



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
MESTRADO EM CIÊNCIAS ODONTOLÓGICAS INTEGRADAS**

NATALINO FRANCISCO DA SILVA

**EFEITO DO DIMORFISMO SEXUAL NA PRESENÇA DE ESTRESSE
CRÔNICO SOBRE A PERIODONTITE MARGINAL EM RATOS.**

Cuiabá
2017

NATALINO FRANCISCO DA SILVA

**EFEITO DO DIMORFISMO SEXUAL NA PRESENÇA DE ESTRESSE
CRÔNICO SOBRE A PERIODONTITE MARGINAL EM RATOS.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Odontológicas Integradas, da Universidade de Cuiabá - UNIC, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Alex Semenoff Segundo
Co-Orientadora: Profa. Dra. Tereza Aparecida Delle Vedove Semenoff

Cuiabá
2017

FICHA CATALOGRÁFICA

S586e Silva, Natalino Francisco da.
Efeito do dimorfismo sexual na presença de estresse crônico sobre a periodontite marginal em ratos/ Natalino Francisco da Silva-2017.
57f.: il. color; 30cm.

Orientador: Prof. Dr. Alex Semenoff Segundo.
Co-orientadora: Profa. Dra. Tereza Aparecida Delle Vedove Semenoff.
Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Ciências Odontológicas Integradas, Universidade de Cuiabá, 2017.
Inclui bibliografia.

1. Dimorfismo sexual. 2. Periodontite. 3. Ratos. 4. Restrição física. I. Efeito do dimorfismo sexual na presença de estresse crônico sobre a periodontite marginal em ratos. II. Universidade de Cuiabá.

CDU – 616.311.2-002

NATALINO FRANCISCO DA SILVA

EFEITO DO DIMORFISMO SEXUAL NA PRESENÇA DE ESTRESSE CRÔNICO
SOBRE A PERIODONTITE MARGINAL EM RATOS.

Dissertação apresentada á UNIC, no Mestrado em Ciências Odontológicas Integradas
como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre conferida pela Banca
Examinadora formada pelos professores:



Prof. Dr. Alex Semenoff Segundo
(Orientador)
UNIC



Profa. Dra. Alessandra Nogueira Porto
UNIC



Profa. Dra. Diurianne Caroline Campos França
UNIVAG

Cuiabá, 18 de fevereiro de 2017.

Dedico este trabalho a minha família.

AGRADECIMENTOS

À Deus pelas oportunidades de cada dia.

À minha esposa Simone Guimarães da Silva pela compreensão e por sempre me incentivar a seguir em frente.

Aos meus filhos Joel Guimarães da Silva e Emanuel Francisco da Silva pelo carinho e amor de todos os dias.

À minha amada mãe Joana da Silva Guimarães pelos conselhos e apoio.

Aos meus amigos e colegas.

Ao meu Orientador Prof. Dr. Alex Semenoff Segundo por sempre me incentivar nos estudos e principalmente por me dar exemplos de como ser um homem de bem. Que eu possa algum dia me dedicar em ajudar as pessoas como ele faz.

À minha Co-orientadora Profa. Dra. Tereza Aparecida Delle Vedove Semenoff por sempre estar disposta a ensinar. Tenho muita gratidão a ela.

Aos meus irmãos Leandro, Fernando, Lucas e Sidney pelo apoio.

Ao Coordenador do Mestrado e Doutorado em Ciências Odontológicas Integradas da Universidade de Cuiabá – UNIC, Prof. Dr. Álvaro Henrique Borges pelo excelente trabalho que vem desenvolvendo e pela ocupação que tem por cada mestrando e doutorando do programa de pós-graduação.

Ao Diretor da Faculdade de Odontologia da Universidade de Cuiabá – UNIC, Fábio Luis Miranda Pedro.

Aos funcionários da secretaria do Programa de Mestrado da Universidade de Cuiabá

Aos Professores Doutores do Mestrado em Ciências Odontológicas Integradas da Universidade de Cuiabá – UNIC, Alessandra Nogueira Porto, Alexandre Meireles Borba, Andreza Maria Fábio Aranha, Cyntia Rodrigues de Araujo Estrela, Luiz Evaristo Ricci Volpato, Mateus Rodrigues Tonetto, Matheus Coelho Bandéca, Orlando Aguirre Guedes.

Aos eternos colegas de Curso Cláudia da Fonseca Granjeiro, Cleiner Neves Ribeiro, Christiane Marques Nogueira de Lima, Edinei Rocha de Almeida Bocardi, Elaine Patrícia Alves de Araújo Gomes, Everton José da Silva, Gilberto Siebert Filho, Gislaine Figueiredo Zarza Arguello Gonçalves, Joana Guimarães Freitas Silva, Kellin Pivatto, Leniéser Fajardo Nunes, Leticia Lazzari Fantin, Panmella Furlan Alegria Zaffari, Thaise Ayres Bezerra Zuli, Valéria Teixeira de Andrade pela convivência e pelo trabalho em equipe.

À Universidade de Cuiabá – UNIC nas pessoas do Reitor Fernando Ciriaco Dias Neto, do Pró-Reitor Acadêmico José Cláudio Perecin, ao Diretor de Pós-Graduação Stricto Sensu da Kroton, Prof. Dr. Helio Suguimoto e também à Coordenadora de Pesquisa e Pós-Graduação - Stricto Sensu da Universidade de Cuiabá – UNIC, Lucélia de Oliveira Santos.

Todo dia de ontem pode ter sido árduo. Muitas lutas vieram, deixando-te o cansaço. Provas inesperadas alteram-te os planos. Soma, porém, as bênçãos que Deus te entregou. Esquece qualquer sombra, não pares, serve e segue. Agora é novo dia, tempo de caminhar.

Chico Xavier



LISTA DE FIGURAS

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Demonstra as mensurações para a perda óssea histológica e perda de inserção histológica.	40
-------------------	--	----



LISTA DE TABELAS

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Refere-se à quantidade do hormônio cortisona encontrado no exame bioquímico.	42
-------------------	--	----



LISTA DE GRÁFICOS

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 –	Demonstra média e desvios padrão (\pm) das mensurações da perda de inserção histológica (JCE-PIH) e perda óssea histológica (JCE-POH) de todos os grupos (N=8) analisados no estudo.	41
--------------------	--	----



SUMÁRIO

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO	18
2 REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1 ESTUDOS EM RATOS	21
2.2 ESTUDOS ENVOLVENDO HUMANOS	23
2.1 REFERÊNCIAS DA REVISÃO	29
3 ARTIGO QUE COMPOE A DISSERTAÇÃO: EFEITO DO DIMORFISMO SEXUAL NA PRESENÇA DE ESTRESSE CRÔNICO SOBRE A PERIODONTITE MARGINAL EM RATOS.	32
RESUMO	34
ABSTRACT	35
INTRODUÇÃO	36
MATERIAIS E MÉTODOS	37
RESULTADOS	40
DISCUSSÃO	42
CONCLUSÃO	44
3.1 REFERÊNCIAS DO ARTIGO	45
ANEXOS	49



1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O dimorfismo sexual engloba características que diferenciam de forma marcante, indivíduos do sexo masculino e feminino de uma espécie¹. De forma geral, o sexo feminino apresenta melhores respostas imunológicas a agentes infecciosos^{2,3} e maior resistência em procedimentos cirúrgicos, apresentando processos de regeneração/reparação mais eficientes⁴. Na periodontia ainda temos uma incógnita sobre o assunto, entretanto o padrão de resposta imunoinflamatória aliado às questões hormonais tem estabelecido menor propensão à periodontite nas mulheres^{5,6}.

Estudos epidemiológicos demonstram que a presença de periodontite é mais prevalente e mais agressiva nos homens⁶⁻⁸. Todavia, ainda não é possível afirmar se este fato ocorre em função da resposta do hospedeiro ou devido aos hábitos deletérios como uso de tabaco, consumo de álcool e estresse mais evidentes entre os homens.

O estresse crônico é um grande fator de risco para os processos patológicos crônicos⁹. Especialmente em relação à periodontite muito tem sido estudado e existiu uma relação entre ambas. Estudos em ratos, em quase sua totalidade, demonstram que diante da indução de periodontite por ligadura ou por microrganismos submetidos a ensaios de estresse crônico, há a presença de maior progressão da doença¹⁰. Os estudos epidemiológicos também demonstram esta correlação, contudo a ausência de ensaios clínicos sobre o tema ainda não permite afirmar que o estresse é um fator de risco estabelecido^{11,12}.

Esta Dissertação é composta por uma revisão de literatura, construída de forma cronológica sobre o papel do dimorfismo sexual na resposta orgânica de animais e de humanos frente a doenças infecciosas e autoimunes e, por um artigo científico intitulado “Efeito do dimorfismo sexual na presença de estresse crônico sobre a periodontite marginal em ratos.” que está disposto nas normas da revista *Iranian Journal of Public Health*. Diante do exposto, foi levantada a hipótese de que fêmeas podem apresentar menor padrão de destruição periodontal que os machos quando submetidos ao estresse crônico, constituiu objetivo deste estudo, avaliar e comparar histologicamente o efeito do estresse crônico sobre a periodontite induzida por ligadura em ratos e ratas.



1.1 REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO

1.1 REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO

1. Farias RM, Matsudo SMM, Ferrari GLM, Matsudo VKR. Tendência secular de 10 e 20 anos da maturação sexual de escolares. *Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum* 2012, 14(6):680-689.
2. Giefing-Kröll C, Berger P, Lepperdinger G, Grubeck-Loebenstein B. How sex and age affect immune responses, susceptibility to infections, and response to vaccination. *Aging Cell*. 2015 Jun;14(3):309-21.
3. Tomczyńska M, Salata I, Saluk J. The role of gender in the pathogenesis and development of autoimmune diseases. *Pol Merkur Lekarski*. 2016 Sep 29;41(243):150-155.
4. Deitch EA, Livingston DH, Lavery RF, Monaghan SF, Bongu A, Machiedo GW. Hormonally active women tolerate shock-trauma better than do men: a prospective study of over 4000 trauma patients. *Ann Surg*. 2007;246: 447-453
5. Gjermo P, Rösing CK, Susin C, Oppermann R. Periodontal diseases in Central and South America. *Periodontol 2000*. 2002;29:70-8.
6. Susin C, Haas AN, Albandar JM. Epidemiology and demographics of aggressive periodontitis. *Periodontol 2000*. 2014 Jun;65(1):27-45.
7. Susin C, Albandar JM. Aggressive periodontitis in an urban population in southern Brazil. *J Periodontol*. 2005 Mar;76(3):468-75.
8. Shiau HJ, Reynolds MA. Sex differences in destructive periodontal disease: exploring the biologic basis. *J Periodontol*. 2010 Nov;81(11):1505-17.
9. Franceschelli A, Herchick S, Thelen C, Papadopoulou-Daifoti Z, Pitychoutis PM. Sex differences in the chronic mild stress model of depression. *Behav Pharmacol*. 2014 Sep;25(5-6):372-83.
10. Semenoff TA, Rosa Júnior A, Borges ÁH, Porto AN, Caporossi C, Semenoff Segundo A. Effect of chronic stress in newborn rats on the progression of ligature-induced-periodontitis in adulthood. *Acta Cir Bras*. 2013 Sep;28(9):652-6.
11. Pérez-Lancho C, Ruiz-Prieto I, Bolaños-Ríos P, Jáuregui-Lobera I. Salivary cortisol as a measure of stress during a nutrition education program in adolescents. *Nutr Hosp*. 2013 Jan-Feb;28(1):211-6.
12. Cakmak O, Tasdemir Z, Aral CA, Dundar S, Koca HB. Gingival Crevicular Fluid and Saliva Stress Hormone Levels in Patients with Chronic and Aggressive Periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2016 Aug 11. doi: 10.1111/jcpe.12614.



2 REVISÃO DA LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ESTUDOS EM RATOS

Lamason et al. (2006)¹ buscaram identificar e caracterizar diferenças nos sistemas de resposta imune em baços de ratos e ratas antes, durante e após a puberdade. Seus achados demonstraram que as fêmeas apresentaram uma expressão mais elevada de resposta imune adaptativa, no entanto os machos tinham uma maior expressão de genes da imunidade inata. Ainda no mesmo trabalho, usando cepas in vivo e in vitro com ensaios em ratos, descobriram uma direta influência do hormônio estrogênio, o qual as consequências foram o aumento de células B derivadas de células *T Cluster Differentiation 8* (TCD8), através de uma maior produção de citocinas e imunoglobulinas.

Bain et al. (2009)² compararam as diferenças específicas entre machos e fêmeas, nas concentrações de citocinas sistêmicas em ratos com e sem periodontite induzida por ligadura. Foi observado que ratas com ligaduras apresentaram maior perda óssea alveolar do que os ratos, porém sem diferença significativa ($p > 0,05$). No entanto, elas tinham concentrações de soro mais elevadas de interleucina-6, fator de necrose tumoral-alfa e proteína C-reativa no fígado ($p < 0,05$). As ratas também apresentaram maior interleucina-6, fator de necrose tumoral-alfa e as concentrações do fator de crescimento do endotélio vascular dentro da trompa uterina, comparada com os controles de fêmeas ($p < 0,05$). Os animais machos com ligaduras tinham menores concentrações séricas de proteína C-reativa e as concentrações de fator-alfa de interleucina-6 e de necrose tumoral mais elevadas dentro de soro, em comparação com o grupo controle de machos ($p < 0,05$). Os autores, sugerem que apesar da perda óssea não ter sido estatisticamente significativa, ratas com doença periodontal têm um maior risco de doenças inflamatórias sistêmicas comparado com os machos.

McAbee et al. (2012)³ buscaram determinar o papel da cinase e fosfatase-1 (MKP-1) num modelo de controle bacteriano de periodontite apical com perda óssea em ratos e ratas. Os autores encontraram significativa perda óssea e presença de infiltrado inflamatório em todos os grupos experimentais ao comparar com o grupo controle. Não foi encontrada diferença estatística entre MKP-1 positiva e MKP-1 negativa em nenhum período com relação à perda óssea ou infiltrado inflamatório. Às 8 semanas, nos machos com MKP-1 negativa foram encontrados

significativamente mais perda óssea e infiltrado inflamatório ao comparar ao grupo de fêmeas com MKP-1 negativa. Com isso, os autores concluem que o dimorfismo sexual existe no processo inflamatório periapical, a qual ratos machos têm mais inflamação com presença de MKP-1 negativa comparado com as ratas. Importante ressaltar que o aumento no infiltrado inflamatório teve correlação com maior perda óssea nos ratos.

Semenoff et al. (2013)⁴ investigaram o efeito do estresse crônico em ratos recém-nascidos sobre a progressão da periodontite induzida por ligadura na idade adulta. Observaram que o grupo com estresse e ligadura apresentou valores de perda óssea mais elevada em relação ao grupo só com ligadura ($p < 0,05$). Com isso concluíram que a exposição ao estresse crônico imposto aos descendentes produziu maior progressão da perda óssea induzida durante a idade adulta.

Franceschelli et al. (2014)⁵ revisaram trabalhos realizados em ratos e camundongos machos e fêmeas, e discutiram sobre achados comportamentais e neurobiológicos dependentes de sexo intrigantes. Roedores machos e fêmeas são diferencialmente afetados pela aplicação do modelo de estresse crônico, dependendo dos índices comportamentais, fisiológicos, e neurobiológicos medidos. É importante ressaltar que o modelo de estresse crônico, apesar das suas limitações, tem sido usado com sucesso para avaliar várias questões de pesquisa interdisciplinares no campo das diferenças apresentadas pelo dimorfismo, e tem servido como uma "referência" para avaliar o papel do sexo na neurobiologia da depressão.

Os modelos animais são ideais para investigar os mecanismos imunológicos de dimorfismo na periodontite porque nestes modelos é possível excluir a interferência de fatores de risco relacionados com humanos, como o tabagismo e hábitos de higiene oral. Com base em pesquisas em humanos e relatórios sobre o dimorfismo em outras doenças, Duan et al. (2016)⁶ desenvolveram um estudo com o objetivo de ver se o dimorfismo é um fator de risco na periodontite. Em comparação com os ratos machos, as ratas fêmeas apresentam de forma significativa ($p < 0,05$) aumento da perda óssea periodontal, acompanhada por uma expressão elevada de citocinas pró-inflamatórias (interleucina-1, interleucina-6 e interleucina-17-A) e maior número de bactérias orais. Com os resultados os autores concluíram que as ratas fêmeas são mais susceptíveis a perda óssea periodontal

comparado com os ratos machos. O estudo estabeleceu, assim, que os modelos animais podem ser utilizados para destacar os mecanismos subjacentes entre machos e fêmeas em susceptibilidade à progressão da doença periodontal.

Gehrand et al. (2016)⁷ levantaram a hipótese de que, para manter a temperatura do corpo durante a hipóxia na primeira semana de vida pós-natal, é alterada a insulina subsequente, a glicose, e a secreção de glucagon em ratos adultos. A insulina no plasma, glicose, e as respostas do glucagon para a estimulação de arginina foram avaliados. Na separação materna (em comparação com recém-nascidos não separados) tiveram efeitos mais pronunciados sobre a resposta adulto para arginina em comparação com a hipóxia, hipotermia, e os tratamentos neonatais hipóxico-isotérmica. Os machos adultos expostos pela separação materna neonatal tinha aumentado as respostas de insulina e glicose para arginina em comparação com controles não separadas. Além disso, o tratamento neonatal teve um efeito significativo sobre o ganho de peso corporal; adultos expostos a separação materna neonatal eram significativamente mais pesados. Adultos do sexo feminino tinham significativamente menores respostas de insulina e glicose para arginina, independentemente do tratamento neonatal.

2.2 ESTUDO ENVOLVENDO HUMANOS

Em um estudo em humanos com 4106 pacientes internados em um hospital devido a emergências, tanto homens como mulheres receberam transfusão de sangue e atendimento emergencial. Deitch et al. (2007)⁸, observaram que nas comparações hormonais de lactato, produto utilizado para avaliação dos sinais vitais do paciente e preditor de morte, as mulheres em diferentes idades demonstraram ter os melhores indicadores, além de receberem menor quantidade de sangue e menor tempo de recuperação.

Shiau e Reynolds (2010)⁹ desenvolveram uma revisão de literatura para fornecer uma base biológica subjacente para um dimorfismo sexual na prevalência e gravidade da doença periodontal. Observaram que os esteróides sexuais exercem efeitos profundos sobre vários parâmetros imunológicos que regulam tanto a amplificação e resolução da inflamação. Existe uma forte evidência de dimorfismo sexual na função imunológica, envolvendo a imunidade inata e a imunidade

adquirida. Lesões e infecções têm sido associadas com níveis mais elevados de citocinas inflamatórias, incluindo a interleucina-1 β e fator de necrose tumoral- α , nos homens do que nas mulheres, em paralelo com as diferenças específicas do sexo observados em periodontite. Com isso os autores concluíram que a regulação diferencial de genes, especialmente em genes de esteróides sexuais, pode contribuir para um dimorfismo sexual na susceptibilidade à doença periodontal destrutiva.

Gabory et al. (2013)¹⁰ descrevem que a placenta desempenha um papel chave no crescimento e desenvolvimento fetal e afeta a programação da saúde fetal subjacente do adulto, em parte para a origem do desenvolvimento de saúde e doença. Existem evidências para demonstrar as relações específicas do sexo entre diversas influências ambientais sobre as funções da placenta e do risco de doença mais tarde na vida. No entanto, mesmo com os recentes desenvolvimentos nesta área, ainda sabe-se muito pouco sobre os mecanismos subjacentes às marcas epigenéticas específicas do sexo.

Pérez-Lancho et al. (2013)¹¹ analisaram o nível de estresse em diferentes classes de acadêmicos, medindo o nível de cortisol salivar e a avaliação da influência do nível de tensão sobre a eficácia de um programa de educação nutricional para adolescentes. Notou-se que o nível de cortisol no início da manhã foi menor comparado ao nível de cortisol no final da manhã ($p < 0,05$), com níveis mais elevados no sexo feminino ($p < 0,05$). Na determinação final, o cortisol pela manhã também foi maior no sexo feminino ($p < 0,01$). Não houve alterações significativas no índice de massa corporal, 23,8% dos alunos apresentaram menor consumo de bebidas carbonatadas após o programa de intervenção, enquanto 28,57% relataram ter pequeno-almoço antes de sair de casa. Foi observado a redução do consumo de fruta na extremidade do estudo.

Haas et al. (2014)¹² avaliaram os fatores de risco sócio-demográficos e comportamentais para a perda de inserção periodontal (PIP) durante 5 anos em uma amostra urbana de 1586 indivíduos do sul do Brasil. Encontraram que, 247 (37,8%) indivíduos apresentaram PIP ≥ 3 mm com presença de 4 ou mais dentes. Indivíduos com mais de 30 anos tiveram aproximadamente duas vezes maior risco de ter PIP do que indivíduos mais jovens. Indivíduos com baixa escolaridade tinham 53% maior risco (RR = 1,53; IC 95%: 1,06-2,22) de PIP comparado com aqueles com ensino superior. Foi observada uma interação significativa entre sexo e tabagismo, onde os

homens fumantes eram 33% mais propensos que as mulheres. Fatores sociodemográficos e tabagismo são fatores de risco independentes para o aumento da PIP nesta população brasileira.

Johnson e Wikle (2014)¹³ desenvolveram um estudo com o objetivo de determinar se existe dimorfismo sexual na expressão de mediadores inflamatórios e pró-apoptótica em gengiva de humanos obtidos a partir de sítios normais e com doença periodontal. Observaram que a profundidade sulcular gengival em humanos foi significativamente maior no grupo do sexo masculino comparado com o grupo do sexo feminino ($p < 0,05$). A maioria dos mediadores testados foram significativamente correlacionado com ambos os sexos e com profundidade sulcular e caspase-3 ($p < 0,05$). A concentração da caspase-3 na gengiva de mulheres em todos os sítios doentes era significativamente maior do que em locais de gengiva derivado de homens ($p < 0,05$). Estes dados sugerem que o dimorfismo sexual na presença de apoptose gengival nos locais da doença periodontal foi mais elevada nas mulheres.

Achados de Shiau et al. (2014)¹⁴ mostraram que os esteróides sexuais são primordiais para o desenvolvimento sexual e reprodução, pois estão relacionados com o desenvolvimento do esqueleto, a homeostase óssea e função imunológica. O efeito e composição de arquitetura genética específica do sexo e níveis circulantes de hormônios esteróides sexuais se aproximam bastante das diferenças na resposta imune e pode ser responsável por correspondentes diferenças relacionadas ao sexo, em risco de periodontite crônica, com os homens apresentando maior susceptibilidade do que as mulheres. Reduções associadas à idade em esteróides sexuais também fornecem informações sobre os aumentos aparentemente temporais na susceptibilidade a periodontite e perda óssea alveolar, especialmente entre as mulheres.

Giefing-Kröll et al. (2015)¹⁵ reforçaram que, entre os homens existem susceptibilidades para muitas doenças infecciosas e as taxas de mortalidade são mais elevadas. As respostas a vários tipos de vacinações são muitas vezes maior entre as mulheres, como apresentam respostas humorais mais resistentes a infecções. Os principais hormônios esteróides sexuais exibem efeitos sobre as células, tanto do sistema imune adaptativo, quanto do sistema imune inato. De forma geral o estradiol aumenta a resposta adaptativa e a testosterona é supressiva. Contudo, os níveis de hormônios sexuais mudam com a idade. Na transição da

menopausa, deixando cair o estradiol melhora potencialmente efeitos de imunossenescência, deixando mulheres pós-menopáusicas em riscos adicionais.

Juster et al. (2015)¹⁶ investigaram se a reatividade do cortisol difere entre os indivíduos LGB (lésbicas, gays e bissexuais) e indivíduos heterossexuais em resposta a um estressor psicossocial. Em relação a mulheres heterossexuais, lésbicas/bissexuais apresentaram maior reatividade de cortisol 40 minutos após a exposição ao estressor. Em contraste, os homens homossexuais/bissexuais exibiram menores concentrações de cortisol em geral ao longo do teste em comparação com os homens heterossexuais. Principais resultados foram significativos durante o ajuste para os hormônios sexuais (razão estradiol-progesterona em mulheres e testosterona nos homens), idade, auto-estima e status de divulgação. Os resultados deste trabalho fornecem evidências para a modulação baseada no gênero de reatividade ao cortisol baseada na orientação sexual. Este estudo levanta várias características importantes para futuras pesquisas relacionadas ao funcionamento fisiológico das populações LGB e diversidade de gênero de forma mais ampla.

Rubtsova, Marrack e Rubtsov (2015)¹⁷ fizeram uma revisão de literatura, visando discutir sobre as recentes descobertas no campo da regulação dependente de sexo da expressão gênica e autoimunidade. Doenças autoimunes ocorrem quando há ataques do sistema imunitário capazes de destruir os órgãos e tecidos do próprio hospedeiro. Auto-imunidade é o terceiro tipo mais comum da doença nos Estados Unidos. Devido a doença não ter cura é extremamente importante para estudar os mecanismos que desencadeiam estas doenças. A maioria das doenças autoimunes afetam predominantemente mulheres. Vários fatores, incluindo os hormônios sexuais, a presença ou ausência de um segundo cromossomo X, e microbiota intestinal específica do sexo pode influenciar a expressão de genes de uma forma dependente do sexo. Estas mudanças na expressão de gene pode, por sua vez, conduzir a susceptibilidade ou proteção contra a auto-imunidade, levando a criação de uma polarização sexual para doenças auto-imunes.

Para avaliar se o sexo fetal é modificado com a associação entre a exposição contínua aos estouros de foguete e resultados adversos da gravidez Wainstock et al. (2015)¹⁸ fizeram um estudo de coorte retrospectivo em que o grupo exposto foi composto por 1846 mulheres expostas a estouros de foguete antes e

durante a gravidez. O grupo não exposto, com características sociodemográficas semelhantes, trataram durante o mesmo período de tempo no mesmo centro médico, mas residia fora do alcance dos barulhos de foguetes. Modelos multivariados para cada sexo separadamente, para excluir possíveis fatores de confusão, avaliou o risco associado à exposição para nascimentos pré-maturos, baixo peso ao nascer, pequenos para a idade gestacional e pequeno perímetro cefálico. Em ambas análises univariável e multivariável o status de exposição foi um fator de risco significativo em apenas fetos do sexo feminino. Além disso, em relação a todos os resultados adversos, a relação homem-mulher foi maior no grupo exposto do que no grupo não exposto. Seus resultados defendem a hipótese de que os fetos masculinos e femininos respondem diferentemente ao estresse maternal crônico.

Cakmak et al. (2016)¹⁹ desenvolveram um estudo transversal com objetivo de analisar os níveis de cortisol e de hidroepiandrosterona (DHEA) em fluido gengival crevicular (FGC), na periodontite agressiva generalizada (GPA), em pacientes com periodontite crônica generalizada (GPC), bem como em indivíduos adultos saudáveis (GC). Foram avaliados os níveis hormonais em FGC e saliva incluindo cortisol e DHEA. Os valores de DHEA em GCF e cortisol em GCF / saliva foram significativamente maiores no grupo de abertura na comparação com os outros dois grupos ($p < 0,05$). Os valores mais baixos estavam no GC, e a diferença entre os grupos de GPC era estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Os níveis de cortisol salivar foram comparáveis para o GPA e GPC ($p > 0,05$), e o GC teve os valores mais baixos em comparação com os outros dois grupos ($p < 0,05$).

Seraphim et al. (2016)²⁰ avaliaram a relação entre a doença periodontal, resistência à insulina, a concentração de cortisol salivar e nível de estresse percebido em mulheres grávidas. O grupo de pacientes com periodontite (PI) mostraram significativamente maiores níveis de glicose no sangue, insulinemia, e resistência à insulina em comparação com o indivíduos com condição periodontal saudável (CN) e pacientes com gengivite (GI). Os níveis de estresse percebido foram maiores ($p < 0,05$) no PI e GI, quando comparado ao grupo CN. Não houve diferença significativa na concentração de cortisol salivar entre os grupos. Concluiu-se que há uma relação entre os níveis mais elevados de esforço, a resistência à insulina e a ocorrência da doença periodontal durante a gravidez. Este estudo enfatiza a importância de prevenir a periodontite, a fim de evitar a resistência à

insulina e estresse durante a gravidez uma vez que estes podem causar complicações sistêmicas para a mãe e para o feto.

Tomczyńska, Salata e Saluk (2016)²¹ fizeram uma revisão de literatura sobre as doenças auto-imunes, notando que elas ocorrem com maior frequência em mulheres do que em homens, sugerindo que o mecanismo de patogênese é condicionado por dimorfismo sexual. Até agora não definiu claramente os fatores responsáveis pelo desenvolvimento e evolução destas doenças, dependendo do sexo. No entanto, verificou-se que há um dimorfismo sexual no sistema imune, o que pode determinar o processo de auto-imunidade. As causas do aumento da incidência de mulheres em doenças auto-imunes são atribuídos à ação dos hormônios de estrogênio, que pode promover o processo de auto-imunidade e melhorar os sintomas clínicos da doença. Como os hormônios sexuais mostrados possuem atividades imunomoduladoras em células dendríticas, macrófagos, neutrófilos, células B e T. Mecanismos de hormônios sexuais auto-imunes desempenham papel importante no processo de produção de citocinas, expressão de receptores de citocinas e resposta das células efetoras. De acordo com estudos recentes, o desenvolvimento de doenças auto-imunes é determinada por fatores genéticos. Alterações nos genes autossomal cromossomos X e Y têm um papel importante na progressão de processos auto-imunes, especialmente pelo fato de o cromossomo X ter os genes responsáveis pela regulação do sistema imune.



2.1 REFERÊNCIAS DA REVISÃO DE LITERATURA

2.1 REFERÊNCIAS DA REVISÃO DE LITERATURA

1. Lamason R, Zhao P, Rawat R, Davis A, Hall JC, Chae JJ et al. Sexual dimorphism in immune response genes as a function of puberty. *BMC Immunol.* 2006 Feb 22;7:2.
2. Bain JL, Lester SR, Henry WD, Bishop CM, Turnage AA, Naftel JP et al. Comparative gender differences in local and systemic concentrations of pro-inflammatory cytokines in rats with experimental periodontitis. *J Periodontal Res.* 2009 Feb;44(1):133-40.
3. McAbee J, Li Q, Yu H, Kirkwood KL. Sexual dimorphism in periapical inflammation and bone loss from mitogen-activated protein kinase phosphatase-1 deficient mice. *J Endod.* 2012 Aug;38(8):1097-100.
4. Semenoff TA, Rosa Júnior A, Borges ÁH, Porto AN, Caporossi C, Semenoff Segundo A. Effect of chronic stress in newborn rats on the progression of ligature-induced-periodontitis in adulthood. *Acta Cir Bras.* 2013 Sep;28(9):652-6.
5. Franceschelli A, Herchick S, Thelen C, Papadopoulou-Daifoti Z, Pitychoutis PM. Sex differences in the chronic mild stress model of depression. *Behav Pharmacol.* 2014 Sep;25(5-6):372-83.
6. Duan X, Gleason RC, Li F, Hosur KB, Duan X, Huang D et al. Sex dimorphism in periodontitis in animal models. *J Periodontal Res.* 2016 Apr;51(2):196-202.
7. Gehrand AL, Hoeyneck B, Jablonski M, Leonovicz C, Ye R, Scherer PE et al. Sex differences in adult rat insulin and glucose responses to arginine: programming effects of neonatal separation, hypoxia, and hypothermia. *Physiol Rep.* 2016 Sep;4(18). pii: e12972.
8. Deitch EA, Livingston DH, Lavery RF, Monaghan SF, Bongu A, Machiedo GW (2007). Hormonally active women tolerate shock-trauma better than do men: a prospective study of over 4000 trauma patients. *Ann Surg.* 246(3): 447-53.
9. Shiao HJ, Reynolds MA. Sex differences in destructive periodontal disease:exploring the biologic basis. *J Periodontol.* 2010 Nov;81(11):1505-17.
10. Gabory A, Roseboom TJ, Moore T, Moore LG, Junien C. Placental contribution to the origins of sexual dimorphism in health and diseases: sex chromosomes and epigenetics. *Biol Sex Differ.* 2013 Mar 21;4(1):5.
11. Pérez-Lancho C, Ruiz-Prieto I, Bolaños-Ríos P, Jáuregui-Lobera I. Salivary cortisol as a measure of stress during a nutrition education program in adolescents. *Nutr Hosp.* 2013 Jan-Feb;28(1):211-6.
12. Haas AN, Wagner MC, Oppermann RV, Rösing CK, Albandar JM, Susin C. Risk factors for the progression of periodontal attachment loss: a 5-year population-based study in South Brazil. *J Clin Periodontol* 2014 Mar;41(3):215-23.

13. Johnson RB, Wikle JC. Sex differences in inflammatory and apoptotic signaling molecules in normal and diseased human gingiva. *J Periodontol.* 2014 Nov;85(11):1612-9.
14. Shiau HJ, Aichelmann-Reidy ME, Reynolds MA. Influence of sex steroids on inflammation and bone metabolism. *Periodontology 2000.* 2014;64:81-94.
15. Giefing-Kröll C, Berger P, Lepperdinger G, Grubeck-Loebenstein B. How sex and age affect immune responses, susceptibility to infections, and response to vaccination. *Aging Cell.* 2015 Jun;14(3):309-21.
16. Juster RP, Hatzenbuehler ML, Mendrek A, Pfaus JG, Smith NG, Johnson PJ et al. Sexual orientation modulates endocrine stress reactivity. *Biol Psychiatry.* 2015 Apr 1;77(7):668-76.
17. Rubtsova K, Marrack P, Rubtsova AV. Sexual dimorphism in autoimmunity. *J Clin Invest.* 2015 Jun;125(6):2187-93.
18. Wainstock T, Shoham-Vardi I, Glasser S, Anteby E, Lerner-Geva L. Fetal sex modifies effects of prenatal stress exposure and adverse birth outcomes. *Stress.* 2015 Jan;18(1):49-56.
19. Cakmak O, Tasdemir Z, Aral CA, Dundar S, Koca HB. Gingival Crevicular Fluid and Saliva Stress Hormone Levels in Patients with Chronic and Aggressive Periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2016 Aug 11. doi: 10.1111/jcpe.12614.
20. Seraphim AP, Chiba FY, Pereira RF, Mattera MS, Moimaz SA, Sumida DH. Relationship among Periodontal Disease, Insulin Resistance, Salivary Cortisol, and Stress Levels during Pregnancy. *Braz Dent J.* 2016 Mar-Apr;27(2):123-7.
21. Tomczyńska M, Salata I, Saluk J. The role of gender in the pathogenesis and development of autoimmune diseases. *Pol Merkur Lekarski.* 2016 Sep 29;41(243):150-155.



**3 EFEITO DO DIMORFISMO SEXUAL
NA PRESENÇA DE ESTRESSE
CRÔNICO SOBRE A PERIODONTITE
MARGINAL EM RATOS.**

EFEITO DO DIMORFISMO SEXUAL NA PRESENÇA DE ESTRESSE CRÔNICO
SOBRE A PERIODONTITE MARGINAL EM RATOS.

Natalino Francisco da Silva – Aluno do Mestrado em Ciências Odontológicas Integradas da Universidade de Cuiabá (UNIC). Endereço: Av. Manoel José de Arruda, 3100. Jardim Europa CEP 78065900. Telefone: +55 (065) 9 81018830.e-mail: natalino.biologo@hotmail.com

Alex Semenoff Segundo - Professor da Graduação em Odontologia e do Programa de Pós-Graduação da Universidade de Cuiabá (UNIC). Endereço: Av. Manoel José de Arruda, 3100. Jardim Europa CEP 78065900. Telefone: +55 (065) 9 81130975.e-mail: semenoff@uol.com.br

EFEITO DO DIMORFISMO NA PRESENÇA DE ESTRESSE CRÔNICO SOBRE A PERIODONTITE MARGINAL EM RATOS.

RESUMO

Objetivo: Verificar a influência do dimorfismo na doença periodontal induzida em ratos e ratas submetidos a estresse crônico. **Materiais e Métodos:** Foram selecionados 24 ratos ($\pm 250g$) e 24 ratas ($\pm 200g$) Wistar Rattus Novergicus, divididos em seis grupos ($n=8$): Grupo Periodontite e Estresse em Fêmeas (GPEF), Grupo Periodontite e Estresse em Machos (GPEM), Grupo Periodontite em Fêmeas (GPF), Grupo Periodontite em Machos (GPM), Grupo Controle de Fêmeas (GCF) e Grupo Controle de Machos (GCM). Inicialmente os animais do GPEF, GPEM, GPF e GPM foram anestesiados e submetidos à periodontite por ligadura. A seguir o GPEM e o GPEF foram submetidos ao protocolo de estresse através da imobilização por 29 dias. O GCF e GCM não foram submetidos a nenhum procedimento. Após esse período, todos os ratos e ratas foram anestesiados e submetidos à coleta sanguínea, para dosagem de cortisona. Em seguida, os mesmos foram eutanasiados e suas maxilas foram coletadas para processamento laboratorial e mensuração histométrica. **Resultados:** O GPEM (41,37%) apresentou a maior média para a perda de inserção histológica (PIH) entre os machos ($p<0,05$); o GPF (17,50%) e o GPEF (27,87%) foram similares entre si ($p>0,05$). Na comparação entre os gêneros, o GPM (15%) foi semelhante ao GPF (17,50%) ($p>0,05$). Todavia, o GPEM (41,37%) apresentou maiores destruições comparado ao GPEF (27,87%) ($p<0,05$). Com relação à Perda Óssea Histológica (POH), o GPEM (64,57%) diferiu do GPEF (44,62%), por apresentar maior destruição ($p<0,05$). Com relação à dosagem do hormônio cortisona os grupos com periodontite associado ao estresse tiveram os maiores valores de médias, entretanto sem diferenças entre machos e fêmeas ($p>0,05$). **Conclusão:** A partir dos resultados deste estudo, as ratas fêmeas demonstram apresentar menor destruição periodontal frente ao estresse crônico comparado com os machos.

Palavras-chave: Dimorfismo, Estresse, Periodontite, Ratos, Restrição Física.

EFFECT OF DIMORPHISM AND CHRONIC STRESS ON MARGINAL PERIODONTITIS IN RATS.

ABSTRACT

Background: This study aimed to measure periodontal disease induced in male and female rats subjected to chronic stress. **Methods:** 24 male (± 250 g) and 24 female (± 200 g) Wistar Rattus Novergicus were divided into six groups (n=8). Initially Periodontitis and Stress in Female rats Group (PSFG), Periodontitis and Stress in Male rats Group (SPMG), Periodontitis in Female rats Group (PFG) and Periodontitis in Male rats Group (PMG) underwent induction of periodontal disease by ligature. Then, animals of PSMG and PSFG underwent immobilization stress protocol during 29 days. The CFG and CMG did not undergo any procedure. After this period, all rats were anesthetized; submitted to blood collected for dosage of cortisone; euthanized and their jaws were collected for laboratory processing and histopathologic measurement of periodontal destruction. **Results:** Concerning attachment loss, PMG (15%) differ from PSMG (41.37%) ($p < 0.05$); PFG (17.50%) and PSFG (27.87%) were similar to each other ($p > 0.05$). Comparing genders, PMG (15%) was similar to PFG (17.50%) ($p > 0.05$). However, PSMG (41.37%) showed higher destruction compared to PSFG (27.87%) ($p < 0.05$). Regarding bone loss, PMG (45%) was similar to PFG (29.25%) ($p > 0.05$). The PSMG (64.57%) differed from PSFG (44.62%), due to its greater destruction ($p < 0.05$). Regarding the cortisone dosage SPMG (131.25%) was similar to PSFG (135.07%) ($p > 0.05$). However, both groups differed from the other ($p < 0.05$). The PMG (92.16) and PFG (84.28%), presented no statistical differences ($p > 0.05$), but both were different from other groups ($p < 0.05$). The CFG (47.73%) and CMG (37.26%) showed similar results ($p < 0.05$) and differed from all other groups for cortisone dosage, insertion and bone loss ($p < 0.05$). **Conclusion:** From the results of this study, female rats demonstrate lower periodontal destruction compared to chronic stress compared to males rats.

Keywords: Periodontitis, Physical restraint, Rats, Sexual dimorphism, Stress.

INTRODUÇÃO

O dimorfismo é uma temática atual e extremamente relevante, caracterizado por diferenças marcantes existentes entre gêneros da mesma espécie¹. Entretanto o grande desafio de estudar esta questão refere-se exatamente em compreender quais diferenças hormonais, imunológicas, neurológicas e inflamatórias são consideradas agentes determinantes para as respostas orgânicas.

Estima-se que metade da população mundial tenha alguma enfermidade crônica, dentre elas podemos citar, o câncer, o diabetes, os problemas cardiorrespiratórios, as complicações renais, pulmonares, dentre outras². Sabe-se, que frente a essas enfermidades, os indivíduos apresentam diferentes respostas de defesa, principalmente a hormonal³, que é conhecida como um indutor inflamatório no periodonto de proteção no caso da gengivite em jovens, em usuárias de medicamentos anticoncepcionais e em mulheres na menopausa⁴. Por outro lado, estudos tem demonstrado que a reposição hormonal é capaz de determinar menor perda óssea periodontal nas mulheres⁵.

Ao comparar ratos machos e fêmeas em um modelo de controle bacteriano frente a periodontite apical, foi observado significativa perda óssea e presença de infiltrado inflamatório em todos os grupos experimentais ao comparar com o grupo controle. Demonstrando que o dimorfismo sexual existe no processo inflamatório periapical, a qual machos têm mais inflamação comparado com as fêmeas. Importante ressaltar que o aumento no infiltrado inflamatório teve correlação com maior perda óssea nos machos⁶.

Roedores machos e fêmeas demonstram ser diferencialmente afetados pela aplicação do modelo de estresse crônico, dependendo dos índices comportamentais, fisiológicos, e neurobiológicos medidos. É importante ressaltar que o modelo de estresse crônico, apesar das suas limitações, tem sido usado com sucesso para avaliar várias questões de pesquisa interdisciplinares no campo das diferenças entre os sexos⁷.

O modelo animal é ideal para buscar plausibilidade biológica a respeito do entendimento das questões que envolvem o dimorfismo e outros agentes, como por exemplo, o estresse. A relação entre estresse e periodontite induzida em ratos é bastante explorada na literatura^{8,9} e o uso de ratos e ratas é ocorrente¹⁰⁻¹².

Na literatura encontram-se publicações em relação ao estresse crônico e periodontite induzida em ratos machos e fêmeas^{10,13,14}, entretanto, ainda não foi percebida uma comparação de estresse crônico entre os sexos com a hipótese de que a fêmea, tenha capacidade de maior resistência ao desafio imposto, como demonstra as evidências.

Diante do exposto, buscou-se neste trabalho acrescentar informações a respeito das questões sobre estresse, dimorfismo e periodontite marginal induzida. Neste sentido, o objetivo foi avaliar e comparar através de análise bioquímica e histológica o efeito do estresse crônico sobre a periodontite induzida por ligadura em ratos machos e fêmeas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Seleção dos animais e separação dos grupos

Inicialmente, 24 ratas adultas fêmeas e 24 ratos adultos machos, com peso médio de aproximadamente 200 a 250 gramas respectivamente, 2 meses de idade e da espécie *Rattus Novergicus* da linhagem Wistar, foram selecionados no biotério da Universidade de Cuiabá – Unic. Os mesmos passaram por uma adaptação ao novo ambiente durante duas semanas e foram mantidos em seis caixas moradia (polietileno 60x40x35 cm) em número de 8 animais por caixa, com ração padronizada e água *ad libitum*, sob ciclo claro/escuro de 12 horas, temperatura controlada a 23°C e umidade \pm 60%. (Ceua – UNIC protocolo 003/2014).

Os animais foram randomicamente divididos em seis grupos experimentais (n=8): Grupo Periodontite em ratas Fêmeas (GPF), Grupo Periodontite em ratos Machos (GPM), Grupo Periodontite e Estresse em ratas Fêmeas (GPEF), o Grupo Periodontite e Estresse em ratos Machos (GPEM), Grupo Controle de ratas Fêmeas (GCF) e o Grupo Controle de ratos Machos (GCM).

Indução da periodontite marginal

No primeiro dia do experimento, procedeu-se a indução da periodontite

em todos os grupos, com exceção do GCM e GCF. Para isto os animais receberam anestesia, através da administração intramuscular de 0,1 mililitros de cloridrato de cetamina (Dopalen, Agribands, Saúde Animal, Paulínia, SP, Brasil) associado a 0,05 mililitros de cloridrato de xilazina (Rompun, Bayer. Saúde Animal, São Paulo, SP. Brasil), para cada 100 gramas de peso corporal. A periodontite induzida marginal foi realizada com a colocação de um fio de sutura de seda estéril, número 4 (ETHICON, Johnson e Johnson, São Paulo – SP, Brasil) envolvendo o segundo molar superior direito de cada rato. Após o ato operatório, uma dose de dipirona sódica (2,5 miligramas para cada 100 gramas de peso corporal) foi injetada intramuscularmente em cada animal.

Submissão ao modelo de estresse

Entre o segundo e o trigésimo dia de experimento, os animais do GPEM e GPEF foram submetidos ao protocolo de estresse crônico físico, por imobilização. Os animais foram acondicionados em tubos de policloreto de polivinila (PVC), compatíveis com seu tamanho e, posteriormente, interrompeu-se a passagem de ambos os lados com fio metálico, de forma a possibilitar a respiração dos animais que permaneceram imobilizados por 12 horas (7:00 às 19:00 horas). Os ratos dos grupos GCM e GCF não receberam nenhum tipo de intervenção, porém foi mantido no mesmo ambiente dos demais grupos.

Coleta de amostras sanguíneas

Os animais foram anestesiados de forma semelhante ao primeiro dia e em ato contínuo, houve acesso à cavidade abdominal com deslocamento dos órgãos internos para visualização da veia cava. Ao visualizá-la foi coletado 5 mililitros de sangue com agulha 25x7 (Vacutainer - Becton Dickinson, Plymouth, UK), as amostras foram imediatamente armazenado em gelo e encaminhadas para um laboratório especializado para análise do nível de cortisona, usando a espectrofotometria (Femto 700S, São Paulo, SP, Brasil). Após a coleta das amostras sanguíneas foi realizada a eutanásia dos animais por excesso anestésico.

Processo de histologia

Logo após a eutanásia, as maxilas foram removidas e fixadas em formol a 10% por 48 horas. Em seguida, os espécimes foram descalcificados em ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) por um período aproximado de cinco semanas (totalizando seis trocas), sendo lavadas, desidratadas, diafanizadas e incluídas em parafina. Os blocos incluídos permitiram cortes histológicos seguindo o longo eixo dos dentes no sentido mesio-distal; tiveram espessura de 6 micrometros e foram corados com hematoxilina de Haris e eosina alcoólica e montados.

Para análise histométrica, foram selecionadas dez lâminas seriadas, nas quais necessariamente deveriam ser observados o 1° e 2° molares superiores direitos e as seguintes estruturas: a) polpa coronária, b) polpa radicular, c) junção cimento esmalte na face mesial do segundo molar, d) crista óssea interproximal, e) inserção conjuntiva¹³.

A histometria foi realizada através da mensuração das imagens com uma régua de 60 centímetros em um televisor de 29 polegadas (SEMP TOSHIBA, Santo Amaro, SP, Brasil), o qual eram captadas as imagens através de uma câmera SANSUNG SDC - 312ND (Manaus, AM, Brasil) acoplada em um Microscópio Binocular E200, Nikon (São Paulo, SP, Brasil) em aumento de 4x. O pesquisador estava calibrado em relação às análises realizadas e desconhecia os grupos analisados. Para verificação da calibragem do examinador, utilizou-se o teste *t* de Student.

O parâmetro da análise histométrica (Figura - 1) foi definido ao mensurar em centímetros a distância entre a junção cimento esmalte na face mesial do segundo molar e a porção mais coronal do epitélio juncional. Este parâmetro foi estabelecido como Perda de Inserção Histológica (JCE-PIH). Para a distância, também em centímetros, entre a junção cimento esmalte e a crista óssea foi estabelecido como Perda Óssea Histológica (JCE-POH).

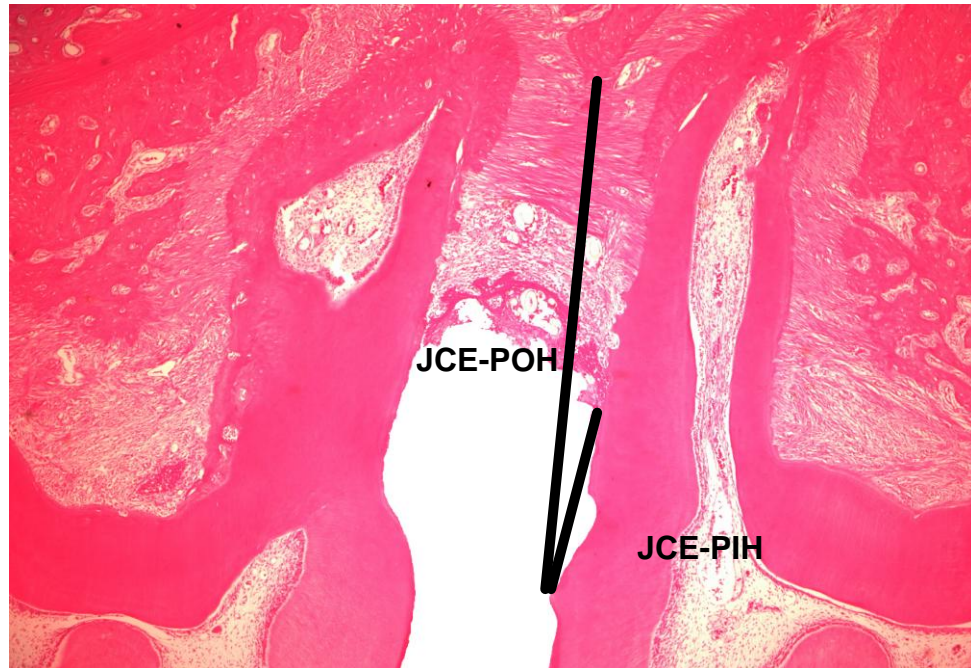


Figura 1 – Demonstra as mensurações para: JCE-POH - Junção Cimento Esmalte - Perda Óssea Histológica; JCE-PIH - Junção Cimento Esmalte - Perda de Inserção Histológica.

Análise estatística

Para análise estatística dos resultados, os dados originais foram submetidos a testes preliminares, visando verificar a normalidade da amostra, com auxílio do software IBM- SPSS 20 (IBM). As comparações entre as médias das imagens foram efetivadas pela análise de variância univariada (ANOVA) com teste Post Hoc de Tuckey (comparação entre os grupos - para imagens e bioquímica), sendo os pressupostos de aderência dos resíduos à distribuição normal e homogeneidade de variâncias avaliadas pelos testes de Shapiro-Wilk. Para verificação da calibragem do examinador, utilizou-se o teste *t* de Student. O intervalo de confiança escolhido no grupo foi de 95% e a significância estatística de 5%.

RESULTADOS

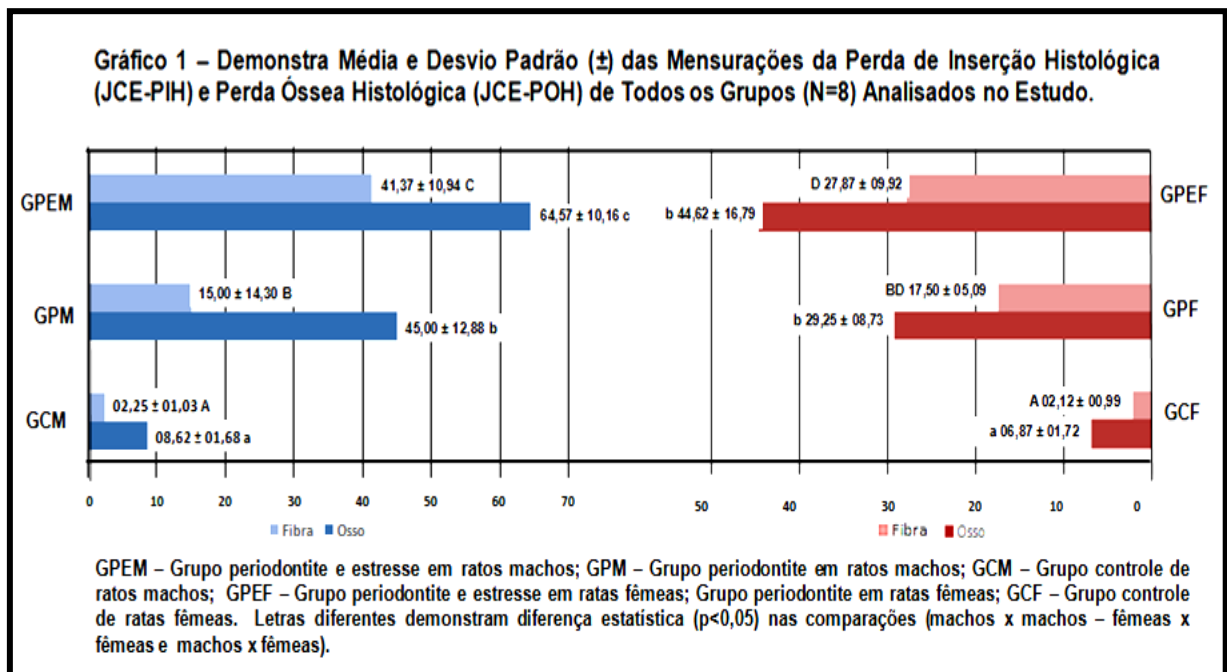
Em relação à Perda de Inserção Histológica (JCE-PIH)- Gráfico 1 - o GCM ($2,25 \pm 1,03$) e o GCF ($2,12 \pm 0,99$) diferenciaram-se de todos os outros grupos ($p < 0,05$), mas não entre si ($p > 0,05$). O GPM ($15,00 \pm 14,30$) teve diferenças

estatísticas comparado ao GPEM ($41,37 \pm 10,94$) – $p < 0,05$; já o GPF ($17,50 \pm 5,09$) e o GPEF ($27,87 \pm 9,92$) não tiveram diferença estatística entre si ($p > 0,05$).

Na comparação entre machos e fêmeas para JCE-PIH - Gráfico - 1, o GPM ($15,00 \pm 14,30$) apresentou resultados similares ao GPF ($17,50 \pm 5,09$) ($p > 0,05$). Todavia ao comparar o GPEM ($41,37 \pm 10,94$) ao GPEF ($27,87 \pm 9,92$) os resultados foram significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Para Perda Óssea Histológica (JCE-POH) -Gráfico 1 - o GCF ($6,87 \pm 1,72$) e GCM ($8,62 \pm 1,68$) diferenciaram-se de todos os grupos ($p < 0,05$), mas não entre eles ($p > 0,05$). Para o GPM ($45,00 \pm 12,88$) comparado ao GPEM ($64,57 \pm 10,16$) houve diferença estatística ($p < 0,05$). Para o GPF ($29,25 \pm 8,73$) comparado, com o GPEF ($44,62 \pm 16,79$), não existiram diferenças significativas ($p > 0,05$).

Ao considerar as comparações para JCE-POH entre machos e fêmeas (Gráfico - 1) o GPM ($45,00 \pm 12,88$) não teve diferenças significativas comparado ao GPF ($29,25 \pm 8,73$) - $p > 0,05$. Nas comparações do GPEM ($64,57 \pm 10,16$) com o GPEF ($44,62 \pm 16,79$) existiram diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$).



Em relação à avaliação do hormônio cortisona (Tabela - 1) o GPEM ($131,25 \pm 13,15$) não teve diferença estatística comparado ao GPEF ($135,07 \pm 28,63$) - $p > 0,05$, contudo, ambos os grupos se diferenciaram dos demais - $p < 0,05$. O

GPF ($84,28 \pm 11,62$) e GPM ($92,16 \pm 2,19$), não tiveram diferenças estatísticas entre si ($p > 0,05$), contudo, ambos, também se diferenciaram de todos os grupos - $p < 0,05$. O GCF ($47,73 \pm 13,73$) comparado com o GCM ($37,26 \pm 3,34$), não se diferenciaram entre si $p > 0,05$, mas comparados aos demais grupos tiveram diferenças estatísticas nas comparações ($p < 0,05$).

Tabela 1- Refere-se à quantidade do hormônio cortisona encontrado no exame bioquímico.

Grupos	N	Média	Desvio Padrão
GPEM	8	131,25a	13,15
GPEF	8	135,07a	28,63
GPF	8	84,28b	11,62
GPM	8	92,16b	2,19
GCF	8	47,73c	13,73
GCM	8	37,26c	3,34

GPM - Grupo Periodontite em Machos; GPEM- Grupo Periodontite e Estresse em Machos; GCM - Grupo Controle de Machos; GPF - Grupo Periodontite em Fêmeas; GPEF- Grupo Periodontite e Estresse em Fêmeas; GCF - Grupo Controle de Fêmeas. Letras diferentes em coluna demonstram diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$).

DISCUSSÃO

A busca por informações em relação ao estresse e às diferenças entre os sexos estabelece um importante fator para estudos de plausibilidade biológica. Estudos em ratos tem a vantagem de eliminar variáveis como a presença de patologias que podem criar vieses na progressão da doença periodontal.

Os resultados deste trabalho demonstram que as ratas sob o efeito do estresse crônico desenvolveram uma ação protetora no periodonto com indução de periodontite ao compará-las com os machos submetidos aos mesmos ensaios. Nas demais comparações não existiram diferenças significativas entre os grupos de machos comparados com os grupos de fêmeas.

O modelo de indução de periodontite por ligadura associado ao estresse crônico é estabelecido na literatura^{8,10-14}. Além disso, há a presença de ratos e ratas neste tipo de ensaio, ambos apresentam o estresse como indutor de maior perda de estrutura periodontal^{9,13-16}. Ao observar uma hipótese em relação ao dimorfismo,

estresse crônico e periodontite, percebem-se poucas informações sobre o assunto. Para dirimir esta questão este estudo abordou estas relações.

Em recente estudo em camundongos Duan et al. (2016)¹⁷ compararam o efeito da periodontite em machos e fêmeas. Os resultados apresentaram uma menor destruição e produção de interleucinas para os machos. Outro estudo do mesmo gênero realizado em 2009 apresentaram resultados similares em relação às interleucinas, mas não para perda óssea¹⁸. Ao comparar os gêneros em relação à destruição periodontal não foram encontradas diferenças estatísticas como os citados. Na mesma linha de pesquisa, outro artigo também utilizou ratos machos e fêmeas obtendo os mesmos resultados, ou seja, sem diferenças entre os gêneros¹⁹. Esta dissiparidade encontrada demonstra a necessidade de maiores pesquisas sobre o tema.

A literatura é ampla em descrever o gênero feminino como sendo mais resistente ao estresse e com maior capacidade de reparo²⁰. Em relação à periodontia os estudos epidemiológicos demonstram o gênero masculino como sendo o mais susceptível a periodontite²¹⁻²⁵. Outro trabalho estudou especificamente o dimorfismo em humanos, onde os autores fizeram biópsias do tecido gengival com diferentes profundidades de sondagens. Os resultados demonstraram que há a presença de mediadores imunoinflamatórios ligados a apoptose em ambos os sexos nas diferentes profundidades de sondagens, contudo houve considerável presença de maior apoptose no grupo feminino, o que biologicamente é ligado a uma melhor resposta imunoinflamatória²⁶.

Possivelmente as respostas para o fator protetor encontrado no estudo relacionam-se com os hormônios. Sabe-se que a progesterona e seus produtos ligam-se com uma melhora nas respostas imunológicas específicas. Já o estrogênio, com uma melhora da resposta inata^{27,28}. Contudo, pelo gênero feminino apresentar maior reatividade do sistema imune e maior defesa contra infecções como a periodontite, há um efeito colateral algumas vezes. Podem ocorrer ataques do sistema imunitário capazes de destruir os órgãos e tecidos do próprio hospedeiro²⁹.

Os resultados do estudo em relação à cortisona demonstram que o modelo de estresse crônico utilizado no estudo foi eficiente¹³. Os dois grupos estressados ratos machos e ratas fêmeas foram os que tiveram a maior quantidade de cortisona. Sabe-se que a presença deste hormônio na corrente sanguínea é

capaz de promover alterações no perfil imunoinflamatório do periodonto³⁰. O perfil de resposta em ratos endogâmicos frente ao estresse crônico já foi testado. Sabe-se que os ratos com padrão de resposta TH1 é capaz de promover uma defesa mais eficiente em relação à periodontite induzida. Já os animais com padrão de resposta TH2 tem uma pior resposta frente ao desafio do estresse¹⁴. Diante dos resultados do estudo, as ratas fêmeas submetidas a estresse tiveram um efeito protetor comparado com os ratos machos, e não tiveram diferenças estatísticas comparadas com as ratas fêmeas apenas com indução de periodontite, inferimos que as ratas sob estresse mantiveram-se com um padrão de resposta TH1.

O tema dimorfismo é atual e relevante na ciência, entretanto em relação à Odontologia têm-se poucas informações sobre o assunto. Os resultados são interessantes, e estão de acordo com a literatura em apresentar as fêmeas como mais resistente ao estresse; contudo há uma necessidade de uma sequência de pesquisas em animais e em humanos na busca de um melhor entendimento sobre o tema, principalmente ao incluir a variável estresse crônico e doença periodontal.

CONCLUSÃO

As fêmeas com indução de periodontite associado ao estresse crônico apresentaram menor padrão de destruição periodontal comparadas com os machos. Para o exame do nível de cortisona houve diferenças estatísticas entre todos os grupos de machos e também entre os grupos de fêmeas, demonstrando que o modelo de estresse foi favorável para ambos os grupos.



3.1 REFERÊNCIAS DO ARTIGO

3.1 REFERÊNCIAS DO ARTIGO

1. Farias RM, Matsudo SMM, Ferrari GLM, Matsudo VKR (2012). Tendência secular de 10 e 20 anos da maturação sexual de escolares. *Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum.* 14(6):680-689.
2. Miniño AM (2011). Death in the United States, 2009. *NCHS Data Brief.* 64:1-8.
3. Ward BW, Schiller JS (2013). Prevalence of multiple chronic conditions among US adults: estimates from the National Health Interview Survey, 2010. *Prev Chronic Dis.* 10:E65.
4. Susin C, Haas AN, Valle PM, Oppermann RV, Albandar JM (2011). Prevalence and risk indicators for chronic periodontitis in adolescents and young adults in south Brazil. *J Clin Periodontol.* 38(4):326-33.
5. Shiau HJ, Aichelmann-Reidy ME, Reynolds MA (2014). Influence of sex steroids on inflammation and bone metabolism *Periodontol* 2000. 64(1):81-94.
6. McAbee J, Li Q, Yu H, Kirkwood KL (2012). Sexual dimorphism in periapical inflammation and bone loss from mitogen-activated protein kinase phosphatase-1 deficient mice. *J Endod.* 38(8):1097-100.
7. Franceschelli A, Herchick S, Thelen C, Papadopoulou-Daifoti Z, Pitychoutis PM (2014). Sex differences in the chronic mild stress model of depression. *Behav Pharmacol.* 25(5-6):372-83.
8. Takada T, Yoshinari N, Sugiishi S, Kawase H, Yamane T, Noguchi T (2004). Effect of restraint stress on the progression of experimental periodontitis in rats. *J Periodontol.* 75(2):306-15.
9. Nakajima K, Hamada N, Takahashi Y, Sasaguri K, Tsukinoki K, Umemoto T et al. (2006). Restraint stress enhances alveolar bone loss in an experimental rat model. *J Periodontal Res.* 41(6):527-34.
10. Gaspersic R, Stiblar-Martincic D, Skaleric U (2002). Influence of restraint stress on ligature-induced periodontitis in rats. *Eur J Oral Sci.* 110(2):125-9.
11. Porto AN, Semenoff-Segundo A, Vedove Semenoff TA, Pedro FM, Borges AH, Cortelli JR et al. (2012). Effects of forced alcohol intake associated with chronic stress on the severity of periodontitis: an animal model study. *Int J Dent.* 2012:465698.
12. Semenoff TA, Rosa Júnior A, Borges ÁH, Porto AN, Caporossi C, Semenoff Segundo A (2013). Effect of chronic stress in newborn rats on the progression of ligature-induced-periodontitis in adulthood. *Acta Cir Bras.* 28(9):652-6.
13. Semenoff Segundo A, Semenoff TA, Borges AH, Pedro FL, Sakai VT (2010). Methodological model of chronic stress associated with ligature-induced periodontitis in rats: a radiographic study. *Braz Oral Res.* 24(4):455-9.

14. Semenoff-Segundo A, Borges ÁH, Bandeca MC, Porto AN, Pedro FL, Santos RS, Tonetto MR, Semenoff TA (2014). Effect of chronic stress on ligature-induced periodontitis in inbred and noninbred rats: a radiographic study. *J Contemp Dent Pract.* 15(5):556-60.
15. Semenoff TA, Semenoff-Segundo A, Bosco AF, Nagata MJ, Garcia VG, Biasoli ER (2008). Histometric analysis of ligature-induced periodontitis in rats: a comparison of histological section planes. *J Appl Oral Sci.* 16(4):251-6.
16. Semenoff-Segundo A, Delle Vedove Semenoff TA, Borges ÁH, Pedro FL, Caporossi LS, Bosco ÁF (2012). The influence of chronic stress imposed on pregnant rats on the induced bone loss in their adult offspring. *Arch Oral Biol.* 57(5):477-82.
17. Duan X, Gleason RC, Li F, Hosur KB, Duan X, Huang D et al (2016). Sex dimorphism in periodontitis in animal models. *J Periodontal Res.* 51(2):196-202.
18. Bain JL, Lester SR, Henry WD, Bishop CM, Turnage AA, Naftel JP et al (2009). Comparative gender differences in local and systemic concentrations of pro-inflammatory cytokines in rats with experimental periodontitis. *J Periodontal Res.* 44(1):133-40.
19. Breivik T, Opstad PK, Gjermo P, Thrane PS (2000). Effects of hypothalamic-pituitary-adrenal axis reactivity on periodontal tissue destruction in rats. *Eur J Oral Sci.* 108(2):115-22.
20. Deitch EA, Livingston DH, Lavery RF, Monaghan SF, Bongu A, Machiedo GW (2007). Hormonally active women tolerate shock-trauma better than do men: a prospective study of over 4000 trauma patients. *Ann Surg.* 246(3): 447-53.
21. Haas AN, Wagner MC, Oppermann RV, Rösing CK, Albandar JM, Susin C (2014). Risk factors for the progression of periodontal attachment loss: a 5-year population-based study in South Brazil. *J Clin Periodontol.* 41(3):215-23.
22. Albandar JM, Brunelle JA, Kingman A (1999). Destructive periodontal disease in adults 30 years of age and older in the United States, 1988-1994. *J Periodontol.* 70(1):13-29.
23. Desvarieux M, Schwahn C, Völzke H, Demmer RT, Lüdemann J, Kessler C et al. (2004). Gender differences in the relationship between periodontal disease, tooth loss, and atherosclerosis. *Stroke.* 35(9):2029-35.
24. Dye BA, Tan S, Smith V, Lewis BG, Barker LK, Thornton-Evans G et al. (2007). Trends in oral health status: United States, 1988-1994 and 1999-2004. *Vital Health Stat.* (248):1-92.
25. Hermann P, Gera I, Borbély J, Fejérdy P, Madléna M (2009). Periodontal health of an adult population in Hungary: findings of a national survey. *J Clin Periodontol.* 36(6):449-57.

26. Johnson RB, Wikle JC (2014). Sex differences in inflammatory and apoptotic signaling molecules in normal and diseased human gingiva. *J Periodontol.* 85(11):1612-9.
27. Shiau HJ, Reynolds MA (2010). Sex differences in destructive periodontal disease: exploring the biologic basis. *J Periodontol.* 81(11):1505-17.
28. Cossette É, Cloutier I, Tardif K, DonPierre G, Tanquay JF (2013). Estradiol inhibits vascular endothelial cells pro-inflammatory activation induced by C-reactive protein. *Mol Cell Biochem.* 373(1-2):137-47.
29. Rubtsova K, Marrack P, Rubtsov AV (2015). Sexual dimorphism in autoimmunity. *J Clin Invest.* 125(6):2187-93.
30. Breivik T, Thrane PS, Gjermo P, Opstad PK, Pabst R, von Horsten S (2001). Hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation by periodontal disease in rats. *J Periodontal Res.* 36(5):295-300.



ANEXOS

ANEXOS

O artigo derivado desta Dissertação de Mestrado será encaminhado à revista Iranian Journal of Public Health (ISSN- 2008-2746).

Classificada pela CAPES/Web Qualis como B2
ISSN impresso: 2251-6085; ISSN eletrônico: 2251-6093
Fator de impacto - 0.498

Author Guidelines

Submitted manuscript, should embrace the following criteria:

Content should not be related to local issues but preferably with critical national or global items.

Having innovative and creative outcome.

Methods should preferably be advanced and reproducible.

IJPH accepts manuscripts written in American English.

Types of Manuscripts

Original articles:

These include randomized controlled trials, intervention studies, studies of screening and diagnostic test, outcome studies, and cost effectiveness analyses. The text of original articles amounting to utmost 3000 words (excluding Abstract, References and Tables) should include: Title; the Abstract; Introduction; Materials & Methods; Results; Discussion; Conclusion; Acknowledgement; References, Tables and Figures.

Review Articles:

They should be written by authors considered experts on the subject. Therefore, the corresponding author of the review article must be one of the authors of at least three articles presented in Reference section. Systematic reviews and meta-analysis are more welcomed and they should respectively follow the PRISMA (<http://www.prisma-statement.org/>) and MOOSE guidelines (<http://www.consort-statement.org>). Review articles must include an abstract of no more than 250 words, a main text between 2000-3000 words excluding up to 90 references, and up to 6 tables and/or figures.

Short Communications:

Short communications are brief reports of research works containing new findings, which are not exceeding 2500 words from introduction through references. The Short Communication consists of Abstract, main body including Introduction, Methods, Results, Discussion, Conclusion; Acknowledgement, References, Tables and Figures.

Case reports:

Case reports are accepted provided they are of exceptional interest for readers. The case report consists of Abstract (unstructured), Introduction, Case Report, Discussion, Acknowledgements and References. Case reports must not exceed 1,000 words, 15 references and reasonable amount of tables and/or figures.

Letters to the Editor:

Letters could be of two types, commenting either on recently published articles or reporting cases, outbreaks, or original research. The former must be received within 2 months of publication of the article to which they refer and should be no longer than 500 words. The latter should contain no more than 1000 words with up to 10 references and 2 figures and/or tables. They should not be divided into sections.

Other:

Guest Editorial is solicited by the Editorial Board. National Reports or similar cases are accepted based on confirmation by Editorial Board.

Submission Preparation Checklist

As part of the submission process, authors are required to check off their submission's compliance with all of the following items, and submissions may be returned to authors that do not adhere to these guidelines.

Papers submitted for publication should describe original work, not previously published elsewhere, totally or partly. Manuscripts must be submitted only in English and should be written according to sound grammar and proper terminology. Submission is only acceptable via Journal website: <http://ijph.tums.ac.ir>.

- Manuscript must be accompanied by a covering letter to the Editor-in-Chief, including title and author(s) name and undertaking that it has not been published or submitted elsewhere.
- The title page of the paper should only contain the title, name(s), degree(s) and addresses (Tel, Fax, and Email) of the author(s).
- The manuscript should include Title; No author(s) name; the Abstract; Introduction; Materials & Methods; Results; Discussion; Acknowledgement and References.
- The Abstract (no more than 250 words) in structured format as Background, Methods, Results and Conclusion followed by 3 to 5 Keywords must be presented.
- Tables in limited numbers should be submitted with the captions placed above. Do not submit tables as photograph. Place explanatory matters in footnotes, not in the heading.
- Figures should be in limited numbers, with high quality artwork and mounted on separate pages. The captions should be placed below.
- The same data should not be presented in tables, figures and text, simultaneously.
- References:
- References in limited numbers and up-to-dated should be numbered consecutively as they occur in the text (number in parentheses). The references should observe the following style:
 1. Article: Jarvis WR, Komshian SV (1995). Epidemiology of nosocomial fungal infections. *Clin Infect Dis*, 20 (6): 1526-30.
 2. Chapter: Hillyer GV (1998). Immunodiagnosis of human and animal fasciolosis. In: *Fasciolosis*. Ed, JP Dalton. CABI Publishing, 1st ed. Oxon, Wallingford, UK, pp. 435- 48.
 3. Book: Charmaz K (1991). *Good days, bad days: The self in chronic illness and time*. 2nd ed. New Brunswick: Rutgers University Press. New York.
 4. Monograph on the Internet: Lundstedt S (2003). *Analysis of PAHs and their transformation products in contaminated soil and remedial processes*. University of Amsterdam, the Netherlands. Available from: www.google.com

5. Thesis: Mohammadi MM. Infant sleep and feeding [PhD thesis]. School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Iran; 2002.

Note: If the authors have the article prepared using EndNote, we prefer to receive it.

•Abbreviations and symbols:

Please use only standard abbreviations. Avoid using them in the title and abstract. The full term for which an abbreviation stands should precede its first use in the text unless it is a standard unit of measurement.

•Clinical trial registry:

Reports of randomized clinical trials should present information on all major study elements, including the protocol, assignment of interventions (methods allocation to treatment groups), and the method of masking (blinding), based on the CONSORT Statement (<http://www.consort-statement.org>). Iranian articles for this sort should be registered first via (www.irct.ir/) because no RCT articles are accepted unless it contains the official registered code. Registration in the following trial registers is acceptable as well: <http://www.actr.org.au/>

<http://www.clinicaltrials.gov/>

<http://isrctn.org/>

<http://www.trialregister.nl/trialreg/index.asp>

<http://www.umin.ac.jp/ctr>

Authorship Criteria:

Authorship credit should be based only on substantial contributions to each of the three components mentioned below:

1. Concept and design of study or acquisition of data or analysis and interpretation of data;
2. Drafting the article or revising it critically for important intellectual content;
3. Final approval of the version to be published; and
4. Willingness to assume responsibility of the study.

Participation solely in the acquisition of funding or the collection of data does not justify authorship. General supervision of the research group is not sufficient

contributor should have participated sufficiently in the work to take public responsibility for appropriate portions of the content of the manuscript.

- Reprint:

No reprints are presented to authors. The Journal is open access and all authors may acquire their article full text free of charge through the web.

- Ethics:

The relevant Ethics committee/ institution review boards of the respective institutions must approve the study. The study itself should follow the ethical standards of the Helsinki Declaration, as revised in 2013 (available at <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/>).

Ensure confidentiality of subjects by desisting from mentioning participants' names, initials or hospital numbers, especially reporting experiments on animals, indicate whether the institution's or a national research council's guide for, or any national law on the care and use Evidence for approval by a local Ethics Committee (for both human as well as animal studies) must be supplied by the authors on demand. IJPH will not consider any paper, which is ethically unacceptable. The related items should be inserted under the 'Materials and Methods' section.

- Protection of Patients' Rights to Privacy

Informed consent from the participants and from the parents or legal guardians of minors should be taken and stated in the study under the 'Materials and Methods' section.

Authors should remove patients' names from figures. Any data leading to direct recognize of the patient, strictly should be omitted.

- Misconducts

IJPH is a member of COPE and follows its Best Practice Guidelines for Journal Editors. Plagiarism of text from a previously published manuscript by the same or another author is a serious publication offence. Small amounts of text may be used, but only where the source of the material quoted is clearly acknowledged and the text is inserted in quotation mark. If there is an allegation of plagiarism, scientific misconduct or fraud, IJPH will follow the recommendations of the COPE and ICMJE.

The Journal reserves the right to report the allegations to the author's institution or any other agency.

- Conflicts of interest

Submitting a manuscript must be accompanied with a statement from the authors disclosing financial and personnel relationship that might bias their work, if any. Besides, they are requested to evident whether impending conflicts do or do not exist. A separate page should cover this proclamation and if there are further details, could be mentioned in covering letter. If an organization encompasses any financial interest in the outcome of the study, the authors are appealed to provide a declaration that have full access to all the data in the study and take complete responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis.

- Peer review process:

IJPH is a peer-reviewed journal. All manuscripts will be acknowledged upon presenting to the Journal office, if all stated requirements are met. According to the policy of peer review in our Journal, a large extent of manuscripts are rejected through an in-house evaluation process based on a category of criteria including over flow of manuscripts, out of scope cases, poor outcome, local studies, clinical contents etc. This process takes no more than two weeks and the author(s) will be informed of the primary decision. The first stage passed manuscripts are sent to two or three reviewers. The whole review process depends on receiving referees' comments and revising the manuscripts based on these comments to the author. On receipt of the revised article from the author, and after final approving by referees, the letter of acceptance is issued to the author. Authors have the right to communicate to the editor if they do not wish their manuscript to be reviewed by a particular reviewer because of potential conflicts of interest. The author can also suggest the name of possible competent reviewers but it is up to the editor to accept it. No article is rejected unless negative comments are received from at least two reviewers.

To assist the speed of peer review process, authors are requested to introduce four well-known experts with their contact details, but the Editor-in-Chief would be emancipated finally.

The revised version of the manuscript should be included with reply to referees' comments separately article to article. In addition, the changes should be marked as underlined or colored text in the article.

- Proofs:

Authors are sent galley proofs for checking the production after acceptance of the article. Proofs are sent by e-mail as Word files and considering that the Journal is published monthly, if for any reason, after 2 days, the Journal does not receive any reply, we consider the manuscript approved, and no changes will be acceptable after that. It is the authors' responsibility to check that all the text and data as contained in the page proofs are correct and suitable for publication. We request that authors pay particular attention to author's names and affiliations, as it is essential that these details are accurate when the article is published. In this step, the authors absolutely, cannot add any authors or large sentences to the article, besides; they are not allowed to change the corresponding author.

After approving the galley proof, no changes would be accepted and the responsibility would be on author(s) side.

- Copyright:

Iranian Journal of Public Health allow the author(s) to hold the copyright without restrictions. Also the journal allow the author(s) to retain publishing rights without restrictions.

Page charges: (Just for Iranian Authors)

According to new policy imposed by the journal administration, from now (10 Nov 2015) corresponding authors are requested to pay the publication charge as mentioned below:

Article Type

For Iranian (RLs): Review articles, Country Reports - Free of charge

Original article - 6000000

Short Communication - 3000000

Case Report - 2000000

Letter to the Editor - 1000000

ANEXOS



TUDO SE ENCONTRA

uma instituição

iuni
 EDUCACIONAL

CEUA – Comitê de Ética de Uso de Animais

Cuiabá, 03 de setembro de 2014.


Ilmo Sr.

Pesquisador Alex Semenoff Segundo

 Ref: Projeto de Pesquisa intitulado: **“Efeito do exercício físico na progressão das doenças endodôntica e periodontal em ratos”**.

Parecer do Comitê de Ética de Uso de Animais

O Projeto intitulado **“Efeito do exercício físico na progressão das doenças endodôntica e periodontal em ratos”**, numero 003/2014, com objetivo de verificar o efeito do exercício físico sobre a progressão das doenças bucais em ratos , sob responsabilidade de Alex Semenoff Segundo, foi considerado Aprovado


 Prof. Dr. Lazaro Manoel de Camargo
 Coordenador do Comitê de Ética de Uso de Animais
 Universidade de Cuiabá - UNIC

Campus Cidade Universitária
 Av. Manoel José de Arruda, 3100
 Jd. Europa - Cuiabá-MT
 Tel.: 1651 3363 1000

Campus Barão
 Av. Barão de Melgaço, 222
 Porto - Cuiabá-MT
 Tel.: 1651 3363 1700

Campus Pantanal
 Av. Hist. Rubens de Mendonça, 3300
 Jd. Aclimação - Pantanal Shopping - Cuiabá-MT
 tel.: 1651 3363 2000

UNIC Várzea Grande
 Av. Pres. Arthur Bernardes
 Ipase - Várzea Grande-MT
 Tel.: 1651 3363 1200