorticotrofina (ACTH) pela hipófise anterior, de corticóides (glico e mineralocorticóides) pelo córtex da adrenal, de epinefrina pela medula da adrenal e de norepinefrina pelas terminações nervosas simpáticas¹⁶.

Os corticosteróides inibem não só os fenômenos iniciais do processo inflamatório (edema, deposição de fibrina, dilatação capilar e migração de leucócitos), mas também suas manifestações mais tardias (proliferação de capilares e fibroblastos, deposição de colágeno e posteriormente, cicatrização). Saito et al.²⁶ verificaram que o cortisol liberado no 3º e 7º dia pós-operatórios inibiu o crescimento de fibroblastos *in vitro*, sugerindo dificuldades na formação de tecido de granulação. Esta inibição de proliferação dos fibroblastos pelo cortisol também foi anteriormente observada por Lee¹⁸.

Os resultados obtidos no presente experimento apontam para um atraso na reabsorção do coágulo sanguíneo no Grupo estressado quando comparado ao Grupo controle. Dados semelhantes foram encontrados por Alves-Rezende e Okamoto¹ e Alves-Rezende e Okamoto². Este achado estaria relacionado não só a fibrinólise sistêmica disparada pelos altos níveis de ativadores do plasminogênio, liberados pelas células endoteliais em resposta ao aumento das catecolaminas pelo estresse, como também à fibrinólise local, desencadeada pelos ativadores de plasminogênio presentes na saliva, fluido gengival ou liberados pelas células lesadas no ato cirúrgico. Graessler et al.¹³ acrescentam que o estresse por imobilização resulta em resposta potencializada das catecolaminas e inibição da resposta do ACTH à hemorragia, sugerindo portanto aumento da susceptibilidade à hemorragia frente ao estresse.

Por outro lado, observou-se neste mesmo Grupo diminuição na taxas de formação dos tecidos

conjuntivo e ósseo, repercutindo em atraso na reparação da loja experimental. O decréscimo na fibrinogênese é atribuído por Alves-Rezende e Okamoto² e Bombonato⁴ não somente ao atraso na organização do coágulo sanguíneo, como também à inibição do crescimento fibroblástico, com alteração na formação do tecido de granulação.

Goodman e Gilman¹² afirmam que os glicocorticóides parecem inibir diretamente as atividades dos osteoblastos. Teitelbaum et al.³¹ também sugerem que a função osteoclástica aumentada na osteopenia induzida pelo cortisol possa ser não somente uma consequência de influências secundárias como o hiperparatireoidismo, mas também por estimulação direta dos osteoclastos. Raisz e Kream²⁴ acrescentam que o efeito inibitório dos glicocorticóides poderiam agir em precursores dos osteoblastos. À medida que os osteoblastos completam seu ciclo de síntese da matriz e se tornam osteócitos, eles devem ser substituídos por novos osteoblastos, que se diferenciam das células precursoras periosteais. Portanto, a síntese de tecido ósseo mostrar-se-á prejudicada se o número de células precursoras diminuir. Esta inibição direta da formação óssea também foi observada *in vitro* por Canalis⁶. Reid²⁵ sugere que a osteoporose provocada pelos glicocorticóides se dá pela redução na função osteoblástica e na formação óssea pela redução nos níveis de osteoclastina circulante.

É importante destacar que além dos glicocorticóides, o nível plasmático de prolactina também elevado no estresse, estimula o transporte e a liberação de cálcio e fósforo do osso para o sangue²³, o que contribuiria para uma provável diminuição da mineralização óssea.

A maneira pela qual o estresse pode exacerbar a resposta inflamatória ainda permanece obscura. Datti⁸ sugere que a exposição crônica ao estresse pode levar à liberação contínua de de CRH, ACTH e corticosteróides e, por consequência, dessensibilização ou tolerância, devido à diminuição na quantidade e/ou qualidade dos sítios receptores nos tecidos e células-alvo, levando o sistema imune/inflamatório a responder de forma mais efetiva nas situações de estresse.

CONCLUSÃO

Com base na metodologia empregada e nos resultados obtidos podemos concluir que o estresse crônico atrasou o reparo óssea em cavidades experimentais em tibia de rato..

ABSTRACT

The stress of everyday life, considered by the WHO public health issue, affecting a significant portion of the population. The purpose of this study was to evaluate histologically the effect of chronic stress of restraint on bone repair. Bone cavities were created

in both tibias of 32 male rats were divided into two groups: control and stressed. In this, the stressor stimulus was applied within 40 days preoperative and all postoperative days until sacrifice in the morning for 2 hours, through immobilization in PVC tubes, according to the methodology of Alves-Rezende, Okamoto^{1,2}. In groups of four animals were sacrificed at 7, 14, 30 and 60 days postoperatively. At 7 days post-surgery while the control group exhibited tissue rich in fibroblasts, the stressed group showed large areas of disorganized blood clot. At 14 days post-surgery, the control group progressed to bone trabeculae and newly formed group stressed to thin spines. At 30 days post-surgery the sinus was found to be completely repaired by bone tissue in the control group and partially repaired in the group stressed. At 60 days post-surgery, and well-differentiated mature bone occupying all the specimens. Based on the results we conclude that chronic stress delayed bone repair.

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

REFERÊNCIAS

- 1 - 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.
- 2 - 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.
- 3 - Berger FM. Effect of antianxiety drugs on fear and stress. Behav Sci. 1980; 25:315-21.
- 4 - 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.
- 5 - Bumpy RL, Kolodny SC. Fibrinolysis: a possible factor in the control of postoperative hemorrhage in the patient with hemophilia. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1973; 36:195-200.
- 6 - 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.
- 7 - Chrousos GP, Gold PW. The concepts of stress system disorders : overview of behavioral and physical homeostasis. J Am Dental Assoc. 1992; 267:1244-52.
- 8 - Datti FBBG. Efeito do estresse crônico sobre a resposta inflamatória em ratos. [Dissertação]. Faculdade de Ciências Médicas, Universidade de Campinas. 2001.

- 9 - 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.
- 10 - Di Martino V. Occupational stress: a preventive approach. In: _____. *Conditons of work digest.* Geneva. 1992. p.3-22.
- 11 - Everly GS. *Innovations in disaster and trauma psychology.* Ellicott City. Maryland MD: Chevron; 1995.
- 12 - Goodman LS, Gilman A. *The pharmacological basis of therapeutics.* 8.ed. New York: Pergamon Press; 1990.
- 13 - Graessler J, Kvetnansky R, Jezova D, Dobrakokova M, Van Loon GP. Prior immobilization stress alters adrenal hormone responses to hemorrhage in rats. *Am J Physiol.* 1989; 257:661-7.
- 14 - Jimenez MAL. Efeito da hemidecorticação sobre o controle neuro-endócrino do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. [Tese]. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Univesidade de São Paulo. 1990.
- 15 - Kaplan RM. Quality of life, resource allocation and the U.S. healthcare crisis. *Quality of life in behavioral medicine resear-ch.* 1995; 1: 3-30.
- 16 - Komesaroff PA, Funder JW. Differential glucocorticoid effects on catecholamine response to stress. *Endocrinol Metab.* 1994; 29:118-28.
- 17 - Lazarus RS, Lazarus BN. *Passion and reason: making sense of our emotions.* New York: Oxford University Press; 1994.
- 18 - Lee LE, Bols NC. Action of cortisol on the proliferation of rainbow trout fibroblasts. *Cell Tissue Kinet.* 1989; 22: 291-301.
- 19 - Lucas ON, Fujita D, Bremner F. Plasminogen activator in the normal gengiva of dog. *J Period Res.* 1975; 10: 203-10.
- 20 - Mancia G, Parati G. Reactivity to physical and behavioral stress and blood pressure variability in hypertension. In: Julius S, Bassett DR (eds). *Handbook of hypertension: behavioral factors in hypertension.* Amsterdam: Elsevier Science; 1987. v.9, p 104-122.
- 21 - Moody GH. Plasminogen in human saliva. *Int J Oral Surg.* 1982; 11:110-3.
- 22 - Myers D. Worker stress during long term disaster recovery efforts. In: Everly GS. *Innovations in disaster and trauma psychology.* Ellicott City. Maryland MD: Chevron; 1995.
- 23 - Pahuja DN, De Luca HF. Stimulation of intestinal calcium transport on bone calcium mobilization by prolactin in vitamin D-deficient rats. *Science.* 1981; 24: 1038-9.
- 24 - Raisz, LG, Kream BE. Regulation of bone formation. *New England J Med.* 1983; 309: 83-9.
- 25 - Reid IR. Low serum osteocalcin levels in glicocorticoid-treated asthmatics. *J Clin Endocrinol & Metab.* 1986; 62: 379-83.
- 26 - Saito T, Tazawa K, Yokoyama Y, Saito M. Surgical stress inhibits the growth of fibroblasts through the elevation of plasma catecholamine and cortisol concentrations. *Surg Today.* 1997; 27: 627-31.
- 27 - Selye H. The general adaptation syndrome and the disease of adaptation. *J Clin Endocrinol.* 1946; 6: 117-52.
- 28 - Shaheen AA Hamdy MA, Kheir-Eldin AA, Lindstrom El-Fattah AAA. Effect of pretreatment with vitamin E or diazepam on brain metabolism of stressed rats. *Biochem Pharmacol.* 1993; 46:194-7.
- 29 - Sherry S. Fibrinolysis. *Ann Rev Med.* 1968; 19:247-59.
- 30 - Stringheto K, Caruso M. No limite. *Isto é.* 1999; 15: 47-54.
- 31 - Teicher MH, Ito Y, Glod CA, Schiffer F, Gelbard HA. Neurophysiological mechanisms of stress. In: Pfeffer CF. *Severe stress and mental disturbance in children.* Washington DC: American Psychiatric Press; 1996.p. 59-84.
- 32 - Teitelbaum SL, Malone JD, Kahn AJ. Glucocorticoid enhancement of bone resorption by rat peritoneal macrophages in vitro. *Endocrinol.* 1981;108: 795-9.
- 33 - Wedgwood D. The fibrinolytic system with special reference to its relevance to oral surgery. *Br J Oral Surg.* 1970; 8:82-92.
- 34 - Wright TA, Ropanzano R. *The Role of Organizational Behavior in Occupational Health Psychology: A view as we approach the Millenium.* *J Occup Health Psychol.* 2000; 5:5-10.
- 35 - Zonta R, Robles ACC, Grosseman S. Stress coping strategies developed by medical students of the Federal University of Santa Catarina. *Rev Bras Educ Médica.* 2006; 30: 147-53.

Endereço para correspondência:

Maria Cristina Rosifini Alves Rezende

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