

RESSALVA

Atendendo solicitação do autora, o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 15/03/2026.



UNESP - Universidade Estadual Paulista

“Júlio de Mesquita Filho”

Faculdade de Odontologia de Araraquara



Mariely Araújo de Godoi

Influência da inibição de JAK na progressão da periodontite

Araraquara

2024



UNESP - Universidade Estadual Paulista

“Júlio de Mesquita Filho”

Faculdade de Odontologia de Araraquara



Mariely Araújo de Godoi

Influência da inibição de JAK na progressão da periodontite

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara para obtenção do título de Doutora em Odontologia, na Área de Periodontia.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Morgana Rodrigues Guimarães Stabili

Araraquara

2024

G588i Godoi, Mariely Araújo de
Influência da inibição de JAK na progressão da
periodontite / Mariely Araújo de Godoi. -- Araraquara, 2024
95 p. : il., tabs.
Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista
(UNESP), Faculdade de Odontologia, Araraquara
Orientadora: Morgana Rodrigues Guimarães
Stabili
1. Periodontite. 2. Inibidores de Janus Quinases.
3. Transdução de sinais. 4. Imunomodulação. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp.
Biblioteca do Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de
Odontologia, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Mariely Araújo de Godoi

Influência da inibição de JAK na progressão da periodontite

Comissão julgadora

Tese para obtenção do grau de doutora em odontologia

Presidente e orientadora: Prof^a. Dr^a. Morgana Rodrigues Guimarães Stabili

1º Examinadora: Daniela Bazan Palioto Bulle

2º Examinadora: Roberta Okamoto

3º Examinadora: Fernanda Gonçalves Basso

Araraquara, 15 de março de 2024

DADOS CURRICULARES

Mariely Araújo de Godoi

NASCIMENTO: 20/06/1993 - Ibiporã - Paraná

FILIAÇÃO: Eliane Aparecida Araújo de Godoi / Benedito de Godoi

Graduação em Odontologia pela Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - Campus de Araraquara - Faculdade de Odontologia de Araraquara, FOAr - UNESP (2012-2016). Pós-Graduação (Mestrado: 2018-2020, Doutorado: 2020-Atual) em Odontologia - Área de Concentração: Periodontia - pela Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", FOAr - UNESP. Doutorado Sanduíche na Tufts School of Dental Medicine, Boston - EUA (2022-2023). Especialização em Periodontia e em Implantodontia pela APCD de Araraquara (2021-2023).

*À **Deus**,*

Por ter me dado o dom da vida, saúde e inteligência para que hoje eu pudesse estar aqui, celebrando essa vitória.

*À minha mãe **Eliane**,*

Por ser sempre meu suporte, minha força e meu exemplo, por sonhar comigo meus sonhos lado a lado, por fazer tantos esforços para que eu seja sempre feliz, e me tornar uma pessoa dedicada e persistente.

*Ao meu pai **Benedito**,*

Por transmitir seu amor mesmo de longe, por ter acreditado nos meus sonhos e por ser, com toda certeza, um dos maiores responsáveis pelos passos certos que dei.

*Ao meu irmão **Danilo**,*

Por ser meu maior companheiro de vida, por se sentir orgulhoso pelos degraus que subo, ser sempre minha inspiração e estar ao meu lado em todas as situações.

*Ao meu namorado **Lucas**,*

Por me ouvir e me dar forças nos momentos difíceis com tanto carinho e amor, por estar sempre presente, acreditar no meu potencial e celebrar as vitórias ao meu lado.

*Aos meus colegas de pesquisa (**Vitória, Iolanda e Angelo**),*

Por terem compartilhado tantos momentos comigo durante todos esses anos e por terem tido tanto empenho e carinho com meu trabalho como se fosse de vocês, essa vitória é nossa.

Por último, e não menos importante:

*À minha orientadora, **Professora Morgana**, dedico todo e qualquer conhecimento que pude adquirir durante esses últimos 6 anos, sem você nada disso seria possível.*

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Araraquara, nas pessoas de sua Diretora, **Prof. Dr. Edson Alves de Campos**, e Vice-Diretora, **Patrícia P. Nordi Sasso Garcia**.

À minha orientadora, Profa. Dra. **Morgana Rodrigues Guimarães Stabili**, pela paciência desde o início e por me tratar com tanto carinho. Só tenho a agradecer por toda confiança depositada em mim e por ser um exemplo ímpar de inteligência e bondade, espero um dia ser uma profissional tão boa quanto você.

A todos docentes do curso de Pós-Graduação e aos docentes da Disciplina de Periodontia: Profa. Dra. **Morgana Rodrigues Guimarães Stabili**, Prof. Dr. **Elcio Marcantonio Junior**, Prof. Dr. **Carlos Rossa Junior**, Profa. Dra. **Daniela Leal Zandim-Barcelos**, Prof. Dr. **Joni Augusto Cirelli**, Profa. Dra. **Rosemary Adriana Chierici Marcantonio**, Profa. Dra. **Silvana Regina Perez Orrico**, pela formação e orientação.

À **Tufts School of Dental Medicine**, ao **Prof. Dr. Evangelos Papathanasiou** e ao Programa de Internacionalização **Capes-PrInt/UNESP** por terem me dado a oportunidade de realizar o doutorado sanduíche, o qual me proporcionou experiências incríveis durante essa jornada.

A todos os funcionários e amigos da Disciplina de Periodontia pelo agradável convívio, atenção e dedicação sempre presentes.

A todos os amigos do curso de Pós-Graduação que percorreram comigo esse caminho, obrigada pelas experiências transmitidas e pelo convívio diário.

*Às minhas amigas **Vitória e Iolanda**,*

Por terem sido meu apoio profissional e pessoal durante esses 4 anos, por compartilharem das minhas dificuldades como se fossem suas e por terem tido tanto carinho comigo durante essa trajetória, vocês são como irmãs para mim e sempre poderão contar comigo.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação, **José Alexandre, Alessandra e Cristiano** por toda a atenção, gentileza, e extrema paciência para ajudar.

A todos os funcionários da Biblioteca, pela dedicação e colaboração.

À CAPES: O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de financiamento 001.

Ao CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – (Processo: 141239/2020-4) pelo apoio financeiro essencial para realização dessa pesquisa.

“Foi o tempo que dedicaste a tua rosa que fez a tua rosa tão importante.”

SAINT-EXUPÉRY *

* Saint-Exupéry A. O pequeno príncipe. 31.ed. Rio de Janeiro: Agir; 1987.

RESUMO

A periodontite, semelhante a outras doenças crônicas, envolve a ativação de citocinas que são moduladas por vias de sinalização intracelular, incluindo a via Janus kinase/Signal Transducers and Activators of Transcription (JAK/STAT). Considerando o papel desta via de sinalização no processo inflamatório, diversos inibidores farmacológicos de JAK foram aprovados pela Food and Drug Administration (FDA) para o tratamento de doenças inflamatórias, e têm sido associados a redução dos sinais e sintomas destas doenças, além de apresentarem um perfil farmacológico seguro e eficaz. Na periodontite, poucos estudos avaliaram o papel de JAK no processo de patogênese da doença, e os resultados são divergentes. O presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito da administração sistêmica de inibidores de JAK1-3 e JAK3, sobre a progressão da periodontite em ratos, e investigar seu papel modulatório em células do microambiente periodontal. No estudo in vivo, os animais foram submetidos a colocação de ligaduras nos primeiros molares inferiores para indução da periodontite, e receberam, concomitantemente à progressão da doença, água destilada ou inibidores de JAK1-3 ou JAK3, via oral (gavagem intragástrica) por 7 dias. Animais do grupo controle negativo, sem ligaduras, receberam administração de água pelo mesmo período. Ao fim do período experimental os animais foram eutanasiados, e as mandíbulas contendo tecido gengival ao redor do primeiro molar, removidas para avaliação dos seguintes desfechos: reabsorção óssea alveolar; quantificação do número de osteoclastos; expressão gênica de Il-6, Tnf-alfa e Rankl, e proteica de TNF-alfa; expressão e localização de células inflamatórias (CD45 e CD3); e quantificação de elementos celulares (infiltrado celular, vasos sanguíneos e matriz extracelular). Os resultados demonstraram que ambos os inibidores preveniram a perda óssea induzida pela periodontite ($p < 0.05$), e reduziram a quantidade de osteoclastos em quase 30%. Redução significativa do infiltrado celular, bem como um aumento da matriz colágena e de vasos sanguíneos foram encontrados nos animais tratados com os inibidores ($p < 0.05$). Corroborando os dados da análise estereométrica, os inibidores de JAK também reduziram a quantidade de células CD45+ (marcador de leucócitos) no tecido gengival. Redução significativa na expressão dos marcadores inflamatórios (em nível gênico e proteico) também foi encontrada no tecido gengival dos animais tratados com os inibidores farmacológicos. Adicionalmente, experimentos in vitro investigaram o efeito dos inibidores de JAK sobre a diferenciação de osteoclastos (RAW 264.7) induzidos por RANKL, produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), bem como sobre a formação de nódulos de mineralização e proliferação de células pré-osteoblásticas (MC3T3-E1). Através da microscopia de fluorescência, observamos que ambos os inibidores demonstraram redução significativa na formação de osteoclastos. Os dados também indicaram que a inibição de JAK inibiu a produção de ROS após estímulo com LPS. Em relação à osteogênese, foi observado que a inibição de JAK estimulou a proliferação celular e a formação de nódulos de mineralização. Os resultados demonstram que a inibição das isoformas de JAK apresentaram um impacto significativo na redução das alterações inflamatórias em animais com periodontite, indicando o protagonismo da via na patogênese e progressão da doença, além do papel relevante sobre células do metabolismo ósseo.

Palavras-chave: Periodontite. Inibidores de Janus Quinases. Transdução de sinais. Imunomodulação.

Godoi MA. Influence of JAK inhibition on periodontitis progression [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2024.

ABSTRACT

Periodontitis, similar to other chronic diseases, involves the activation of cytokines that are modulated by intracellular signaling pathways, including the Janus kinase/Signal Transducers and Activators of Transcription (JAK/STAT) pathway. Considering the role of this signaling pathway in the inflammatory process, several pharmacological JAK inhibitors have been approved by the Food and Drug Administration (FDA) for the treatment of inflammatory diseases, and have been associated with reducing the signs and symptoms of these diseases, in addition to presenting a safe and effective pharmacological profile. In periodontitis, few studies have evaluated the role of JAK in the disease pathogenesis process, and the results are divergent. The present study aims to evaluate the effect of systemic administration of JAK1-3 and JAK3 inhibitors on the progression of periodontitis in rats, and to investigate their modulatory role in cells of the periodontal microenvironment. In the *in vivo* study, the animals underwent ligatures placed on the lower first molars to induce periodontitis, and received, concomitantly with disease progression, distilled water or JAK1-3 or JAK3 inhibitors, orally (intragastric gavage), for 7 days. Animals in the negative control group, without ligatures, received water administration for the same period. At the end of the experimental period, the animals were euthanized, and the jaws containing gingival tissue around the first molar were removed to evaluate the following outcomes: alveolar bone resorption; quantification of the number of osteoclasts; gene expression of Il-6, Tnf-alpha and Rankl, and protein of TNF-alpha; expression and localization of inflammatory cells (CD45 and CD3); and quantification of cellular elements (cellular infiltrate, blood vessels and extracellular matrix). The results demonstrated that both inhibitors prevented bone loss induced by periodontitis ($p < 0.05$), and reduced the number of osteoclasts by almost 30%. Significant reduction in cellular infiltrate, as well as an increase in collagen matrix and blood vessels were found in animals treated with inhibitors ($p < 0.05$). Corroborating the stereometric analysis data, JAK inhibitors also reduced the amount of CD45+ cells (leukocyte marker) in the gingival tissue. Significant reduction in the expression of inflammatory markers (at gene and protein levels) was also found in the gingival tissue of animals treated with pharmacological inhibitors. Additionally, *in vitro* experiments investigated the effect of JAK inhibitors on the differentiation of osteoclasts (RAW 264.7) induced by RANKL, production of reactive oxygen species (ROS), as well as on the formation of mineralization nodules and proliferation of pre-osteoblastic (MC3T3-E1). Using fluorescence microscopy, we observed that both inhibitors demonstrated a significant reduction in osteoclast formation. The data also indicated that JAK inhibition inhibited ROS production after LPS stimulation. Regarding osteogenesis, it was observed that JAK inhibition stimulated cell proliferation and the formation of mineralization nodules. The results demonstrate that the inhibition of JAK isoforms had a significant impact on reducing inflammatory changes in animals with periodontitis, indicating the leading role of the pathway in the pathogenesis and progression of the disease, in addition to the relevant role on bone metabolism cells.

Keywords: Periodontitis. Janus Kinase inhibitors. Signal transduction. Immunomodulation.

ABREVIATURAS

Acp6 - Fosfatase Ácida 5 Resistente ao Tartarato
CEUA – Comitê de Ética em Uso Animal
Col1A1 – Colágeno 1 – alpha 1
CONCEA – Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal
Ctsk – Catepsina K
DMEM – Meio de Eagle Modificado por Dulbecco
FBS – Soro Fetal Bovino
FDA – Food Drug Administration
Gapdh – Gliceraldeído- A 3-fosfato desidrogenase
H&E – Hematoxilina e Eosina
IFN – Interferon
IL – Interleucina
JAK – Janus Kinase
JAKi – Inibidor de JAK
LPS – Lipopolissacarídeo
MMP – Metaloproteinase de Matriz
Nfatc1 – Fator Nuclear de Células T Ativadas-Citoplasmática 1
Oscar - Receptor Semelhante à Imunoglobulina Associado a Osteoclastos
P.gingivalis – *Porphyromonas gingivalis*
RANKL - Ativador do Receptor do Ligante do Fator Nuclear *kappa*-B
ROS – Espécies Reativas de Oxigênio
SOCS – Supressores da Sinalização de Citocinas
STAT – Transdutor de Sinal e Ativador de Transcrição
TNF – Fator de Necrose Tumoral
 α MEM – Meio Essencial Mínimo *Alpha*
 μ CT – Microtomografia Computadorizada

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 Vias Intracelulares como Alvos Terapêuticos	12
1.2 Regulação Endógena da Via JAK/STAT	14
1.3 Inibição Farmacológica de JAK	14
1.4 Evidência do Papel da Via JAK/STAT na Doença Periodontal	15
2 PROPOSIÇÃO	17
2.1 Objetivo Geral.....	17
2.2 Objetivos Específicos	17
3 PUBLICAÇÕES	19
3.1 Publicação 1	19
3.2 Publicação 2	49
4 CONCLUSÃO	73
REFERÊNCIAS.....	74
APÊNDICES	77
ANEXO A - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA (CEUA)	95

1 INTRODUÇÃO

A doença periodontal é uma condição inflamatória crônica, resultante de uma resposta imune inadequada a um biofilme microbiano disbiótico¹. A reação do hospedeiro é iniciada e modificada por múltiplos genes, em combinação com fatores relacionados ao estilo de vida e ambientais. Albergados neste biofilme, as bactérias liberam fatores de virulência, lipopolissacarídeos (LPS) e antígenos, ativando citocinas, quimiocinas e fatores de transcrição, que desempenham um papel crítico na destruição dos tecidos periodontais e na reabsorção óssea alveolar^{2,3}.

A modulação da resposta imunológica pode restabelecer o equilíbrio entre substâncias que promovem e inibem a inflamação, interrompendo o avanço da doença e criando um ambiente propício para resolução da inflamação^{4,5}. Além disso, o controle da inflamação através da regulação da resposta imunológica, limita o fornecimento de nutrientes para a microbiota e favorece a reversão da disbiose, estimulando o restabelecimento de uma comunidade microbiana compatível com a saúde periodontal^{4,5}.

Vários estudos clínicos e pré-clínicos têm examinado a eficácia de agentes moduladores da resposta imunológica no tratamento adjunto da periodontite⁶. O uso de substâncias como bifosfonatos⁷, suplementos de ômega-3⁸, polifenóis como o curcumin^{9,10} e o resveratrol¹¹, bem como doses subantimicrobianas de doxiciclina e anti-inflamatórios não esteroidais¹², têm mostrado algum benefício quando usados em conjunto com a raspagem e alisamento radicular, diminuindo a progressão da doença e/ou promovendo a resolução da inflamação.

De fato, a atividade biológica das citocinas afeta diretamente e indiretamente a extensão e a gravidade da periodontite¹³. Uma maior expressão de mediadores inflamatórios são encontrados em sítios afetados pela periodontite em comparação aos sítios saudáveis, e o desequilíbrio entre a produção de marcadores pró e anti-inflamatórios é um dos principais fatores envolvidos na destruição dos tecidos periodontais^{4,5}.

1.1 Vias Intracelulares como Alvos Terapêuticos

Considerando o papel biológico das citocinas na origem e progressão de doenças inflamatórias^{2,14,15}, terapias imunomoduladoras baseadas na inibição

específica de determinados mediadores (como RANKL, IL-6, TNF e MMPs), têm sido bem-sucedidas no tratamento clínico de várias doenças, como artrite reumatoide, câncer e osteoporose^{16,17}, bem como em modelos pré-clínicos de periodontite. Corroborando estes resultados, demonstramos que o silenciamento de MMP-13 nos tecidos periodontais através da aplicação local de um shRNA adenoviral, reduziu significativamente a reabsorção óssea induzida por lipopolissacarídeo (LPS) bacteriano em ratos, e inibiu os níveis de mRNA e proteína de TNF- α e IL-6¹⁸. Embora efeitos indesejáveis não tenham sido observados nos animais durante o período experimental, uma vez que o vetor adenoviral permite silenciamento rápido e transitório da citocina alvo¹⁸, a maioria das drogas utilizadas para inibição de citocinas estão associadas ao aparecimento de efeitos secundários, como hemorragia, problemas gastrointestinais, renais ou hepáticos¹⁹.

Uma alternativa para modular a produção exagerada de marcadores inflamatórios é a regulação das vias de sinalização intracelular, que são cruciais para a sua expressão¹⁹. Uma das vantagens dessa abordagem é que a expressão de muitos mediadores inflamatórios requer a ativação de um número limitado de vias de sinalização, e a regulação de uma única via pode afetar toda uma rede de citocinas. Além disso, como característica chave da sinalização de citocinas, a ativação das vias é um processo geralmente rápido e temporário, o que permite que a regulação de uma via tenha um impacto significativo sobre a expressão de citocinas, sem causar efeitos adversos significativos em processos celulares fisiológicos¹⁹.

Uma das vias responsáveis pela expressão da maioria das citocinas que participam da doença periodontal é a via Janus Kinase/Transdutor de Sinal e Ativador de Transcrição (JAK/STAT)²⁰. JAK medeia a transdução de sinal de aproximadamente 60 diferentes citocinas, hormônios e fatores de crescimento, incluindo fatores reguladores do sistema imune e hematopoiéticos, e desta forma, participa de uma série de eventos celulares, como proliferação, ativação e sobrevivência celular^{20,21}.

A família JAK inclui quatro tirosinas quinases (JAK1, JAK2, JAK3 e TYK2), altamente conservadas e não redundantes. As isoformas podem se associar de forma seletiva à porção citoplasmática de receptores transmembrana, e quando ativadas fosforilam múltiplos substratos, incluindo os transdutores de sinal e ativadores de transcrição (STATs). Estes por sua vez, dimerizam e se translocam do citoplasma para

o núcleo, agindo como fatores de transcrição e regulando a expressão de vários genes que participam da resposta inflamatória²¹.

Mamíferos apresentam sete tipos de STATs (STAT1-4, 5A, 5B e 6), e embora sejam ativados por subconjuntos sobrepostos de citocinas, diferentes STATs podem ter papéis biológicos não redundantes. Desta forma, os efeitos da ativação da via JAK / STAT são influenciados de forma seletiva pela isoforma de JAK envolvida, e os STATs que são finalmente ativados²².

1.2 Regulação Endógena da Via JAK/STAT

A regulação negativa da via JAK/STAT é controlada por uma família de proteínas crítica na transdução de sinais da inflamação, as proteínas supressoras de sinalização de citocina (SOCS). A família de proteínas SOCS é constituída por 8 membros que podem ser ativados por citocinas pró e anti-inflamatórias, que interferem na sinalização JAK/STAT através de feedback negativo²³. Essa regulação é importante, uma vez que o estímulo excessivo por citocinas induzidas pela sinalização JAK/STAT, tem sido associado a doenças inflamatórias, como artrite reumatoide, esclerose múltipla e doenças inflamatórias intestinais^{20,21}.

Citocinas envolvidas na patogênese da artrite reumatoide, e.g. IL-6 e TNF- α , ligam-se a receptores específicos que são capazes de ativar a sinalização JAK/STAT. A ativação da via pode induzir resistência à apoptose de fibroblastos sinoviais, aumentando a quantidade destas células²⁴, além de regular a expressão de citocinas e quimiocinas capazes de provocar um dano tecidual direto²⁵. Essas mesmas observações têm sido propostas para a periodontite.

1.3 Inibição Farmacológica de JAK

Os inibidores farmacológicos de JAK são pequenas moléculas capazes de bloquear a sinalização de citocinas, interferindo diretamente com a atividade enzimática da proteína. São passíveis de administração via oral, e por possuírem meia-vida plasmática curta, ausência de imunogenicidade e farmacocinética linear, tem atraído atenção frente ao uso de anticorpos monoclonais no tratamento de doenças inflamatórias²⁰, além de ser uma alternativa ao uso de glicocorticoides e outros imunomoduladores (como metotrexato), que estão relacionados a taxas de reincidência em torno de 30%^{20,26}.

Estudo em ratos investigando o efeito de JAK sobre a reabsorção óssea em modelos de artrite reumatoide, observou que a inibição farmacológica (via oral) da via, reduziu o edema, a inflamação e a reabsorção óssea nas patas dos animais, sem causar efeitos secundários. Redução nos níveis de RANKL e IL-6 (transcritos e proteicos) também foram observados²⁵. O inibidor não afetou a atividade dos osteoclastos, mas reduziu os níveis de RANKL produzidos por linfócitos T de maneira dose-dependente²⁵. Em outro estudo com o mesmo desenho experimental²⁷, redução na severidade da inflamação, escores físicos da doença, níveis da proteína C-reativa, IL-1 β e células T CD4 esplênicas também foram relacionados aos efeitos da inibição de JAK.

Considerando a importância da ativação de JAK para a progressão da artrite, recentemente o uso de inibidores de diferentes isoformas foi aprovado pela Food Drug Administration (FDA) para o tratamento de pacientes refratários a outras drogas. Dados de mais de 4 mil pacientes utilizando inibidor de JAK1-3 para tratamento da artrite reumatoide mostrou que o grupo tratado apresentou melhora clinicamente significativa nos sinais e sintomas da doença, ao longo de 8 anos de acompanhamento²⁸.

1.4 Evidência do Papel da Via JAK/STAT na Doença Periodontal

Na doença periodontal, informações sobre a expressão de JAK, bem como seu papel na progressão da doença, são escassos. Um único estudo avaliando o efeito da inibição de JAK3 em modelo experimental de periodontite, descreveu aumento na densidade do infiltrado inflamatório e na perda óssea alveolar em camundongos que receberam a inoculação de *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) e administração oral do inibidor²⁹, indicando um papel anti-inflamatório para JAK3 na progressão da doença. De maneira semelhante, células imunes estimuladas com *P. gingivalis* e tratadas com o inibidor de JAK aumentaram a produção de citocinas inflamatórias em relação ao controle, *in vitro*²⁹.

Diferentemente do estudo em murinos, um estudo clínico comparando a condição periodontal de pacientes com artrite reumatoide no baseline e 24 semanas após tratamento via oral com inibidor de JAK1-3, observou melhora consistente na severidade da artrite reumatoide e no status periodontal ($p < 0.05$), indicando que a

inibição de JAK é de fato eficiente para tratar pacientes com artrite e potencialmente capaz de modular o processo inflamatório nos tecidos periodontais³⁰.

Os resultados conflitantes acerca do papel de JAK na patogênese da doença periodontal, associados ao potencial dos inibidores desta via no tratamento de diversas enfermidades inflamatórias, indicam a necessidade de realização de mais estudos que possam fornecer conhecimentos que embasem novas abordagens terapêuticas no controle adjunto da periodontite em pacientes de risco e/ou refratários ao tratamento periodontal básico.

4 CONCLUSÃO

A inibição de JAK, utilizando os inibidores farmacológicos das isoformas de JAK 1-3 e JAK 3, teve um impacto significativo na redução das alterações inflamatórias, tanto no tecido ósseo, quanto gengival dos animais com periodontite experimentalmente induzida, além de prevenir a diferenciação de osteoclastos e liberação de ROS, e favorecer a proliferação e mineralização óssea *in vitro*. A inibição de JAK3 demonstrou um efeito mais eficaz na modulação do processo inflamatório em alguns desfechos avaliados *in vitro*. Estes resultados indicam a relevância da via JAK-STAT na patogênese da periodontite, e sugerem que a modulação negativa de JAK pode ser uma alternativa terapêutica promissora no tratamento adjunto da doença.

REFERÊNCIAS*

1. Hajishengallis G, Chavakis T, Lambris JD. Current understanding of periodontal disease pathogenesis and targets for host-modulation therapy. *Periodontol.* 2000. 2020; 84(1), 14–34.
2. Berraondo P, Sanmamed MF, Ochoa MC, Etxeberria I, Aznar MA, Pérez-Gracia JL et al. Cytokines in clinical cancer immunotherapy. *Br J Cancer.* 2019; 120 (1): 6–15.
3. Van Dyke, T. E. Shifting the paradigm from inhibitors of inflammation to resolvers of inflammation in periodontitis. *J. Periodontol.* 2020; 91(S1): S19–S25.
4. Gemmell E, Seymour GJ. Immunoregulatory control of Th1/Th2 cytokine profiles in periodontal disease. *Periodontol.* 2000. 2004; 35 (II): 21–41.
5. Garlet GP, Martins W, Fonseca BAL, Ferreira BR, Silva JS. Matrix metalloproteinases, their physiological inhibitors and osteoclast factors are differentially regulated by the cytokine profile in human periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2004; 31(8): 671–9.
6. Balta MG, Papathanasiou E, Blix IJ, Van Dyke TE. Host Modulation and treatment of periodontal disease. *J Dent Res.* 2021; 100(8): 798–809.
7. Aghaloo TL, Kang B, Sung EC, Shoff M, Ronconi M, Gotcher JE, Bezouglaia O et al. Periodontal disease and bisphosphonates induce osteonecrosis of the jaws in the rat. *J Bone Miner Res.* 2011; 26(8): 1871–82.
8. Castro dos Santos NC, Furukawa MV, Oliveira-Cardoso I, Cortelli JR, Feres M, Van Dyke T et al. Does the use of omega-3 fatty acids as an adjunct to non-surgical periodontal therapy provide additional benefits in the treatment of periodontitis? a systematic review and meta-analysis. *J. Periodontal Res.* 2022; 57(3): 435–47.
9. Guimarães MR, Leite FRM, Spolidorio LC, Kirkwood KL, Rossa C. Curcumin abrogates LPS-induced proinflammatory cytokines in RAW 264.7 macrophages: evidence for novel mechanisms involving SOCS-1, -3 and p38 MAPK. *Arch Oral Biol.* 2013; 58(10): 1309–17.
10. Guimarães MR, Coimbra LS, de Aquino SG, Spolidorio LC, Kirkwood KL, Rossa Jr C. Potent anti-inflammatory effects of systemically administered curcumin modulate periodontal disease in vivo. *J Periodontal Res.* 2011; 46(2): 269–79.
11. Chin YT, Cheng GY, Shih YJ, Lin CY, Lin SJ, Lai HY et al. Therapeutic applications of resveratrol and its derivatives on periodontitis. *Ann N Y Acad Sci.* 2017; 1403(1): 101–8.
12. Golub LM, Elburki MS, Walker C, Ryan M, Sorsa T, Tenenbaum H et al. Non-antibacterial tetracycline formulations: host-modulators in the treatment of periodontitis and relevant systemic diseases. *Int Dent. J.* 2016; 66(3): 127–35.
13. Graves D. Cytokines That promote periodontal tissue destruction. *J Periodontol.* 2008; 79(8s): 1585–91.
14. Plemmenos G, Evangelidou E, Polizogopoulos N, Chalazias A, Deligianni M, Piperi C. Central regulatory role of cytokines in periodontitis and targeting options. *Curr Med Chem.* 2020; 28(15): 3032–58.

15. Chen Z, Bozec A, Ramming A, Schett G. Anti-inflammatory and immune-regulatory cytokines in rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol*. 2019; 15(1): 9–17.
16. Matsumoto T, Endo I. RANKL as a target for the treatment of osteoporosis. *J Bone Miner Metab*. 2021; 39(1): 91–105.
17. Di Paola R, Mazzon E, Muià C, Crisafulli C, Terrana D, Greco S et al. Effects of etanercept, a tumour necrosis factor- α antagonist, in an experimental model of periodontitis in rats. *Br J Pharmacol*. 2007; 150(3): 286–97.
18. Guimaraes-Stabili MR, Medeiros MC, Rossi D, Camilli AC, Zanelli CF, Valentini SR et al. Silencing matrix metalloproteinase-13 (Mmp-13) reduces inflammatory bone resorption associated with LPS-induced periodontal disease in vivo. *Clin Oral Investig*. 2021; 25(5): 3161–72.
19. de Souza JAC, Rossa Junior C, Garlet GP, Nogueira AVB, Cirelli JA. Modulation of host cell signaling pathways as a therapeutic approach in periodontal disease. *J Appl Oral Sci*. 2012; 20(2): 128–38.
20. Banerjee S, Biehl A, Gadina M, Hasni S, Schwartz DM. JAK–STAT signaling as a target for inflammatory and autoimmune diseases: current and future prospects. *Drugs* 2017; 77(5): 521–46.
21. Xin, P. et al. The role of JAK/STAT signaling pathway and its inhibitors in diseases. *Int. Immunopharmacol*. 2020; 80.
22. Choy, E. H. Clinical significance of Janus Kinase inhibitor selectivity. *Rheumatology (Oxford)*. 2019; 58 (6): 953–962.
23. Santos, M. R. G., Queiroz-Junior, C. M., Madeira, M. F. M. & Machado, F. S. Suppressors of cytokine signaling (SOCS) proteins in inflammatory bone disorders. *Bone* 2020; 140.
24. Tamai, M. et al. Significant inhibition of TRAIL-mediated fibroblast-like synovial cell apoptosis by IFN- γ through JAK/STAT pathway by translational regulation. *J. Lab. Clin. Med*. 2006; 147 (4): 182–190.
25. Labranche, T. P. et al. JAK inhibition with tofacitinib suppresses arthritic joint structural damage through decreased RANKL production. *Arthritis Rheum*. 2012; 64 (11), 3531–3542.
26. Xin P, Xu X, Deng C, Liu S, Wang Y, Zhou X et al. The role of JAK/STAT signaling pathway and its inhibitors in diseases. *Int Immunopharmacol*. 2020; 80: 106210.
27. Gertel S, Mahagna H, Karmon G, Watad A, Amital H. Tofacitinib attenuates arthritis manifestations and reduces the pathogenic CD4 T cells in adjuvant arthritis rats. *Clin Immunol*. 2017; 184: 77–81.
28. Wollenhaupt J, Lee EB, Curtis JR, Silverfield J, Terry K, Soma K et al. Safety and efficacy of tofacitinib, an oral janus kinase inhibitor, for the treatment of rheumatoid arthritis in open-Label, longterm extension studies. *J Rheumatol*. 2014; 41(5): 837–52.
29. Lü L, Yakoumatos L, Ren J, Duan X, Zhou H, Gu Z et al. JAK3 restrains inflammatory responses and protects against periodontal disease through Wnt3a signaling. *FASEB J*. 2020: 9120–40.

30. Ancuța C, Pomîrleanu C, Mihailov C, Chirieac R, Ancuța E, Iordache C et al. Efficacy of baricitinib on periodontal inflammation in patients with rheumatoid arthritis. *Jt Bone Spine*. 2020; 87(3): 235–9.
31. Fernandes NAR, Camilli AC, Maldonado LAG, Pacheco CGP, Silva AF, Molon RS et al. Chalcone T4, a novel chalconic compound , inhibits inflammatory bone resorption in vivo and suppresses osteoclastogenesis in vitro. *J Periodontal Res*. 2021; 56(3): 569-8.
32. Tan L, Akahane K, McNally R, Reyskens KM, Ficarro SB, Liu S et al. Development of selective covalent Janus Kinase 3 Inhibitors. *J Med Chem*. 2015; 58(16): 6589-606
33. Remenyi J, Naik RJ, Wang J, Razsolkov M, Verano A, Cai Q et al. Generation of a chemical genetic model for JAK3. *Sci Rep*. 2021; 11(1): 1–13.