



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

**BRUNA JORDÃO MOTTA CORAZZA**

**PERFIL INFLAMATÓRIO E MICROBIOLÓGICO DE PACIENTES  
COM INFECÇÃO ENDODÔNTICA PRIMÁRIA E PERIODONTITE  
APICAL: estudo observacional**

**BRUNA JORDÃO MOTTA CORAZZA**

**PERFIL INFLAMATÓRIO E MICROBIOLÓGICO DE PACIENTES COM INFECÇÃO  
ENDODÔNTICA PRIMÁRIA E PERIODONTITE APICAL: estudo observacional**

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

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

Orientadora: Profa. Dra. Marcia Carneiro Valera

São José dos Campos

2022

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2022]. Disponível em <http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao>

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Corazza, Bruna Jordão Motta

Perfil inflamatório e microbiológico de pacientes com infecção endodôntica primária e periodontite apical: estudo observacional / Bruna Jordão Motta Corazza. - São José dos Campos : [s.n.], 2022.  
78 f. : il.

Tese (Doutorado em Odontologia Restauradora) - Pós-Graduação em Odontologia Restauradora - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2022.  
Orientadora: Marcia Carneiro Valera.

1. Periodontite Apical. 2. Bactérias. 3. Citocinas. 4. Metaloproteinases da Matriz. 5. Tomografia Computadorizada de Feixe Cônico. I. Carneiro Valera, Marcia, orient. II. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. III. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. IV. Universidade Estadual Paulista (Unesp). V. Título.

## **BANCA EXAMINADORA**

**Profa. Tit. Marcia Carneiro Valera** (Orientador)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

**Prof. Adj. Eduardo Bresciani**

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

**Prof. Dr. Carlos Eduardo da Silveira Bueno**

São Leopoldo Mandic

Faculdade de Odontologia

Campus de Campinas

**Prof. Dra. Carla Renata Sipert**

Universidade de São Paulo (USP)

Faculdade de Odontologia

Campus de São Paulo

**Prof. Dra. Adriana de Jesus Soares**

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

Faculdade de Odontologia de Piracicaba

Campus de Piracicaba

São José dos Campos, 24 de junho de 2022.

## **DEDICATÓRIA**

Dedico esta pesquisa à Deus e aos meus pais e irmã, por serem apoio e porto seguro. Sem vocês eu não teria finalizado esse trabalho.

## AGRADECIMENTOS

Uma vez li num livro de Jonathan Haidt que a gratidão serve para fortalecer nossos relacionamentos e para honrar aqueles que nos ajudaram, achei que essas palavras refletiam exatamente o que eu pretendia nessa sessão.

Primeiramente agradeço a Deus, pela força e coragem ao longo dessa jornada de aprimoramento.

Aos meus amados pais Claudia e Cezar e à minha amada irmã Nathalia, que acompanharam de perto cada dia dessa trajetória. O apoio, incentivo, paciência e confiança de vocês foram fundamentais para que eu chegasse até aqui.

À minha querida avó Yvonne, pelo amor e apoio durante toda minha vida.

À minha orientadora Prof. Dra. Marcia Carneiro Valera, que dedicou muito do seu tempo me orientando de forma impecável, agradeço os conselhos fundamentais para cada fase do processo de pesquisa e finalização da tese, sem a senhora seria impossível concluir esta etapa de forma satisfatória, meu sucesso é também o seu. Obrigada.

Aos amigos de pós-graduação, Rayana, Giovanna, Cassia, Esteban, Felipe, Gustavo, Carol, Beatriz, Mariana e Fernando por contribuírem com a minha formação, pela amizade sincera e por todo apoio ao longo do processo. Encerro este ciclo com uma bagagem cheia de amor, empatia, bom convívio e acreditando que podemos construir um mundo melhor.

À professora Janete e à equipe de propedêutica, que me ajudaram muito permitindo que eu buscasse e triasse meus pacientes em sua clínica, que sempre se lembravam de me enviar casos para que eu pudesse alcançar minha meta, e dedicaram um pouco do seu tempo a me escutar e me auxiliar. Eu não tenho palavras para descrever a minha gratidão.

Ao professor Eduardo Bresciani, por pacientemente encaixar horários em sua agenda para me ajudar com análise estatística. Uma das características que considero imprescindível para um professor é a generosidade, um bom mestre oferece e estimula generosamente o conhecimento e sem dúvida o senhor é assim. Obrigada.

À minha aluna de iniciação científica Aline, obrigada por permitir que eu exercitasse e passasse meu conhecimento para você. Foi uma parceria incrível e que me proporcionou muito crescimento pessoal e profissional. Você vai longe, muito obrigada.

Ao professor Frederico Canato Martinho, minha total admiração a você, pessoa e profissional incrível. Sua presença e amizade trouxeram força e vontade para seguir em frente tendo a certeza do meu valor. Eu não tenho palavras para descrever a importância do senhor na minha vida profissional e pessoal. Obrigada por tudo!

Ao Sr. Carlos Guedes e Michelle Ramos, do Apoio à Fapesp, pela sempre muito atenciosa disposição em me atender e orientar diante de qualquer dúvida ou problema. Muito obrigada.

À Josi por sempre estar pronta a me auxiliar no agendamento de exames, atendimentos clínicos e materiais. Você é maravilhosa.

À triagem, em especial à Márcia, que com muita paciência nos recebia regularmente e montava listas de triagem para que pudéssemos realizar o agendamento e avaliação de pacientes para esta pesquisa.

Aos membros da banca que gentilmente cederam horários em sua agenda para participar dessa etapa tão importante para minha carreira.

À Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, através de sua Diretora, Prof. Dr. Rebeca Di Nicoló, e ao Programa de Pós-graduação em Odontologia Restauradora, sob coordenação do Prof. Adj. Alexandre Luiz Souto Borges.

À Capes, pela concessão de bolsa de doutorado.

À FAPESP, pela concessão do auxílio financeiro para essa pesquisa (processo: 2018/01703-9)

Aos pacientes, que se comprometeram e confiaram em nosso trabalho. Muito obrigada! Sem vocês essa pesquisa não seria possível.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram na execução deste trabalho.  
Muito Obrigada!

“Sempre fiz algo que eu achava que estava pouco preparada para fazer. Quando você tem um momento de incerteza, mas persiste, é aí que você consegue avançar.”

Marissa Mayer



## SUMÁRIO

|                                                                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| LISTA DE FIGURAS .....                                                                                                     | 9  |
| LISTA DE TABELAS .....                                                                                                     | 10 |
| LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....                                                                                       | 11 |
| RESUMO .....                                                                                                               | 12 |
| ABSTRACT .....                                                                                                             | 13 |
| 1 INTRODUÇÃO .....                                                                                                         | 14 |
| 2 REVISÃO DE LITERATURA.....                                                                                               | 18 |
| 2.1 Microbiota da infecção endodôntica primária e sua relação com sinais e<br>sintomas.....                                | 18 |
| 2.2 Papel das citocinas e MMPs na PA.....                                                                                  | 24 |
| 2.3 Radiografia x Tomografia .....                                                                                         | 30 |
| 3 PROPOSIÇÃO .....                                                                                                         | 35 |
| 4 MATERIAL E MÉTODOS.....                                                                                                  | 36 |
| 4.1 Procedimentos experimentais.....                                                                                       | 36 |
| 4.1.1 Seleção de pacientes .....                                                                                           | 36 |
| 4.1.2 Intervenções odontológicas .....                                                                                     | 37 |
| 4.1.3 Preparo biomecânico .....                                                                                            | 39 |
| 4.1.4 Análise da volumetria da destruição óssea periapical (mm <sup>3</sup> ).....                                         | 41 |
| 4.1.5 Análise por checkerboard.....                                                                                        | 42 |
| 4.1.6 Quantificação de citocinas inflamatórias (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-10) e<br>MMPs (MMP-2, MMP-9)..... | 46 |
| 4.1.7 Quantificação de mediador lipídico (RvD2) .....                                                                      | 47 |
| 4.2 Análise estatística .....                                                                                              | 48 |
| 5 RESULTADO .....                                                                                                          | 49 |
| 5.1 Correlação entre os mediadores inflamatórios e sinais e sintomas<br>clínicos .....                                     | 49 |
| 5.2 Avaliação microbiológica .....                                                                                         | 51 |
| 5.3 Análise Fatorial.....                                                                                                  | 54 |
| 6 DISCUSSÃO .....                                                                                                          | 56 |
| 7 CONCLUSÃO .....                                                                                                          | 61 |
| REFERÊNCIAS.....                                                                                                           | 62 |

|                |    |
|----------------|----|
| APÊNDICE ..... | 72 |
| ANEXO .....    | 76 |

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 - Radiografia inicial de dente com infecção endodôntica primária e presença de lesão periapical .....                                                                                                                                                                                                    | 37 |
| Figura 2 - Imagens ilustrativas da intervenção endodôntica: a- realização de barreira de resina; b- profilaxia com pasta profilática; c- desinfecção do campo operatório e coroa dental; d- abertura coronária e e- coleta microbiológica .....                                                                   | 39 |
| Figura 3 - Imagens ilustrativas da intervenção endodôntica: a- início da instrumentação; b- odontometria; c- finalização da instrumentação; d- irrigação final; e- desbridamento foraminal e f- coleta do fluido intersticial .....                                                                               | 41 |
| Figura 4 - Frequência e concentração de DNA (<10 <sup>5</sup> células, 10 <sup>5</sup> células, 10 <sup>5</sup> -10 <sup>6</sup> células, e 10 <sup>6</sup> células) de espécies de bactérias detectadas nos canais radiculares de dentes com infecção endodôntica primária com periodontite apical (PEIAP) ..... | 52 |
| Figura 5 - Composição de espécies bacterianas para cada amostra coletada de dentes com infecção endodôntica primária e periodontite apical .....                                                                                                                                                                  | 53 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 - Valores medianos e de intervalo (pg/mL) dos mediadores inflamatórios                                                    | 50 |
| Tabela 2 - Correlação de Spearman entre os níveis de expressão de mediadores inflamatórios e sinais e sintomas clínicos .....      | 50 |
| Tabela 3 - Os resultados da análise fatorial das bactérias analisadas .....                                                        | 54 |
| Tabela 4 - Resultados da modelagem dos escores fatoriais 1 e 2 (variáveis de resultado) em função de variáveis independentes ..... | 55 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|       |                                                       |
|-------|-------------------------------------------------------|
| CCL-2 | Ligante de quimiocina 2                               |
| CCR   | Receptor de quimiocina                                |
| CXCR4 | Receptor de quimiocina tipo 4                         |
| DP    | Dor a palpação                                        |
| EX    | Exsudato                                              |
| F     | Fístula                                               |
| GAPDH | Proteína gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase        |
| IFN   | Interferon                                            |
| IL    | Interleucina                                          |
| LPS   | Lipopolissacarídeo                                    |
| LTA   | Ácido lipoteicóico                                    |
| MCP-1 | Proteína quimiotática de monócito 1                   |
| MCP-1 | Proteína quimiotática de monócito 1                   |
| MMP   | Metaloproteinase de matriz                            |
| OPG   | Osteoprotegerina                                      |
| PA    | Periodontite apical                                   |
| PAA   | Periodontite apical assintomática                     |
| PAP   | Periodontite apical primária                          |
| PAPT  | Periodontite apical pós-tratamento                    |
| PAS   | Periodontite apical sintomática                       |
| PBM   | Preparo biomecânico                                   |
| PCR   | Reação em cadeia de polimerase                        |
| PGE2  | Prostaglandina E2                                     |
| RANK  | Receptor ativador do fator nuclear Kappa-Beta         |
| RANKL | Receptor ativador do fator nuclear Kappa-Beta ligante |
| Rv    | Resolvina                                             |
| SP    | Sensibilidade a percussão                             |
| TCFC  | Tomografia computadorizada de feixe cônico            |
| TNF   | Fator de necrose tumoral                              |

Corazza BJM. Perfil inflamatório e microbiológico de pacientes com infecção endodôntica primária e periodontite apical: estudo observacional [tese]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2022.

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o perfil microbiológico e identificar padrões de agregação bacteriana, avaliar a associação desses padrões com os níveis de mediadores inflamatórios, MMPs e sinais e sintomas clínicos e ainda correlacionar os mediadores inflamatórios entre si e com os sinais e sintomas clínicos em dentes com infecção endodôntica primária e periodontite apical (PA). Para isso, 40 dentes uniradiculares, de pacientes com infecção endodôntica primária e PA, foram submetidos à avaliação clínica, com registro de sinais e sintomas, e tomográfica através do cálculo de volumetria das lesões periapicais com o software ITK Snap. Em seguida os dentes foram submetidos ao tratamento endodôntico. Logo após a abertura coronária, amostras foram coletadas de cada canal radicular utilizando cones de papel (S1) e submetidas ao método Checkerboard DNA-DNA hybridization para investigação de espécies bacterianas presentes. Foi realizado o preparo biomecânico (PBM) e em seguida o fluido intersticial da PA foi coletado (SF1) para a quantificação dos mediadores inflamatórios (IL1- $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-10, MMPs -2 e -9) através do ensaio multiplex e a quantificação de RvD2 através de ensaio imunoenzimático ELISA. Para a análise de correlação o teste de correlação de Spearman foi utilizado. A análise fatorial foi usada para identificar padrões de agregação bacteriana e regressão linear foi realizada para associar os escores fatoriais, mediadores e características clínicas dos pacientes ( $P=0,05$ ). Correlação positiva foi encontrada entre MMP-2, -9, IL-10, IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$ , e entre RvD2, MMP-9, IL-10, IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$  ( $P<0,05$ ), e correlação negativa foi encontrada entre IL-1 $\beta$  e sensibilidade a percussão ( $P<0,05$ ). A análise microbiológica revelou presença de DNA bacteriano em 100% das amostras analisadas com presença de pelo menos 2 das 40 espécies bacterianas investigadas (média = 24,62) por canal. As espécies mais frequentemente detectadas foram *P. gingivalis*, *E. nodatum*, *F. nucleatum spp. vicentii*, *S. mitis*, *L. buccalis* e *A. actinomycetemcomitans*. Das 6 espécies mais detectadas, 4 delas eram gram negativas, destacando o predomínio de gram-negativos das infecções endodônticas primárias com PA. A análise fatorial determinou 2 padrões de associação bacteriana e os resultados de regressão para o fator 1 revelaram uma associação com aumento de dor a percussão (coeficiente (coef)  $\beta=0,788$ ) e redução de dor a palpação (coef $\beta=-0,753$ ) e exsudato (coef $\beta=-0,479$ ). Níveis mais altos de exsudato e menores de dor a palpação foram associados a bactérias do fator 2 (coef $\beta=0,460$  e  $-0,546$ , respectivamente). Concluímos que os mediadores inflamatórios formam uma rede inter-relacionada e que as periodontites apicais assintomáticas e sintomáticas tem uma etiologia bacteriana heterogênea e com combinações de espécies diferentes.

Palavras-chave: Periodontite Apical. Bactérias. Citocinas. Metaloproteinases da Matriz. Tomografia Computadorizada de Feixe Cônico.

Corazza BJM. Inflammatory and microbiological profile of patients with primary endodontic infection and apical periodontitis: observational study [doctorate thesis]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2020.

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the microbiological profile and identify patterns of bacterial aggregation, evaluate the association of these patterns with the levels of inflammatory mediators, MMPs and clinical signs and symptoms, and also correlate the inflammatory mediators with each other and with the clinical signs and symptoms in teeth with primary endodontic infection and apical periodontitis (AP). For this, 40 single-rooted teeth, from patients with primary endodontic infection and PA, were submitted to clinical evaluation, with registration of signs and symptoms, and tomography through the calculation of volumetry of periapical lesions with the ITK Snap software. Then the teeth were submitted to endodontic treatment. Immediately after the coronal opening, samples were collected from each root canal using paper cones (S1) and submitted to the Checkerboard DNA-DNA hybridization method to investigate bacterial species present. Biomechanical preparation (BMP) was performed and then the AP interstitial fluid was collected (SF1) for the quantification of inflammatory mediators (IL1- $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-10, MMPs -2 and -9) by the multiplex assay and the quantification of RvD2 by enzyme immunoassay ELISA. For correlation analysis, Spearman's correlation test was used. Factor analysis was used to identify bacterial aggregation patterns and linear regression was performed to associate factor scores, mediators and patients' clinical characteristics ( $P=0.05$ ). Positive correlation was found between MMP-2, -9, IL-10, IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF- $\alpha$ , and between RvD2, MMP-9, IL-10, IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF-  $\alpha$  ( $P<0.05$ ), and a negative correlation was found between IL-1 $\beta$  and sensitivity to percussion ( $P<0.05$ ). The microbiological analysis revealed the presence of bacterial DNA in 100% of the samples analyzed with the presence of at least 2 of the 40 bacterial species investigated (mean = 24.62) per root canal. The most frequently detected species were *P. gingivalis*, *E. nodatum*, *F. nucleatum* spp. *vicentii*, *S. mitis*, *L. buccallis* and *A. actinomycetemcomitans*. Of the 6 most detected species, 4 of them were gram negative, highlighting the predominance of gram-negative primary endodontic infections with AP. Factor analysis determined 2 patterns of bacterial association and regression results for factor 1 revealed an association with increased pain on percussion (coefficient (coef)  $\beta=0.788$ ) and reduced pain on palpation (coef $\beta=-0.753$ ) and exudate (coef $\beta=-0.479$ ). Higher levels of exudate and lower levels of pain on palpation were associated with factor 2 bacteria (coef $\beta=0.460$  and  $-0.546$ , respectively). We conclude that inflammatory mediators form an interrelated network and that asymptomatic and symptomatic apical periodontitis has a heterogeneous bacterial etiology and combinations of different species.

Keywords: Apical Periodontitis. Bacteria. Cytokines. Matrix metalloproteinases. CBCT.

## 1 INTRODUÇÃO

A periodontite apical (PA) é uma das doenças inflamatórias orais com maior prevalência (Tibúrcio-Machado et al., 2021). Ela é causada por uma infecção microbiana do sistema de canais radiculares (Takehashi et al., 1965; Möller et al., 1981; Ricucci, Siqueira, 2010) que ocorre pela invasão de microrganismos através de lesões de cárie, trincas, periodonto ou vasos sanguíneos apicais (Tennert et al., 2014). Embora outros tipos de microrganismos, como fungos e vírus, tenham sido encontrados em associação com a periodontite apical (PA), as bactérias são os principais agentes etiológicos dessa doença (Sundqvist, 1976). Essa microbiota está organizada em comunidades complexas, conhecidas como biofilmes multiespécies, que estão localizados principalmente no interior do canal radicular (Siqueira, Rôças, 2022).

É conhecido que na infecção endodôntica primária, a microbiota presente é diversificada, com espécies Gram-positivas e Gram-negativas (Siqueira et al., 2004; Siqueira, Rôças, 2009). As espécies e filos encontrados em elevada prevalência incluem *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Capnocytophaga ochracea*, *Fusobacterium nucleatum*, *Parvimonas micra*, *Veillonella parvula*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* espécies de *Streptococcus*, espécies de *Dialister*, *Filifactor alocis*, *Pseudoramibacter alactolyticus*, espécies de *Treponema* e membros do filo *Actinobacteria* (Cavalli et al., 2017; Ferreira et al., 2015; Machado et al., 2020; Siqueira, Rôças, 2009).

Essas informações já estão bem estabelecidas na literatura, contudo, para muitas doenças infecciosas causadas por membros da microbiota residente (patógenos oportunistas), o foco dos estudos mudou de determinados membros da comunidade microbiana, patógenos clássicos, para a percepção de que a comunidade é a unidade da patogenicidade (Amaral et al., 2022; Siqueira, Rôças, 2009; Siqueira, Rôças, 2022). Ou seja, as comunidades bacterianas como patógeno é que definem a doença, portanto, esse é o resultado da ação coletiva dos grupos de microrganismos, e suas manifestações são influenciadas pela composição e abundância relativa das espécies e pela rede de interações entre elas (Rôças, Siqueira, 2009). Assim, segundo Siqueira e Rôças (2022) o estudo isolado do papel



de cada cepa na periodontite apical é inadequado.

Após seu início, a infecção do canal radicular irá gradativamente avançar em direção à região apical até que bactérias e seus subprodutos atinjam os tecidos perirradiculares via forames apicais, laterais e perfurações radiculares iatrogênicas, desencadeando um processo inflamatório na região (Siqueira, Rôças, 2022). Esses subprodutos, liberados durante a morte e multiplicação das bactérias, são reconhecidos por receptores de reconhecimento padrão, presentes nas células de defesa do hospedeiro e células dos tecidos atingidos, (Akira et al., 2001) o que desencadeia a liberação de mediadores inflamatórios, como as citocinas, quimiocinas (Aderem, Ulevitch, 2000) e mediadores lipídicos como as resolvinas (Serhan et al., 2008).

As citocinas e quimiocinas são proteínas secretadas por células presentes nos tecidos lesados, que tem ação na modulação da atividade celular durante o processo inflamatório, alterando as funções celulares ou recrutando células de defesa para a região agredida (Borish, Steinke, 2003). Juntamente com as prostaglandinas, as citocinas, como as interleucinas (IL) e o fator de necrose tumoral (TNF), participam da iniciação e regulação da inflamação através da ativação e diferenciação dos osteoclastos, que são responsáveis pela reabsorção óssea apical (Nair et al., 1996).

A IL-1 $\beta$ , é uma interleucina produzida em lesões periapicais por vários tipos de células, incluindo macrófagos, osteoclastos, polimorfonucleares (PMNs) e fibroblastos (Fouad, 1997). Essa citocina demonstrou ser um mediador potente da reabsorção óssea em doenças como osteoporose e exerce papel importante na reabsorção de lesões perirradiculares (He et al., 2020; Lim et al., 1994; Morsani et al., 2011). Além disso, essa citocina está correlacionada com presença de sinais e sintomas clínicos (Lim et al., 1994) e com uma grande destruição óssea periapical (Tani-Ishii et al., 1995).

A IL-6 é uma citocina pleiotrópica importante na remodelação óssea e na ativação e diferenciação de células imunes e osteoclastos (Jakovljevic et al., 2015). Essa citocina foi identificada na PA e níveis elevados foram verificados em lesões sintomáticas, epitelizadas e com maior destruição óssea do que em lesões assintomáticas e pequenas. Portanto, IL-6 pode desempenhar um papel pró-inflamatório, aumentando seus níveis e reabsorvendo osso na presença de

infecções. Contudo, quando a IL-6 não está presente, outras citocinas, como IL-1 e TNF- $\alpha$ , induzem a reabsorção óssea (Azuma et al., 2014).

TNF é uma citocina considerada um potente mediador inflamatório que causa efeito inflamatório e imunoregulatório (Gupta, 2002). Além disso, TNF- $\alpha$  atua nas células estromais provocando o aumento da expressão de fatores relacionados com a reabsorção óssea através do aumento da diferenciação de osteoclastos mesmo na ausência de níveis elevados de proteínas relacionadas à regulação e diferenciação de osteoclastos como RANKL, porém ambos os agentes, TNF- $\alpha$  e RANKL, individualmente e em combinação, causam grande impacto na diferenciação dos osteoclastos (Lam et al., 2000).

Além desses mediadores, as metaloproteinases de matriz (MMPs) apresentam papel fundamental na formação da lesão periapical. Elas constituem uma importante família de enzimas que degradam componentes da matriz extracelular (Tsuji et al., 2009). Essas enzimas também participam da iniciação do processo de reabsorção óssea, já que degradam a camada osteóide e a camada de colágeno da superfície, permitindo que os pré-osteoclastos se acoplem à matriz óssea mineralizada e completem sua diferenciação (Delaissé et al., 2000; Lima et al., 2021). MMP-2 e MMP-9 (colagenases A e B, respectivamente) são altamente expressas na periodontite apical e foi sugerido que desempenham um papel importante durante a fase inicial de desenvolvimento dessa doença (Corotti et al., 2009). Ainda, ambas as MMPs também foram relacionadas à presença de sintomas de origem endodôntica (Ahmed et al., 2013; Pereira Faustino et al., 2016).

Por outro lado, a IL-10, produzida por células imunes inatas e adaptativas, controla e suprime a inflamação a fim de regular negativamente a reação imune adaptativa e minimizar a destruição do tecido em resposta ao desafio microbiano; ela é um importante supressor endógeno da reabsorção óssea estimulada por infecções (Maynard, Weaver, 2008; Sasaki et al., 2000). Além disso, essa citocina também pode inibir a expressão de várias citocinas pró-inflamatórias como a IL-1 e a IL-6 (Leon et al., 1998; Sasaki et al., 2000).

Outros mediadores que conduzem ativamente o término da inflamação também são secretados durante o processo inflamatório (Freire, Van Dyke, 2013). Esses mediadores de origem lipídica iniciam as vias que sinalizam o fim fisiológico da etapa inflamatória aguda (Levy et al., 2001) e ativam o processo de cicatrização

de feridas com regeneração tecidual em vez de fibrose ou cicatrização (Levy et al., 2012; Ortega-Gómez et al., 2013). Entre os conhecidos estão as resolvinas (Rv) produzidas endogenamente durante a fase de resolução do processo inflamatório. Especificamente a RvD2, entre outras funções, tem ação no controle de polimorfonucleares PMN e da função de osteoclastos e osteoblastos na cicatrização de feridas e regeneração óssea (Van Dyke et al., 2015; Herrera et al., 2008; El Kholi et al., 2018; Mizraji et al., 2018; Zhu et al., 2013). Ela é capaz de modular o eixo RANKL/OPG reduzindo a expressão de RANKL, enquanto regula positivamente os níveis de OPG (Mizraji et al., 2018). Estudos anteriores demonstraram que as Rv da série D, derivadas do ácido docosaenoico (DHA) são capazes de reduzir a inflamação, diminuindo a adesão de leucócitos-plaquetas (Serhan, Chiang, 2009).

Embora o papel da infecção microbiana e dos mediadores inflamatórios seja conhecido, a resposta imunológica do hospedeiro assim como as manifestações clínicas das doenças inflamatórias causadas por microrganismos, podem variar de acordo com as características da população estudada (Caires et al., 2019; Fouad et al., 2020; Nascimento et al., 2019). Diversas manifestações clínicas e radiográficas da periodontite apical são influenciadas pelo tipo e número de espécies bacterianas que ocorrem nos canais infectados (Gomes et al., 2004; Rôças, Siqueira, 2008) e Martinho et al., 2021 demonstraram que perfis bacterianos diferentes podem estar relacionados de forma diferente à expressão de proteínas inflamatórias e à manifestação de características clínicas.

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o perfil microbiológico e identificar padrões de agregação bacteriana, avaliar a associação desses padrões com os níveis de mediadores inflamatórios, MMPs e sinais e sintomas clínicos e ainda correlacionar os mediadores inflamatórios entre si e com os sinais e sintomas clínicos em dentes com infecção endodôntica primária e periodontite apical.

## 7 CONCLUSÃO

Concluimos que os mediadores inflamatórios formam uma rede inter-relacionada que aparentemente não está correlacionada com sinais e sintomas clínicos. Comprovou-se que existe uma alta variabilidade de espécies bacterianas entre os indivíduos incluídos neste estudo. Além disso, nossas descobertas são o início para uma maior elucidação de como ocorre a agregação de comunidades bacterianas e como essas comunidades interferem nos sinais e sintomas clínicos dos pacientes. Por fim, constatou-se que as periodontites apicais assintomáticas e sintomáticas tem uma etiologia bacteriana heterogênea e com combinações de espécies diferentes.

## REFERÊNCIAS\*

- Abella F, Patel S, Durán-Sindreu F, Mercadé M, Bueno R, Roig M. An evaluation of the periapical status of teeth with necrotic pulps using periapical radiography and cone-beam computed tomography. *Int Endod J*. 2014;47(4):387–96. doi: 10.1111/iej.12159.
- Aderem A, Ulevitch R. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature*. 2000;406(6797):782–7. doi: 10.1038/35021228. PMID: 10963608.
- Ahmed GM, El-Baz AA, Hashem AAR, Shalaan AK. Expression Levels of Matrix Metalloproteinase-9 and Gram-negative Bacteria in Symptomatic and Asymptomatic Periapical Lesions. *J Endod*. 2013;39(4):444–8. doi: 10.1016/j.joen.2012.11.009.
- Ajuz NC, Antunes H, Mendonça TA, Pires FR, Siqueira JF, Armada L. Immunoexpression of Interleukin 17 in Apical Periodontitis Lesions. *J Endod*. 2014;40(9):1400–3. doi: 10.1016/j.joen.2014.03.024. PMID: 25043329.
- Akira S, Takeda K, Kaisho T. Toll-like receptors: Critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nat Immunol*. 2001. doi: 10.1038/90609.
- Amaral RR, Braga T, Siqueira JF, Rôças IN, da Costa Rachid CTC, Oliveira AGG, et al. Root Canal Microbiome Associated With Asymptomatic Apical Periodontitis as Determined by High-Throughput Sequencing. *J Endod*. 2022;48(4):487–95. doi: 10.1016/j.joen.2022.01.012.
- Araujo-Pires AC, Francisconi CF, Bigueti CC, Cavalla F, Aranha AMF, Letra A, et al. Simultaneous analysis of T helper subsets (Th1, Th2, Th9, Th17, Th22, Tfh, Tr1 and Tregs) markers expression in periapical lesions reveals multiple cytokine clusters accountable for lesions activity and inactivity status. *J Appl Oral Sci*. 2014;22(4):336–46. doi: 10.1590/1678-775720140140. PMID: 25141207.
- Arruda-Vasconcelos R, Louzada LM, Feres M, Tomson PL, Cooper PR, Gomes BPFA. Investigation of microbial profile, levels of endotoxin and lipoteichoic acid in teeth with symptomatic irreversible pulpitis: a clinical study. *Int Endod J*. 2021;54(1):46–60. doi: 10.1111/iej.13402. PMID: 32892394.
- Azuma MM, Cardoso C de BM, Samuel RO, Pipa CB, Bomfim SRM, Narciso LG, et al. Omega-3 Fatty Acids Alter Systemic Inflammatory Mediators Caused by Apical Periodontitis. *J Endod*. 2021;47(2):272–7. doi: 10.1016/j.joen.2020.11.015.
- Azuma MM, Samuel RO, Gomes-Filho JE, Dezan-Junior E, Cintra LTA. The role of IL-6 on apical periodontitis: a systematic review. *Int Endod J*. 2014;47(7):615–21. doi: 10.1111/iej.12196. PMID: 24224782.

---

\* Baseado em: International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical journals: Sample References [Internet]. Bethesda: US NLM; c2003 [cited 2020 Jan 20]. U.S. National Library of Medicine; [about 6 p.]. Available from: [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)

Balasundaram A, Shah P, Hoen MM, Wheeler MA, Bringas JS, Gartner A, et al. Comparison of Cone-Beam Computed Tomography and Periapical Radiography in Predicting Treatment Decision for Periapical Lesions: A Clinical Study. *Int J Dent*. 2012;2012:1–8. doi: 10.1155/2012/920815.

Borish LC, Steinke JW. 2. Cytokines and chemokines. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111(2):S460–75. doi: 10.1067/mai.2003.108.

Bornstein MM, Lauber R, Sendi P, von Arx T. Comparison of Periapical Radiography and Limited Cone-Beam Computed Tomography in Mandibular Molars for Analysis of Anatomical Landmarks before Apical Surgery. *J Endod*. 2011;37(2):151–7. doi: 10.1016/j.joen.2010.11.014.

Caires NCM, Espaladori MC, Tavares WLF, Brito LCN de, Vieira LQ, Ribeiro Sobrinho AP. Influence of genetic regulatory effects modified by environmental immune activation on periapical disease. *Braz Oral Res*. 2019;33:e109. doi: 10.1590/1807-3107bor-2019.vol33.0109.

Cardoso FGR, Ferreira NS, Martinho FC, Nascimento GG, Manhães LRC, Rocco MA, et al. Correlation between Volume of Apical Periodontitis Determined by Cone-beam Computed Tomography Analysis and Endotoxin Levels Found in Primary Root Canal Infection. *J Endod*. 2015;41(7):1015–9. doi: 10.1016/j.joen.2015.02.005. PMID: 25935504.

Carneiro E, Menezes R, Garlet GP, Garcia RB, Monteiro Bramante C, Figueira R, et al. Expression analysis of matrix metalloproteinase-9 in epithelialized and nonepithelialized apical periodontitis lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009;107(1):127–32. doi: 10.1016/j.tripleo.2008.07.030.

Cavalli D, Toia CC, Flores Orozco EI, Khoury RD, Cardoso FG da R, Alves MC, et al. Effectiveness in the Removal of Endotoxins and Microbiological Profile in Primary Endodontic Infections Using 3 Different Instrumentation Systems: A Randomized Clinical Study. *J Endod*. 2017;43(8):1237–45. doi: 10.1016/j.joen.2017.03.032. PMID: 28606669.

Chen PB, Davern LB, Katz J, Eldridge JH, Michalek SM. Host responses induced by co-infection with *Porphyromonas gingivalis* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in a murine model. *Oral Microbiol Immunol*. 1996;11(4):274–81. doi: 10.1111/j.1399-302X.1996.tb00181.x.

Cianci E, Recchiuti A, Trubiani O, Diomedea F, Marchisio M, Miscia S, et al. Human Periodontal Stem Cells Release Specialized Proresolving Mediators and Carry Immunomodulatory and Prohealing Properties Regulated by Lipoxins. *Stem Cells Transl Med*. 2016;5(1):20–32. doi: 10.5966/sctm.2015-0163. PMID: 26607175.

Corazza BJM, Martinho FC, Khoury RD, Toia CC, Orozco EIF, Prado RF, et al.

Clinical influence of calcium hydroxide and N-acetylcysteine on the levels of resolvins E1 and D2 in apical periodontitis. *Int Endod J*. 2021 Jan;54(1):61-73. doi: 10.1111/iej.13403. Epub 2020 Oct 3. PMID:32896000.

Corotti M V., Zambuzzi WF, Paiva KBS, Menezes R, Pinto LC, Lara VS, et al. Immunolocalization of matrix metalloproteinases-2 and -9 during apical periodontitis development. *Arch Oral Biol*. 2009;54(8):764–71. doi: 10.1016/j.archoralbio.2009.04.013.

Croasdell A, Sime PJ, Phipps RP. Resolvin D2 decreases TLR4 expression to mediate resolution in human monocytes. *FASEB J*. 2016;30(9):3181–93. doi: 10.1096/fj.201600375R.

Delaissé J-M, Engsig MT, Everts V, del Carmen Ovejero M, Ferreras M, Lund L, et al. Proteinases in bone resorption: obvious and less obvious roles. *Clin Chim Acta*. 2000;291(2):223–34. doi: 10.1016/S0009-8981(99)00230-2.

Van Dyke TE, Hasturk H, Kantarci A, Freire MO, Nguyen D, Dalli J, et al. Proresolving nanomedicines activate bone regeneration in periodontitis. *J Dent Res*. 2015;94(1):148–56. doi: 10.1177/0022034514557331. PMID: 25389003.

Ferreira NS, Martinho FC, Cardoso FGR, Nascimento GG, Carvalho CAT, Valera MC. Microbiological profile resistant to different intracanal medications in primary endodontic infections. *J Endod*. 2015;41(6):824–30. doi: 10.1016/j.joen.2015.01.031. PMID: 25892513.

Fouad AF. IL-1 $\alpha$  and TNF- $\alpha$  Expression in Early Periapical Lesions of Normal and Immunodeficient Mice. *J Dent Res*. 1997;76(9):1548–54. doi: 10.1177/00220345970760090601.

Fouad AF, Khan AA, Silva RM, Kang MK. Genetic and Epigenetic Characterization of Pulpal and Periapical Inflammation. *Front Physiol*. 2020 Feb 4;11:21. doi: 10.3389/fphys.2020.00021.

Freire M, Van Dyke T. Natural resolution of inflammation. *Periodontol* 2000. 2013;63(1):149–64. doi: 10.1111/prd.12034. PMID: 23931059.

Gomes BPF de A, Herrera DR. Etiologic role of root canal infection in apical periodontitis and its relationship with clinical symptomatology. *Braz Oral Res*. 2018 Oct 18;32(suppl 1):e69. doi: 10.1590/1807-3107bor-2018.vol32.0069.

Gomes BPF de A, Berber VB, Marinho ACS, Louzada LM, Arruda-Vasconcelos R, Passini MRZ, et al. Chemomechanical preparation influences the microbial community and the levels of LPS, LTA and cytokines in combined endodontic-periodontal lesions: A clinical study. *J Periodontol Res*. 2022;57(2):341–56. doi: 10.1111/jre.12964.

Gomes BPFA, Pinheiro ET, Gade-Neto CR, Sousa ELR, Ferraz CCR, Zaia AA, et al. Microbiological examination of infected dental root canals. *Oral Microbiol Immunol*. 2004;19(2):71–6. doi: 10.1046/j.0902-0055.2003.00116.x. PMID: 12205886.

Gupta S. A decision between life and death during TNF-alpha-induced signaling. *J Clin Immunol*. 2002;22(4):185–94. doi: 10.1023/a:1016089607548. PMID: 12148593.

Hair JF, Anderson RE, Tatham RL, Black WC. *Análise multivariada de dados*. 5ª Ed. Porto Alegre: Bookman; 2005.

Hartroth B, Seyfahrt I, Conrads G. Sampling of periodontal pathogens by paper points: evaluation of basic parameters. *Oral Microbiol Immunol*. 1999;14(5):326–30. doi: 10.1034/j.1399-302X.1999.140510.x.

He Z, Sun Y, Wu J, Xiong Z, Zhang S, Liu J, et al. Evaluation of genetic variants in IL-1B and its interaction with the predisposition of osteoporosis in the northwestern Chinese Han population. *J Gene Med*. 2020;22(10). doi: 10.1002/jgm.3214.

Herrera BS, Ohira T, Gao L, Omori K, Yang R, Zhu M, et al. An endogenous regulator of inflammation, resolvin E1, modulates osteoclast differentiation and bone resorption. *Br J Pharmacol*. 2008;155(8):1214–23. doi: 10.1038/bjp.2008.367.

Hsiao WWL, Li KL, Liu Z, Jones C, Fraser-Liggett CM, Fouad AF. Microbial transformation from normal oral microbiota to acute endodontic infections. *BMC Genomics*. 2012;13(1):345. doi: 10.1186/1471-2164-13-345.

Huang TJ, Roan RT, Lin HT. [Sinus tracts of dental origin. A clinical study. Part I]. *Gaoxiong Yi Xue Ke Xue Za Zhi*. 1990;6(12):653–60. doi: 2266570. PMID: 2266570.

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

Takehashi S, Stanley HRR, Fitzgerald RJJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol*. 1965;20(3):340–9. doi: [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(65\)90166-0](https://doi.org/10.1016/0030-4220(65)90166-0). PMID: 5221556.

El Kholy K, Freire M, Chen T, Van Dyke TE. Resolvin E1 Promotes Bone Preservation Under Inflammatory Conditions. *Front Immunol*. 2018;9:1300. doi: 10.3389/fimmu.2018.01300.

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



Lam J, Takeshita S, Barker JE, Kanagawa O, Ross FP, Teitelbaum SL. TNF- $\alpha$  induces osteoclastogenesis by direct stimulation of macrophages exposed to permissive levels of RANK ligand. *J Clin Invest*. 2000. doi: 10.1172/JCI11176.

Leon LR, Kozak W, Kluger MJ. Role of IL-10 in inflammation: Studies using cytokine knockout mice. *Ann N Y Acad Sci*. 1998 Sep 29;856:69–75. doi: 10.1111/j.1749-6632.1998.tb08314.x.PMID: 9917866.

Levy BD, Clish CB, Schmidt B, Gronert K, Serhan CN. Lipid mediator class switching during acute inflammation: Signals in resolution. *Nat Immunol*. 2001;2(7):612–9. doi: 10.1038/89759. PMID: 11429545.

Levy BD, Vachier I, Serhan CN. Resolution of Inflammation in Asthma. *Clin Chest Med*. 2012;33(3):559–70. doi: 10.1016/j.ccm.2012.06.006.

Li L, Hsiao WWL, Nandakumar R, Barbuto SM, Mongodin EF, Paster BJ, et al. Analyzing Endodontic Infections by Deep Coverage Pyrosequencing. *J Dent Res*. 2010;89(9):980–4. doi: 10.1177/0022034510370026.

Lim GC, Torabinejad M, Kettering J, Linkhardt TA, Finkelman RD. Interleukin 1 $\beta$  in symptomatic and asymptomatic human periradicular lesions. *J Endod*. 1994;20(5):225–7. doi: 10.1016/S0099-2399(06)80282-7.

Lima TCS, Amaro RG, dos Santos LCM, Coste SC, Silva EFE, Barbato-Ferreira DA, et al. Expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 in replanted teeth with external root resorption: A cross-sectional study. *Arch Oral Biol*. 2021;129:105194. doi: 10.1016/j.archoralbio.2021.105194.

Loureiro C, Buzalaf MAR, Moraes FRN, Ventura TMO, Pelá VT, Pessan JP, et al. Quantitative proteomic analysis in symptomatic and asymptomatic apical periodontitis. *Int Endod J*. 2021;54(6):834–47. doi: 10.1111/iej.13480.

Machado de Oliveira JC, Siqueira JF, Rôças IN, Baumgartner JC, Xia T, Peixoto RS, et al. Bacterial community profiles of endodontic abscesses from Brazilian and USA subjects as compared by denaturing gradient gel electrophoresis analysis. *Oral Microbiol Immunol*. 2007;22(1):14–8. doi: 10.1111/j.1399-302X.2007.00311.x.

Machado FP, Khoury RD, Toia CC, Flores Orozco EI, de Oliveira FE, de Oliveira LD, et al. Primary versus post-treatment apical periodontitis: microbial composition, lipopolysaccharides and lipoteichoic acid levels, signs and symptoms. *Clin Oral Investig*. 2020 Sep;24(9):3169–3179. doi: 10.1007/s00784-019-03191-6.

Maia LM, Espaladori MC, Diniz JMB, Tavares WLF, de Brito LCN, Vieira LQ, et al. Clinical endodontic procedures modulate periapical cytokine and chemokine gene expressions. *Clin Oral Investig*. 2020;24(10):3691–7. doi: 10.1007/s00784-020-03247-y. PMID: 32088762.

Martinho FC, Chiesa WMM, Leite FRM, Cirelli JA, Gomes BPFA. Antigenic activity of bacterial endodontic contents from primary root canal infection with periapical lesions against macrophage in the release of interleukin-1 $\beta$  and tumor necrosis factor  $\alpha$ . J Endod. 2010a;36(9):1467–74. doi: 10.1016/j.joen.2010.06.012. PMID: 20728711.

Martinho FC, Chiesa WMM, Leite FRMM, Cirelli JA, Gomes BPFAFA. Antigenic Activity of Bacterial Endodontic Contents from Primary Root Canal Infection with Periapical Lesions against Macrophage in the Release of Interleukin-1 $\beta$  and Tumor Necrosis Factor  $\alpha$ . J Endod. 2010b;36(9):1467–74. doi: 10.1016/j.joen.2010.06.012. PMID: 20728711.

Martinho FC, Chiesa WMMM, Leite FRMM, Cirelli JA, Gomes BPFAFA. Correlation between clinical/radiographic features and inflammatory cytokine networks produced by macrophages stimulated with endodontic content. J Endod. 2012;38(6):740–5. doi: 10.1016/j.joen.2012.02.021. PMID: 22595105.

Martinho FC, Leite FRM, Arruda-Vasconcelos R, Louzada LM, Darveau RP, Gomes BPFA. Influence of Bacterial Profiles in Cytokine and Clinical Features of Endodontic Disease. J Endod. 2021;47(8):1265–71. doi: 10.1016/j.joen.2021.04.026. PMID: 34015415.

Martinho FC, Leite FRM, Arruda-Vasconcelos R, Louzada LM, Darveau RP, Gomes BPFA. Influence of Bacterial Profiles in Cytokine and Clinical Features of Endodontic Disease. J Endod. 2021;47(8):1265–71. doi: 10.1016/j.joen.2021.04.026.

Martinho FC, Leite FRM, Nascimento GG, Cirelli JA, Gomes BPFA. Clinical investigation of bacterial species and endotoxin in endodontic infection and evaluation of root canal content activity against macrophages by cytokine production. Clin Oral Investig. 2014;18(9):2095–102. doi: 10.1007/s00784-014-1198-1. PMID: 24535073.

Martinho FC, Nascimento GG, Leite FRM, Gomes APM, Freitas LF, Camões ICG. Clinical influence of different intracanal medications on Th1-type and Th2-type cytokine responses in apical periodontitis. J Endod. 2015;41(2):169–75. doi: 10.1016/j.joen.2014.09.028. PMID: 25453567.

Maynard CL, Weaver CT. Diversity in the contribution of interleukin-10 to T-cell-mediated immune regulation. Immunol Rev. 2008;226(1):219–33. doi: 10.1111/j.1600-065X.2008.00711.x.

Mizraji G, Heyman O, Van Dyke TE, Wilensky A. Resolvin D2 Restrains Th1 Immunity and Prevents Alveolar Bone Loss in Murine Periodontitis. Front Immunol. 2018;9:785. doi: 10.3389/fimmu.2018.00785.

Möller AJ, Fabricius L, Dahlén G, Ohman AE, Heyden G. Influence on periapical

tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. *Scand J Dent Res*. 1981;89(6):475–84. doi: 10.1111/j.1600-0722.1981.tb01711.x. PMID: 6951246.

Morsani JM, Aminoshariae A, Han YW, Montagnese TA, Mickel A. Genetic Predisposition to Persistent Apical Periodontitis. *J Endod*. 2011;37(4):455–9. doi: 10.1016/j.joen.2011.01.009.

Nair SP, Meghji S, Wilson M, Reddi K, White P, Henderson B. Bacterially induced bone destruction: mechanisms and misconceptions. *Infect Immun*. 1996;64(7):2371–80. PMID: 8698454.

Nascimento GG, Danielsen B, Baelum V, Lopez R. Identification of inflammatory response patterns in experimental gingivitis studies. *Eur J Oral Sci*. 2019;127(1):33–9. doi: 10.1111/eos.12588.

Ortega-Gómez A, Perretti M, Soehnlein O. Resolution of inflammation: an integrated view. *EMBO Mol Med*. 2013;5(5):661–74. doi: 10.1002/emmm.201202382.

Panagakos FS, O'Boskey JF, Rodriguez E. Regulation of pulp cell matrix metalloproteinase production by cytokines and lipopolysaccharides. *J Endod*. 1996;22(7):358–61. doi: 10.1016/S0099-2399(96)80218-4.

Pereira Faustino IS, Azevedo RS, Takahama A. Metalloproteinases 2 and 9 Immunoexpression in Periapical Lesions from Primary Endodontic Infection: Possible Relationship with the Histopathological Diagnosis and the Presence of Pain. *J Endod*. 2016;42(4):547–51. doi: 10.1016/j.joen.2015.12.020.

Pezelj-Ribaric S, Magašić K, Prpic J, Miletic I, Karlovic Z. Tumor Necrosis Factor-Alpha in Peripical Tissue Exudates of Teeth with Apical Periodontitis. *Mediators Inflamm*. 2007;2007:1–4. doi: 10.1155/2007/69416.

Ramis-Alario A, Tarazona-Alvarez B, Cervera-Ballester J, Soto-Penaloza D, Penarrocha-Diago M, Penarrocha-Oltra D, et al. Comparison of diagnostic accuracy between periapical and panoramic radiographs and cone beam computed tomography in measuring the periapical area of teeth scheduled for periapical surgery. A cross-sectional study. *J Clin Exp Dent*. 2019:e732–8. doi: 10.4317/jced.55986.

Ricucci D, Siqueira JF. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *J Endod*. 2010;36(8):1277–88. doi: 10.1016/j.joen.2010.04.007. PMID: 20647081.

Rôças IN, Siqueira JF. Frequency and levels of candidate endodontic pathogens in acute apical abscesses as compared to asymptomatic apical periodontitis. *PLoS One*. 2018;13(1):e0190469. doi: 10.1371/journal.pone.0190469.

Rôças IN, Siqueira JF. Identification of bacteria enduring endodontic treatment procedures by a combined reverse transcriptase-polymerase chain reaction and reverse-capture checkerboard approach. *J Endod.* 2010;36(1):45–52. doi: 10.1016/j.joen.2009.10.022. PMID: 20003934.

Rôças IN, Siqueira JF. Prevalence of New Candidate Pathogens *Prevotella baroniae*, *Prevotella multisaccharivorax* and As-yet-uncultivated *Bacteroidetes* clone X083 in Primary Endodontic Infections. *J Endod.* 2009;35(10):1359–62. doi: 10.1016/j.joen.2009.05.033.

Rôças IN, Siqueira JF. Root Canal Microbiota of Teeth with Chronic Apical Periodontitis. *J Clin Microbiol.* 2008;46(11):3599–606. doi: 10.1128/JCM.00431-08.

Rôças IN, Siqueira JF, Debelian GJ. Analysis of Symptomatic and Asymptomatic Primary Root Canal Infections in Adult Norwegian Patients. *J Endod.* 2011;37(9):1206–12. doi: 10.1016/j.joen.2011.05.026.

Safavi KE, Rossomando EF. Tumor necrosis factor identified in periapical tissue exudates of teeth with apical periodontitis. *J Endod.* 1991;17(1):12–4. doi: 10.1016/S0099-2399(07)80154-3.

Santos AL, Siqueira JF, Rôças IN, Jesus EC, Rosado AS, Tiedje JM. Comparing the Bacterial Diversity of Acute and Chronic Dental Root Canal Infections. *PLoS One.* 2011;6(11):e28088. doi: 10.1371/journal.pone.0028088.

Sasaki H, Hou L, Belani A, Wang C-Y, Uchiyama T, Müller R, et al. IL-10, But Not IL-4, Suppresses Infection-Stimulated Bone Resorption In Vivo. *J Immunol.* 2000;165(7):3626–30. doi: 10.4049/jimmunol.165.7.3626.

Sassone LM, Fidel RA, Faveri M, Guerra R, Figueiredo L, Fidel SR, et al. A Microbiological Profile of Symptomatic Teeth with Primary Endodontic Infections. *J Endod.* 2008;34(5):541–5. doi: 10.1016/j.joen.2008.02.004.

Serhan CN, Chiang N. Endogenous pro-resolving and anti-inflammatory lipid mediators: a new pharmacologic genus. *Br J Pharmacol.* 2009;153(S1):S200–15. doi: 10.1038/sj.bjp.0707489. PMID: 17965751.

Serhan CN, Yacoubian S, Yang R. Anti-Inflammatory and Proresolving Lipid Mediators. *Annu Rev Pathol Mech Dis.* 2008;3(1):279–312. doi: 10.1146/annurev.pathmechdis.3.121806.151409. PMID: 18233953.

Sheth K, Kapoor S, Daveswar S. Comparison of Cone-beam Computed Tomography and Periapical Radiography to Determine the Proximity of Periapical Lesions to Anatomical Structures in Premaxillary Area prior to Surgical Endodontics: A Clinical Study. *Int J Clin Pediatr Dent.* 2020;13(4):322–6. doi: 10.5005/jp-journals-10005-1783.

Siqueira JF, Rôças IN. Present status and future directions: Microbiology of endodontic infections. *Int Endod J*. 2022. doi: 10.1111/iej.13677.

Siqueira JF, Rôças IN. Diversity of Endodontic Microbiota Revisited. *J Dent Res*. 2009;88(11):969–81. doi: 10.1177/0022034509346549.

Siqueira JF, Rôças IN. Community as the unit of pathogenicity: An emerging concept as to the microbial pathogenesis of apical periodontitis. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*. 2009;107(6):870–8. doi: 10.1016/j.tripleo.2009.01.044.

Siqueira JF, Rôças IN, Alves FRF, Santos KRN. Selected endodontic pathogens in the apical third of infected root canals: a molecular investigation. *J Endod*. 2004;30(9):638–43. doi: 10.1097/01.DON.0000125875.88377.85. PMID: 15329567.

Siqueira JF, Rôças IN, Debelian GJ, Carmo FL, Paiva SSM, Alves FRF, et al. Profiling of Root Canal Bacterial Communities Associated with Chronic Apical Periodontitis from Brazilian and Norwegian Subjects. *J Endod*. 2008;34(12):1457–61. doi: 10.1016/j.joen.2008.08.037.

Siqueira JF, Rôças IN, Souto R, de Uzeda M, Colombo AP. Microbiological evaluation of acute periradicular abscesses by DNA-DNA hybridization. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2001;92(4):451–7. doi: 10.1067/moe.2001.118620.

Socransky SS, Haffajee AD, Smith C, Martin L, Haffajee JA, Uzel NG, et al. Use of checkerboard DNA-DNA hybridization to study complex microbial ecosystems. *Oral Microbiol Immunol*. 2004;19(6):352–62. doi: 10.1111/j.1399-302x.2004.00168.x.

Sundqvist G. Bacteriological studies of necrotic dental pulps. Umeå: Umeå University, 1976.

Takahama A, Rôças IN, Faustino ISP, Alves FRF, Azevedo RS, Gomes CC, et al. Association between bacteria occurring in the apical canal system and expression of bone-resorbing mediators and matrix metalloproteinases in apical periodontitis. *Int Endod J*. 2018;51(7):738–46. doi: 10.1111/iej.12895. PMID: 29363148.

Tani-Ishii N, Wang C-Y, Stashenko P. Immunolocalization of bone-resorptive cytokines in rat pulp and periapical lesions following surgical pulp exposure. *Oral Microbiol Immunol*. 1995;10(4):213–9. doi: 10.1111/j.1399-302X.1995.tb00145.x.

Tennert C, Fuhrmann M, Wittmer A, Karygianni L, Altenburger MJ, Pelz K, et al. New bacterial composition in primary and persistent/secondary endodontic infections with respect to clinical and radiographic findings. *J Endod*. 2014;40(5):670–7. doi: 10.1016/j.joen.2013.10.005. PMID: 24767562.

Tibúrcio-Machado CS, Michelon C, Zanatta FB, Gomes MS, Marin JA, Bier CA. The global prevalence of apical periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *Int Endod J*. 2021;54(5):712–35. doi: 10.1111/iej.13467. PMID: 33378579.

Toia CC, Khoury RD, Motta Corazza BJ, Flores Orozco EI, Valera MC. Effectiveness of one-visit and two-visit endodontic retreatment of teeth with persistent/secondary endodontic infection: a randomized clinical trial with 18-months of follow-up. *J Endod*. 2022 Jan;48(1):4-14. doi: 10.1016/j.joen.2021.09.004. PMID: 34555421.

Torabinejad M, Cotti E, Jung T. Concentrations of leukotriene B4 in symptomatic and asymptomatic periapical lesions. *J Endod*. 1992;18(5):205–8. doi: 10.1016/S0099-2399(06)81261-6.

Tsuji M, Yamasaki M, Amano K, Matsui H, Morimoto T, Nakamura H. Histochemical localization of neutral proteases released during development of rat periradicular lesion. *Arch Oral Biol*. 2009;54(12):1128–35. doi: 10.1016/j.archoralbio.2009.10.003.

Virdee SS, Butt K, Grant M, Camilleri J, Cooper PR, Tomson PL. A systematic review of methods used to sample and analyse periradicular tissue fluid during root canal treatment. *Int Endod J*. 2019;52(8):1108–27. doi: 10.1111/iej.13104.

Weissman J, Johnson JD, Anderson M, Hollender L, Huson T, Paranjpe A, et al. Association between the Presence of Apical Periodontitis and Clinical Symptoms in Endodontic Patients Using Cone-beam Computed Tomography and Periapical Radiographs. *J Endod*. 2015;41(11):1824–9. doi: 10.1016/j.joen.2015.06.004.

Yoneda M, Hirofuji T, Anan H, Matsumoto A, Hamachi T, Nakayama K, et al. Mixed infection of *Porphyromonas gingivalis* and *Bacteroides forsythus* in a murine abscess model: involvement of gingipains in a synergistic effect. *J Periodontal Res*. 2001;36(4):237–43. doi: 10.1034/j.1600-0765.2001.036004237.x.

Zargar N, Ashraf H, Marashi SMA, Sabeti M, Aziz A. Identification of microorganisms in irreversible pulpitis and primary endodontic infections with respect to clinical and radiographic findings. *Clin Oral Investig*. 2020;24(6):2099–108. doi: 10.1007/s00784-019-03075-9.

Zhang MJ, Sansbury BE, Hellmann J, Baker JF, Guo L, Parmer CM, et al. Resolvin D2 Enhances Postischemic Revascularization While Resolving Inflammation. *Circulation*. 2016;134(9):666–80. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.021894.

Zhu M, Van Dyke TE, Gyurko R. Resolvin E1 regulates osteoclast fusion via DC-STAMP and NFATc1. *FASEB J*. 2013;27(8):3344–53. doi: 10.1096/fj.12-220228.

Atendendo a solicitação do(a) autor(a),  
o texto completo desta tese/dissertação  
será disponibilizado somente a partir de  
24/06/2024.

At the author's request, the full text of  
this thesis/dissertation will not be  
available until Jun 24, 2024.