



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba

MARISSA GERETTI TIMPURIM SILVA

**ANÁLISE DA INFLAMAÇÃO DO TECIDO CARDÍACO DE
RATOS COM PERIODONTITE APICAL INDUZIDA SOB
SUPLEMENTAÇÃO COM CIANIDINA-3-GLICOSÍDEO.**

Araçatuba - SP
2025

MARISSA GERETTI TIMPURIM SILVA

**ANÁLISE DA INFLAMAÇÃO DO TECIDO CARDÍACO DE
RATOS COM PERIODONTITE APICAL INDUZIDA SOB
SUPLEMENTAÇÃO COM CIANIDINA-3-GLICOSÍDEO.**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Universidade Estadual
Paulista (UNESP), Faculdade de
Odontologia de Araçatuba, para obtenção
do título de Cirurgiã-Dentista.

Orientador: Prof. Dr. João Eduardo Gomes
Filho.

À minha mãe, Célia, que não teve muitas oportunidades na vida, mas lutou incansavelmente para que suas filhas pudessem tê-las. Este trabalho é, sem dúvida, o reflexo do seu sacrifício, da sua força e da sua fé inabalável.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me sustentar quando as minhas forças pareciam não bastar, por cuidar de cada detalhe da minha história, nas portas que se abriram e nas que se fecharam, pude sentir Sua sabedoria preparando algo maior do que eu era capaz de sonhar. Se hoje cheguei até aqui, é porque, em nenhum momento, caminhei sozinha.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, na pessoa do diretor da Faculdade de Odontologia de Araçatuba Prof. Alberto Carlos Botazzo Delbem e vice-diretor Prof. Luciano Tavares Ângelo Cintra, por ter sido casa durante tantos anos, onde pude crescer e aprender entre os melhores, um lugar que inspira para além da vida acadêmica, levo seu nome em minha história com muito orgulho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa de pesquisa (processo 136774/2024-5) fundamental para execução e desenvolvimento do projeto.

Ao meu orientador, Prof. Dr. João Eduardo Gomes Filho, por ter me aceitado em seu time de pesquisa e me proporcionar viver essa nova e enriquecedora experiência. Sua empatia e notável compreensão, demonstradas em palavras de encorajamento, são admiráveis e inspiram seus alunos a acreditarem em seu próprio potencial. Um professor admirável que consegue extrair o melhor de cada um e nos ensina sobre a vida.

Ao Prof. Celso Koogi Sonoda, por ter aceitado o convite para compor minha banca. Mais do que um exemplo de profissionalismo e competência, é um verdadeiro exemplo de ser humano. A forma como trata cada aluno, sempre com atenção e respeito ao compartilhar sua vasta experiência, torna as clínicas um ambiente mais leve, acolhedor e inspirador.

À Julissa Denisse Arguello Alvarado, você foi, sem dúvida, a pessoa que mais me ajudou na realização deste trabalho, eu não teria conseguido sem o seu apoio. Admiro sua determinação, estar tão longe da família e de casa para realizar seus sonhos sozinha requer muita força e coragem. Espero que sua inteligência brilhe de Honduras para o mundo todo. Você, o **Romulo** e a **Bharbara** trouxeram leveza para os dias cansativos, obrigada por toda paciência, disponibilidade e pelos inúmeros ensinamentos que compartilharam comigo.

À minha família, composta por três mulheres, **Célia**, **Maiara** e **Maisa**, das quais eu me orgulho em chamar de mãe e irmãs, meus pilares e minha maior fonte de inspiração. Quando pequena, vi minhas irmãs saírem de casa para faculdade, a saudade apertava, mas havia algo maior: a admiração pela inteligência delas e o orgulho nos olhos da minha mãe, ali entendi o poder do exemplo e me inspirei a seguir o mesmo caminho. Se hoje, cheguei até aqui foi porque tive vocês como espelho, base e referência. Obrigada pelo amor, por cada batalha e por sempre acreditarem em mim.

Aos amigos de graduação, ao longo destes quase seis anos, erramos e aprendemos juntos, fomos a família um do outro, compartilhamos momentos difíceis e felizes, a rotina exaustiva se tornou mais leve na companhia de vocês. Tentamos aproveitar cada momento, pois o caminho é tão precioso quanto a chegada. Portanto, obrigada por dividirem a caminhada comigo.

Ao apartamento 21, onde compartilhamos não apenas nossos dias, mas sorrisos, lágrimas, incertezas, conquistas e a vida. Entre as risadas no sofá da sala, conversas na cozinha e os desabafos no quarto, **Sabrina** e **Mariana** me ensinaram que laços genuínos não são feitos somente por sangue. Deixar minha família não foi fácil, mas, por sorte, o destino me presenteou com duas irmãs, como as que eu já tinha em casa, mas desta vez com a mesma idade e os mesmos sonhos. Com vocês, não houve um dia em que eu me senti só. Obrigada!

Ao meu namorado, o meu descanso nos dias pesados, a calma para as minhas preocupações e o abraço que acalenta a alma. **Kauã Felipe**, obrigada por me fazer sorrir mesmo quando o cansaço parecia me vencer e por estar sempre ao meu lado, seu carinho, paciência e apoio foram essenciais para essa conquista que carrega muito de mim, mas também muito de você.

“Minha mãe nunca me deu qualquer ideia de que eu não poderia fazer ou ser o que quisesse (...) eu não sei se ela chegou a perceber que a pessoa que eu mais queria ser era ela.”

- Gilmore Girls

RESUMO

SILVA, M. T. G. **Análise da inflamação do tecido cardíaco de ratos com periodontite apical induzida sob suplementação com cianidina-3-glicosídeo.** 2025. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2025.

A saúde bucal está intimamente ligada à regulação da saúde sistêmica, e a periodontite apical (PA) tem sido associada à disseminação bacteriana e ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Diante disso, a busca por agentes capazes de modular a inflamação tornou-se essencial. Entre os polifenóis com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, a Cianidina-3-glicosídeo (C3G) permanece pouco explorada. Este estudo avaliou o efeito da suplementação com C3G no desenvolvimento da PA e seu possível efeito cardioprotetor em ratos Wistar. Dezesesseis animais foram divididos em dois grupos: Controle (C), suplementado com água, e C3G, suplementado com Cianidina-3-glicosídeo. A suplementação foi administrada diariamente via gavagem no período da manhã (4,28 mL/kg) por 45 dias, com indução da PA no 15º dia, nos molares superiores e inferiores. Após a eutanásia, foram realizadas análises histológicas das mandíbulas e do tecido cardíaco, além da avaliação do estado redox por meio dos marcadores PT, TOC, TBARS, FRAP, SOD e CAT. Os dados foram analisados estatisticamente no GraphPad PRISM8 ($p < 0,05$). Os resultados indicaram que o grupo C3G apresentou menor infiltrado inflamatório na região periapical e no tecido cardíaco comparado ao grupo C ($p < 0,05$). Além disso, houve aumento significativo nos níveis de FRAP, SOD e CAT no grupo C3G ($p < 0,05$), enquanto TOC e TBARS não diferiram entre os grupos ($p = 0,05$). Conclui-se que a suplementação com C3G reduziu a inflamação induzida pela PA e melhorou os parâmetros antioxidantes no tecido cardíaco.

Palavras-chave: periodontite apical; coração; estresse oxidativo; cianidina.

ABSTRACT

SILVA, M. T. G. **Analysis of cardiac tissue inflammation in rats with induced apical periodontitis under supplementation with cyanidin 3-glycoside.** 2025. Bachelor's Degree Thesis (Graduation) – School of Dentistry, São Paulo State University (UNESP), Araçatuba, 2025.

Oral health is closely linked to the regulation of systemic health, and apical periodontitis (AP) has been associated with bacterial dissemination and the development of cardiovascular diseases. Therefore, the search for agents capable of modulating inflammation has become essential. Among the polyphenols with antioxidant and anti-inflammatory properties, Cyanidin-3-glucoside (C3G) remains little explored. This study evaluated the effect of C3G supplementation on the development of AP and its possible cardioprotective effect in Wistar rats. Sixteen animals were divided into two groups: Control (C), supplemented with water, and C3G, supplemented with Cyanidin-3-glucoside. Supplementation was administered daily via gavage in the morning (4.28 mL/kg) for 45 days, with AP induction on the 15th day, in the upper and lower molars. After euthanasia, histological analyses of the mandibles and cardiac tissue were performed, in addition to evaluation of the redox status using the PT, TOC, TBARS, FRAP, SOD and CAT markers. The data were statistically analyzed in GraphPad PRISM8 ($p < 0.05$). The results indicated that the C3G group presented less inflammatory infiltrate in the periapical region and cardiac tissue compared to the C group ($p < 0.05$). Furthermore, there was a significant increase in the levels of FRAP, SOD and CAT in the C3G group ($p < 0.05$), while TOC and TBARS did not differ between the groups ($p = 0.05$). It is concluded that supplementation with C3G reduced PA-induced inflammation and improved antioxidant parameters in cardiac tissue.

Keywords: Apical periodontitis; heart; oxidative stress; cyanidin.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Gráfico e prancha de dados histológicos da periodontite apical	22
Figura 2 – Gráfico e prancha de dados histológicos do tecido cardíaco	23
Figura 3 – Gráficos de dados estado redox.	24

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

C	Controle
C3G	Cianidina-3-Glicosídeo
CAT	Catalase
DCV	Doenças Cardiovasculares
DTPA	Ácido dietilenotriaminopentaacético
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
eNOS	Enzima óxido nítrico sintase
FRAP	Poder Antioxidante Redutor Férrico
H&E	Hematoxilina e Eosina
NO	Óxido nítrico
PA	Periodontite Apical
PMSF	Fluoreto de fenilmetanossulfonil
SOD	Superóxido Dismutase
TAC	Capacidade Antioxidante Total
TBARS	Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVO	14
2.1 Objetivos Gerais	14
2.2 Objetivos Específicos	14
3 MATERIAIS E MÉTODOS	15
3.1 Material	15
3.1.1 Animais	15
3.1.2 Cálculo amostral	15
3.2 Métodos	16
3.2.1 Divisão dos grupos	16
3.2.2 Lesão periapical	16
3.2.3 Administração das dietas	16
3.2.4 Coleta das amostras e processamento laboratorial	16
3.3 Forma de análise dos resultados	18
3.3.1 Análise histológica da mandíbula	18
3.3.2 Análise histológica do tecido cardíaco	18
3.3.3 Análise do estado redox do tecido cardíaco por determinação espectrofotométrica	19
3.3.4 Análise estatística	20
4 RESULTADOS	21
4.1 Análise histológica	21
4.2 Análise do estado redox do tecido cardíaco por determinação espectrofotométrica	22
5 DISCUSSÃO	24
6 CONCLUSÃO	27
REFERÊNCIAS	28

1 INTRODUÇÃO

As doenças cardíacas são a principal causa de morte em nível global (Roth *et al.*, 2020). Sabe-se que as doenças cardiovasculares (DCV) se originam devido à disfunção inflamatória endotelial sob influência de fatores de risco como idade, tabagismo, hipertensão, dislipidemia, diabetes e sedentarismo (Muller *et al.*, 2000).

Nas últimas décadas, há relatos da combinação de mecanismos fisiopatológicos, como as infecções crônicas, por exemplo a periodontite apical (PA), pode incitar eventos cardiovasculares agudos como infarto do miocárdio, fibrilação ventricular e doença arterial coronariana (Zhang *et al.*, 2016; Virtanen *et al.*, 2017; Noites *et al.*, 2022; Conti *et al.*, 2020).

A PA é uma inflamação crônica dos tecidos ao redor da raiz do dente, causada por um processo infeccioso persistente e não tratado no sistema de canais radiculares. Esta infecção contínua resulta na liberação de bactérias e seus subprodutos tóxicos para a região apical do dente, estimulando assim a resposta imunológica do hospedeiro. A interação entre esses fatores microbianos e as defesas do organismo resulta na reabsorção óssea característica da PA (Goldman *et al.*, 2021; Kakehashi *et al.*, 1965). Esta resposta imunológica à patogênese da PA causa a comunicação entre células de defesa e mediadores inflamatórios através da corrente sanguínea (Galler *et al.*, 2021; Petean *et al.*, 2022). A teoria da infecção focal conclui que a periodontite apical pode transportar substâncias microbianas solúveis, mediadores inflamatórios e fatores hemostáticos do canal radicular para o ambiente sistêmico, onde podem se instalar em órgãos e tecidos, causando disseminação infecciosa que compromete a saúde do indivíduo (Li *et al.*, 2000; Niazi *et al.*, 2022). Essa disseminação pode ocorrer devido à ausência de uma barreira epitelial entre o tecido granulomatoso altamente vascular presente nas infecções periapicais e o sistema circulatório.

Estudos anteriores indicam uma possível relação entre PA e DCV (An *et al.*, 2016; Liljestrand *et al.*, 2016); um estudo realizado por Cotti *et al.* (2011) demonstrou que a presença de PA afeta a homeostase sanguínea com o aumento dos níveis séricos de mediadores inflamatórios e o desequilíbrio do estado redox do organismo, resultando em aumento na produção de radicais livres e atividade antioxidante insuficiente (Zhang *et al.*, 2016; Vengerfeldt *et al.*, 2017). Os radicais livres se difundem na corrente sanguínea, oxidando biomoléculas e causando estresse

oxidativo sistêmico, reduzindo enzimas de defesa como a Catalase (CAT) e a superóxido dismutase (SOD) (Barcelos *et al.*, 2020; Sehirli *et al.*, 2019), o que leva à diminuição da capacidade do organismo de eliminar radicais livres e, com o tempo, pode danificar tecidos e órgãos distantes, causando doenças como as DCV (Milojevic *et al.*, 2021).

As antocianinas são pigmentos flavonoides presentes em frutas, verduras e grãos de cor roxa ou vermelha, sendo a cianidina-3-glicosídeo (C3G) a mais abundante e amplamente distribuída. Relata-se que este composto tem efeitos antibacterianos e anti-inflamatórios, neutralizando o aparecimento e a progressão de doenças não transmissíveis, como as DCV (Shan X *et al.*, 2021; Mattioli *et al.*, 2020). Foi demonstrado que esta antocianina é capaz de prevenir a disfunção endotelial, preservando a atividade da enzima óxido nítrico sintase (eNOS) e a biodisponibilidade do óxido nítrico (NO), uma molécula-chave na regulação da função vascular, prevenindo a hipertrofia cardíaca e a disfunção diastólica (Aloud BM *et al.*, 2018). Além disso, a C3G possui propriedades antioxidantes devido à sua capacidade de eliminar radicais livres e sua ação sobre a sinalização de citocinas inflamatórias (Milojevic *et al.*, 2021).

É importante notar que a C3G também é capaz de regular o metabolismo ósseo, promovendo a proliferação de osteoblastos em locais de mineralização, mRNA de osteocalcina e níveis de proteína (Hu *et al.*, 2021).

Assim, devido às propriedades osteomodeladoras e cardioprotetoras descritas anteriormente do composto C3G, e considerando que até o momento não há estudos relacionando o consumo de C3G com a endodontia, sua possível ação no desenvolvimento da PA e sua capacidade de modular a resposta inflamatória sistêmica, evitando o dano oxidativo no tecido cardíaco, a hipótese nula deste projeto será que a administração de cianidina-3-glicosídeo permitirá inflamação e reabsorção óssea durante o desenvolvimento da PA, causando alteração no estado redox cardíaco em ratos.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Analisar e comparar a influência da suplementação com C3G em ratos no desenvolvimento da PA e seu possível efeito cardioprotetor por meio do perfil inflamatório e estado redox.

2.2 Objetivos Específicos

- a) Analisar o perfil inflamatório das lesões periapicais e cardíacas em ratos Wistar, através de análise histológica em Hematoxilina & Eosina (H&E);
- b) Analisar e quantificar o estado redox através do marcador capacidade antioxidante total (FRAP), bem como a atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) no homogeneizado do tecido cardíaco.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Material

3.1.1 Animais

Os procedimentos experimentais propostos neste estudo foram submetidos ao comitê de ética no uso de animais em experimentação e somente realizados após sua aprovação.

Foram utilizados ao todo 16 ratos machos (*Rattus albinus*, Wistar), pesando aproximadamente 250g. Os animais foram mantidos em mini-isoladores (Alesco-Monte Mor, São Paulo, Brasil) com temperatura entre 22 e 24°C com ciclo de luz controlada (12 horas claro e 12 horas escuro), foram alimentados durante todo o período experimental com dieta sólida e água “ad libitum”, exceto nas primeiras 24 horas após intervenção.

Para anestesia dos animais foi utilizado, via intramuscular, um sedativo a base de xilazina a 2% (Dopasere, Calier S.A - Barcelona, Espanha - 10mg/kg) e um anestésico à base de cloridrato de quetamina a 10% (Vetanarcol, König S.A.-Avellaneda, Argentina- 80mg/kg).

Para eutanásia foi utilizado o Tiopental Sódico (Thiopentax® Cristália – Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda – Itapira, SP, Brasil- 150mg/kg) e o anestésico Cloridrato de Lidocaína 20mg/ml (Novafarma Indústria Farmacêutica Ltda – Anápolis, GO, Brasil - 10mg/Kg), ambos pela via intraperitoneal.

3.1.2 Cálculo amostral

O tamanho da amostra foi calculado com base em outros estudos que usaram metodologia semelhante (Cintra *et al.*, 2016; Dal Fabbro *et al.*, 2021; Cosme-Silva *et al.*, 2021), considerando um erro alfa de 0,5% e poder de 95% para reconhecer uma diferença, foi considerado necessário um mínimo de sete animais por grupo. Não obstante, devido a extensão do experimento e ciente das possíveis complicações, foi

incluído um animal adicional em cada grupo, resultando num total de oito animais por grupo.

3.2 Métodos

3.2.1 Divisão dos grupos

Dezesseis animais foram utilizados e divididos em dois grupos Controle (C) e Cianidina-3-glicosídeo (C3G). Cada grupo composto por oito animais.

3.2.2 Lesão periapical

A indução da lesão foi feita sob efeito de anestesia geral como descrito anteriormente, primeiros e segundos molares superiores e inferiores do lado direito foram expostos ao meio oral com auxílio de broca em aço carbono (Broca Ln Long Neck - Maillefer, Dentsply) com 0,5mm de diâmetro, assim, todas as exposições pulpares foram padronizadas (Cintra *et al.*, 2016). A lesão foi analisada após 30 dias da indução.

3.2.3 Administração das dietas

Foi administrado o composto cianidina-3-glicosídeo diariamente pela manhã, uma solução aquosa será preparada contendo 2,3mg/L dissolvido em 2 ml de álcool e misturado com 998 ml de água destilada, num volume de 4,28 mL/kg de peso corporal dos animais (Schmatz *et al.*, 2012; Dal Fabbro *et al.*, 2021). Para o grupo controle (C), água potável esterilizada, no mesmo volume anteriormente descrito foi administrada para simular o estresse sofrido pelos outros animais. A solução foi administrada por quinze dias antes da indução da lesão periapical e prolongada por mais trinta dias.

3.2.4 Coleta das amostras e processamento laboratorial

Decorridos os 30 dias da indução da lesão periapical, os animais foram anestesiados, conforme o protocolo descrito anteriormente e eutanasiados com sobredose de anestésico, após a eutanásia, as mandíbulas direitas e o coração de cada animal foram coletados (Cintra *et al.*, 2016).

As mandíbulas direitas foram fixadas em solução formalina a 10%, tamponada com pH neutro, durante 24 horas e depois lavadas em água corrente por 12 horas. Após a fixação, foram desmineralizadas em solução de EDTA 10%, lavadas em água corrente, desidratadas em álcool, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. As amostras do tecido cardíaco foram fixadas em formaldeído a 10%, tamponada com pH neutro, durante 24 horas lavadas em água corrente por 12 horas e embebidas em parafina. Após inclusão, foram obtidos cortes semi-seriados com 5 µm de espessura, realizados em micrótomo (Leica - RM 2045). Para a técnica de coloração, os cortes foram desparafanizados em xilol, reidratados em série crescente de etanol e lavados em água corrente. Em seguida, para a coloração de HE, corados em solução de Hematoxilina de Harris, lavados em água corrente, imersos em solução de Eosina e novamente lavados em água corrente. Posteriormente, os cortes foram desidratados em série crescente de etanol, diafanizados em xilol e as lâminas montadas em Permunt (Gomes-Filho *et al.*, 2015).

O coração dos animais foi retirado, enxaguado com solução salina fisiológica e retirado qualquer tecido (Oliveira *et al.*, 2023). Foi excisado e dividido em duas partes aleatórias. Para a análise de redox uma das partes do tecido foi transferida para um eppendrof de 2 mL e congelado em nitrogênio líquido e armazenadas a -80 °C (Oliveira *et al.*, 2023). Já para a análise histopatológica, a outra metade do tecido foi fixada em solução formalina a 10%, tamponada com pH neutro, durante 24 horas e depois lavadas em água corrente por 12 horas. Em seguida desidratadas em álcool, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Após inclusão, foram obtidos cortes semi-seriados com 5 µm de espessura, realizados em micrótomo (Leica - RM 2045) para montagem de lâminas para análise de Hematoxilina & Eosina (H&E). Para análise histopatológica, os cortes das lâminas foram desparafanizados em xilol, reidratados em série crescente de etanol e lavados em água corrente. Em seguida, para a coloração de H&E, corados em solução de Hematoxilina de Harris, lavados em água corrente, imersos em solução de Eosina e novamente lavados em água corrente.

Posteriormente, os cortes foram desidratados em série crescente de etanol, diafanizados em xilol e as lâminas montadas em Permount (Gomes-Filho *et al.*, 2015).

3.3 Forma de análise dos resultados

3.3.1 Análise histológica da mandíbula

A raiz distal do primeiro molar inferior direito foi escolhida para esta análise e servirá para caracterização do perfil inflamatório das lesões periapicais (Gomes-Filho *et al.*, 2015). Foi realizada análise descritiva e qualitativa. As lâminas contendo os cortes representativos de cada espécime foram avaliadas sob a microscopia óptica e utilizadas na análise descritiva. A análise descritiva consistiu na descrição dos fenômenos histopatológicos, procurando caracterizá-los globalmente em função das variáveis experimentais (Gomes-Filho *et al.*, 2015). A análise qualitativa foi realizada por meio da atribuição de escores, graduando as magnitudes dos fenômenos histopatológicos de forma dissociada (Gomes-Filho *et al.*, 2015).

As variáveis estudadas foram: infiltrado inflamatório quanto à sua intensidade e extensão. Foram atribuídos escores para os critérios intensidade e extensão do infiltrado inflamatório empregando programa de imagens específico (Leica QWin Plus - Leica Microsystems, Nussloch – Germany).

A intensidade do processo inflamatório foi analisada na área periapical da raiz distal do primeiro molar inferior direito, em conformidade com o número médio aproximado de células inflamatórias presentes em diferentes campos de um mesmo espécime, examinados em aumento de 400x junto ao periápice dentário (Gomes-Filho *et al.*, 2015). Serão considerados escores:

- 0- Ausente: ou poucas células inflamatórias;
- 1- Leve: até 25 células;
- 2- Moderada: 25-125 células inflamatórias;
- 3- Grave: mais de 125 células.

3.3.2 Análise histológica do tecido cardíaco

A análise histológica foi feita através das secções ao miocárdio com avaliação por exame microscópico de luz de uma seção HE de cada rato de acordo com o estudo de Sehirli *et al.* (2019) segundo a congestão, dissociação de miócitos e inflamação do tecido cardíaco:

- 0- Nenhum;
- 1- Leve;
- 2- Moderado;
- 3- Grave.

3.3.3 Análise do estado redox do tecido cardíaco por determinação espectrofotométrica

Todos os reagentes que foram utilizados para estes ensaios bioquímicos foram obtidos da Sigma-Aldrich, Alemanha/EUA. A absorbância foi medida utilizando um espectrofotômetro UV-vis (U-2000, Hitachi, Japão) e um espectrofotômetro leitor de 19 microplacas (PowerWave 340, BioTek, EUA). Todas as análises foram determinadas em amostras duplicadas e padronizadas para teor de proteína total. A normalização para proteína total permite avaliar diferenças na proporção de analitos bioquímicos presentes nos homogeneizados de tecido cardíaco (Freitas *et al.*, 2023). Para os ensaios bioquímicos foram necessários a realização de homogeneizados do tecido cardíaco. Para isso, as amostras do coração foram descongeladas em gelo e enxaguadas em solução salina gelada (0,9% NaCl, p/v). O Homogeneizador PotterElvehjem (Modelo MA 099®, Marconi, São Paulo, Brasil) foi utilizado para preparar homogenatos a 5% (p/v) em tampão fosfato de potássio 50 mmol/L (pH 7,4) contendo 0,2% (v/v) Triton X-100, ácido dietilenotriaminopentaacético (DTPA) 10 mmol/L e fluoreto de fenilmetanossulfonil 2 mmol/L (PMSF). Os homogenatos foram centrifugados a 10.000 rpm por 10 min a 4 ° C usando uma centrífuga Eppendorf 5810 R (Eppendorf, Hamburgo, Alemanha). O sobrenadante foi coletado, dividido em alíquotas e armazenado a -80 ° C até a determinação dos marcadores bioquímicos (Freitas *et al.*, 2023).

A capacidade antioxidante total (FRAP) foi determinada como relatado por Benzie & Strain (1996), com um ensaio de poder antioxidante redutor férrico. Uma curva padrão

construída a partir de soluções com diversas concentrações de sulfato ferroso foi utilizada para calcular os resultados.

Para escolha dos marcadores bioquímicos baseou-se no estudo anterior de Milojevic *et al.* (2021) da influência da PA no comprometimento da função cardíaca para defesa antioxidante com a utilização superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT). A atividade da SOD foi analisada pelo método descrito por Marklund S & Marklund G (1974), por meio da espectrofotometria (420 nm) medindo a inibição da taxa de autooxidação do pirogalol em 50 mmol/L de tampão Tris-HCl (pH 8,2), contendo 1 mmol/L de DTPA, uma unidade de SOD será definida como a quantidade de enzima necessária para inibir a taxa de autooxidação do pirogalol em 50%. A atividade do CAT foi analisada pelo método descrito por Aebi (1984), por meio da espectrofotometria (240nm) medindo a taxa de decomposição do peróxido de hidrogênio em tampão fosfato de potássio 50 mmol / L (pH 7,0). As unidades de atividade enzimática foram determinadas utilizando o coeficiente de extinção molar de H_2O_2 ($\epsilon_{240} = 0,0394 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Uma unidade de atividade CAT foi definida como a quantidade de enzima necessária para decompor 1 mmol de H_2O_2 por 1 min.

3.3.4 Análise estatística

Foi realizada por meio do programa Graphpad PRISMA⁸, a verificação da distribuição normal das variáveis contínuas quantitativas foi feita pelos testes de normalidade (Shapiro-Wilk). As variáveis que apresentaram distribuição normal foram expressas em média de desvio padrão e aquelas que apresentaram distribuição não normal foram expressas em mediana com valor mínimo e máximo e percentis.

Para os valores quantitativos das análises que seguiram uma distribuição normal foram aplicados o teste t de Student.

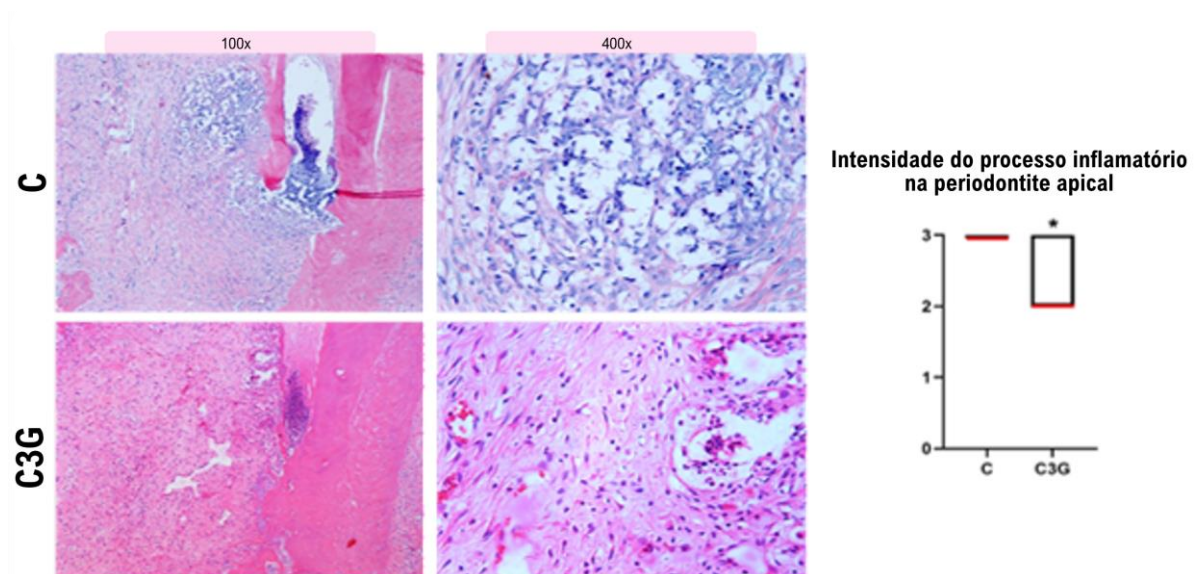
Para as análises histológicas foram atribuídos escores e para os valores quantitativos das análises que não seguiram uma distribuição normal, foi aplicado o teste de Mann-Whitney. O nível de significância aplicado a todos os testes estatísticos foi de 5% ($p < 0,05$).

4 RESULTADOS

4.1 Análise histológica

A análise histológica por coloração com HE, realizada na raiz distal do primeiro molar inferior, revelou diferenças significativas entre os grupos experimentais (Fig. 1). No grupo Controle (C), observou-se necrose total do tecido pulpar, acompanhada por um infiltrado inflamatório periapical extenso, classificado como grave. Em contraste, no grupo tratado com cianidina-3-glicosídeo (C3G), evidenciou-se uma redução significativa do infiltrado inflamatório, que se apresentou com intensidade moderada ($P < 0,05$).

Figura 1 – Gráfico e prancha de dados histológicos da periodontite apical.



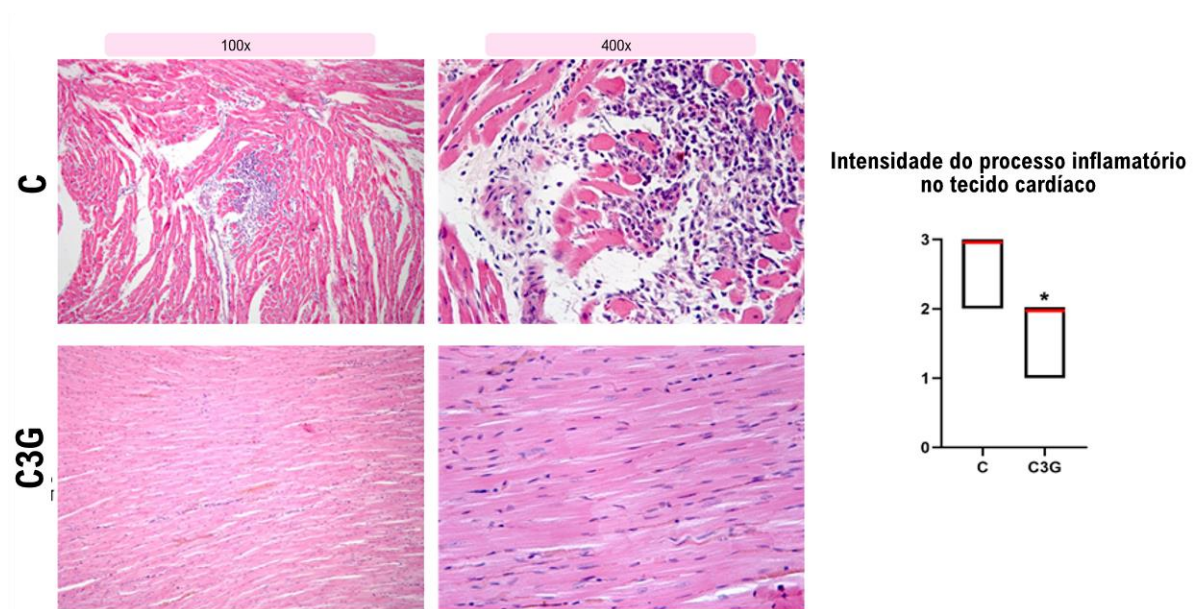
Fonte: Elaborado pelo Autor, 2025

(A) Prancha representativa do infiltrado inflamatório e gráfico da intensidade do processo inflamatório na raiz distal do primeiro molar inferior com as medianas de cada grupo mostrado em vermelho. As diferenças estatísticas são indicadas por símbolos * $p < 0,05$ versus Controle.

Na análise histológica do tecido cardíaco (Fig. 2), obtido aleatoriamente em ratos com periodontite apical, identificaram-se alterações estruturais marcantes no grupo Controle (C), caracterizadas por desorganização das fibras musculares cardíacas, congestão vascular significativa, infiltrado inflamatório abundante e extravasamento de hemácias. Por outro lado, no grupo C3G, observou-se uma recuperação parcial do tecido, com maior organização das fibras musculares, redução

do infiltrado inflamatório para níveis leve-moderados e menor hiperemia nos vasos sanguíneos. Os escores histológicos foram significativamente mais elevados no grupo Controle em comparação com o grupo C3G ($P < 0,05$).

Figura 2 – Gráfico e prancha de dados histológicos do tecido cardíaco.



Fonte: Elaborado pelo Autor, 2025

(B) Prancha representativa do infiltrado inflamatório e gráfico da intensidade do processo inflamatório no tecido cardíaco com as medianas de cada grupo mostrado em vermelho. As diferenças estatísticas são indicadas por símbolos * $p < 0,05$ versus Controle.

4.2 Análise do estado redox do tecido cardíaco por determinação espectrofotométrica

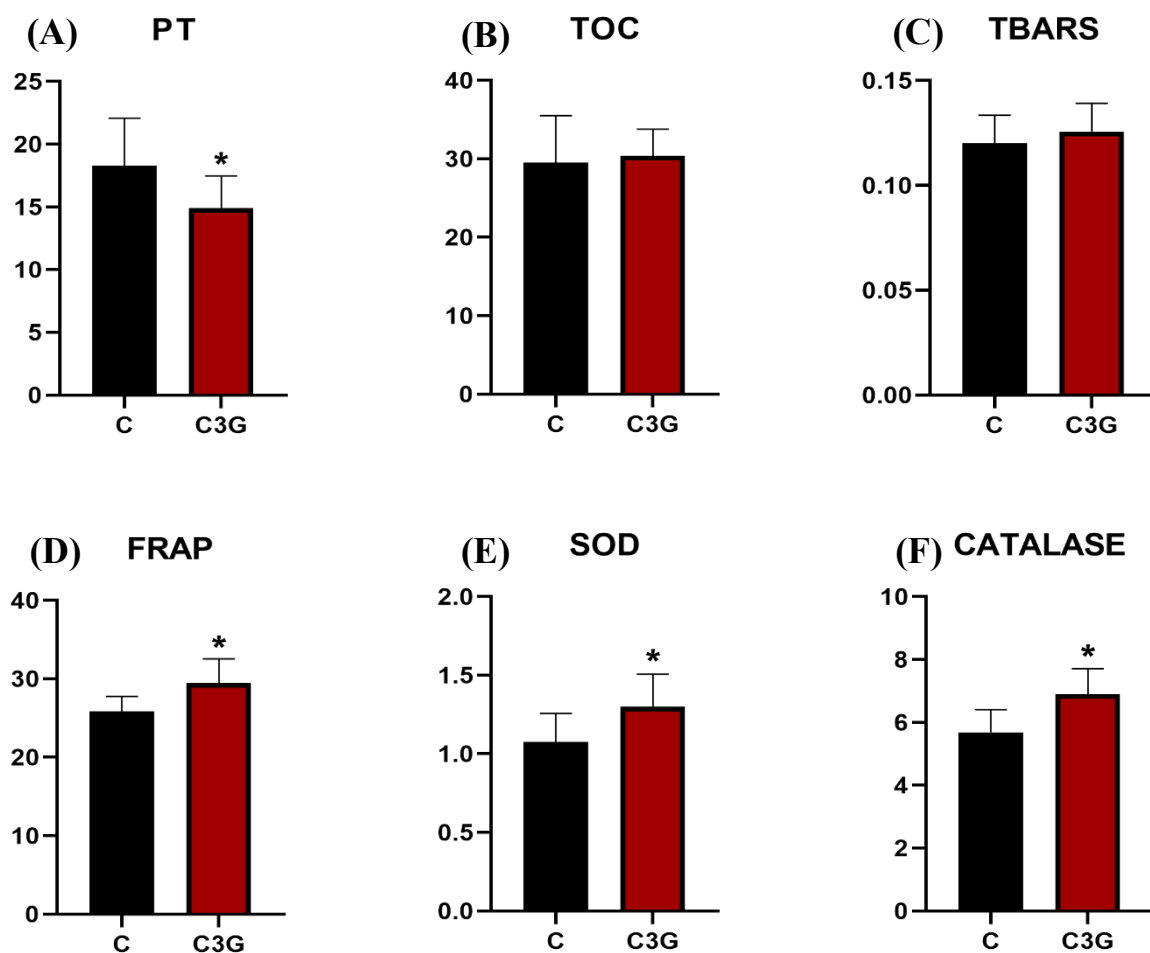
A análise do estado redox do tecido cardíaco revelou um aumento significativo nos níveis de proteína total (PT) no grupo controle (C) em comparação com o grupo tratado com cianidina-3-glicosídeo (C3G) ($p < 0,05$) (Fig. 3A).

Por outro lado, na avaliação da capacidade oxidante total (TOC), não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos analisados ($p = 0,05$) (Fig. 3B). Da mesma forma, os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) não apresentaram variação estatisticamente relevante entre os grupos C e C3G ($p = 0,05$) (Fig. 3C).

Em contrapartida, a capacidade antioxidante total (FRAP) mostrou-se significativamente elevada no grupo C3G em relação ao grupo controle (C) (Fig. 3D), além disso, as atividades das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD) e

catalase (CAT) foram significativamente maiores no grupo C3G em comparação ao grupo C ($p < 0,05$) (Fig. 3E e F).

Figura 3 – Gráficos de dados estado redox.



Fonte: Elaborado pelo Autor, 2025

(C-H) Os gráficos de barras dos parâmetros redox com média e desvio padrão para cada grupo. As diferenças estatísticas são indicadas por símbolos * $p < 0,05$ versus Controle.

5 DISCUSSÃO

Este estudo é o primeiro a avaliar a influência da cianidina-3-glicosídeo no infiltrado inflamatório cardíaco causado pela progressão da periodontite apical induzida (Sehirli et al., 2019) e do estresse oxidativo do tecido cardíaco em ratos. Os resultados obtidos revelaram uma diminuição do infiltrado inflamatório tanto no tecido cardíaco, quanto na PA, além de melhorar os parâmetros antioxidantes que foram avaliados no homogeneizado do tecido cardíaco, rejeitando, assim, a hipótese nula.

O modelo animal é comumente utilizado em pesquisas devido a facilidade de manejo e características biológicas semelhantes à dos humanos (Granzotto et al., 2019, Nagendrababu et al., 2021). Esse modelo permite estudos in vivo para investigar como lesões em uma área específica podem afetar órgãos distantes, além de possibilitar experimentos controlados, minimização de variáveis e análises mais detalhadas (Tavares et al., 2017; Sehirli et al., 2019; Cintra et al., 2021). As condições padronizadas favorecem a replicabilidade dos estudos, os ratos possuíam mesma linhagem, sexo, alimentação e instalações de alojamento (Yang et al., 2017). A gavagem orogástrica é uma técnica rápida e eficiente para a administração precisa de substâncias (Turner et al., 2012; de Oliveira Sales-Junior et al., 2025). A técnica foi executada durante a manhã, utilizando uma cânula gástrica, e a dosagem foi ajustada com base no peso dos animais (Dal-Fabbro et al., 2021). A dose de cianidina utilizada foi equivalente a encontrada naturalmente no vinho tinto, este enfoque já tem sido empregado em investigações prévias com outros compostos fenólicos onde utilizaram a mesma quantidade incluída nesta bebida para avaliar seus efeitos benéficos (Dal-Fabbro et al., 2021).

O método utilizado para realizar a indução da periodontite apical foi a exposição pulpar ao meio bucal, permitindo a contaminação da polpa por microrganismo que provocam à necrose pulpar e infiltrado inflamatório nos tecidos periapicais (Goldman et al., 2019; Yamasaki et al., 1994). O intervalo de 30 dias serviu para garantir a formação da PA e para que não houvesse sinais sistêmicos que pudessem interferir em órgãos distantes e nos parâmetros de estresse oxidativo (Azuma et al., 2018; Goldman et al., 2019; Ricci et al., 2025).

A análise histológica da PA na raiz distal do primeiro molar inferior direito apresentou uma redução significativa do infiltrado inflamatório periapical do grupo

C3G em comparação ao grupo C, onde se observou infiltrado inflamatório periapical extenso classificado como grave. A cianidina-3-glicosídeo parece reduzir a resposta inflamatória durante o desenvolvimento da PA, isto pode ser pela capacidade anti-inflamatória encontrada neste composto (Hu et al., 2021).

A análise do tecido cardíaco seguiu o mesmo princípio ao mostrar melhores resultados pelo grupo C3G, observou-se que o grupo C apresentou tecido cardíaco com alterações estruturais mais graves apresentando fibras musculares desorganizadas com perda da arquitetura, acúmulo de infiltrado inflamatório, maior edema intersticial e vasos dilatados com hiperemia e extravasamento de hemácias, quando comparada ao grupo C3G, que além de apresentar menos alterações nas fibras musculares, também mostrou uma recuperação parcial do tecido; o que indica que a C3G pode ter efeitos cardioprotetores diretos devido a sua atividade anti-inflamatória e cardioprotetora (Mattioli et al., 2020; Aloud et al., 2018).

A análise do estado redox indicou aumento significativo nos níveis de proteína total no grupo C em comparação com o grupo tratado com C3G, o que pode refletir em uma diminuição da produção de proteínas associadas ao processo inflamatório (Mohammadi et al., 2024); a capacidade antioxidante total (FRAP) mostrou-se significativamente elevada no grupo C3G, além disso, as atividades das enzimas antioxidantes SOD e catalase foram significativamente maiores neste grupo em comparação ao grupo C, isso deve-se as características cardioprotetoras desta antocianina de prevenir a disfunção endotelial, preservar a atividade da enzima óxido nítrico sintase e propriedades antioxidantes, devido sua capacidade de eliminar radicais livres e neutralizar espécies reativas de oxigênio (Aloud et al., 2018; Milojevic et al., 2021).

Por outro lado, na avaliação da capacidade oxidante total, não foi observada diferença entre os grupos, da mesma forma, os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), o que pode indicar que, embora o C3G tenha promovido um aumento nas defesas antioxidantes, esse aumento pode ter sido compensado pela produção basal semelhante de espécies oxidantes em ambos os grupos, o C3G pode ter protegido certos sistemas antioxidantes sem modificar diretamente a produção de espécies reativas responsáveis pela peroxidação lipídica (Jung et al., 2013; Veskoukis et al., 2012; Santos et al., 2014).

Há limitações que impedem aplicabilidade dos resultados em humanos, considerando variáveis como o modelo animal empregado, a frequência e a dosagem da cianidina-3-glicosídeo, bem como o tempo de administração anterior a indução da lesão periapical. Sendo assim, novas pesquisas são incentivadas para esclarecer a relação do C3G na saúde, principalmente relacionadas ao processo inflamatório, reabsorção óssea na PA e infiltrado inflamatório cardíaco.

6 CONCLUSÃO

A suplementação de cianidina-3-glicosídeo reduziu o infiltrado inflamatório local e no tecido cardíaco, causado pela periodontite apical induzida, além de aumentar os parâmetros antioxidantes avaliados neste estudo no homogeneizado cardíaco.

REFERÊNCIAS

Aebi H. Catalase in vitro. **Methods in Enzymology**, v. 105, p. 121–126, 1984.

Aloud, BM, Raj P, McCallum, J, Kirby C, Louis XL, Jahan F, Yu L, Hiebert B, Duhamel TA, Wigle JT. Cyanidin 3-O-glucoside prevents the development of maladaptive cardiac hypertrophy and diastolic heart dysfunction in 20-week-old spontaneously hypertensive rats. **Food & Function**, v. 9, n. 6, p. 3466–3480, 1 jan. 2018.

An GK, Morse DE, Kunin M, Goldberger RS, Psoter WJ. Association of Radiographically Diagnosed Apical Periodontitis and Cardiovascular Disease: A Hospital Records–based Study. **Journal of Endodontics**, v. 42, n. 6, p. 916–920, jun. 2016.

Azuma MM, Gomes-Filho JE, Ervolino E, Cardoso CBM, Pipa CB, Kawai T, Conti LC, Cintra LTA. Omega-3 fatty acids reduce inflammation in rat apical periodontitis. **Journal of Endodontics**, v. 44, n. 4, p. 604–608, 1 abr. 2018.

Barcelos RCS, Rosa HZ, Roversi K, Tibércio-Machado CS, Inchaki PT, Burger ME, Bier CAS. Apical periodontitis induces changes on oxidative stress parameters and increases Na⁺/K⁺-ATPase activity in adult rats. **Archives of Oral Biology**, v. 118, p. 104849–104849, 7 ago. 2020.

Benzie IFF, Strain JJ. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70–76, jul. 1996.

Cintra LTA, Samuel RO, Azuma MM, De Queiróz AO, Ervolino E, Sumida DH, De Lima VM, Gomes-Filho JE. Multiple Apical Periodontitis Influences Serum Levels of Cytokines and Nitric Oxide. **Journal of Endodontics**, v. 42, n. 5, p. 747–751, maio 2016.

Cintra LTA, Gomes MS, Da Silva CC, Faria FD, Benetti F, Cosme-Silva L, Samuel RO, Pinheiro TN, Estrela C, González AC, Segura-Egea JJ. Evolution of endodontic medicine: a critical narrative review of the interrelationship between endodontics and systemic pathological conditions. **Odontology**, v. 109, n. 4, p. 741–769, 8 jul. 2021.

Conti LC, Segura-Egea JJ, Cardoso CBM, Benetti F, Azuma MM, Oliveira PHC, Bomfim SRM, Cintra LTA. Relationship between apical periodontitis and atherosclerosis in rats: lipid profile and histological study. **International Endodontic Journal**, v. 53, n. 10, p. 1387–1397, 16 jul. 2020.

Cosme-Silva L, Dal-Fabbro R, Cintra LTA, Ervolino E, Prado ASD, Oliveira DP, Marcelos PGCL, Gomes-Filho JE. Dietary supplementation with multi-strain formula of

probiotics modulates inflammatory and immunological markers in apical periodontitis. **Journal of Applied Oral Science**, v. 29, p. e20210483, 25 jan. 2021.

Cotti E, Dessì C, Piras A, Flore G, Deidda M, Madeddu C, Zedda A, Longu G, Mercurio, G. Association of Endodontic Infection with Detection of an Initial Lesion to the Cardiovascular System. **Journal of Endodontics**, v. 37, n. 12, p. 1624–1629, dez. 2011.

Dal-Fabbro R, Cosme-Silva L, Capalbo LC, Chaves-Neto AH, Ervolino E, Cintra LTA, Gomes-Filho JE. Excessive caffeine intake increases bone resorption associated with periapical periodontitis in rats. **International Endodontic Journal**, v. 54, n. 10, p. 1861–1870, 22 jul. 2021.

De Oliveira Sales-Junior R, De Moura Pereira B, Ricci R, Da Silva Machado NE, Alvarado JDA, Carreto AB, Ervolino E, Kishen A, Cintra LTA, Gomes-Filho JE. Systemic administration of polyphenols from dealcoholized red wine reduces inflammation and bone resorption in established apical periodontitis in male rats. **Archives of Oral Biology**, v. 173, p. 106206–106206, 18 fev. 2025.

Erel, O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. **Clinical Biochemistry**, v. 38, n. 12, p. 1103–1111, dez. 2005.

Freitas RND, Silva LGLD, Fiais GA, Ferreira DSDB, Veras ASC, Teixeira GR, Oliveira SHP, Dornelles RCM, Nakamune ACDMS, Fakhouri WD. Alterations in salivary biochemical composition and redox state disruption induced by the anticonvulsant valproic acid in male rat salivary glands. **Archives of Oral Biology**, v. 155, p. 105805–105805, 16 set. 2023.

Galler KM, Weber M, Korkmaz Y, Widbiller M, Feuerer M. Inflammatory Response Mechanisms of the Dentine–Pulp Complex and the Periapical Tissues. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 3, p. 1480, 2 fev. 2021.

Goldman E, Reich E, Abramovitz I, Klutstein M. Inducing Apical Periodontitis in Mice. **Journal of Visualized Experiments**, n. 150, 6 ago. 2019.

Gomes-Filho JE, Wayama MT, Dornelles RCM, Ervolino E, Coclete GA, Duarte PCT, Yamanri GH, Lodi CS, Dezan-Júnior E, Cintra LTA. Effect of Raloxifene on Periapical Lesions in Ovariectomized Rats. **Journal of Endodontics**, v. 41, n. 5, p. 671–675, 6 jan. 2015.

Granzotto N, Araújo JF, Carvalho DM, Izídio GS. A importância histórica dos ratos no avanço da compreensão da biologia. **Comportamento animal**, p. 1–17, 25 jan. 2019.

Hernández-Ríos P, Pussinen PJ, Vernal R, Hernández M. Oxidative Stress in the Local and Systemic Events of Apical Periodontitis. **Frontiers in Physiology**, v. 8, 1 nov. 2017.

Hu B, Chen L, Chen Y, Zhang Z, Wang X, Zhou B. Cyanidin-3-glucoside Regulates Osteoblast Differentiation via the ERK1/2 Signaling Pathway. **ACS Omega**, v. 6, n. 7, p. 4759-4766, 11 fev. 2021.

Jakovljevic A, Duncan HF, Nagendrababu V, Jacimovic J, Milasin J, Dummer PMH. Association between cardiovascular diseases and apical periodontitis: an umbrella review. **International Endodontic Journal**, v. 53, n. 10, p. 1374-1386, 8 ago. 2020.

Jung S, Smith JJ, Von Haller PD, Dilworth DJ, Sitko KA, Miller LR, Saleem RA, Goodlett DR, Aitchison JD. Global analysis of condition-specific subcellular protein distribution and abundance. **Mol Cell Proteomics**, v. 12, n. 5, p. 1421–1435, 1 maio 2013.

Takehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**, v. 20, n. 3, p. 340-349, set. 1965.

Li X, Kolltveit KM, Tronstad L, Olsen I. Systemic Diseases Caused by Oral Infection. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 13, n. 4, p. 547-558, out. 2000.

Liljestrand JM, Mäntylä P, Paju S, Buhlin K, Kopra KA, Persson GR, Hernandez M, Nieminen M, Sinisalo J, Tjäderhane L. Association of Endodontic Lesions with Coronary Artery Disease. **Journal Of Dental Research**, v. 95, n. 12, p. 1358-1365, 28 jul. 2016.

Mattioli R, Francioso A, Mosca L, Silva P. Anthocyanins: a comprehensive review of their chemical properties and health effects on cardiovascular and neurodegenerative diseases. **Molecules**, v. 25, n. 17, p. 3809, 21 ago. 2020.

Mohammadi N, Farrell M, O'sullivan L, Langan A, Franchin M, Azevedo L, Granato D. Effectiveness of anthocyanin-containing foods and nutraceuticals in mitigating oxidative stress, inflammation, and cardiovascular health-related biomarkers: a systematic review of animal and human interventions. **Food & Function**, v. 15, n. 7, p. 3274–3299, 2024.

Müller MM, Griesmacher A. Markers of Endothelial Dysfunction. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 38, n. 2, 5 jan. 2000.

Nagendrababu V, Kishen A, Murray P, Nekoofar M, Figueiredo J, Priya, E. PRIASE 2021 guidelines for reporting animal studies in Endodontology: explanation and elaboration. **International Endodontic Journal**, v. 54, n. 6, p. 858–886, 7 mar. 2021.

Niazi AS, Bakhsh A. Association between Endodontic Infection, Its Treatment and Systemic Health: a narrative review. **Medicina**, v. 58, n. 7, p. 931, 14 jul. 2022.

Noites R, Teixeira M, Cavero-Redondo I, Alvarez-Bueno C, Ribeiro F. Apical Periodontitis and Cardiovascular Disease in Adults: a systematic review with meta-analysis. **Reviews In Cardiovascular Medicine**, v. 23, n. 3, p. 0100, 12 mar. 2022.

Oliveira ACFD, Brito VGB, Ramos GHADS, Werlang MLC, Fiais GA, Dornelles RCM, Antoniali C, Nakamune ACDMS, Fakhouri WD, Chaves-Neto AH. Analysis of salivary flow rate, biochemical composition, and redox status in orchiectomized spontaneously hypertensive rats. **Archives of Oral Biology**, v. 152, p. 105732, ago. 2023.

Petean IBF, Silva-Sousa AC, Cronenbold TJ, Mazzi-Chaves JF, Silva LABD, Segato RAB, Castro GAPD, Kuchler EC, Paula-Silva FWG, Sousa-Neto MD. Genetic, Cellular and Molecular Aspects involved in Apical Periodontitis. **Brazilian Dental Journal**, v. 33, n. 4, p. 1-11, ago. 2022.

Ricci R, De Moura Pereira B, Alvarado JDA, De Oliveira Sales-Junior R, Da Silva Machado NE, Dos Santos DC, Pederro FHM, Magnani M, Lima MDS, Ervolino E, Cintra LTA, Kishen A, Gomes-Filho JE. Impact of Wine Polyphenols on the Inflammatory Profile of Induced Apical Periodontitis in Rats. **Journal of Endodontics**, 1 fev. 2025.

Roth GA, Mensah GA, Fuster V. The Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risks. **Journal Of The American College Of Cardiology**, v. 76, n. 25, p. 2980-2981, dez. 2020.

Milojevic SA, Jakovljevic V, Vasovic M, Mitrovic S, Rankovic M, Mihajlovic K, Bolevich S, Zivkovic V. Cardiac, biochemical and histopathological analysis reveals impaired heart function in hypertensive rats with apical periodontitis. **International Endodontic Journal**, v. 54, n. 9, p. 1581–1596, 8 jul. 2021.

Schmatz R, Mann TR, Spanevello R, Machado MM, Zanini D, Pimentel VC, Stefanello N, Martins CC, Cardoso AM, Bagatini, M. Moderate Red Wine and Grape Juice Consumption Modulates the Hydrolysis of the Adenine Nucleotides and Decreases Platelet Aggregation in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. **Cell Biochemistry And Biophysics**, v. 65, n. 2, p. 129-143, 6 set. 2012.

Sehirli AÖ, Aksoy U, Kermeoglu F, Kalender A, Savtekin G, Ozkayalar H, Sayiner S. Protective effect of alpha-lipoic acid against apical periodontitis-induced cardiac injury in rats. **European Journal Of Oral Sciences**, v. 127, n. 4, p. 333-339, 17 abr. 2019.

Shan X, Lv ZY, Yin MJ, Chen J, Wang J, Wu QN. The Protective Effect of Cyanidin-3-Glucoside on Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury through Ferroptosis. **Oxidative Medicine And Cellular Longevity**, v. 2021, p. 1-15, 6 fev. 2021.

Tavares CO. **Relação entre periodontite apical, microbiota intestinal e alterações metabólicas em ratos: Determinação de biomarcadores**. 2017. Tese (Doutorado em Endodontia) - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, 2017.

Turner PV, Vaughn E, Sunohara-Neilson J, Ovari J, Leri F. Oral gavage in rats: animal welfare evaluation. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science: JAALAS**, v. 51(1), p. 25–30, 1 jan. 2012.

Vengerfeldt V, Mändar R, Saag M, Piir A, Kullisaar T. Oxidative stress in patients with endodontic pathologies. **Journal Of Pain Research**, v. 10, p. 2031-2040, ago. 2017.

Veskoukis AS, Tsatsakis AM, Kouretas D. Dietary oxidative stress and antioxidant defense with an emphasis on plant extract administration. **Cell Stress and Chaperones**, v. 17, n. 1, p. 11–21, 30 set. 2011.

Virtanen E, Nurmi T, Söder P-Ö, Airila-Månsson S, Söder B, Meurman JH. Apical periodontitis associates with cardiovascular diseases: a cross-sectional study from sweden. **BMC Oral Health**, v. 17, n. 1, 11 jul. 2017.

Yamasaki M, Kumazawa M, Kohsaka T, Nakamura H, Kameyama Y. Pulpal and periapical tissue reactions after experimental pulpal exposure in rats. **Journal of Endodontics**, v. 20, n. 1, p. 13–17, jan. 1994.

Zhang J, Huang X, Lu B, Zhang C, Cai Z. 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**, v. 20, n. 7, p. 1617-1624, 10 nov. 2015.