

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo
desta dissertação será
disponibilizado somente a
partir de 17/08/2020.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Júlio de Mesquita Filho"

CRISTIANE CANTIGA DA SILVA

**Efeito da fibrose hepática sobre a severidade da
periodontite apical: análise histológica e
imunoistoquímica em ratos**

ARAÇATUBA

2020



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Júlio de Mesquita Filho"

CRISTIANE CANTIGA DA SILVA

**Efeito da fibrose hepática sobre a severidade da
periodontite apical: análise histológica e
imunoistoquímica em ratos**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Odontológica, área de concentração em Endodontia.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Tavares Angelo Cintra

ARAÇATUBA

2020

Catálogo na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

S586i CANTIGA-SILVA, C.
Influência da fibrose hepática na severidade
da periodontite apical: análise histológica
imunoistoquímica em ratos / Cristiane Cantiga da
Silva. – Araçatuba, 2020
50 f. : il. ; tab.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Orientador: Prof. Luciano Tavares Angelo Cintra

1. Periodontite periapical 2. Fibrose hepática 3. Inflamação.
4. Citocinas pró inflamatórias I. T.

Black D24
CDD 617.67

Claudio Hideo Matsumoto CRB-8/5550

Dados curriculares – Cristiane Cantiga da Silva

Identificação

Nascida aos **15 dias de março de 1991** em Envira, AM.

Filha de **João Rates da Silva e Luzia Cantiga de Souza**.

2009 - 2013 – Curso de Graduação

Concluiu o curso de **Graduação em Odontologia**, na Universidade do Norte - UNINORTE, em dezembro de 2013.

2014 - 2016 – Curso de Especialização

Concluiu o curso de **Especialização em Endodontia** pela Universidade do Estado do Amazonas – UEA, em janeiro de 2016.

2018 - 2020 – Curso de Mestrado

Concluiu o **Curso de Mestrado em Ciência Odontológica, área de concentração Endodontia**, na Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, sob orientação do professor Luciano Tavares Angelo Cintra.

Dedico este trabalho à minha mãe, **Luzia Cantiga** e ao meu tio, **Ivon Rates**.

Eu jamais chegaria aqui sem os cuidados de vocês.

Obrigada por me conduzirem nos caminhos retos, me ensinarem com amor, dedicação e paciência os valores que devemos ter na vida.

Obrigada minha amada mãe, pela fortaleza que a senhora sempre foi, pelo zelo para comigo e meus amados irmãos.

Obrigada por acreditar e confiar em mim. Sei que nesses longos anos Deus tem cuidado da senhora por mim, assim como sei que todas as noites a senhora me entrega a Ele. Obrigada!

Obrigada por viver todos os meus sonhos ao meu lado. Que Deus me conceda a graça de te retribuir todo amor!

Graças ao senhor, tio, eu pude sonhar tanto. E graças ao senhor os maiores sonhos tornaram-se real. Obrigada por me amar como filha, me ensinar e oferecer tanto, buscando em troca apenas a minha felicidade. Seu coração bom e generoso lhe conferem nobreza aos olhos do Pai.

Obrigada por tudo!

É pelo os senhores, minha mãe e meu tio que este sonho se torna real.

É para os senhores, com todo amor que dedico este trabalho. Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus,

Que é Pai, Filho e Espírito Santo por ouvir minhas orações, e acima de tudo,
atendê-las.

Sem o Seu amor e Sua misericórdia eu não existiria. Pela Sua graça este
momento acontece.

Obrigada por me guiar em todos os caminhos, por me apresentar às pessoas
de paz e me permitir voar os mais altos voos.

Obrigada pela fé que me alimenta, pelas bênçãos alcançadas, por me
perdoar todos os dias do nascer ao pôr do sol, por ser meu Amigo confidente e
minha Família longe de casa.

Ao Senhor eu clamo e graças Ele me dá!

Toda honra e toda glória sejam dadas a Ele, meu Refúgio e minha Fortaleza.

Agradeço à Mãe Maria,

Virgem e Santa, que me cobre com seu Santo Manto e intercede a Deus por
mim. Teu amor de Mãe me ilumina em todos os caminhos.

Tu és Mãe do Salvador e minha Mãe!

AGRADECIMENTOS

Aos meus irmãos, **Erivon e Jason Silva,**

Eu amo vocês!

Obrigada por entenderem minha ausência, por cuidar da mãe e pelos sobrinhos lindos. Obrigada por serem presentes na minha vida, por se preocuparem e torcerem por mim.

Obrigada por me receberem de volta à casa com amor e tantos mimos. Minha alegria é sentar no sofá com vocês à noite e sentir o mundo parar enquanto vivemos e revivemos o que o tempo só fortaleceu, o amor de irmãos.

Às minhas primas-irmãs, **Sonally, Ilana, Gabrielle e Maria Beatriz Rates,**

Metade do meu tempo de vida eu passei com vocês.

Sonally e Ilana, obrigada pelo amor e paciência que vocês tem para comigo. Obrigada por cada palavra de incentivo, por cada sonho que compartilhamos e vibramos quando se realiza. Obrigada por serem amigas na alegria e na tristeza e por estarem comigo nesta jornada longe de casa.

Gabi e Mabi, minha felicidade pela vida de vocês é constante. Sou feliz por estar com vocês desde os primeiros passos e por tê-las como as alegrias da casa.

Obrigada por cada sorriso de amor quando estamos juntas.

Amo vocês, meninas!

AGRADECIMENTOS

À minha avó, **Maria Oliveira**,

Sou agraciada por ser sua neta.

Obrigada por ser doce e amável e me esperar chegar à sua casa com carinho e agrado. Obrigada por ficar horas comigo aos domingos no telefone amenizando minha saudade.

Te amo, vó Maria!

Aos meus avôs, **Evaristo Rates, Francisco Lopes e Maria Cantiga** (*in memoriam*),

Os senhores são minhas estrelas no céu de verão, as quais vejo o brilho se destacar para me iluminar.

Obrigada por me olharem lá de cima!

AGRADECIMENTOS

À minha tia, **Kátia Rates**,

Agradeço pelo acolhimento todos esses anos,
por em diversas vezes exercer o papel de mãe para mim e minhas primas Sonally e
Ilana. Obrigada por ser paciente e presente em nossas vidas.

Sou grata pelo cuidado e zelo que tem para comigo desde sempre, mesmo estando
longe, quando precisei a senhora foi de extrema solicitude!

Obrigada por ser paciente com meu tio e pelo amor que tem pela nossa família.

Agradeço também aos seus pais, **Seu Murilo** e **Dona Bia** que foram acolhedores
desde o início e me trataram como neta. É e sempre será um prazer estar com todos
vocês.

À minha **família**,

Que não entende muito por que seu passarinho saiu do ninho para voar tão
longe, mas me ama e apoia. Muito obrigada!

AGRADECIMENTOS

Agradecimento especial

Ao meu orientador, professor **Luciano Tavares Angelo Cintra**,

Entrar na pós-graduação sempre foi um sonho. Deus me fez perseverar e aqui estou agradecendo ao melhor professor orientador que poderia estar comigo neste sonho. Obrigada, professor!

Obrigada por ter me aceito como orientada, por ter confiado a mim tantos compromissos me garantindo infinitas oportunidades. Obrigada por me receber na sua sala - diversas vezes ao dia - com um "pode entrar, o que você precisa". Obrigada por sentar comigo todas as vezes que julgou necessário ensinar e esclarecer dúvidas.

Estar finalizando o mestrado com todo o crescimento pessoal, científico e profissional adquirido nesses dois anos não seria tão enriquecedor se eu não estivesse sob sua orientação. O senhor tem o dom de ensinar! É um mestre que me inspira, com o amor e a doação ao trabalho. Obrigada por tanto!

Obrigada pelo acolhimento dentro e fora do departamento, pelo cuidado e preocupação que tem para com seus orientados. Obrigada por ser ouvinte e dar os melhores conselhos. O senhor foi para mim nesses dois anos, como o pai que ensina e prepara o filho para os maiores desafios da vida. Chegar aqui hoje foi um deles!

Por tudo, muito obrigada!

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba,

Agradeço à Faculdade de Odontologia de Araçatuba - FOA, da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP, na pessoa do seu Diretor Prof. Titular Glauco Issamu Miyahara e Vice-Diretor Prof. Titular Alberto Carlos Botazzo Delbem. Aqui eu pude conhecer como é a pós-graduação stricto sensu e me encantar ainda mais pela ciência. Carrego um imenso orgulho de dizer que faço parte da FOA-UNESP.

Ao Departamento de Odontologia Restauradora,

Agradeço a este departamento que por esses dois anos foi minha casa. Foi aqui que dei meus primeiros passos no mundo científico, cada dia um novo aprendizado - vários, na maioria deles - e assim, aos poucos foi se tornando minha casa, um lugar que me sinto à vontade, cheio de descobertas e pessoas incríveis.

À coordenação do **Programa de Pós-graduação em Ciência Odontológica**, o qual sou aluna, agradeço pelo dedicado trabalho que realizam visando o crescimento e desenvolvimento de professores na universidade, bem como preparando os alunos para o mercado de trabalho.

Agradeço à **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas - FAPEAM**, por me conceder a bolsa de Mestrado (n.º 01.01.016301.000658.2018) em parceria com a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos aos demais professores que acompanham minha vida acadêmica e foram essenciais nesta jornada

Ao meu querido professor **Tiago Novaes Pinheiro**, que me acompanha desde a graduação.

Professor, muito obrigada por todo incentivo, por acreditar em mim e principalmente por estar comigo nesta jornada da pós-graduação. Obrigada pelos ensinamentos e oportunidades no decorrer dos anos. Muito me alegro ser sua ex-aluna e hoje trabalharmos juntos. É uma honra. Ao senhor, minha eterna gratidão!

Aos professores da Disciplina de Endodontia da FOA-UNESP, **Elói Dezan-Junior**, **Rogério de Castilho Jacinto**, **João Eduardo Gomes-Filho** e **Gustavo Sivieri de Araújo** pelos ensinamentos nos seminários da pós-graduação, pela convivência no Departamento e por se colorem à disposição sempre. Agradeço em especial ao professor **Gustavo**, que auxiliou nos experimentos do meu trabalho com empenho e aceitou prontamente meu convite para compor a banca do Exame Geral de Qualificação. A todos, obrigada!

Obrigada ao professor **Marco Rogério de Mendonça**, da Disciplina de Ortodontia desta Faculdade, por ter me recebido em sua sala e aceitar o desafio de desenvolver um dispositivo fundamental para utilização nos meus experimentos. Graças a sua boa vontade e criação, conseguimos padronizar meu modelo experimental. Obrigada!

AGRADECIMENTOS

Meus mais sinceros agradecimentos ao professor **Edilson Ervolino**, que começou me auxiliando já nos meus primeiros passos da pós-graduação via troca de e-mails e mais tarde me acolheu em seu laboratório. Professor, obrigada por tamanha paciência e sutileza com que explicou cada dúvida minha. Aprendi demais com o Senhor! Obrigada por participar ativamente do meu trabalho, pelas longas semanas em seu laboratório e pela gentileza com a qual me recebeu.

Minha admiração pelo senhor como ser humano e profissional é enorme. Agradeço por ter aceito o convite para ser membro da minha banca de defesa do Mestrado, certa de que a contribuição de seus conhecimentos será importantíssima para o aprimoramento da minha dissertação. Obrigada, professor!

Obrigada à professora **Marcia Carneiro Valera** por aceitar, prontamente, o convite para compor minha banca de Mestrado. Sua importância para a ciência na Endodontia é ímpar, sendo para mim uma honra tê-la como banca de defesa. Obrigada por deixar seus afazeres para crescer neste momento especial!

Aos demais professores que contribuíram e contribuem com meu crescimento na vida acadêmica, muito obrigada!

A inteligência e a Ciência são Dons do Espírito Santo. Ensinar é dádiva divina! Aqueles que os recebem são felizes e agraciados em suas colheitas.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento aos funcionários da FOA

Agradeço em especial aos **funcionários Carlos, Peterson, Jorge e Dani** pelo compromisso e atenção com que exercem seus trabalhos no departamento. Obrigada por me ajudarem sempre - foram muitos os “salvamentos”!

Cabe ainda, e não menos importante, meu agradecimento de coração à **Nelci**. Nel, muito obrigada! Queria ter tido a oportunidade de conviver mais e aprender muito mais com você sobre os “segredos” das soluções. Obrigada por se colocar à disposição sempre, mesmo quando estava em enfermo. Sua atenção comigo é impagável e eu sou incapaz de retribuir tamanha solicitude.

Aos demais funcionários do **departamento**, da **secretaria de pós-graduação**, do **biotério** e da **portaria**, os quais quando solicitei fui atendida com paciência e atenção, meu muito obrigada!

AGRADECIMENTOS

Agradecimento aos amigos e colegas

Agradeço às minhas eternas amigas, **Elzilane Sampaio** e **Isadora Siqueira**, vocês são anjos na minha vida. Obrigada por nossa amizade! Obrigada por terem um coração tão bom e amável e por se preocuparem tanto comigo. Obrigada pela alegria que me dão em compartilhar todos os momentos da minha vida com vocês, pelos conselhos, risos e por tudo o que nossa amizade já nos permitiu viver. Obrigada pelos incentivos e por vibrar com as minhas conquistas. Estamos à quilômetros de distância e seguimos sendo ouvidos e ombros uma para a outra. Amo vocês!

À **Dona Marcia**, minha mãe em Araçatuba, muito obrigada! Minha vida nesta cidade e na pós-graduação não teria o mesmo sentido sem a senhora. Obrigada por cuidar de mim como filha, por me receber na sua casa para café, almoço e janta, pela confiança, pelo zelo e amor em cada gesto. Minha eterna gratidão. Amo a senhora, Nega! Agradeço ao **Cássio** pela amizade e por dividir sua mãe maravilhosa comigo. Cassinho, você tem o coração doce e generoso como sua mãe, merece o mundo! Obrigada à **Dona Ivone**, pelo carinho e pelas comidinhas saudáveis aos finais de semana. São tantos os ensinamentos de vida e experiências compartilhadas, obrigada.

Três seres humanos incríveis que Deus me deu de presente. Vocês serão para sempre minha família em Araçatuba.

AGRADECIMENTOS

Obrigada aos meus amigos e colegas de pesquisa, **Pedro, Lariana, Carolina, Marina, Nathália e Flávio**. Eu jamais imaginei trabalhar com pessoas como vocês. Obrigada por nossa união dentro e fora da faculdade, pelos inúmeros trabalhos, e pela companhia constante. Ao Pedro, à Lari e à Carol, um agradecimento especial por estarem ao meu lado desde o início do mestrado e terem sido essenciais em meus experimentos. Vocês são os irmãos que o mestrado me deu. Obrigada, principalmente, por serem pacientes e estarem presentes quando mais preciso.

Pedro e Carol me acolheram e me ensinaram com enorme carinho e paciência. Se hoje eu me sinto preparada para exercer as atividades do laboratório, devo isso a vocês.

À Lari, que se tornou grande amiga e parceira de diversos trabalhos, meu muito obrigada! Obrigada por ser a amiga de todas as horas e para todas as conversas.

Amo todos! Este momento também é de vocês, amigos.

Aos amigos **Juliana, Pedro, Felipe, Lari e Jimena**, pela convivência com amor nesses dois anos. Obrigada por me ajudarem sempre, pela amizade da turma de mestrado e por terem se tornados amigos para toda a vida.

À Jiji, que me acompanhava até altas horas no laboratório, além de ser minha companhia integral os sete dias da semana, muito obrigada, amiga!

Muito obrigada à amiga **Dani**, que está sempre de sorriso largo e com disposição ímpar para ajudar a todos. Você é um amor, Dani! Obrigada por tudo.

AGRADECIMENTOS

Obrigada à **Francine**, que me acolheu, me ensinou e me deu inúmeras oportunidades científicas. Fran, você me inspira! Sou muito grata a você.

A primeira vez que estive em Araçatuba conheci um anjo chamado **Letícia**. Lê, jamais esquecerei todo carinho e atenção que você teve para comigo. Sou grata a você por tudo, principalmente por ter me apresentado à minha casinha e à Dona Marcia.

Aos colegas da pós-graduação do departamento, obrigada pela vivência diária, pela troca de experiências e pela solicitude sempre que precisei. Obrigada pelos momentos de descontração, que muitas vezes era o que eu precisava depois de um dia cansativo. Obrigada! Vocês fazem eu me sentir em casa!

Aos demais colegas de pós-graduação que pude conviver e trabalhar, muito obrigada!

Obrigada aos “meus” alunos de Iniciação Científica, **Júlia, Mariana e Michael**, pela dedicação à IC e ao meu projeto. Obrigada por não medirem esforços para estarem no departamento, principalmente aos finais de semana. Vocês foram fundamentais no meu projeto e em todos os outros que participaram. Ju e Mike, vocês cuidaram dos meus animais no Natal. Muito Obrigada!

Poder contribuir com o aprendizado de vocês e instruí-los na IC foi um presente. Obrigada pela paciência e pelo respeito.

“Os dias prósperos não vêm por acaso.
Nascem de muito trabalho e persistência.”

Henry Ford

CANTIGA-SILVA, C. **Efeito da fibrose hepática na severidade da periodontite apical: análise histológica e imunoistoquímica em ratos.** 2020. 50 f. (Dissertação). Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2020.

RESUMO

A inter-relação das alterações sistêmicas com o desenvolvimento e progressão de infecções orais como a periodontite apical tem sido objeto de intensos estudos nos últimos anos. O objetivo deste trabalho foi verificar a influência da fibrose hepática (FH) na severidade da periodontite apical (PA) em ratos Wistar. Quarenta ratos foram divididos em 4 grupos (n=10): Grupo C - ratos controle; Grupo PA - ratos portadores de PA; Grupo FH - ratos portadores de FH; Grupo PA+FH - ratos portadores de PA e FH. A FH foi induzida pelos métodos químico e cirúrgico associados. Foi administrado Tetracloreto de Carbono (CCl₄) na dosagem de 0,2ml/100g de peso corporal, 2 vezes por semana, via intraperitoneal, e durante todo o experimento (60 dias). Após 30 dias do início da administração da droga, os animais foram submetidos à cirurgia de ligadura do ducto biliar. Em seguida, as a polpa dentária dos primeiros e segundos molares superiores e inferiores direito foram expostas pelo período de 30 dias para desenvolvimento da PA. Ao final do experimento os animais foram eutanaziados e as maxilas, assim como os fígados, coletados para análise em microscopia de luz. O tecido hepático foi analisado em coloração de hematoxilina e eosina (H&E) e Picrosírius red para comprovar a fibrose hepática e as maxilas processadas para análise histológica, histométrica e imunoistoquímica para IL-1 β , IL-6, e TNF- α . Os resultados obtidos foram analisados e comparados por testes estatísticos específicos para cada caso com nível de significância de 5% ($p < 0.05$). A FH foi confirmada pela análise histológica dos fígados nos grupos FH e PA+FH que apresentaram hepatócitos necrosados, desorganização vascular e intensa deposição de colágeno no parênquima hepático, formando pontes de fibrose. Quanto à periodontite apical observou-se infiltrado inflamatório moderado no grupo PA e intenso no PA+FH ($p < 0.05$). A análise histométrica mostrou maiores áreas de reabsorção óssea periapical no grupo PA+FH em comparação ao grupo

PA ($p < 0.05$). A análise imunoistoquímica revelou maior imunomarcagem para citocinas IL-1 β , IL-6 e TNF- α no grupo PA+FH quando comparado ao grupo PA ($p < 0.05$). Conclui-se que a FH influencia na severidade da periodontite apical, exacerbando o infiltrado inflamatório, por meio do aumento das citocinas IL-1 β , IL-6 e TNF- α , e aumentando a reabsorção óssea periapical.

Palavras-chave: Periodontite apical. Fibrose hepática. Inflamação. Citocinas pró inflamatórias.

CANTIGA-SILVA, C. **Effect of liver fibrosis on the severity of apical periodontitis: histological and immunohistochemical analysis in rats.** 2020. 50 f. (Dissertação). Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2020.

ABSTRACT

The interrelationship between systemic disorders and oral infections such as apical periodontitis has been the subject of intense studies in recent years. The aim of this study was to evaluate the influence of liver fibrosis (LF) on the severity of apical periodontitis (AP) in Wistar rats. Forty rats were divided into 4 groups (n=10): Group C - control rats; AP group - rats with AP; LF Group - rats with LF; AP+LF Group - rats with AP and LF. LF was induced by the association of chemical and surgical methods. Carbon tetrachloride (CCl₄) was administered at a dosage of 0.2ml/100g of body weight, twice a week, intraperitoneally, and throughout the experiment (60 days). After 30 days from the beginning of the drug administration, the animals were submitted to bile duct ligation surgery and the dental pulps of the first and second right maxillary and mandibular molars were exposed to induce AP in a period of 30 days. At the end of the experiment, the animals were killed and the jaws, as well as the livers, were collected for analysis under light microscopy. The liver tissue was analyzed in Hematoxylin and Eosin (H&E) and Picrosírius red staining to confirm the liver fibrosis. The jaws were processed for histological, histometric and immunohistochemical analysis for IL-1 β , IL-6, and TNF- α . The results obtained were analyzed and compared by specific statistical tests ($p < 0.05$). LF was confirmed by histological analysis of the liver in the LF and AP+LF groups, which presented necrotic hepatocytes, vascular disorganization and intense collagen deposition in the liver parenchyma, forming fibrosis bridges. A moderate inflammatory infiltrate was observed, in the AP group and intense in the AP+LF ($p < 0.05$). Histometric analysis showed greater areas of periapical bone resorption in the AP+LF group compared to the AP group ($p < 0.05$). The immunohistochemical analysis revealed greater immunolabeling for cytokines IL-1 β , IL-6 and TNF- α in the AP+LF group when

compared to the AP group ($p < 0.05$). It is concluded that LF influences on the severity of apical periodontitis, exacerbating the inflammatory infiltrate, by increasing the cytokines IL-1 β , IL-6 and TNF- α , and intensifying the periapical bone resorption.

Keywords: Apical periodontitis. Liver fibrosis. Inflammation. Pro inflammatory cytokines.

SUMÁRIO

1. ARTIGO - THE INFLAMMATORY PROFILE OF APICAL PERIODONTITIS ASSOCIATED WITH LIVER FIBROSIS: HISTOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL ANALYSIS. 1
ANEXOS

1. Artigo

The inflammatory profile of apical periodontitis associated with liver
fibrosis: histological and immunohistochemical analysis

Journal of Endodontics

The inflammatory profile of apical periodontitis associated with liver fibrosis: histological and immunohistochemical analysis

ABSTRACT

Introduction: The study evaluated the effects of liver fibrosis (LF) in the modulation of pro inflammatory mediators in apical periodontitis (AP) and periapical bone resorption. **Methods:** Forty male Wistar rats were distributed into four groups: C - control, AP - rats with AP, LF - rats with LF, AP+LF - rats with AP and LF. LF was induced by the administration of carbon tetrachloride for eight weeks associated with surgery procedure for bile duct ligation for four weeks; AP was induced by dental pulp exposure to the oral environment for 30 days. In the euthanasia, jaws and liver were removed. The livers were analyzed in Hematoxylin and Eosin (H&E) and Picrosirius red staining to confirm fibrosis. The jaws were analyzed in H&E staining and immunohistochemical assays for interleukin (IL) -1 β , IL-6 and tumor necrosis factor alpha (TNF- α). The Student *t* test and Mann-Whitney *U* test and were used for statistical analysis ($P < .05$). **Results:** The inflammatory infiltrate was moderate in AP and severe in AP+LF ($P < .05$). The periapical bone resorption was larger in AP+LF than AP group ($P < .05$). IL-1 β , IL-6 and TNF- α levels were higher in the AP+LF groups when compared to the AP group ($P < .05$). **Conclusion:** Liver fibrosis modulates apical periodontitis increasing the inflammatory infiltrate by changing the pro inflammatory cytokines immunolabeling as well as enhanced the periapical bone resorption.

KEY WORDS

Apical periodontitis; liver fibrosis; inflammation; cytokines

INTRODUCTION

Apical periodontitis (AP) is a common pathology that affects the periapical tissues. It is caused by a persistent inflammatory reaction in response to the action of infectious agents present in the root canal (1). The pathogenesis of AP depends on the control of the host's immune response to microorganisms; Consequently to intensity of the inflammatory infiltrate and the the release of pro and anti-inflammatory cytokines (2).

The AP is characterized by periapical bone resorption that happens through the interaction of inflammatory stimuli that activates the cells responsible for bone resorption (3). In addition, the immune response may be exacerbated by systemic complications such as diabetes, aggravating the development of AP (4). Recently, a study revealed the presence of periapical radiolucence in more than half of patients with liver cirrhosis, showing that liver changes can influence in AP (5). In this context, a previous study has shown that more than one focus of AP in humans is common (6). Furthermore, animal model studies revealed that the presence of multiple AP foci can influence on systemic disorders (7, 8).

Liver diseases affect thousands of people around the world by raising mortality rate in developed countries. The World Health Organization affirms that Viral Hepatitis C affects more than 70 million people worldwide, followed by non-alcoholic fatty liver disease (9). These chronic diseases lead the liver to steatosis, fibrosis, and cirrhosis. The liver fibrosis (LF) is modulated by oxidative stress, increased tumor growth factor- β 1 (TGF- β 1) (10) and the activation of kupffer cells that release inflammatory mediators such as interleukin 1 beta (IL-1 β), tumor necrosis factor alpha (TNF- α) (11) which will progress to cirrhosis if not treated (10).

Pro inflammatory cytokines are secreted by different type of cells, just like macrophages, odontoblasts and osteoclasts (12); Also, they play a crucial role in the development and persistence of AP (13). Elevated levels of IL-1 β were related to higher levels of periapical bone resorption in systemic complications (14), as well as the production of other pro inflammatory mediators like the IL-6 and TNF- α (15). In the liver, these cytokines act as mediators in the transition from the beginning of liver injury to fibrogenesis and consequently to fibrosis (10); Moreover, the IL-1 β could be detected in high serum levels in patients with chronic liver diseases, proving its relation with the evolution of hepatic conditions (16).

Considering that the IL-1 β , IL-6, and TNF- α are related to the development of liver fibrosis (10, 11, 16), as well as to the development of apical periodontitis (4), this study proposed the evaluation of the effects of LF in severity of the apical periodontitis. The null hypothesis is that LF do not influence on pro inflammatory mediators immunolabeling and periapical bone resorption of AP.

MATERIALS AND METHODS

Experimental design

Forty male rats (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar), with one month old, with an average of 100 g of weight were selected for this study (n = 10). The animals were housed in temperature-controlled rooms and received water and food ad libitum. The experimental procedures were approved and conducted in accordance to the Animal Ethics Committee, Universidade Estadual Paulista 00430-2018 and in compliance with the U.K. Animals (Scientific Procedures) Act 1986.

The following groups were assigned: C - control, AP - rats with AP, LF - rats with LF, AP+LF - rats with AP and LF.

ACKNOWLEDGMENTS

Supported by FAPEAM (grant no. 01.01.016301.000658.2018) and CAPES – Financial code 001.

The authors deny any conflicts of interest related to this study.

REFERENCES

1. Nair PN. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004;15:348–81.
2. Stashenko P. The role of immune cytokines in the pathogenesis of periapical lesions. *Endod Dent Traumatol* 1990;6:89–96.
3. Menezes R, Garlet GP, Letra A, et al. Differential patterns of receptor activator of nuclear factor Kappa B ligand/osteoprotegerin expression in human periapical granulomas: possible association with progressive or stable nature of the lesions. *J Endod* 2008;34:932–38.
4. Samuel RO, Ervolino E, de Azevedo Queiroz ÍO, et al. Th1/Th2/Th17/Treg balance in apical periodontitis of normoglycemic and diabetic Rats. *J Endod* 2019;45:1009-015.
5. Grønkjær LL, Holmstrup P, Schou S, et al. Presence and consequence of tooth periapical radiolucency in patients with cirrhosis. *Hepat Med* 2016;8:97-103.
6. Marotta PS, Fontes TV, Armada L, Lima KC, Rôças IN, Siqueira JF Jr. Type 2 diabetes mellitus and the prevalence of apical periodontitis and endodontic treatment in an adult Brazilian population. *J Endod* 2012;38:297-300.
7. Cintra LT, Samuel RO, Azuma MM, et al. Multiple apical periodontitis influences serum levels of cytokines and nitric oxide. *J Endod* 2016;42:747-51.

8. Samuel RO, Gomes-Filho JE, Azuma MM, et al. Endodontic infections increase leukocyte and lymphocyte levels in the blood. *Clin Oral Investig* 2018;22:1395-401.
9. World Health Organization. Hepatitis C. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/>.
10. Kisseleva T, Brenner DA. Role of hepatic stellate cells in fibrogenesis and the reversal of fibrosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2007;22:73-8.
11. Friedman SL. Liver fibrosis—from bench to bedside. *J Hepatol* 2003;38:38-53.
12. Tani-Ishii N, Wang CY, Stashenko P. Immunolocalization of bone-resorptive cytokines in rat pulp and periapical lesions following surgical pulp exposure. *Oral Microbiol Immunol* 1995;10:213-19.
13. Morsani JM, Aminoshariae A, Han YW, Montagnese TA, Mickel A. Genetic predisposition to persistent apical periodontitis. *J Endod* 2011;37:455–59.
14. Ng YL, Mann V, Rahbaran S, Lewsey J, Gulabivala K. Outcome of primary root canal treatment: systematic review of the literature -- part 2. Influence of clinical factors. *Int Endod J* 2008;41:6-31.
15. Martinho FC, Chiesa WM, Leite FR, Cirelli JA, Gomes BP. Correlation between clinical/radiographic features and inflammatory cytokine networks produced by macrophages stimulated with endodontic content. *J Endod* 2012;38:740–45.
16. McClain CJ, Cohen DA, Dinarello CA, et al. Serum interleukin-1(IL-1) activity in alcoholic hepatitis. *Life Sci* 1986;39:1479–85.
17. Hamid M, Abdulrahim Y, Liu D, Qian G, Khan A, Huang K. The Hepatoprotective Effect of Selenium-Enriched yeast and gum Arabic combination on Carbon Tetrachloride-Induced chronic liver Injury in rats. *J Food Sci* 2018;83:525-34.

18. Alsamman M, Sterzer V, Meurer SK, et al. Endoglin in human liver disease and murine models of liver fibrosis-A protective factor against liver fibrosis. *Liver Int* 2018;38:858-67.
19. Tag CG, Sauer-Lehnen S, Weiskirchen S, et al. Bile duct ligation in mice: Induction of Inflammatory liver Injury and fibrosis by obstructive cholestasis. *J Vis Exp* 2015;96:52438.
20. Cintra LT, Samuel RO, Azuma MM, et al. Multiple apical periodontitis influences serum levels of cytokines and nitric oxide. *J Endod* 2016;42:747-51.
21. Kara E, Coşkun T, Kaya Y, Yumuş O, Vatansever S, Var A. Effects of silymarin and pentoxifylline on matrix metalloproteinase-1 and -2 expression and apoptosis in experimental hepatic fibrosis. *Curr Ther Res Clin Exp* 2008;69:488–502.
22. Cintra LT, da Silva Facundo AC, Prieto AK, et al. Blood profile and histology in oral infections associated with diabetes. *J Endod* 2014;40:1139-44.
23. Cosme-Silva L, Benetti F, Dal-Fabbro R, et al. Biocompatibility and biomineralization ability of Bio-C Pulpecto. A histological and immunohistochemical study. *Int J Paediatric Dent* 2019;29:352-60.
24. Sirica AE, Williams TW. Appearance of ductular hepatocytes in rat liver after bile duct ligation and subsequent zone 3 necrosis by carbon tetrachloride. *The Amer J Pathol* 1992;140:129.
25. Kountouras J, Billing BH, Scheuer PJ. Prolonged bile duct obstruction: a new experimental model for cirrhosis in the rat. *Br J Exp Pathol.* 1984;65:305–11.
26. Starkel P, Leclercq IA. Animal models for the study of hepatic fibrosis. *Best Pract Res Clin Gastro* 2011;25:319–33.

27. Gressner AM, Weiskirchen R. Modern pathogenetic concepts of liver fibrosis suggest stellate cells and TGF- β as major players and therapeutic targets. *J Cell Mol Med* 2006;10:76–99.
28. Cintra LT, Samuel RO, Azuma MM, et al. Apical periodontitis and periodontal disease increase serum IL-17 levels in normoglycemic and diabetic rats. *Clin Oral Investig* 2014;18:2123-28.
29. Azuma MM, Gomes-Filho JE, Ervolino E, et al. Omega-3 fatty acids reduce inflammation in rat apical periodontitis. *J Endod* 2018;44:604-08.
30. Azuma MM, Gomes-Filho JE, Prieto AK, et al. Diabetes increases interleukin-17 levels in periapical, hepatic, and renal tissues in rats. *Arch Oral Biology* 2017;83:230-35.
31. Colić M, Gazivoda D, Vucević D, Vasilijić S, Rudolf R, Lukić A. Proinflammatory and immunoregulatory mechanisms in periapical lesions. *Molecular Immunology* 2009;47:101-13.
32. Feyen JH, di Padova FE, Trechsel U, Elford P. Interleukin-6 is produced by bone and modulated by parathyroid hormone. *J Bone Miner Res.* 1989;4:633-38.
33. Liedtke C, Luedde T, Sauerbruch T, et al. Experimental liver fibrosis research: update on animal models, legal issues and translational aspects. *Fibrogenesis Tissue Repair* 2013;6:19.
34. Khalighinejad N, Aminoshariae A, Kulild JC, Sahly K, Mickel A. Association of end-stage renal disease with radiographically and clinically diagnosed apical periodontitis: a hospital-based study. *J Endod* 2017;43:1438-41.