

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 19/01/2026.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Júlio de Mesquita Filho"

Cristiane Cantiga da Silva

**Relação bidirecional entre a periodontite apical e
a fibrose hepática. Estudo de Inflamassoma,
Citocinas e Anticorpo CD20**

ARAÇATUBA-SP

2024

Cristiane Cantiga da Silva

Relação bidirecional entre a periodontite apical e a fibrose hepática. Estudo de Inflamassoma, Citocinas e Anticorpo CD20

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutor em Ciência - Área de Endodontia.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Tavares Angelo Cintra

ARAÇATUBA-SP

2024

Catálogo na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

S586r Silva, Cristiane Cantiga da.
Relação bidirecional entre a periodontite apical e a fibrose hepática : estudo de inflamassoma, citocinas e anticorpo CD20 / Cristiane Cantiga da Silva. - Araçatuba, 2024
75 f. : il. ; tab.

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

1. Cirrose hepática 2. Inflamassomas 3. Interleucinas
4. Periodontite periapical I. T.

Black D24
CDD 617.67

Claudio Hideo Matsumoto – CRB-8/5550

Dados curriculares

Cristiane Cantiga da Silva

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, dezembro de 2013.

2014 - 2016 - Curso de Especialização

Concluiu o curso de **Especialização em Endodontia** pela Universidade do Estado do Amazonas - UEA, 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, fevereiro de 2020.

2020 - 2024 - Curso de Doutorado

Concluiu o **Curso de Doutorado em Ciência, 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, janeiro de 2024.

Dedicatória

Dedico este trabalho à minha família.

À minha mãe **Luzia Cantiga** e ao meu tio pai **Ivon Rates**, por me conduzirem nos caminhos retos, me ensinarem com amor, dedicação e paciência os valores que devemos ter na vida.

À minha amada mãe, pela fortaleza que sempre foi, pelo zelo para comigo e meus amados irmãos, 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!

Ao meu tio, por não medir esforços para que eu pudesse chegar aqui, 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!

É pela minha família que este sonho se torna real.

É para vocês, com todo amor que dedico este trabalho.

Amo vocês!

Agradecimentos

Especiais

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 a Sua misericórdia eu não existiria. Pela Sua graça este
momento acontece.

Obrigada 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, 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!

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. Alegria é sentar-me 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 têm 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.

Ah como amo vocês!

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.

Obrigada por me olharem lá de cima!

À minha tia, Kátia Rates.

Agradeço o acolhimento todos esses anos.

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 e pelo amor que tem pela nossa família. É e sempre será uma felicidade estar com todos vocês.

Ao meu companheiro de vida, Rafa Gallardo.

Obrigada pelo amor e carinho. Sou agraciada pela tua companhia e cuidado todos os dias. Obrigada pela doação e entrega nesse primeiro ano juntos e último ano de curso – eu vivi para o doutorado e você viveu para mim. Você foi o melhor presente que o doutorado me trouxe. Te amo infinito!

À minha **família**,

A qual morro de saudade e que em todos esses anos foi solícita, compreensiva e acolhedora meu muito obrigada. Vocês são minha fortaleza!

Ao meu orientador. Professor Luciano Tavares Angelo Cintra,

Quando iniciamos esta jornada eu jamais imaginei quão frutífera seria.
OBRIGADA!

Obrigada pela orientação singular nesses quase seis anos de pós-graduação. Finalizar o doutorado com todo o crescimento pessoal, científico e profissional adquirido sob sua supervisão é uma honra. A admiração, o respeito, e a afinidade moldaram nossa convivência e hoje sinto orgulho em poder falar que tive não somente um orientador, mas também um amigo. Obrigada por me impulsionar, por sonhar comigo e me proporcionar as melhores oportunidades. Ser sua orientada é uma grande responsabilidade na minha conduta durante meu caminhar.

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

O professor é sinônimo de doação, compromisso e seriedade. Que sua vida siga sendo uma árvore frondosa em casa e no trabalho.

Por tudo, muito obrigada!

Agradecimentos

Ensinar é dádiva divina! Aqueles que transmitem o conhecimento são felizes e agraciados em suas colheitas.

Aos Professores.

Ao meu querido professor **Tiago Novaes Pinheiro**, que me acompanha desde a graduação, 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 alegra ser sua ex-aluna e hoje trabalharmos juntos. É uma honra.

O professor gentilmente analisou parte das minhas amostras, tendo uma contribuição importantíssima na minha tese “tamo junto”. Ao senhor, minha eterna gratidão.

Aos professores da Disciplina de Endodontia da FOA-UNESP, **Elói Dezan-Junior, Gustavo Sivieri de Araújo, João Eduardo Gomes Filho e Rogério de Castilho Jacinto**, pelos ensinamentos nos seminários da pós-graduação, pela convivência no Departamento e por se colorem à disposição sempre. Vocês são exemplos de profissionais que juntos formam uma equipe brilhante. Foi com vocês que me apaixonei não só pela endodontia, como também pela filosofia biológica que envolve essa área e é o forte da equipe Endo FOA. Obrigada pela qualidade do ensino que transmitem, pelo zelo com a endodontia brasileira e com a ciência que produzem. Eu sempre terei vocês como pilares da minha carreira científica. Obrigada por tudo!

Agradeço em especial ao professor **João**, que prontamente aceitou meu convite para compor a banca do Exame Geral de Qualificação e sempre esteve presente dando os melhores conselhos.

Ao professor **Rogério Jacinto**, o qual tenho a honra de tê-lo como avaliador da minha banca de tese. Muito obrigada por estar comigo e por contribuir no aperfeiçoamento do meu trabalho. O professor foi sempre muito atencioso para comigo! Agradeço também as vezes que o professor colaborou com nossos estudos e nos recebeu no laboratório de micro.

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 me abrir as portas do seu laboratório sempre, em especial, durante os dois meses que “nos mudamos ao lab” para a realização desse trabalho.

Minha admiração pelo senhor como ser humano e profissional é enorme. Agradeço por ter aceitado o convite para ser membro da minha banca de defesa do Doutorado, certa de que a contribuição de seus conhecimentos será importantíssima para o aprimoramento da minha tese e feliz em compartilhar este dia com um professor querido. Obrigada por tudo!

Obrigada ao professor **Carlos Estrela** por aceitar, prontamente, o convite para compor minha banca de tese. O professor é inspiração para todos que conhecem seu trabalho, e em meu caso, me inspira na endodontia desde a graduação, quando lia seus livros. Sua importância para a ciência na Endodontia é ímpar, sendo para mim uma honra tê-lo presente. Obrigada por deixar seus afazeres para crescer neste momento especial!

Ao professor **Renan Dal Fabro**, muito obrigada por compor a banca de examinadores da minha tese e contribuir de forma tão significativa. Nos conhecemos nos corredores da FOA e hoje você é ex-aluno referência e motivo de orgulho para todos que te acompanham. É uma alegria compartilhar esse dia com você.

Aos professores **Juan José Segura Egea** e **Aurea Simon Soro**, que foram meus tutores do Doutorado Sanduíche na Facultad de Odontología de la Universidad de Sevilla, meu muito obrigada. Vocês me abriram as portas da universidade ao passo que me deram a oportunidade de compartilhar meus conhecimentos e aprender uma nova área de pesquisa: a microbiologia.

O professor Juanjo não hesitou em me receber na faculdade em um período delicado: a pandemia. Graças a ele eu pude viver o sonho do intercâmbio e a maior experiência da minha vida.

A professora e amiga **Áurea**, pesquisadora incrível, me recebeu em seu laboratório e teve o cuidado de me transmitir seus conhecimentos sobre a microbiologia, sentar e me ensinar cada etapa do universo que é o cultivo de

microrganismos, além da vivência fora da faculdade fazendo com que esta fosse a melhor possível. Agradeço a oportunidade incrível!

A los profesores **Juan José Segura Egea** y **Áurea Simón Soro**, que fueron tutores de mi Estancia Doctoral en la Facultad de Odontología de la Universidad de Sevilla, mis agradecimientos. Vosotros me abristeis las puertas de la universidad al mismo tiempo que me disteis la oportunidad de compartir mis conocimientos y aprender una nueva área de investigación: la microbiología.

El profesor Juanjo no dudó en recibirme en un periodo delicado: la pandemia. Gracias a él pude vivir el sueño del intercambio universitario y la mayor experiencia de mi vida.

La profesora y amiga Áurea, increíble investigadora, me recibió en su laboratorio teniendo el cuidado de transmitirme sus conocimientos sobre microbiología y enseñar cada etapa del universo del cultivo de microorganismos, además de hacer que mi experiencia fuera de la universidad fuera la mejor posible. ¡Estoy agradecida por esa oportunidad increíble!

Aos demais professores da FOA, da UEA e da UNINORTE, escolas onde descobri e aprendi sobre a odontologia, que contribuíram e contribuem com meu crescimento profissional e pessoal, muito obrigada! É uma alegria e privilégio ter mestres excelentes como vocês.

A amizade se constrói a partir do convívio diário e da cumplicidade, é um meio de nos isolarmos da humanidade cultivando algumas pessoas.

Carlos Drummond de Andrade

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. Posso dizer que tenho uma mãe adotiva. 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 de avó. São tantos os ensinamentos de vida e experiências compartilhadas e por tudo meu muito obrigada.

Obrigada aos meus amigos pesquisa, **Pedro, Carolina, Flávio Nathália, Mari, Ju e Lucas**. Eu jamais imaginei trabalhar com pessoas como vocês. Obrigada pela amizade dentro e fora da faculdade, pelos trabalhos, e pela companhia. Ao Pedro, meu irmão científico por compartilhar essa jornada comigo desde o mestrado (te amo por tudo que vivemos e aprendemos juntos e por ser essa pessoa linda). Ao Flávio, Mari, Ju e Nathi por estarem sempre presentes e terem sido essenciais em meus experimentos.

À Carol, que além de amiga foi companheira de casa durante o intercâmbio em Sevilha, todo meu amor e gratidão pela amizade que fortalecemos e por ter sido a melhor companhia nessa experiência única. Amo você!

Vocês são os irmãos que a pós-graduação me deu. Este trabalho tem a dedicação e o cuidado de cada um. OBRIGADA por tudo. Amo vocês.

Obrigada **Ana Paula, Ana Cláudia, Gladiston, Loureiro e Ana Maria**, pelos momentos compartilhados e pelas conversas descontraídas. Agradeço todas as vezes que me ajudaram, que me ouviram e que foram minha companhia no lab. Aprendi muito com todos vocês.

Aos colegas **Romulo, Bharbara, Julisa e Rafa** pela convivência leve. Obrigada pela amizade do grupo e por serem sempre solícitos.

Obrigada às colegas que estiveram comigo durante o intercâmbio, **Maria Jimenez, Debora e Vic**. Aprendi e passei “muy buenos ratos” com vocês. Obrigada por tornarem tudo mais leve. Lembrarei de vocês com muito carinho.

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

Obrigada aos “meus” alunos de Iniciação Científica, **Laís** e **Almir**, pela dedicação à IC e ao meu projeto. Obrigada por não medirem esforços para estarem no departamento. Vocês foram fundamentais no meu projeto e em todos os outros que participaram. Sem palavras para vocês. Muito Obrigada!

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

A todos os amigos e colegas que eu tive a sorte de cruzar caminhos nesta jornada, minha mais profunda gratidão e alegria pela vida de vocês. Foram muitas às vezes que vocês me proporcionaram, sorriso, gentileza, afeto, doação de tempo e conhecimento. Obrigada a cada um! Vida longa e próspera a todos.

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 Alberto Carlos Botazzo Delbem** e **Vice-Diretor Prof. Associado Luciano Tavares Angelo Cintra**. Aqui eu pude conhecer como é a pós-graduação stricto sensu e me encantar pela ciência. Carrego um imenso orgulho de dizer que faço parte da FOA-UNESP, minha casa científica.

Ao Departamento de Odontologia Preventiva e Restauradora.

Minha gratidão eterna a este departamento. 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. Sentirei saudades!

À coordenação do Programa de Pós-graduação em Ciência.

Agradeço o dedicado trabalho que realizam visando o crescimento e desenvolvimento de professores na universidade, bem como preparando os alunos para o mercado de trabalho. Esse programa é incrível! Me sinto privilegiada pela oportunidade de me formar e capacitar sob o cuidado de professores e administradores tão capacitados e comprometidos.

Às Agências de Fomento.

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, pela concessão de bolsa de Doutorado Sanduíche (88887.569913/2020-00), e à **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)**, pela concessão de bolsa de Doutorado (processo 2020/04307-7).

Aos funcionários da FOA.

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

Aos demais funcionários do **departamento**, da **secretaria de pós-graduação** – em especial à **Cristiane Lui**, do **biotério** e da **portaria** – representado pelo **Marcio**, os quais quando solicitei fui atendida com paciência e atenção, meu muito obrigada!

Aos animais experimentais. meu profundo respeito e agradecimento.

Enfim, a todos que me ajudaram de forma direta ou indireta. Os meus sinceros agradecimentos.

Epigrafe

Um coração apaixonado, uma mente curiosa e um espírito de entrega são fontes incansáveis.

Resumo

CANTIGA-SILVA, C. Relação bidirecional entre a periodontite apical e a fibrose hepática. Estudo de Inflamassoma, Citocinas e Anticorpo CD20 [tese]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia; 2024.

RESUMO

A inter-relação entre as 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 analisar a resposta imunoinflamatória nos tecidos periapicais e hepáticos, em condições de periodontite apical (PA) combinada ou não da presença de fibrose hepática (FH) por meio do silenciamento do inflamassoma NLRP3. Quarenta C57BL/6J wild type (*wt*) foram divididos em 4 grupos ($n=10$): Grupo Controle - *Cwt*; Grupo *PAwt* - portadores de PA; Grupo *FHwt* - portadores de FH; Grupo *PA+FHwt* - portadores de FH e PA. Outros quarenta camundongos *Nlrp3^{tm1Hhf}/J* knockout (*ko*) foram divididos em 4 grupos ($n=10$): Grupo Controle - *Cko*; Grupo *PAko* - portadores de PA; Grupo *FHko* - portadores de FH; Grupo *PA+FHko* - portadores de FH e PA. A FH foi induzida pela administração do tetracloreto de carbono (CCl_4) na dosagem de 0,2 ml/100g de peso corporal, duas vezes por semana, via intraperitoneal, e durante todo o experimento (60 dias). Após 30 dias do início da administração da droga, a PA foi induzida por meio de exposição pulpar dos primeiros e segundos molares superiores e inferiores esquerdo. Após mais 30 dias, os camundongos foram eutanasiados e as maxilas, assim como os fígados, foram coletados para análise em microscopia de luz. O tecido hepático foi analisado em coloração de Hematoxilina-Eosina (H&E) e Picosírius Red (PSR) para verificação do grau de fibrose hepática. As maxilas foram processadas para análise histológica em H&E. Os dois órgãos foram submetidos a análise imunoistoquímica para NLRP3, IL-1 β , IL-18, IL-17 e CD20. Os resultados obtidos foram analisados e comparados por testes estatísticos específicos para cada caso com nível de significância de 5% ($P < 0.05$). Nas maxilas, a inflamação periapical foi mais severa nos animais *wt* com diferenças entre os grupos *PAwt* e *PAko*, *PA+FHwt* e *PA+FHko*, e entre *PAwt* e *PA+FHwt* ($P < 0.05$). Não houve diferença entre os grupos *PAko* e *PA+FHko* ($P > 0.05$). Quanto à reabsorção óssea periapical, os animais *wt* apresentam lesões periapicais maiores quando comparado aos camundongos *ko* ($P < 0.05$), com diferenças entre os grupos *PAwt* e *PAko*, *PA+FHwt* e *PA+FHko*, *PAwt* e *PA+FHwt*, e entre *PAko* e *PA+FHko* ($p < 0,05$). A imunomarcação para o NLRP3 nos animais *ko* foi ausente em todos os

grupos. A análise revelou maior imunomarcção da IL-1 β , IL-17, IL-18 e CD20 nos animais *wt* com diferenas entre os grupos PA*wt* e PA*ko* (P <0.05). Houve diferena entre os grupos PA*wt* e PA+FH*wt* para NLRP3, IL-1 β , IL-17 e CD20 (P <0.05). Nno houve diferena na imunomarcção entre os grupos PA*ko* e PA+FH*ko* (P >0.05). Nos fgados, a inflamação hepática foi mais severa nos animais *wt* comparado aos *ko* e entre FH*wt* e PA+FH*wt* (P <0.05). Nno houve diferena entre os grupos FH*ko* e PA+FH*ko* (P >0.05). O estágio da fibrose hepática foi mais acentuado nos animais *wt* comparado com os *ko* (P <0.05). Nno houve diferena entre os grupos FH*wt* e PA+FH*wt*, FH*ko* e PA+FH*ko* (P >0.05). A imunomarcção foi maior para a IL-1 β , IL-17, IL-18 e CD20 nos animais *wt* comparado aos *ko* (P <0.05). Houve diferena entre os grupos FH*wt* e PA+FH*wt* (P <0.05) para NLRP3 e IL-17. Nno houve diferena na imunomarcção entre os grupos FH*ko* e PA+FH*ko* (P >0.05). Conclui-se que o silenciamento do inflamassoma NLRP3 exerce papel importante na modulação da PA e da FH, reduzindo o processo inflamatório e os mediadores inflamatórios envolvidos em ambas as alteraões isoladas ou associadas. Além disso, ficou evidente que NLRP3 e IL-17 estão envolvidos no mecanismo bidirecional das duas doenas.

Palavras-Chave: Fibrose hepática. Inflamassomas. Interleucinas. Periodontite apical.

Abstract

CANTIGA-SILVA, C. Bidirectional relationship between apical periodontitis and liver fibrosis. Study of Inflammasome, Cytokines and CD20 Antibody [tese]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia; 2024.

ABSTRACT

The interrelationship between systemic changes and the development and progression of oral infections such as apical periodontitis has been the subject of intense studies in recent years. The main of this study was to analyze the immunoinflammatory response in periapical and hepatic tissues, in conditions of apical periodontitis (AP) combined or not with the presence of hepatic fibrosis (LF) by silencing the NLRP3 inflammasome. Forty C57BL/6J wild type (*wt*) mice were divided into 4 groups ($n=10$): *Cwt* group: health mice; *APwt* group: mice with pulp exposure-induced apical periodontitis; *LFwt* group: mice with liver fibrosis induced; *AP+LFwt* group: mice with LF and AP. Another forty *Nlrp3^{tm1Hhf}/J* knockout (*ko*) mice were divided into 4 groups ($n=10$): *Cko* group: health mice; *APko* group: mice with pulp exposure-induced apical periodontitis; *LFko* group: mice with liver fibrosis induced; *AP+LFko* group: mice with LF and AP. LF was induced by chemical method. Carbon tetrachloride (CCl_4) was administered at a dosage of 0.2 ml/100g of body weight, twice a week, intraperitoneally, and throughout the experiment (60 days). Thirty days after the start of drug administration, AP was induced through pulp exposure of the upper and lower left first and second molars. After another 30 days, the mice were euthanized and the jaws, as well as the livers, were collected for light microscopy analysis. The liver tissue was analyzed using Hematoxylin-Eosin (H&E) and Picrosirius Red (PSR) staining to verify the degree of liver fibrosis. The jaws were processed for histological analysis in H&E. The livers and jaws were subjected to immunohistochemical analysis for NLRP3, IL-1 β , IL-18, IL-17 and CD20. The results obtained were analyzed and compared using specific statistical tests for each case with a significance level of 5% ($P < 0.05$). In the jaws, periapical inflammation was more severe in *wt* animals with differences between the *APwt* and *APko*, *AP+LFwt* and *AP+LFko* groups, and between *APwt* and *AP+LFwt* ($P < 0.05$). There was no difference between the *APko* and *AP+LFko* groups ($P > 0.05$). Regarding periapical bone resorption, *wt* animals presented larger periapical lesions when compared to *ko* mice ($P < 0.05$), with differences between the *APwt* and *APko* groups, *AP+LFwt* and *AP+LFko*, *APwt* and *AP+LFwt*, and between *APko* and *AP+LFko* ($P < 0.05$). Immunolabeling for NLRP3 in *ko* animals was

absent in all groups. The analysis revealed greater immunolabeling of IL-1 β , IL-17, IL-18 and CD20 in *wt* animals with differences between the AP*wt* and AP*ko* groups (P <0.05). There was a difference between the AP*wt* and AP+LF*wt* groups for NLRP3, IL-1 β , IL-17 and CD20 (P <0.05). There was no difference in immunolabeling between the AP*ko* and AP+LF*ko* groups (P >0.05). In the livers, hepatic inflammation was more severe in *wt* animals compared to *ko* and between LF*wt* and AP+LF*wt* (P <0.05). There was no difference between the LF*ko* and AP+LF*ko* groups (P >0.05). The stage of liver fibrosis was more pronounced in *wt* animals compared to *ko* (P < 0.05). There was no difference between the LF*wt* and AP+LF*wt*, LF*ko* and AP+LF*ko* groups (P >0.05). Immunohistochemistry revealed greater immunolabeling of IL-1 β , IL-17, IL-18 and CD20 in *wt* animals compared to *ko* (P <0.05). There was a difference between the LF*wt* and AP+LF*wt* groups (P <0.05) for NLRP3 and IL-17. There was no difference in immunolabeling between the LF*ko* and AP+LF*ko* groups (P >0.05). It is concluded that silencing of the NLRP3 inflammasome plays an important role in modulating AP and LF, reducing the inflammatory process and the inflammatory mediators involved in both isolated and associated changes. Furthermore, it was evident that NLRP3 and IL-17 are involved in the bidirectional mechanism of both diseases.

Keywords: Apical periodontitis. Inflammasomes. Interleukins. Liver fibrosis.

Lista de Figuras

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Aplicação do CCl ₄ via intraperitoneal.	42
Figura 2 -	Exposição pulpar para indução da PA.	43
Figura 3 -	Maxila e fígado coletados após a eutanásia.	45
Figura 4 -	Histologia em H&E das maxilas.	51
Figura 5 -	Imunoistoquímica das maxilas.	54
Figura 6 -	Histologia em H&E dos fígados.	56
Figura 7 -	Histologia em PSR dos fígados.	58
Figura 8 -	Imunoistoquímica dos fígados.	60

Lista de Tabelas

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Escores medianos, intervalos interquartis, média (M), desvio padrão (DP) e valores P das análises para infiltrado inflamatório, imunistoquímica e reabsorção óssea periapical.	52
Tabela 2 -	Escores medianos, intervalos interquartis e valores P das análises para infiltrado inflamatório, fibrose hepática e imunistoquímica no tecido hepático.	57

Lista de Abreviaturas e

Símbolos

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

CCl₄ – tetracloreto de carbono

DP – desvio padrão

EDTA – ácido etileno diamino tetracético

FH – fibrose hepática

H&E – Hematoxilina e Eosina

IL-17 – interleucina 17

IL-18 - interleucina 18

IL-1 β – interleucina 1 beta

KO – camundongos knockout para *Nlrp3^{m1Hhf/J}*

LPS – lipopolissacarídeo

PA – periodontite apical

RANKL – receptor do ligante do fator nuclear kappa-B

TNF- α – fator de necrose tumoral alfa

WT – camundongos wild type

Sumário

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	38
2 OBJETIVOS	40
2.1 Objetivo geral	40
2.2 Objetivos específicos	40
3 MATERIAL E MÉTODOS	41
3.1 Material	41
3.1.1 Animais e drogas	41
3.2 Métodos	42
3.2.1 Indução da fibrose hepática	42
3.2.2 Indução da periodontite apical	42
3.2.3 Divisão em grupos	43
3.2.4 Eutanásia e coleta dos materiais para análise	43
3.2.4.1 Coleta das hemimaxilas e processamento laboratorial	43
3.2.4.2 Coleta dos fígados e processamento laboratorial	45
3.2.5 Forma de análise dos resultados	46
3.2.5.1 Amostras das maxilas	46
3.2.5.2 Amostras dos fígados	47
3.2.6 Análise Estatística	48
4 RESULTADOS	49
4.1 Observações clínicas	49
4.2 Maxilas	49
4.2.1 Análise histológica descritiva nas maxilas	49
4.2.2 Infiltrado inflamatório e reabsorção óssea periapical	50

4.2.3 Imunomarcção na periodontite apical	52
4.3 Fígados	53
4.3.1 Análise histológica descritiva nos fígados	53
4.3.2 Infiltrado inflamatório hepático	55
4.3.3 Fibrose hepática	55
4.3.4 Imunomarcção hepática	58
5 DISCUSSÃO	59
6 CONCLUSÃO	66
REFERÊNCIAS	67
ANEXO	73

1 INTRODUÇÃO

A polpa dentária saudável é protegida dos microrganismos orais pelo esmalte, dentina e por seus mecanismos próprios de defesa. A exposição pulpar a microrganismos e seus subprodutos pode provocar resposta inflamatória não específica, bem como resposta imunológica específica nos tecidos periapicais (STASHENKO *et al.*, 1998). A detecção precoce de ameaças como a infecção microbiana e o início de respostas pró-inflamatórias são mecanismos da resposta imune inata. Esta resposta é mediada por uma família de receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) para sequências moleculares específicas associadas a patógenos (PAMPs) e os padrões moleculares associados a danos (DAMPs) (TAKEUCHI; AKIRA, 2010). Os PRRs estão classificados em quatro grandes grupos, sendo os receptores de ligação a nucleotídeos e de repetição ricos em leucinas (NLRs), importantes iniciadores da imunidade inata e que regulam múltiplos aspectos da inflamação, incluindo sinalização celular, produção de citocinas, fenótipos, morte celular, autofagia, cicatrização de feridas e fibrose (MACDONALD, 2019).

O desenvolvimento da Periodontite Apical (PA) é decorrente da inflamação crônica dos tecidos periapicais induzida por microrganismos que colonizam os sistemas de canais radiculares causando necrose da polpa dentária (LUKIĆ *et al.*, 2006). O controle da patogênese da PA depende da resposta imunológica do hospedeiro aos microrganismos, sendo parcialmente atribuído à liberação de citocinas pró e anti-inflamatórias como interleucinas (ILs), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interferon (IFN) (STASHENKO, 1990). Além disso, a resposta imunológica pode ser exacerbada por complicações sistêmicas (SAMUEL *et al.*, 2019; CONTI *et al.*, 2020).

Avaliando o efeito da *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) no fígado de humanos e animais acometidos de esteatose hepática não alcoólica, alguns autores observaram que esse microrganismo comum na doença periodontal é um fator de risco para a patogênese e progressão da doença hepática (FURUSHO *et al.*, 2013; NAKAHARA *et al.*, 2018). Uma revisão sistemática avaliou a associação entre a doença periodontal e a esteatose hepática não alcoólica de onze estudos clínicos, envolvendo pouco mais de 53 mil pacientes e encontrou evidências de que a infecção oral tem potencial para aumentar o fator de risco para desenvolvimento e progressão da esteatose (ALAKHALI *et al.*, 2018). Recentemente evidenciaram que lipopolissacarídeo (LPS) da *P. gingivalis* contribui para o acúmulo de lipídeos e reação inflamatória dos hepatócitos, favorecendo o dano hepático (DING *et al.*,

2019). Outro estudos mostrou que 46% dos 110 pacientes avaliados com cirrose hepática apresentaram um ou mais focos de PA (GRONKJAER *et al.*, 2016), apesar de um número expressivo esse estudo apenas corroborou com resultados anteriores, os quais mostraram que 76% dos pacientes que aguardavam na fila para transplante hepático apresentaram lesões periapicais (CASTELLANOS-COSANO *et al.*, 2013).

Estudando os efeitos da PA em órgãos, um estudo identificou focos inflamatórios considerados irreversíveis no fígado de ratos (ZHANG *et al.*, 2016). No entanto, os estudos disponíveis acerca das infecções orais não nos permitem estabelecer uma relação causa-efeito entre a PA e as doenças hepáticas, bem como fundamentar as vias biológicas envolvidas na possível inter-relação entre estas doenças.

A fibrose hepática (FH) é uma patologia resultante de uma doença inflamatória crônica no fígado, que é caracterizada pela proliferação de células hepáticas estreladas (CHE) e pela diferenciação em células semelhantes aos miofibroblastos que depositam matriz extracelular e colágeno (FRIEDMAN, 2000). As principais etiologias da fibrose hepática são esquistossomose, infecção crônica por hepatite viral, doença hepática gordurosa não alcoólica, doença hepática alcoólica e hepatite autoimune (SACCHI *et al.*, 2014). Além disso, diferentes órgãos como o tecido adiposo, ducto biliar, intestino e músculo podem afetar o desenvolvimento da fibrose hepática (SUN; KISSELEVA, 2015).

Após o dano hepático, a morte dos hepatócitos desencadeia a ativação de linfócitos, plaquetas e macrófagos, que incluem as células de Kupffer e formam um infiltrado inflamatório que produz TGF- β , IL-1 β e fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), ativando as células estreladas do fígado (FRIEDMAN, 2003). Ao mesmo tempo, várias quimiocinas, que são liberadas por populações diversas de células infiltradas, modulam a reação inflamatória e contribuem para a progressão da ativação de CHE e do insulto fibrótico (ZIMMERMANN; TACKE, 2011).

Um estudo anterior mostrou que ratos acometidos de fibrose hepática apresentam maior destruição óssea periapical e aumento do infiltrado inflamatório na periodontite apical induzida. Também relatou que as citocinas pró-inflamatórias IL-1 β , IL-6 e TNF- α estavam exacerbadas na periodontite apical de animais com esta alteração hepática (CANTIGA-SILVA *et al.*, 2021).

O inflamassoma é conhecido como o complexo de sinalização macromolecular que reconhecem componentes microbianos (DINARELLO, 2009). Esse reconhecimento é feito por sensores ativados em resposta a diferentes estímulos, em que os tipos de sensores são categorizados de acordo com suas características estruturais nos receptores celulares. Os subtipos de inflamassomas canônicos AMI2, NLRP1, NLRP3 e NLRC4 tem seu papel de

REFERÊNCIAS

- Abu Elhija M, Lunenfeld E, Huleihel M. LPS increases the expression levels of IL-18, ICE and IL-18 R in mouse testes. *American journal of reproductive immunology*. 2008; 60:361-371.
- Alakhali MS, Al-Maweri SA, Al-Shamiri HM, Al-Haddad K, Halboub E. The potential association between periodontitis and non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review. *Clinical Oral Investigations*. 2018; 22:2965-2974.
- Alazawi W, Bernabe E, Tai D, et al. Periodontitis is associated with significant hepatic fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *PLoS One*. 2017; 12:e0185902.
- Alegre F, Pelegrin P, Feldstein AE. Inflammasomes in liver fibrosis. In *Seminars in liver disease*. 2017; 37:119-127.
- Azuma MM, Gomes-Filho JE, Cardoso CBM, et al. Omega 3 fatty acids reduce the triglyceride levels in rats with apical periodontitis. *Brazilian Dental Journal*. 2018; 29:173-178.
- Azuma MM, Gomes-Filho JE, Prieto AKC, et al. Diabetes increases interleukin-17 levels in periapical, hepatic, and renal tissues in rats. *Archives Oral Biology*. 2017; 83:230-235.
- Bauernfeind FG, Horvath G, Stutz A, et al. Cutting edge: NF-kappaB activating pattern recognition and cytokine receptors license NLRP3 inflammasome activation by regulating NLRP3 expression. *J Immunology*. 2009; 183:787-791.
- Bigueti CC, Vieira AE, Cavalla F, et al. CCR2 Contributes to F4/80+ Cells Migration Along Intramembranous Bone Healing in Maxilla, but Its Deficiency Does Not Critically Affect the Healing Outcome. *Frontiers in Immunology*. 2018; 9:1804.
- Boaru SG, Borkham-Kamphorst E, Tihaa L, et al. Expression analysis of inflammasomes in experimental models of inflammatory and fibrotic liver disease. *Journal of Inflammation - London*. 2012; 9:49.
- Bostanci N, Emingil G, Saygan B, et al. Expression and regulation of the NALP3 inflammasome complex in periodontal diseases. *Clinical & Experimental Immunology*. 2009; 157:415-422.
- Broz P, Dixit VM. Inflammasomes: Mechanism of assembly, regulation and signalling. *Nature Reviews Immunology*. 2016; 16:407-420.
- Brydges SD, Mueller JL, McGeough MD, et al. Inflammasome-mediated disease animal models reveal roles for innate but not adaptive immunity. *Immunity*. 2009; 30:875-87.
- Cantiga-Silva C, Estrela C, Segura-Egea JJ, et al. Inflammatory profile of apical periodontitis associated with liver fibrosis in rats: histological and immunohistochemical analysis. *International Endodontic Journal*. 2021; 54:1353-1361.
- Castellanos-Cosano L, Machuca-Portillo G, Segura-Sampedro JJ, et al. Prevalence of apical periodontitis and frequency of root canal treatments in liver transplant candidates. *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal*. 2013; 18:e773.
- Cheng R, Feng Y, Zhang R, et al. The extent of pyroptosis varies in different stages of apical periodontitis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2018; 1864:226-237.

- Cintra LTA, da Silva Facundo AC, Azuma MM, et al. Pulpal and periodontal diseases increase triglyceride levels in diabetic rats. *Clinical Oral Investigations*. 2013a; 17:1595-1599.
- Cintra LTA, da Silva Facundo AC, Prieto AK, et al. Blood profile and histology in oral infections associated with diabetes. *Journal of Endodontics*. 2014a; 40:1139-1144.
- Cintra LTA, Facundo ACS, Valentim D, et al. Effect of oral infections on serum creatinine levels in diabetic rats. *International Journal of Diabetology & Vascular Disease Research*. 2013b; 1:1-6.
- Cintra LTA, Samuel RO, Azuma MM, et al. Apical periodontitis and periodontal disease increase serum IL-17 levels in normoglycemic and diabetic rats. *Clinical Oral Investigations*. 2014b; 18:2123-2128.
- Cintra LTA, Samuel RO, Azuma MM, et al. Multiple apical periodontitis influences serum levels of cytokines and nitric oxide. *Journal of Endodontics*. 2016; 42:747-751.
- Conti LC, Segura-Egea JJ, Cardoso C, et al. Relationship between apical periodontitis and atherosclerosis: Lipid profile and histological study. *International Endodontic Journal*. 2020; 53:1387-1397.
- Cosme-Silva L, Benetti F, Dal-Fabbro R, et al. Biocompatibility and biomineralization ability of Bio-C Pulpsecto. A histological and immunohistochemical study. *International Journal of Paediatric Dentistry*. 2019; 29:352-60.
- Demoersman J, Pochard P, Framery C, et al. B cell subset distribution is altered in patients with severe periodontitis. *PLoS One*. 2018; 13:e0192986.
- Dinarello CA, Novick D, Kim S, Kaplanski GG. Interleukin-18 and IL-18 binding protein. *Frontiers in Immunology*. 2013; 4:289.
- Dinarello CA. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Annual Review Immunology*. 2009; 27:519–550.
- Ding LY, Liang LZ, Zhao YX, et al. Porphyromonas gingivalis-derived lipopolysaccharide causes excessive hepatic lipid accumulation via activating NF- κ B and JNK signaling pathways. *Oral Disease*. 2019; 25:1789-1797.
- Domenicali M, Caraceni P, Giannone F, et al. A novel model of CCl₄-induced cirrhosis with ascites in the mouse. *Journal of Hepatology*. 2009; 51:991-9.
- Faggioli F, Palagano E, Di Tommaso L, et al. B lymphocytes limit senescence-driven fibrosis resolution and favor hepatocarcinogenesis in mouse liver injury. *Hepatology*. 2018; 67:1970-1985.
- Fouad AF. IL1 α and TNF α expression in early periapical lesions of normal and immunodeficient mice. *Journal Dental Research* 1997; 76:1548–54.
- Friedman SL. Liver fibrosis—from bench to bedside. *Journal of Hepatology*. 2003; 38:38-53.
- Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *Journal of Biological Chemistry*. 2000; 275:2247-2250.
- Furusho H, Miyauchi M, Hyogo H, et al. Dental infection of Porphyromonas gingivalis exacerbates high fat diet-induced steatohepatitis in mice. *Journal of Gastroenterology*. 2013; 48:1259-70.

- Gama TGV, Piris FR, Armada L, Gonçalves LS. Cellular profile and expression of immunologic markers in chronic apical periodontitis from hiv-infected patients undergoing highly active antiretroviral therapy. *Journal of Endodontics*. 2016; 42:921-927.
- Grønkjær LL, Holmstrup P, Schou S, et al. Presence and consequence of tooth periapical radiolucency in patients with cirrhosis. *Hepatic Medicine*. 2016; 8:97-103.
- Hajime Sasaki, Linda Hou, Anita Belani, Cun-Yu Wang, Toru Uchiyama, Ralph Müller, Philip Stashenko; IL-10, But Not IL-4, Suppresses Infection-Stimulated Bone Resorption In Vivo. *Journal of Immunology*. 2000; 165: 3626–3630.
- Harvey SAK, Dangi A, Tandon A, et al. The transcriptomic response of rat hepatic stellate cells to endotoxin: Implications for hepatic inflammation and immune regulation. *PLoS One*. 2013; 8:e82159.
- Horwood NJ, Elliott J, Martin TJ, Gillespie MT. IL-12 alone and in synergy with IL-18 inhibits osteoclast formation in vitro. *Journal of Immunology*. 2001; 166:4915–4921.
- Huss S, Schmitz J, Goltz D, Fischer HP, Büttner R, Weiskirchen R. Development and evaluation of an open source Delphi-based software for morphometric quantification of liver fibrosis. *Fibrogenesis Tissue Repair*. 2010; 3:10.
- Jiang W, Lv H, Wang H, et al. Activation of the NLRP3/caspase-1 inflammasome in human dental pulp tissue and human dental pulp fibroblasts. *Cell and Tissue Research*. 2015; 361:541–555.
- Kara E, Coşkun T, Kaya Y, et al. Effects of silymarin and pentoxifylline on matrix metalloproteinase-1 and -2 expression and apoptosis in experimental hepatic fibrosis. *Current Therapeutic Research, Clinical and Experimental*. 2008; 69:488–502.
- Kawai T, Matsuyama T, Hosokawa Y, et al. B and T lymphocytes are the primary sources of RANKL in the bone resorptive lesion of periodontal disease. *American Journal of Pathology* 2006; 169:987–998.
- Knorr J, Kaufmann B, Inzaugarat ME, et al. Interleukin-18 signaling promotes activation of hepatic stellate cells in mouse liver fibrosis. *Hepatology*. 2023; 77:1968-1982.
- Kotsiliti E, Leone V, Schuehle S, et al. Intestinal B cells license metabolic T-cell activation in NASH microbiota/antigen-independently and contribute to fibrosis by IgA-FcR signalling. *Journal of Hepatology*. 2023; 79:296-313.
- Kountouras J, Billing BH, Scheuer PJ. Prolonged bile duct obstruction: a new experimental model for cirrhosis in the rat. *British Journal of Experimental Pathology*. 1984; 65:305–311.
- Lamkanfi M, Dixit VM. Mechanisms and functions of inflammasomes. *Cell*. 2014; 157:1013–1022.
- Leng S, Xu W, Wu L, et al. NLRP3 Disturbs Treg/Th17 Cell Balance to Aggravate Apical Periodontitis. *Journal of Dental Research*. 2023; 102:656-666.
- Lertchirakarn V, Birner R, Messer HH. Effects of interleukin-1 beta on human pulpal fibroblast proliferation and collagen synthesis. *Journal of Endodontics*. 1998; 24:409-413.
- Li H, Zhong X, Chen Z, Li W. Suppression of NLRP3 inflammasome improves alveolar bone defect healing in diabetic rats. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. 2019; 14:167.

- Lukić A, Vasilijić S, Majstorović I, et al. Characterization of antigen-presenting cells in human apical periodontitis lesions by flow cytometry and immunocytochemistry. *International Endodontic Journal*. 2006; 39:626-636.
- MacDonald JA. Inflammasomes: Intracellular mediators of immune defense. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2019; 670:1-3.
- Mangan MSJ, Olhava EJ, Roush WR, et al. Targeting the NLRP3 inflammasome in inflammatory diseases. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2018; 17:588–606.
- Marchesan JT, Girnary MS, Moss K, et al. Role of inflammasomes in the pathogenesis of periodontal disease and therapeutics. *Periodontology 2000*. 2020; 821:93-114.
- Martinho FC, Chiesa WM, Leite FR, et al. Correlation between clinical/radiographic features and inflammatory cytokine networks produced by macrophages stimulated with endodontic content. *Journal of Endodontics*. 2012; 38:740–745.
- Meng F, Wang K, Aoyama T, et al. IL-17 signaling in inflammatory cells, Kupffer cells and Hepatic Stellate cells exacerbates liver fibrosis. *Gastroenterology*. 2012; 143:765-776.
- Mester A, Ciobanu L, Taulescu M, et al. Periodontal disease may induce liver fibrosis in an experimental study on Wistar rats. *Journal Periodontology*. 2019; 90:911-919.
- Miyauchi M, Takata T, Ito H, et al. Immunohistochemical demonstration of prostaglandins E2, F2 alpha, and 6-ketoprostaglandin F1 alpha in rat dental pulp with experimentally induced inflammation. *Journal of Endodontics*. 1996; 22:600–602.
- Morsani JM, Aminoshariae A, Han YW, et al. Genetic predisposition to persistent apical periodontitis. *Journal of Endodontics*. 2011; 37:455–459.
- Nakahara T, Hyogo H, Ono A, et al. Involvement of *Porphyromonas gingivalis* in the progression of non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Gastroenterol*. 2018; 53:269-280.
- Ng YL, Mann V, Rahbaran S, et al. Outcome of primary root canal treatment: systematic review of the literature -- part 2. Influence of clinical factors. *International Endodontic Journal*. 2008; 41:6–31.
- Orozco A, Gemmell E, Bickel M, Seymour GJ. Interleukin-1beta, interleukin-12 and interleukin-18 levels in gingival fluid and serum of patients with gingivitis and periodontitis. *Oral Microbiology and Immunology*. 2006; 21:256–260.
- Reiter FP, Wimmer R, Wottke L, et al. Role of interleukin-1 and its antagonism of hepatic stellate cell proliferation and liver fibrosis in the *Abcb4(-/-)* mouse model. *World Journal of Hepatology*. 2016; 8:401–410.
- Sacchi P, Cima S, Corbella M, et al. Liver fibrosis, microbial translocation and immune activation markers in HIV and HCV infections and in HIV/HCV co-infection. *Diagnosis of Liver Disease*. 2015; 47:218-225.
- Samuel RO, Ervolino E, de Azevedo Queiroz ÍO, et al. Th1/Th2/Th17/Treg balance in apical periodontitis of normoglycemic and diabetic rats. *Journal of Endodontics*. 2019; 45:1009-1015.
- Sasaki H, Balto K, Kawashima N, et al. Gamma Interferon (IFN- γ) and IFN- γ -Inducing cytokines Interleukin-12 (IL-12) and IL-18 Do not augment infection-stimulated bone resorption in vivo. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 2004; 11:106-110.

- Scholten D, Trebicka J, Liedtke C, Weiskirchen R. The carbon tetrachloride model in mice. *Lab Animal*. 2015; 49:4-11.
- Silva ACO, Faria MR, Fontes A, Campos MS, Cavalcanti BN. Interleukin-1 beta and Interleukin-8 in healthy and inflamed dental pulps. *Journal of Applied Oral Science*. 2009; 17:527-532.
- Sirica AE, Williams TW. Appearance of ductular hepatocytes in rat liver after bile duct ligation and subsequent zone 3 necrosis by carbon tetrachloride. *The American Journal of Pathology*. 1992; 140:129.
- Spahr L, Garcia I, Bresson-Hadni S, et al. Circulating concentrations of interleukin-18, interleukin-18 binding protein, and gamma interferon in patients with alcoholic hepatitis. *Liver International*. 2004; 24:582–587.
- Starkel P, Leclercq IA. Animal models for the study of hepatic fibrosis. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. 2011; 25:319–333.
- Stashenko P, Teles R, De Souza R. Periapical inflammatory responses and their modulation. *Critical Review of Oral Biology and Medicine*. 1998; 9:498-521.
- Stashenko P. The role of immune cytokines in the pathogenesis of periapical lesions. *Endodontics & Dental Traumatology* 1990; 6:89–96.
- Sun M, Kisseleva T. Reversibility of liver fibrosis. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*. 2015; 39:60-63.
- Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell*. 2010; 140:805–820.
- Tani-Ishii N, Wang CY, Stashenko P. Immunolocalization of bone-resorptive cytokines in rat pulp and periapical lesions following surgical pulp exposure. *Oral Microbiology and Immunology*. 1995; 10:213–219.
- Tsutsui T, Matsui K, Okamura H, Nakanishi K. Pathophysiological roles of interleukin-18 in inflammatory liver diseases. *Immunological Reviews*. 2000; 174:192–209.
- Wree A, Eguchi A, McGeough MD, et al. NLRP3 inflammasome activation results in hepatocyte pyroptosis, liver inflammation, and fibrosis in mice. *Hepatology*. 2014; 59:898–910.
- Wree A, McGeough MD, Inzaugarat ME, et al. NLRP3 inflammasome driven liver injury and fibrosis: Roles of IL-17 and TNF in mice. *Hepatology*. 2018; 67:736-749.
- Xiong H, Wei L, Peng B. IL-17 stimulates the production of the inflammatory chemokines IL-6 and IL-8 in human dental pulp fibroblasts. *International Endodontic Journal*. 2015; 48:505–11.
- Xue F, Shu R, Xie Y. The expression of NLRP3, NLRP1 and AIM2 in the gingival tissue of periodontitis patients: RT-PCR study and immunohistochemistry. *Archives Oral Biology*. 2015; 60:948-958.
- Yaping Z, YingW, Luqin D, et al. Mechanism of interleukin-1 β -induced proliferation in rat hepatic stellate cells from different levels of signal transduction. *Journal of Pathology, Microbiology and Immunology*. 2014; 122:392–398.
- Yasuda K, Nakanishi K, Tsutsui H. Interleukin-18 in health and disease. *International journal of molecular sciences* 2019; 20:649.

Yoshimoto T, Min B, Sugimoto T, et al. Non redundant roles for CD1d-restricted natural killer T cells and conventional CD4⁺ T cells in the induction of immunoglobulin E antibodies in response to interleukin 18 treatment of mice. *Journal of Experimental Medicine*. 2003; 197:997–1005.

Zeng Y, Wang L, Liu L, et al. The Potential Immunomodulatory Roles of Semaphorin 4D in Human Periapical Lesions. *Journal of Endodontics*. 2023; 49:62-68.

Zhang J, Huang X, Lu B, et al. Can apical periodontitis affect serum levels of CRP, IL-2, and IL-6 as well as induce pathological changes in remote organs? *Clinical oral investigations*. 2016; 20:1617-1624.

Zimmermann HW, Tacke F. Modification of chemokine pathways and immune cell infiltration as a novel therapeutic approach in liver inflammation and fibrosis. *Inflammation & Allergy-Drug Targets*. 2011; 10:509–536.

Zouali M. The emerging roles of B cells as partners and targets in periodontitis. *Autoimmunity*. 2017; 50:61–70.