



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"Júlio de Mesquita Filho"

**CAROLINA DE BARROS MORAIS CARDOSO**

Influência da artrite reumatoide no processo  
inflamatório e reabsortivo de lesões periapicais em ratos

*Wistar*

Relatório de Pós-doutorado realizado  
na Universidade Estadual Paulista  
(UNESP), Faculdade de Odontologia  
de Araçatuba (FOA), Araçatuba – SP.  
Supervisor: Prof. Dr. Luciano Tavares  
Ângelo Cintra

Programa CAPES-PRINT – Processo nº88887.892001/2023-00

**ARAÇATUBA-SP**

2025

CARDOSO, Carolina de Barros Morais. **Influência da artrite reumatoide no processo inflamatório e reabsortivo de lesões periapicais em ratos Wistar.** Supervisor: Luciano Tavares Ângelo Cintra. 2025. 34 f. Relatório (Pós-doutorado em Odontologia) - UNESP/FOA, Programa de Pós-graduação em Odontologia, Araçatuba, São Paulo, Brasil, 2025.

## Resumo

Diante da forte evidência da relação entre as alterações sistêmicas e a infecção de origem endodôntica, este estudo teve como objetivo avaliar a influência da artrite reumatoide (AR) no processo inflamatório e reabsortivo de lesões periapicais, empregando análises locais em ratos *Wistar*. Foram utilizados 40 ratos *Wistar* divididos em 4 grupos (n=10): ratos controle (C), ratos com periodontite apical (PA), ratos com AR (AR), ratos com PA e AR (PA+AR). A indução da AR foi realizada com três injeções, sendo duas injeções subcutâneas caudais (dias 0 e 7) contendo 50µL de albumina bovina metilada (Met-BSA, 40 mg/mL), glicose 5% emulsificada com CFA/adjuvante completo de Freund (*Mycobacterium sp*) e uma injeção intra-articular no joelho direito (dia 14) da mesma solução com volume de 25µL. A PA foi induzida 2 dias após a primeira injeção caudal, por meio de exposição pulpar dos primeiros e segundos molares superiores e inferiores do lado direito. Após 28 dias, os animais foram eutanasiados e as hemimandíbulas removidas para análise do processo inflamatório por meio da técnica de imunistoquímica para IL-6, IL-17 e TNF-α. A análise do processo reabsortivo foi realizada por Micro-CT e análise imunistoquímica para marcadores ósseos, sendo eles, TRAP, RANK-L e OPG. Além disso, os joelhos direitos também foram coletados para comprovação da metodologia proposta e indução de AR, por meio da coloração de hematoxilina-eosina (H.E.). Os resultados foram analisados por testes estatísticos específicos para cada caso (p<0,05). Todos os grupos tiveram aumento do peso corpóreo de forma crescente e sem diferença estatística, com exceção do dia 30, onde o grupo PA obteve maior ganho de peso comparado ao grupo C. Ambos os grupos sistêmicos, AR e PA+AR, tiveram maior porcentagem de inchaço articular dos joelhos direitos comparado aos grupos C e PA. No perfil inflamatório o grupo PA+AR teve maior imunomarcagem para IL-17 e TNF-α comparado ao grupo PA. Relacionado à reabsorção óssea, a imunomarcagem de RANK-L, TRAP e volume das lesões periapicais também foi maior para o grupo PA+AR comparado ao grupo PA. Conclui-se que a presença da AR foi capaz de aumentar o infiltrado inflamatório e a reabsorção óssea das lesões de PA.

**Palavras-Chave:** Artrite Reumatoide, Periodontite apical, Medicina Endodôntica

## **Influence of rheumatoid arthritis on the inflammatory and resorptive process of periapical lesions in *Wistar* rats.**

### **Abstract**

**Summary:** Given the strong evidence of the relationship between systemic changes and infection of endodontic origin, this study aims to evaluate the influence of rheumatoid arthritis (RA) on the inflammatory and resorptive process of periapical lesions, using local analyzes in *Wistar* rats. Forty *Wistar* rats were used, divided into 4 groups (n=10): control rats (C), rats with apical periodontitis (AP), rats with RA (RA), rats with PA and AR (AP+RA). RA induction was performed with three injections, two subcutaneous caudal injections (days 0 and 7) containing 50 $\mu$ L of methylated bovine albumin (Met-BSA, 40 mg/mL), 5% glucose emulsified with CFA/complete Freund's adjuvant (*Mycobacterium sp*) and an intra-articular injection in the right knee (day 14) of the same solution with a volume of 25 $\mu$ L. AP was induced 2 days after the first caudal injection, through pulp exposure of the upper and lower first and second molars on the right side. After 28 days, the animals were euthanized and the hemimandibles removed for analysis of the inflammatory process using immunohistochemistry for IL-6, IL-17 and TNF- $\alpha$ . The resorptive process was analyzed using micro-CT and immunohistochemistry for bone markers such as TRAP, RANK-L and OPG. In addition, the right knees were also collected to prove the proposed methodology and induce RA, using hematoxylin-eosin (H.E.) staining. The results were analyzed using specific statistical tests for each case (p<0.05). All groups showed an increase in body weight with no statistical difference, with the exception of day 30, when the AP group had a greater weight gain compared to the C group. Both systemic groups, RA and AP+RA, had a higher percentage of right knee joint swelling compared to groups C and PA. In the inflammatory profile, the AP+RA group had higher immunostaining for IL-17 and TNF- $\alpha$  compared to the AP group. In relation to bone resorption, immunostaining for RANK-L, TRAP and the volume of periapical lesions were also higher in the AP+RA group compared to the AP group. It is concluded that the presence of RA was able to increase the inflammatory infiltrate and bone resorption of AP lesions.

**Keywords:** Rheumatoid arthritis, Apical periodontitis, Endodontic medicine

## SUMÁRIO

	<i>Páginas</i>
1. Introdução e justificativa	1
2. Objetivos	4
3. Material e métodos	4
4. Forma de análise dos resultados	10
5. Resultados	12
6. Discussão	19
7. Conclusão	23
8. Referências Bibliográficas	23
9. Disciplinas Ministradas / Atividades de Extensão	
10. Comentários do Supervisor	

## 1. Introdução e justificativa

Segundo o Colégio Americano de Reumatologia (2021), a artrite reumatoide (AR) é o tipo mais comum de artrite autoimune, afetando mais de 1,3 milhão de norte-americanos, sendo 75% deste grupo composto por mulheres. Além disso, estima-se que 1 a 3% das mulheres de todo o mundo podem ter AR por volta dos 30 a 50 anos de idade (Karataş et al., 2020). Essa doença é caracterizada pela produção de diversos auto-anticorpos, incluindo o fator reumatoide (FR) e anticorpos contra proteínas e peptídeos citrulinados (ACPA), sendo a destruição articular sua principal lesão (Brink et al., 2016). A Sociedade Brasileira de Reumatologia (2020) afirma que sua causa ainda é desconhecida, podendo apresentar alguns fatores de risco como por exemplo fatores genéticos, tabagismo, fatores ambientais e gênero (Little et al., 2013).

A artrite leva a sinovite, infiltração celular e a um processo desorganizado de destruição e remodelação óssea, resultante da ação de células T e B autorreativas, que envolvem várias cascatas inflamatórias (Firestein et al., 2003), principalmente com uma superprodução e superexpressão do fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e da interleucina 6 (IL-6) (Gierut et al., 2010). A membrana sinovial é a principal fonte de citocinas pró-inflamatórias e proteases e, em conjunto com osteoclastos e condrócitos, promove a destruição articular, formando o pannus, uma camada anormal de tecido de granulação composta por células do sistema imunológico, vasos sanguíneos e células fibrosas (Little et al., 2013). O pannus começa a crescer a partir da membrana sinovial e acaba invadindo a articulação na AR, causando destruição irreversível da cartilagem e erosão óssea (Tanaka et al., 2014). Com relação à cascata inflamatória, a presença de agregados de imunoglobulina do tipo G (IgG) ou de complexos de IgG-FR (fator reumatoide) ativa o sistema complemento e resulta em diversos fenômenos inflamatórios (Clavel et al., 2008). Além disso, o reconhecimento dos complexos imunes por fagócitos promove liberação de diversas citocinas pró-inflamatórias, principalmente TNF- $\alpha$  e IL-6, o que exacerba ainda mais o processo inflamatório (Alessandri et al., 2008).

Nosso grupo de pesquisa tem estudado a relação da periodontite apical (PA) com diferentes desordens sistêmicas e, para este projeto, elegemos a AR como objeto de estudo. Uma vez que a AR foi a primeira doença sistêmica

relacionada com infecções orais na época da teoria da infecção focal proposta por Billings em 1912. Essa teoria postulava que dentes infectados poderiam ser os causadores de doenças sistêmicas e que microrganismos se disseminariam de uma área isolada para outras áreas do corpo. Apesar desta teoria ter sido desacreditada, sabemos que a infecção endodôntica pode influenciar a condição sistêmica por meio de três formas principais: (I) a partir do desenvolvimento de um abscesso periapical agudo onde os microrganismos e seus produtos podem se disseminar; (II) a partir de um procedimento endodôntico, em que os microrganismos são disseminados via sistema circulatório; (III) e a partir de uma lesão inflamatória periapical crônica, pela liberação contínua de produtos bacterianos e mediadores inflamatórios (Cintra et al., 2021).

Na época da teoria da infecção focal e a partir dos estudos de Mayo em 1914, a AR foi fortemente relacionada à saúde oral comprometida, onde se especulava que o abscesso periapical poderia originar um reumatismo crônico (hipótese nunca comprovada) (Mayo 1914). Algumas associações destas enfermidades foram publicadas como o estudo de Cecil e colabs. com 200 casos de reumatismo, onde 62% estavam relacionados à microbiota oral (Cecil et al., 1927). Além disso, haviam verificado que o *Streptococcus ssp.*, muito prevalente na cavidade oral, era o agente primário nos casos de reumatismo (Shandalow et al., 1928; Cecil et al., 1927).

A influência da PA na saúde sistêmica tem sido alvo de intensos estudos de nosso grupo de pesquisa (Cintra et al., 2013a, 2013b, 2014a, 2014b, 2014c, 2016, 2017a, 2018, 2021; Astolphi et al., 2013, 2015; Azuma et al., 2017a; Ferreira et al., 2017; Conti et al., 2020; Cantiga-Silva et al., 2021). Empregando modelo animal padronizado, verificamos que a PA, quando associada à diabetes mellitus (DM) e à DP pode influenciar os níveis de triglicérides (Cintra et al., 2013a), creatinina (Cintra et al., 2013b), hemoglobina glicada (Cintra et al., 2014c), plaquetas (Ferreira et al., 2017), mediadores pró-inflamatórios (Cintra et al., 2014b), peso corporal (Cintra et al., 2017a), peso de órgãos (Cintra et al., 2017a), marcadores inflamatórios em órgãos (Azuma et al., 2017a), além de alterar alguns parâmetros do hemograma, destacando-se a série branca (Cintra et al., 2014a), bem como é capaz de alterar o sinal insulínico do sangue e do tecido muscular (Astolphi et al., 2013, 2015; Pereira et al., 2016). Ainda, verificamos que determinadas alterações sistêmicas podem elevar a atividade

osteoclástica nas lesões periapicais (Gomes-Filho et al., 2015; Martins et al., 2016). Analisando a PA de forma isolada, verificamos que o seu impacto sobre a saúde sistêmica é proporcional ao número de dentes com infecção (Cintra et al., 2016; Samuel et al., 2018; Azuma et al., 2018, 2021). Adicionalmente, sabemos que a população brasileira possui em média 2,7 dentes com PA por pessoa (Marotta et al., 2012), o que aumenta a preocupação com lesões periapicais crônicas não tratadas.

Neste sentido e tendo em vista que a AR é uma doença inflamatória que conduz a um aumento sistêmico de mediadores inflamatórios (Ebersole & Cappelli 2000), assim como a PA (Cintra et al., 2021), seria oportuno verificar os níveis das citocinas nos tecidos periapicais de animais portadores destas condições (PA e AR), buscando uma correlação de possíveis alterações destes mediadores, uma vez que ambas as doenças possuem mediadores em comum.

Considerando também que mediadores inflamatórios, tais como o TNF- $\alpha$  e IL-6 se mostram associados à degradação da matriz extracelular e à reabsorção óssea (Marçal et al., 2010; Azuma et al., 2013; Jakovljevic et al., 2015). O entendimento mais amplo do processo reabsortivo se faz necessário e a identificação de marcadores do processo de reabsorção pode auxiliar no entendimento deste processo. A atividade dos osteoclastos pode ser verificada pela marcação da fosfatase ácida resistente ao tartarato (TRAP) (Cosme-Silva et al., 2020). Os ativadores de osteoclastos estimulam a reabsorção óssea por meio de um desequilíbrio no sistema RANKL / OPG, que é desencadeado pelo processo inflamatório e seus produtos (Boyce & Xing 2008; Dal-Fabbro et al., 2019; Cosme-Silva et al., 2020). Uma vez que a via RANK/RANK-L/OPG é muito importante nas doenças reumatológicas. Uma vez que doenças ósseas estão relacionadas com o aumento de reabsorção e destruição óssea (Boyce & Xing, 2008). Sendo o RANK-L um importante mediador da erosão óssea (Pettit et al., 2006), expressado pelas células T sinoviais, que na membrana sinovial juntamente com o TNF-a ativa os osteoclastos e causam destruição articular (Tat et al., 2009; Boyce & Xing, 2008; Geusens, 2009; Pettis et al., 2006; Kim et al., 2010).

Desta forma, com os resultados obtidos a partir deste estudo, esperamos preencher as lacunas existentes que permeiam o impacto inflamatório e reabsortivo da artrite reumatoide em lesões periapicais.

## **2. Objetivos**

### **2.1. Objetivo geral**

O objetivo geral deste projeto foi avaliar o perfil inflamatório e reabsortivo de lesões periapicais em ratos *Wistar* portadores de artrite reumatoide.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Avaliar localmente o efeito da AR na PA, por meio da análise do processo inflamatório, empregando a técnica de imunistoquímica para as citocinas IL-6, IL-17 e TNF- $\alpha$ ;
- Avaliar localmente o efeito da AR na PA, por meio da análise do processo reabsortivo, empregando a microtomografia computadorizada (Micro-CT) e a marcação pela técnica de imunistoquímica para TRAP, RANK-L e OPG.

## **3. Material e Métodos**

### **3.1. Material**

#### **a) Animais**

Foram utilizados 40 ratos machos (*Rattus albinus*, *Wistar*), com aproximadamente 5 meses, provenientes do biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba- UNESP. Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura entre 22 e 24°C com ciclo de luz controlada (12 horas claro e 12 horas escuro), em gaiolas com mini-isoladores específicos para animais portadores de alterações sistêmicas (VentiLife Alesco, Monte Mor, Brasil) que injeta o ar diretamente no mini-isolador, com fluxo contínuo e de baixa velocidade, garantindo troca de ar ideal e equilíbrio da pressão interna. Cada mini-isolador abrigou 4 animais, com maravalha estéril e ficará acoplado em rack ventilado (VentiLife, Alesco – Monte Mor, Brasil). Os animais foram alimentados durante todo o período experimental com dieta tradicional e água filtrada “*ad libitum*”. Os procedimentos experimentais propostos neste estudo foram realizados de acordo com o comitê de conduta ética em experimentação animal (CEUA/ Unesp – figura 1).

**CERTIFICADO**

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado "**Relação bidirecional entre a artrite reumatóide e a periodontite apical**", Processo FOA nº 0640-2020, sob responsabilidade de Luciano Tavares Angelo Cintra apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 29 de Abril de 2021.

**VALIDADE DESTE CERTIFICADO:** 29 de Abril de 2023.

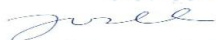
**DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL:** até 29 de Maio de 2023.

**CERTIFICATE**

We certify that the study entitled "**Bidirectional relationship between rheumatoid arthritis and apical periodontitis**", Protocol FOA nº 0640-2020, under the supervision of Luciano Tavares Angelo Cintra presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on April 29, 2021.

**VALIDITY OF THIS CERTIFICATE:** April 29, 2023.

**DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT:** May 29, 2023.



**Prof. Associado João Carlos Callera**  
Coordenador da CEUA  
CEUA Coordinator

**Figura 1.** Certificado de aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA - FOA/UNESP).

Os 40 animais foram divididos em 4 grupos aleatoriamente (Tabela 1), contendo 10 animais em cada grupo correspondente, sendo: Controle (C); ratos com periodontite apical (PA); ratos com artrite reumatoide (AR); ratos com periodontite apical e com artrite reumatoide (PA+AR).

GRUPOS	N	TOTAL
Controle (C)	10	40
Com periodontite apical (PA)	10	
Com artrite reumatoide (AR)	10	
Com periodontite apical e artrite reumatoide (PA+AR)	10	

**Tabela 1.** Divisão dos grupos: Controle (n=10); ratos com periodontite apical (n=10); ratos com artrite reumatoide (n=10); ratos com periodontite apical e com artrite reumatoide (n=10).

## **b) Drogas**

Os animais ficaram em quarentena para adaptação ao novo habitat e para contenção de alguma possível doença de fácil propagação. Uma semana antes do início do experimento (dia -7), os animais foram vermifugados com Ivermectina 1% via oral (0,3 mL dissolvidos em 1 litro de água).

Para a indução da AR foi utilizada uma solução contendo Albumina Bovina Metilada (Met-BSA, 40 mg/mL, Sigma - Aldrich), glicose 5% emulsificada com CFA/adjuvante completo de Freund (Mycobacterium sp, Santa Cruz Biotechnology).

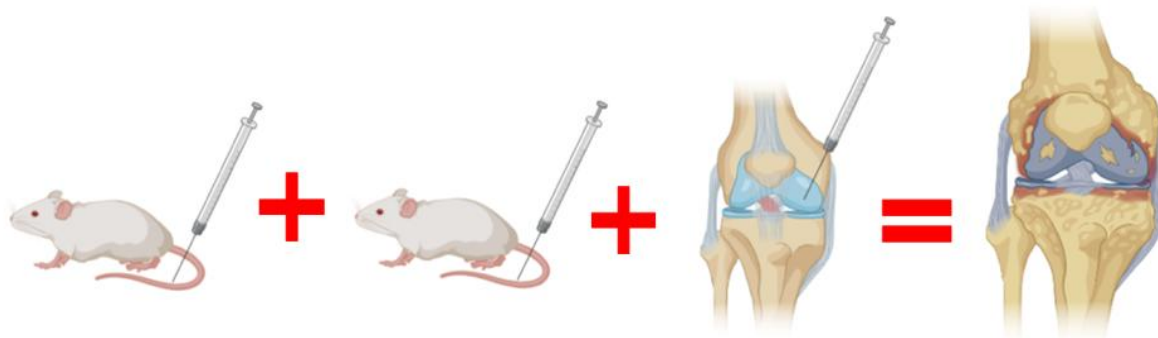
O protocolo anestésico utilizado para a indução da PA e para a terceira injeção (intra-articular do joelho) para indução da AR, foi à base de Xilazina 2% (relaxante muscular, analgésico e sedativo, Xilazin, Syntec do Brasil LTDA – Cotia, São Paulo, Brasil – 10 mg/Kg) e à base de Cloridrato de Cetamina a 10% (Ketamina Agener 10%, União Química Farmacêutica Nacional S/A – Embu-Guaçu, São Paulo, Brasil – 80 mg/Kg), via intramuscular.

Para eutanásia foi empregado sobredose anestésica com Tiopental Sódico, via intraperitoneal (Thiopentax, Cristália – Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda – Itapira, Brasil – 240 mg/Kg), após anestesia geral, conforme as Diretrizes da prática da eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA 2015).

## **3.2. Métodos**

### **a) Indução da AR**

A indução da AR foi realizada em metade dos animais por meio de três injeções (Figura 2). As duas primeiras injeções foram subcutâneas caudais, realizadas nos dias 0 e 7 e contendo um volume de 50 $\mu$ L de albumina bovina metilada (Met-BSA, 40 mg/mL) e glicose 5% emulsificada com CFA/adjuvante completo de Freund (Mycobacterium sp). A terceira injeção foi intra-articular no joelho direito, no dia 14, e com a mesma solução com um volume de 25 $\mu$ L (Oliveira et al., 2018). Para a terceira injeção, os animais foram anestesiados com o protocolo anestésico descrito anteriormente e foi realizada a tricotomia na região articular do joelho direito e assepsia com iodopovidona (PVPI) para posterior injeção.

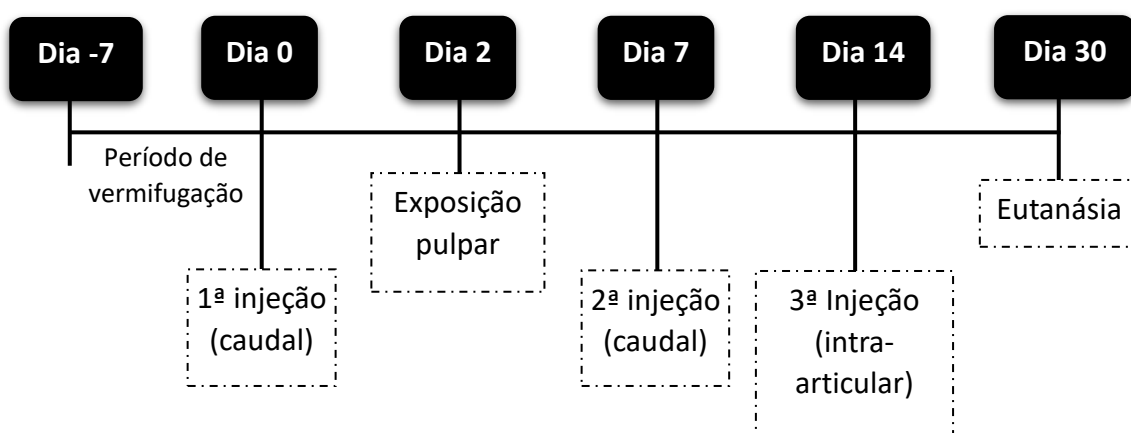


**Figura 2.** Ilustração das etapas para a indução da AR. Injeção subcutânea caudal (dias 0 e 7) e injeção intra-articular no joelho direito (dia 14).

### b) Indução da PA

Após 2 dias da primeira injeção para indução da AR (dia 2), os 20 ratos dos grupos PA e PA+AR foram anestesiados com o protocolo já descrito. As polpas dos primeiros e segundos molares superiores e inferiores do lado direito foram expostas, por meio de uma broca em aço carbono (Broca Ln Long Neck-Maillefer, Dentsply) dotada de uma esfera na extremidade com 0,5mm de diâmetro (Cintra et al., 2014a, 2016). Desta forma, todas as exposições pulpares foram padronizadas e as polpas ficaram expostas na cavidade bucal por um período de 28 dias (dia 30), momento da eutanásia.

### c) Linha do tempo experimental



**Figura 3.** Cronologia das etapas experimentais com indução da artrite reumatoide (dia 0, 7 e 14), da periodontite apical (dia 2) e eutanásia (dia 30).

#### **d) Controle de peso dos animais**

O peso dos animais foi controlado durante todo o experimento, sendo a primeira pesagem realizada no dia 0 e as demais pesagens nos dias 2, 7, 14, 21 e 30. Os valores do peso corpóreo foram avaliados pela taxa do ganho de peso, com valores expressos em porcentagem (%).

#### **e) Controle do inchaço articular dos joelhos direitos**

O inchaço das articulações foi controlado durante todo o experimento com auxílio de paquímetro digital, sendo a primeira mensuração realizada antes da primeira injeção caudal (dia 0) e as demais mensurações ocorreram nos dias 7, 14, 21 e 30. As mensurações foram realizadas no sentido médio-lateral do joelho direito de todos os animais. Os valores foram avaliados pelo aumento do inchaço articular com valores expressos em porcentagem (%).



**Figura 4.** Imagem representativa das mensurações dos joelhos de animais que foi realizada em todos os grupos.

#### **f) Eutanásia dos animais**

Após coleta de tecido hematológico, os animais foram eutanasiados conforme protocolo descrito no item Material, subitem Drogas. Após morte, a cabeça foi seccionada do corpo e dois pesquisadores experientes procederam com a remoção simultânea dos órgãos.

#### **g) Coleta dos joelhos direitos**

Após a eutanásia, toda a pele da perna direita de cada animal foi removida. Empregando um alicate de corte, foi realizado uma primeira secção transversal na perna do animal, situada a 2cm acima do joelho direito. Em seguida, uma segunda secção transversal foi realizada 2cm abaixo do joelho

direito. Assim, os joelhos foram obtidos de modo a preservar a integridade das articulações. Uma vez obtidos, as peças foram fixadas em formalina 4% tamponada com pH neutro, durante as primeiras 20 horas, lavadas em água corrente pelo período de 12 horas e desmineralizados em solução de EDTA 10% por aproximadamente 5 meses.

#### **h) Coleta das hemimandíbulas**

Para coleta das hemimandíbulas, foi removida toda a pele correspondente à face do animal e com dois cortes com tesoura, situados no ângulo da boca, foi realizada a separação da mandíbula e maxila. A hemimandíbula foi separada da esquerda por uma secção entre os incisivos centrais. Após coleta, as hemimandíbulas foram fixadas em solução formalina a 10%, tamponada com pH neutro, durante as primeiras 20 horas.

Neste momento as hemimandíbulas direita de cada animal foram imediatamente escaneadas em micro-CT (Bruker SkyScan1272, Aartselaar, Bélgica). Em seguida, foram lavadas em água corrente pelo período de 12 horas e desmineralizados em solução de EDTA 10% por aproximadamente 3 meses.

#### **i) Processamento joelhos e hemimandíbulas**

Após a desmineralização, as peças foram lavadas em água corrente, desidratados em álcool, diafanizados em xilol e incluídos em parafina. Após inclusão, os blocos foram cortados para obtenção de cortes teciduais com 5 µm de espessura, realizados em micrótomo (Leica - RM 2045). Para todos os espécimes, 2 lâminas com 2 cortes teciduais cada foram preparadas e coradas em H.E. Além disso, outras 2 lâminas com 3 cortes teciduais cada foram preparadas e submetidas à técnica de imunoistoquímica para cada um dos marcadores selecionados de acordo com cada tipo de peça:

- As hemimandíbulas foram coradas pela técnica de imunoistoquímica para os marcadores IL-6, IL-17, TNF- $\alpha$ , TRAP, RANK-L e OPG.

- As articulações dos joelhos foram coradas em H.E. para comprovar a indução do modelo experimental.

Para a técnica da imunoistoquímica, os cortes histológicos foram desparafinizados em xilol e hidratados em álcool. A recuperação antigênica foi realizada através da imersão das lâminas histológicas em tampão Diva Decloaker® (Biocare Medical, CA, USA), em câmara pressurizada Decloaking

Chamber® (Biocare Medical, CA, USA), a 95°C, por 10 minutos. Ao término de cada uma das etapas da reação imunoistoquímica foram efetuadas lavagens em tampão fosfato salino (PBS) 0,1M, pH 7,4. Os cortes histológicos foram imersos em 3% de peróxido de hidrogênio por 1 hora e em 1% de soro albumina bovino por 12-17 horas, para o bloqueio da peroxidase endógena e bloqueio dos sítios inespecíficos, respectivamente. As lâminas histológicas foram submetidas à incubação com seus respectivos anticorpos primários diluídos em PBS acrescido de 0,1% Triton X-100 (PBS-TX), durante 24 horas, em câmara úmida. Nas etapas subsequentes foi empregado o Universal Dako Labeled (HRP) Streptavidin-Biotin Kit® (Dako Laboratories, CA, USA). As seções histológicas foram incubadas no anticorpo secundário biotilado, durante 2 horas, e posteriormente tratadas com estreptavidina conjugada com a peroxidase da raiz forte (HRP), por 1 hora. Na revelação foi empregado como cromógeno o 3,3'-tetracloridrato de diaminobenzidina (DAB chromogen Kit®, Dako Laboratories, CA, USA) e em seguida a contracoloração foi realizada com hematoxilina de Harris. Como controle negativo, os espécimes foram submetidos aos procedimentos descritos anteriormente suprimindo-se a utilização dos anticorpos primários.

#### **4. Forma de análise dos resultados**

##### **a) Análise imunoistoquímica (hemimandíbulas)**

A análise imunoistoquímica foi realizada sob iluminação de campo claro em microscópio óptico (Optiphot-2, Nikon, Japão) por um investigador cego e calibrado em aumentos de 400x. Para cada tipo de imunomarcção uma forma de análise diferente foi proposta, pois levamos em consideração os trabalhos já analisados e publicados pelo nosso grupo de pesquisa. A imunomarcção para IL-6, IL-17 e TNF- $\alpha$  nas hemimaxilas foi definida como aquela de coloração acastanhada presente no citoplasma das células e/ou na matriz extracelular. A análise semiquantitativa, que fornece informações sobre o número de células imonorreativas e a intensidade de imunomarcção da matriz extracelular, foi efetuada utilizando-se seis seções histológicas de cada animal. Os escores do padrão de imunomarcção adaptado foram (Azuma et al., 2021): A intensidade do infiltrado inflamatório foi classificada da seguinte forma: ausente (0 a poucas

células inflamatórias: escore 1), leve (<25 células inflamatórias: escore 2), moderado (25-125 células inflamatórias: escore 3) ou grave (>125 células inflamatórias: escore 4). Uma área quadrada de 0,5 mm da porção periapical da raiz distal do primeiro molar inferior direito foi examinada, e a contagem de células por unidade de área foi calculada.

A imunomarcção para RANKL e OPG nas hemimandíbulas foram também analisadas de forma semiquantitativa considerando o seguinte padrão de imunomarcção (Dal-Fabbro et al., 2019): Escore 1 - ausência completa de células imunorreativas; Escore 2 - algumas células imunorreativas e marcação fraca da matriz extracelular (aproximadamente um quarto das células imunorreativas); Escore 3 - número moderado de células imunorreativas e marcação moderada da matriz extracelular (aproximadamente metade das células imunorreativas); Escore 4 - grande número de células imunorreativas e forte marcação da matriz extracelular (aproximadamente três quartos das células imunorreativas). O número de osteoclastos maduros imunomarcados como células multinucleadas TRAP-positivas foi quantificado no perímetro da lesão. Os resultados foram expressos como o número de células multinucleadas TRAP-positivas por mm (Azuma et al., 2017b).

#### **b) Análise por MicroCT (hemimandíbulas)**

As hemimandíbulas foram escaneadas utilizando o sistema micro-CT (Bruker SkyScan1272, Aartselaar, Bélgica). Cada amostra foi colocada em um frasco e posicionada com o incisivo voltado para cima. As amostras serão digitalizadas com as seguintes configurações: 70 kV, 167  $\mu$ A, ao passo de rotação de 0,5° e à exposição de 2100 milissegundos. A razão volume de tecido ósseo foi medida usando o software CTan (Skyscan, Aartselaar, Bélgica) (Cosme-Silva et al., 2020) e a área de interesse foi a raiz distal do primeiro molar inferior. O volume foi analisado e utilizado para determinar o efeito da AR sobre a PA.

### **5.5. Análise Estatística**

A análise estatística foi realizada por meio do programa SigmaPlot 12.0™ (Chicago, IL, USA). A verificação da distribuição normal das variáveis contínuas quantitativas foi feita pelos testes de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk. As

variáveis que apresentarem distribuição normal foram expressas em média de desvio padrão e aquelas que apresentarem distribuição não normal foram expressas em mediana com valor mínimo e máximo e percentis.

Para os valores quantitativos das análises que seguirem uma distribuição normal foram aplicados o teste ANOVA, enquanto para comparações múltiplas dos resultados entre os grupos estudados, foi utilizado o teste Tukey.

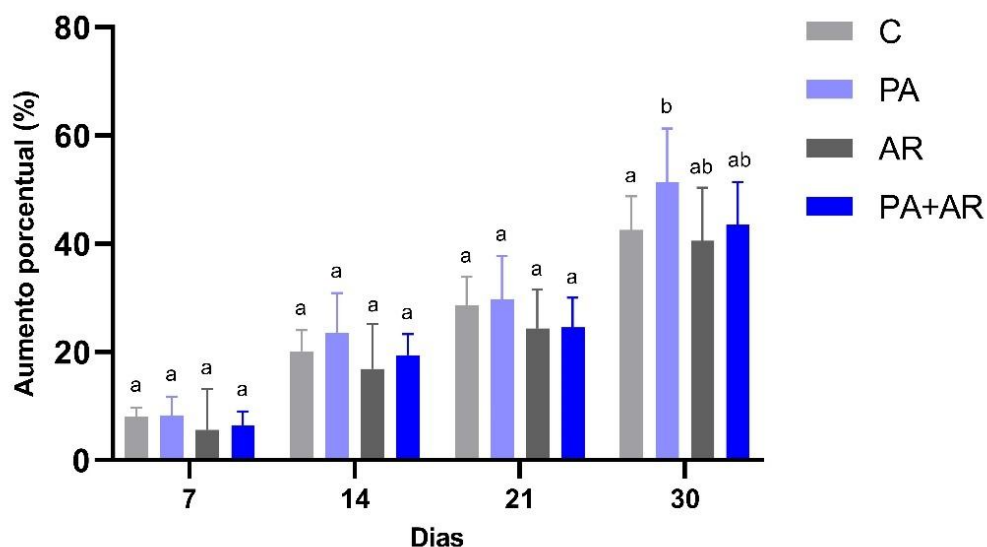
Para as análises histológica e imunoistoquímica foram atribuídos escores e para os valores quantitativos das análises que não seguirem uma distribuição normal, foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis (Siegel et al., 1956), e quando observada alguma diferença significativa, foi realizado o cruzamento entre os grupos, pelo teste de comparações múltiplas de Dunn (Dunn 1958). O nível de significância foi de 5% ( $p < 0,05$ ).

## **5. Resultados**

### **5.1. Controle ganho de peso corpóreo dos animais durante o período experimental**

Os resultados da taxa de ganho de peso corpóreo (%) estão apresentados no gráfico 1 e tabela 2. Por meio dos resultados obtidos, é possível observar que os animais tiveram aumento de peso gradual em seus respectivos grupos. Apesar dos animais dos grupos AR e PA+AR terem uma menor taxa quando comparado aos grupos sem artrite, C e PA, não houve diferença estatística significativa ( $p > 0,05$ ). A única diferença estatística encontrada foi no dia 30, entre os grupos PA ( $53,55 \pm 10,7$ ) e C ( $43,34 \pm 6,36$ ) ( $p < 0,05$ ).

**Gráfico 1-** *Resultado da taxa de ganho de peso corpóreo dos animais em percentual (%) durante o período experimental*



Média da relação da taxa de ganho de peso corpóreo dos grupos: controle (C), periodontite apical (PA), artrite reumatoide (AR) e periodontite apical com artrite reumatoide (PA+AR), durante 2, 7, 14, 21 e 30 dias. Letras diferentes indicam diferença estatística significantes em cada período ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 2** – Resultados da taxa do ganho de peso corpóreo dos animais em percentual (%) durante o período experimental

Dias	Grupos (média da % ± desvio padrão)			
	C	PA	AR	PA+AR
2	0,79 ± 1,25 <sup>a</sup>	2,16 ± 2,23 <sup>a</sup>	0,63 ± 0,96 <sup>a</sup>	1,49 ± 1,49 <sup>a</sup>
7	8,86 ± 2,27 <sup>a</sup>	10,50 ± 4,92 <sup>a</sup>	6,27 ± 7,54 <sup>a</sup>	8,02 ± 3,48 <sup>a</sup>
14	20,92 ± 4,32 <sup>a</sup>	25,65 ± 8,76 <sup>a</sup>	17,52 ± 8,25 <sup>a</sup>	20,88 ± 4,96 <sup>a</sup>
21	29,45 ± 5,54 <sup>a</sup>	31,95 ± 8,90 <sup>a</sup>	24,98 ± 7,17 <sup>a</sup>	26,07 ± 5,66 <sup>a</sup>
30	43,34 ± 6,36 <sup>a</sup>	53,55 ± 10,7 <sup>b</sup>	41,22 ± 9,72 <sup>ab</sup>	45,02 ± 8,06 <sup>ab</sup>

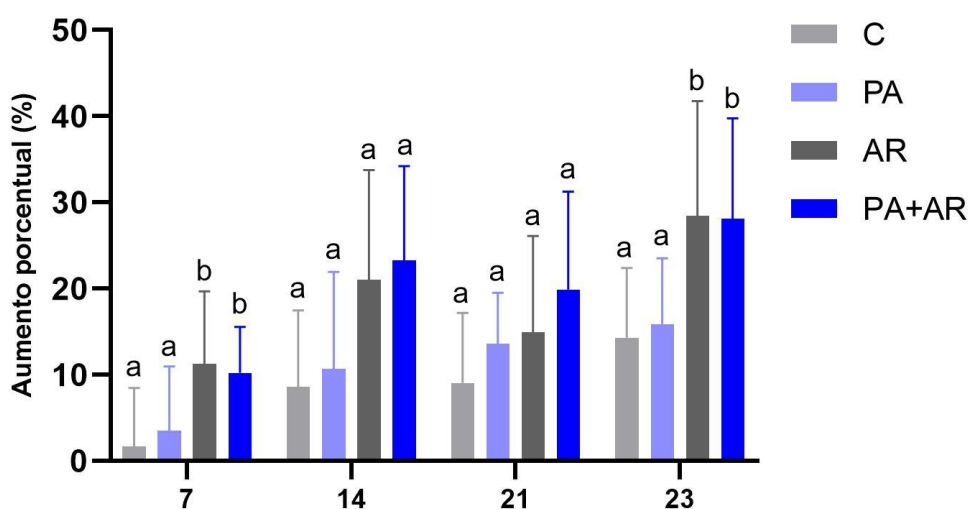
Média da porcentagem do ganho de peso corpóreo de todos os grupos, durante 2, 7, 14, 21 e 30 dias. Letras diferentes indicam diferença estatística significantes em linhas ( $p < 0,05$ ).

## 5.2. Controle do inchaço articular dos joelhos direitos durante o período experimental

Os resultados obtidos no controle do inchaço nos joelhos direito dos animais no sentido médio-lateral (%), estão apresentados no gráfico 2 e tabela 3. Por meio dos resultados obtidos, o grupo AR obteve maiores valores comparado ao grupo C ( $p = 0,023$ ) e o grupo PA+AR maiores valores do que o

grupo PA ( $p=0,045$ ). Essa diferença estatística também foi observada no final do experimento (dia 30), com aumento do inchaço para o grupo AR comparado ao grupo C ( $p= 0,005$ ) e valores maiores para o grupo PA+AR comparado ao grupo PA ( $p=0,011$ ).

**Gráfico 2-** Resultado do aumento do inchaço articular do joelho dos animais em percentual (%) durante o período experimental



Média da relação do aumento do inchaço dos grupos: controle (C), periodontite apical (PA), artrite reumatoide (AR) e periodontite apical com artrite reumatoide (PA+AR), durante 0, 7, 14, 21 e 30 dias. Letras diferentes indicam diferença estatística significantes em linhas ( $p<0,05$ ).

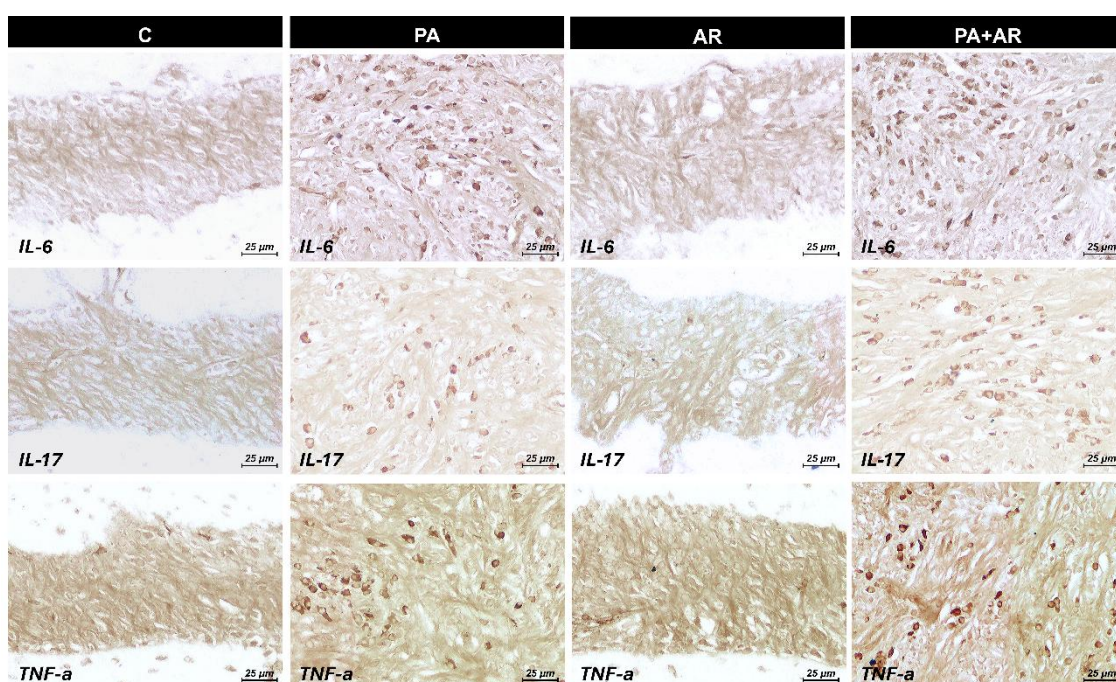
**Tabela 3.** Resultado do aumento do inchaço articular do joelho dos animais em percentual (%) durante o período experimental

Dias	Grupos (média da % ± desvio padrão)			
	C	PA	AR	PA+AR
7	1,67 ± 6,80 <sup>a</sup>	3,54 ± 7,42 <sup>a</sup>	11,29 ± 8,40 <sup>b</sup>	10,24 ± 5,31 <sup>b</sup>
14	8,60 ± 8,90 <sup>a</sup>	10,68 ± 11,26 <sup>a</sup>	21,04 ± 12,72 <sup>a</sup>	23,25 ± 10,99 <sup>a</sup>
21	9,05 ± 8,13 <sup>a</sup>	13,62 ± 5,92 <sup>a</sup>	14,93 ± 11,16 <sup>a</sup>	19,88 ± 11,41 <sup>a</sup>
30	14,31 ± 8,07 <sup>a</sup>	15,88 ± 7,66 <sup>a</sup>	28,45 ± 13,34 <sup>b</sup>	28,13 ± 11,64 <sup>b</sup>

Média da porcentagem do aumento do inchaço dos animais de todos os grupos, durante 7, 14, 21 e 30 dias. Letras diferentes indicam diferença estatística significantes em linhas ( $p<0,05$ ).

### 5.3. Imunoistoquímica do infiltrado inflamatório

Os resultados da imunohistoquímica para IL-6, IL-17 e TNF- $\alpha$  estão expressos na tabela 4 e figura 2. Os grupos PA e PA+AR, tiveram maiores imunomarcações de IL-6 comparado aos grupos C e AR, porém, sem diferença estatística entre eles ( $p=0,625$ ). Para IL-17, os grupos PA e PA+AR tiveram maiores imunomarcações comparado aos grupos sem lesão, sendo maior para PA+AR quando comparado ao PA ( $p=0.001$ ). Para TNF- $\alpha$  os valores também foram maiores para os grupos PA e PA+AR comparado aos outros grupos, sendo maior para PA+AR quando comparado ao PA ( $p<0,001$ )



**Figura 2.** Fotomicrografia das áreas das lesões periapicais por meio da imunohistoquímica para IL-6, IL-17 e TNF-  $\alpha$  (aumento de 25 $\mu$ m) nos grupos C, PA, AR e PA+AR.

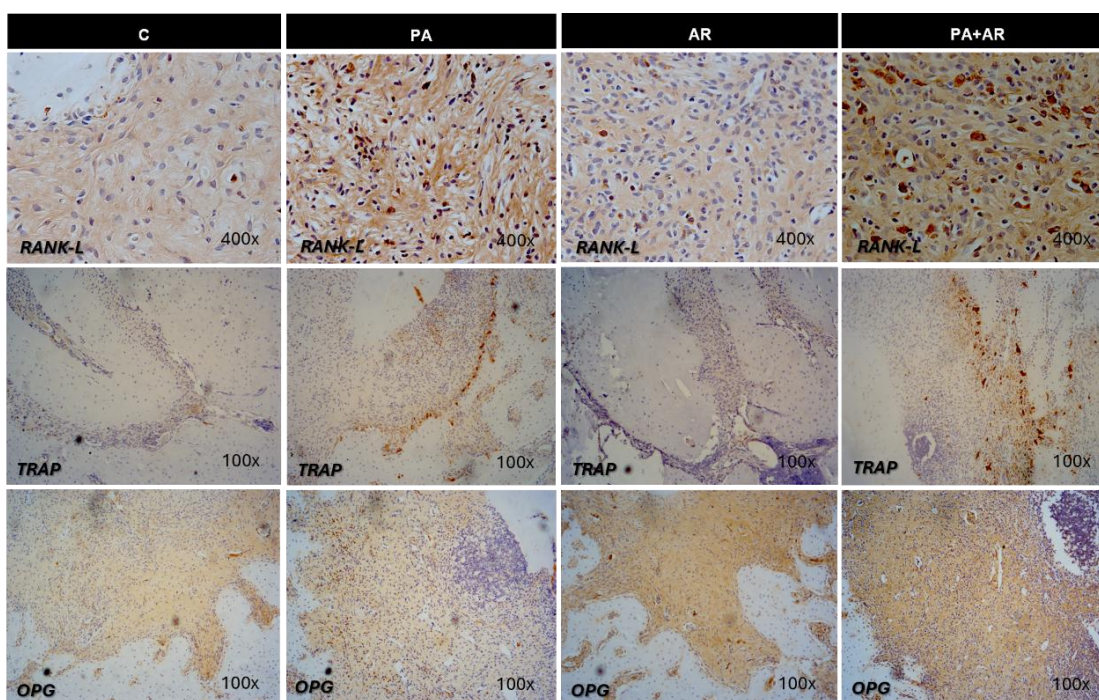
**Tabela 4 – Resultados da imunohistoquímica do processo inflamatório (IL-6, IL-17 e TNF-  $\alpha$ ).**

<b>Crítérios de análise</b>	<b>C</b>	<b>PA</b>	<b>AR</b>	<b>PA+AR</b>	<b>P value</b>
<b>IL-6</b> (Mediana)	1 (1-2) <sup>a</sup>	4 (3-4) <sup>b</sup>	1(1-2) <sup>a</sup>	4 (3-4) <sup>b</sup>	<0,001
<b>IL-17</b> (Mediana)	1 (1-1) <sup>a</sup>	3 (2-3) <sup>b</sup>	1(1-1) <sup>a</sup>	3 (3-4) <sup>c</sup>	=0,001
<b>TNF-<math>\alpha</math></b> (Mediana)	1(1-1) <sup>a</sup>	3 (2-3) <sup>b</sup>	1(1-1) <sup>a</sup>	3 (3-4) <sup>c</sup>	=0,007

Resultados da imunomarcção de IL-6, IL-17 e TNF-  $\alpha$  expressos em mediana. Letras diferentes indicam diferença estatística significantes em linhas ( $p < 0,05$ ).

#### 5.4. Imunoistoquímica do processo reabsortivo

Os resultados da imunoistoquímica para RANK-L, TRAP e OPG estão expressos na tabela 5 e figura 3. Para RANK-L houve diferença significativa entre os grupos ( $p = 0,005$ ). Os grupos PA e PA+AR, tiveram maior imunomarcção de RANK-L comparado aos grupos sem lesões de PA ( $p < 0,001$ ), com maiores valores de RANK-L para o grupo PA+AR quando comparado ao grupo PA ( $p = 0,019$ ). Para imunomarcção de TRAP, também houve diferença significativa entre os grupos ( $p < 0,001$ ). Os grupos com PA e PA+AR tiveram maiores valores comparado aos grupos C e AR ( $p < 0,001$ ), sendo maior para o grupo PA+AR quando comparado ao PA ( $p = < 0,001$ ). Para OPG os valores foram maiores também nos grupos PA e PA+AR comparado aos grupos C e AR, porém, não houve diferença estatística entre os grupos PA e PA+AR ( $p = 0,548$ ).



**Figura 3.** Fotomicrografia das áreas das lesões periapicais por meio da imunoistoquímica para RANK-L (aumento de 40x), TRAP (100x) e OPG (100x), nos grupos C, PA, AR e PA+AR.

**Tabela 5** – Resultados da imunoistoquímica do processo reabsortivo (RANK-L, OPG e TRAP).

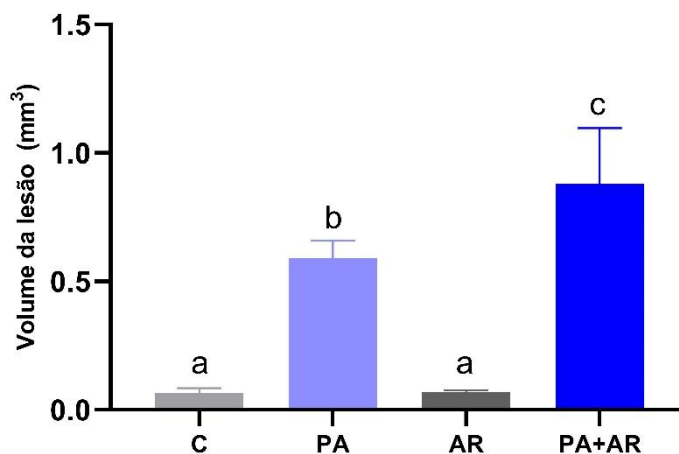
Critérios de análise	C	PA	AR	PA+AR	P value
<b>RANK-L</b> (Mediana)	1 (1-2) <sup>a</sup>	3 (2-4) <sup>b</sup>	1 (1-2) <sup>a</sup>	4 (3-4) <sup>c</sup>	0,005
<b>TRAP</b> (célula/mm)	4,85±1,66 <sup>a</sup>	19,89±2,23 <sup>b</sup>	5,09±2,17 <sup>a</sup>	33,38±5,39 <sup>c</sup>	<0,001
<b>OPG</b> (Mediana)	1 (1-2) <sup>a</sup>	2 (1-2) <sup>a</sup>	1 (1-2) <sup>a</sup>	1,5 (1-2) <sup>a</sup>	0,548

Resultados da imunomarcção de RANK-L e OPG expressos em mediana e de TRAP pela média dos resultados. Letras diferentes indicam diferença estatística significantes em linhas ( $p < 0,05$ ).

### 5.5. Micro-ct das mandíbulas

Os resultados da micro-ct, por meio do parâmetro de volume da lesão ( $\text{mm}^3$ ) que avalia o volume de reabsorção e consequentemente a perda óssea, demonstrou que o grupo PA+AR e PA obteve maior perda óssea quando comparado aos grupos sem lesão. Sendo que as lesões do PA+AR foram significativamente maiores que o grupo PA ( $p = 0,001$ ). Já os grupos C e AR por não terem indução das lesões periapicais tiveram valores de normalidade.

**Gráfico 3** – Resultados da micro-ct das mandíbulas



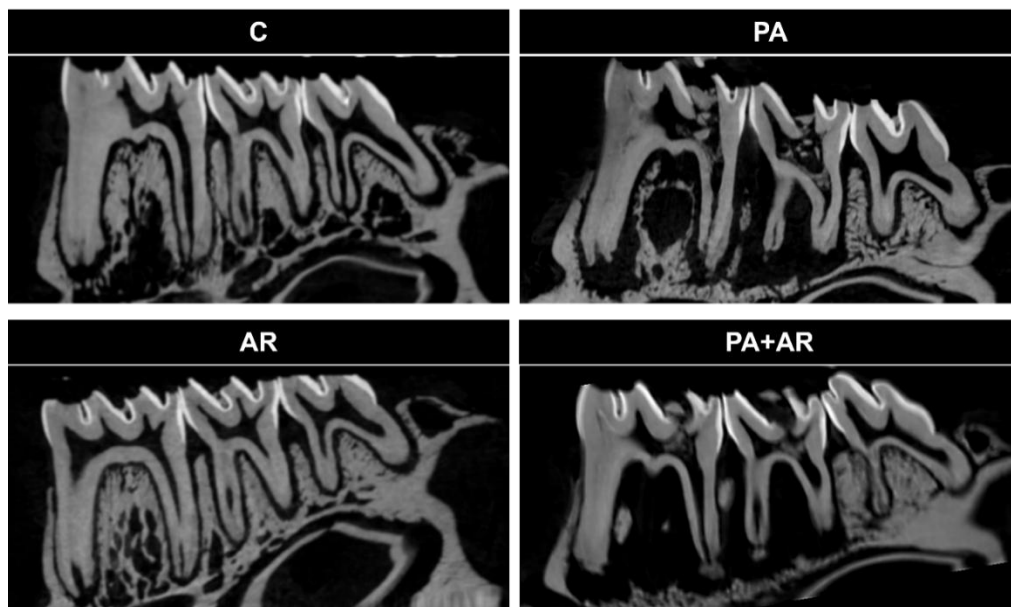
Média da perda óssea pelo volume da lesão dos grupos: controle (C), periodontite apical (PA), artrite reumatoide (AR) e periodontite apical com artrite reumatoide (PA+AR). Letras diferentes indicam diferença estatística significantes em linhas ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 6** – Média dos resultados da micro-ct do processo reabsortivo

Grupos	C	PA	AR	PA+AR
--------	---	----	----	-------

<b>Volume da</b>	0.065 ±	0.590 ±	0.069 ±	0.876 ±
<b>lesão (mm<sup>3</sup>)</b>	0.019 <sup>a</sup>	0.070 <sup>b</sup>	0.007 <sup>a</sup>	0.218 <sup>c</sup>

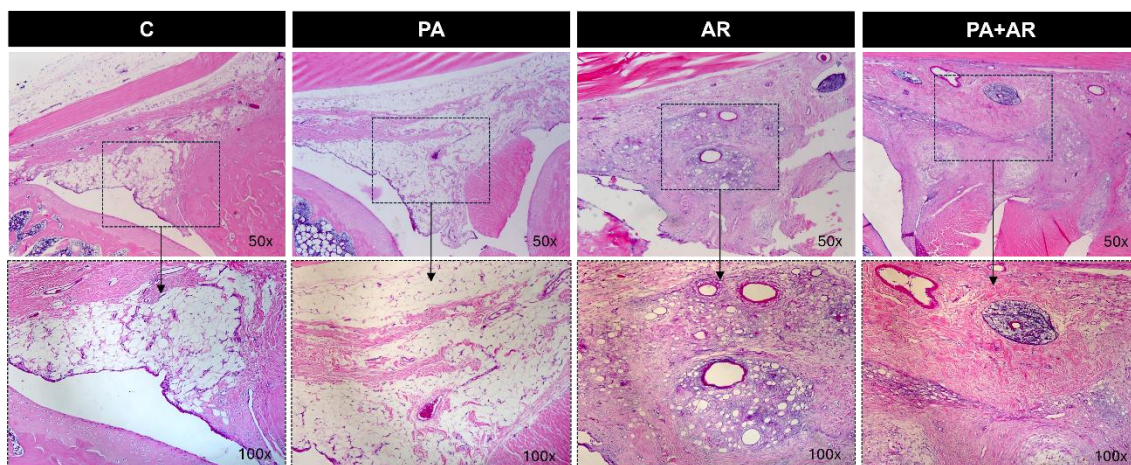
Média da perda óssea pelo volume das lesões dos animais de todos os grupos. Letras diferentes indicam diferença estatística significantes em linhas ( $p < 0,05$ ).



**Figura 4.** Imagem da micro-ct da hemimandíbula (corte sagital) dos animais dos grupos: controle (C), periodontite apical (PA), artrite reumatoide (AR) e periodontite apical com artrite reumatoide (PA+AR). Área de interesse para análise foi a região distal do primeiro molar inferior. Letras iguais indicam ausência de diferenças estatísticas ( $p > 0,05$ ).

### 5.6. Imagem histológica dos joelhos direitos (articulação)

Foi realizado a coleta e a coloração de H&E dos joelhos direitos de todos os animais. Nos cortes histológicos, tanto no grupo C como no PA, ambos os grupos sem indução da artrite, apresentaram organização tecidual e estrutural de membrana sinovial, com ausência de células necróticas e plexo vascular inalterado. Já, a articulação dos grupos portadores de artrite, AR e PA+AR, tiveram desorganização da membrana sinovial e dos vasos sanguíneos, com presença de área de necrose celular, infiltrado inflamatório exacerbado, pannus, erosão óssea e cartilaginosa.



**Figura 5.** Fotomicrografia das áreas dos joelhos direitos, área da articulação femuro-tibial, utilizando a coloração de hematoxilina e eosina (aumento de 50x e 100x).

## 6. Discussão

Esse estudo teve como objetivo aprofundar um recente estudo realizado pelo grupo de pesquisa (Tese de Doutorado da candidata, Processo CNPq número 140260/2020-0), onde foi padronizado o modelo de indução da AR em ratos. Nesse estudo, nas lesões de periodontite apical, o grupo PA+AR demonstrou ter infiltrado inflamatório intenso em contraste com o infiltrado inflamatório moderado do grupo PA. Além de maior inflamação, o grupo PA+AR também obteve maior reabsorção óssea periapical quando comparado ao grupo PA. Demonstrando que a presença da doença sistêmica, artrite reumatoide, foi capaz de aumentar a severidade local das lesões de PA. A fim de preencher lacunas existentes que permeiam o impacto inflamatório e o reabsortivo da artrite reumatoide em lesões periapicais, este estudo teve como objetivo avaliar o perfil inflamatório e reabsortivo de lesões periapicais em ratos *Wistar* portadores de artrite reumatoide.

A fim de monitoramento, durante todo o período experimental, foi realizado o controle do peso corpóreo dos animais, onde todos os grupos tiveram um aumento percentual de peso de forma crescente e gradual. Apesar dos grupos com alterações sistêmicas (AR e PA+AR) demonstrarem menor ganho de peso quando comparado aos grupos sem alteração, não houve diferença estatística.

Para a indução da artrite foi utilizado três injeções, sendo as duas primeiras na cauda dos animais no dia 0 e 7 e a terceira na região intra-articular

direita e foi realizado o monitoramento para acompanhar a evolução do quadro. Através dos resultados do controle de inchaço articular dos joelhos, pode-se observar que mesmo com a primeira injeção caudal, houve um aumento percentual nos grupos da artrite, com 11,29% para o grupo AR e 10,24% para o PA+AR. E no final do experimento, dia 30, essa diferença ficou ainda mais evidente, pois o grupo AR teve um aumento de 28,45% e o grupo PA+AR de 28,13%, indicando inchaço articular característico desta patologia (Oliveira et al., 2018) e instalação da doença.

Ainda nos joelhos direito de todos os animais, foi realizada análise histológica da articulação femuro-tibial. Todos os animais dos grupos portadores de artrite apresentaram sinais clássicos da doença, como por exemplo, infiltrado inflamatório exacerbado, áreas de necrose, pannus, erosão óssea e cartilaginosa (Little et al., 2013; Tanaka et al., 2014), desorganização da membrana sinovial e dos vasos sanguíneos. Comprovando, desta maneira, juntamente com o aumento exacerbado do inchaço articular dos joelhos, o sucesso na indução do modelo experimental. Apesar da tese de doutorado da candidata demonstrar que a associação da PA e AR, houve uma piora dos parâmetros sanguíneos, aumentando leucócitos e linfócitos, nas articulações não foi possível identificar que a PA agravou o quadro de AR. Apesar de um recente estudo ter demonstrado que a presença da PA em animais com AR, ocasionou em maior circunferência articular e da pata traseira e do joelho (Damiani et al., 2024). Mas vale ressaltar que a metodologia para estudo não foi a mesma, uma vez que utilizaram a média das medidas e nesse estudo foi utilizado a porcentagem do aumento do inchaço articular.

A periodontite apical foi induzida por método consolidado (Cintra et al., 2013a; Cintra, et al., 2014b; Cintra et al., 2016; Cantiga-Silva et al., 2021) e conduzida por um período de 28 dias, tempo necessário para necrose pulpar total e reabsorção óssea. Sendo induzidas quatro lesões periapicais, nos primeiros e segundos molares superiores e inferiores do lado direito, uma vez que uma única lesão é insuficiente para promover alteração sistêmica significativa (Cintra et al., 2016). Por meio das análises imunoistoquímicas e de micro-ct foi confirmado a instalação das lesões periapicais em todos os animais submetidos à indução.

Embora vários estudos tenham revelado a associação entre AR e PA (Joseph et al., 2013; Mercado et al., 2000; Kaber et al., 1997), como por exemplo uma prevalência notavelmente maior de PA em pacientes diagnosticados com artrite reumatoide do que naqueles sem a doença (Allihaibi et al., 2023; Karataş et al., 2020) e um estudo animal recente demonstrar que a artrite reumatoide pode prolongar o estado inflamatório da pulpíte e periodontite apical (Yamazaki et al., 2023), não há muitos trabalhos que estudam evidências dessa associação, apesar que ambas possuem vias inflamatórias em comum. Para IL-6, citocina que desempenha um papel importante na defesa do hospedeiro. Onde na presença de infecções ou lesões teciduais, a IL-6 é prontamente produzida por monócitos e macrófagos e contribui para a remoção de agentes infecciosos e restauração de tecidos danificados por meio da ativação de respostas imunológicas, hematológicas e de fase aguda (Tanaka et al. 2016). A imunomarcção foi maior para os grupos PA e PA+AR comparado aos grupos sem lesão. Resultado esse já é esperado, uma vez que estudos do nosso grupo verificaram que IL-6 atua exacerbando a resposta inflamatória periapical (Samuel et al. 2019), assim como a PA influencia o aumento da dosagem sérica de IL-6 (Cintra et al. 2016, Azuma et al. 2021), mantendo assim uma relação bidirecional. Entretanto, não foi possível observar um aumento estatisticamente significativo de IL-6 no grupo PA+AR, apesar de estudos com doença periodontal (DP) revelarem um aumento de IL-6 e TNF- $\alpha$ , tanto na articulação dos joelhos quanto no fluído gengival (Hirano 2010; Noh et al., 2013).

A IL-17 também foi escolhida nesse estudo, uma vez que já foi alvo de intensas pesquisas e já relacionada com a AR e a PA (Lubberts 2015, Cintra et al. 2016). Ela é secretada principalmente por células T, denominadas Th 17 (Gaffen 2011) e apresenta-se ativa em respostas inflamatórias, autoimunes e antimicrobianas à patógenos em uma variedade de doenças infecciosas (Schenkein et al. 2010). Neste estudo, o grupo PA+AR revelou maior imunomarcção de IL-17 quando comparado ao grupo com PA. Isso pode ser explicado pois além da IL-17 estar presente nas lesões periapicais, ela também é encontrada isolada da AR. Além disso, estudos apontam evidências que a IL-17 está envolvida no desenvolvimento da AR e desenvolve papel crítico no seu estabelecimento (Sarkar et al. 2010; Lubberts 2015).

O TNF- $\alpha$  é outra citocina que também se relaciona com o processo inflamatório e atua como importante mediador de lesões teciduais (Tansey & Szymkowski 2009). Na presença da PA, sabe-se que há aumento considerável de TNF- $\alpha$  nos tecidos que circundam o elemento dentário, podendo-se supor que esta citocina pode induzir a atividade osteoclástica local (Colić et al. 2009, Samuel et al. 2019). E na presença da AR, está abundantemente presente no soro de pacientes com AR e na sinóvia artrítica perturbando o equilíbrio controlado entre as citocinas pró e anti-inflamatórias (Moelants et al. 2013). Neste estudo, o grupo PA+AR revelou maior imunomarcagem de TNF- $\alpha$  quando comparado ao grupo com PA, ou seja, a presença da AR nas lesões periapicais foi capaz de aumentar o seu estado inflamatório. Esse aumento também foi observado em um recente estudo, que ressaltou uma possível relação entre a periodontite apical e a exacerbação da artrite reumatoide, uma vez que animais com PA e AR tiveram maiores danos articulares e maiores valores séricos de TNF- $\alpha$  (Damini et al., 2024).

Buscando alterações específicas no processo reabsortivo da PA na presença ou ausência da AR, foi analisado a severidade da reabsorção óssea por meio da análise de Micro-CT e pela marcação imunoistoquímica para RANKL, OPG e TRAP. Diante dos resultados da microtomografia computadorizada, a AR foi capaz de agravar a severidade da reabsorção óssea das lesões de PA, uma vez que a volume de perda óssea foi evidentemente muito maior para o grupo PA+AR comparado ao grupo PA. Isso pode se dar, pois a progressão de ambas as doenças inclui o processo de reabsorção óssea por meio da ativação do receptor ativador do fator nuclear kB (Cotti et al., 2014). Podendo ser justificado também, uma vez que o grupo PA+AR obteve maior imunomarcagem de TNF- $\alpha$ , que possui importante papel no recrutamento de osteoclastos na patogênese de distúrbios envolvendo inflamação (Wong et al., 2008) estando implicada na degradação de tecidos moles e na reabsorção óssea, direta ou indiretamente, apoiando a osteoclastogênese (Fouad et al., 2020). Além disso, na presença da AR, é bem conhecido que há uma expressão contínua de citocinas como o TNF- $\alpha$ , IL-1 e IL-6 (Gierut et al., 2010), e essas citocinas além de desempenharem um papel pró-inflamatório, também podem induzir a reabsorção óssea (Máton & Kiss, 2014; Yang et al., 2018; Azuma et al., 2014).

Esses resultados, que demonstram maior perda óssea para o grupo PA+AR, são fortalecidos pelos achados imunistoquímicos, uma vez que o aumento na expressão de RANKL no grupo PA+AR foi evidente. A RANKL é uma proteína fundamental para a formação osteoclástica, e quando há ligação com RANK culmina na formação de células reabsortivas e conseqüentemente na reabsorção (Hofbauer et al., 2005). Em relação à OPG, houve um aumento nos grupos PA e PA+AR, podendo ser explicado uma vez que a sua expressão é aumentada na presença de interleucinas, como (IL)-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , TNF $\beta$ , entre outras (Vega et al., 2007). Entretanto, não houve diferenças entre os grupos com lesões. A OPG ao contrário de RANK-L, é osteoprotetora, liga-se ao RANKL, impedindo a sua interação com o RANK e inibindo a formação de osteoclastos (Silva e Branco 2011) e conseqüentemente inibindo a reabsorção. O grupo PA+AR possuiu maior reabsorção que o grupo PA, pois a via RANKL-OPG foi deslocada para RANKL, havendo menor disponibilidade de OPG e menor inibição da reabsorção. Esses dados podem ser confirmados, pois o grupo PA+AR obteve maior quantidade de células TRAP positivas por milímetro da lesão de PA. Uma vez que TRAP é liberado junto com produtos de degradação da matriz óssea por osteoclastos ativos e representa um biomarcador direto da atividade osteoclástica e reabsorção óssea (Salinas-Muñoz et al., 2017).

## 7. Conclusão

Por meio dos resultados, é possível observar uma associação entre ambas as doenças, uma vez que a presença da artrite reumatoide foi capaz de prejudicar ainda mais o perfil inflamatório e o processo reabsortivo de lesões periapicais em ratos *Wistar*.

## 8. Referências Bibliográficas

1. ALESSANDRI, C.; PRIORI, R.; MODESTI, M.; MANCINI, R.; VALESINI, G. The role of anti-cyclic cytrullinate antibodies testing in rheumatoid arthritis. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, v. 34, n. 1, p. 45-49, fev. 2008.
2. ALLIHAIBI, M.; NIAZI, S. A.; FARZADI, S.; AUSTIN, R.; IDEO, F.; COTTI, E. et al. Prevalência de periodontite apical em pacientes com doenças autoimunes: um estudo de caso-controle. *International Endodontic Journal*, v. 56, n. 5, p. 573-583, 2023.
3. ASTOLPHI, R. D.; CURBETE, M. M.; CHIBA, F. Y.; CINTRA, L. T.; ERVOLINO, E.; DA MOTA, M. S.; ANTONIALI, C.; GARBIN, C. A.; SUMIDA,

- D. H. Periapical lesions decrease insulin signaling in rat skeletal muscle. *Journal of Endodontics*, v. 41, n. 8, p. 1305-1310, ago. 2015.
4. ASTOLPHI, R. D.; CURBETE, M. M.; COLOMBO, N. H.; SHIRAKASHI, D. J.; CHIBA, F. Y.; PRIETO, A. K.; CINTRA, L. T.; BOMFIM, S. R.; ERVOLINO, E.; SUMIDA, D. H. Periapical lesions decrease insulin signal and cause insulin resistance. *Journal of Endodontics*, v. 39, n. 5, p. 648-652, mai. 2013.
  5. AZUMA, M. M.; CARDOSO, C. B. M.; SAMUEL, R. O.; PIPA, C. B.; BOMFIM, S. R. M.; NARCISO, L. G.; GOMES-FILHO, J. E.; CINTRA, L. T. A. Omega-3 fatty acids alter systemic inflammatory mediators caused by apical periodontitis. *Journal of Endodontics*, v. 47, n. 2, p. 272-277, fev. 2021.
  6. AZUMA, M. M.; GOMES-FILHO, J. E.; CARDOSO, C. B. M.; PIPA, C. B.; NARCISO, L. G.; BOMFIM, S. R. M.; et al. Omega 3 fatty acids reduce the triglyceride levels in rats with apical periodontitis. *Brazilian Dental Journal*, v. 29, p. 173-178, 2018.
  7. AZUMA, M. M.; GOMES-FILHO, J. E.; ERVOLINO, E.; PIPA, C. B.; CARDOSO, C. B. M.; ANDRADA, A. C.; KAWAI, T.; CINTRA, L. T. A. Omega 3 fatty acids reduce bone resorption while promoting bone generation in rat apical periodontitis. *Journal of Endodontics*, v. 43, n. 6, p. 970-976, jun. 2017.
  8. AZUMA, M. M.; GOMES-FILHO, J. E.; PRIETO, A. K. C.; SAMUEL, R. O.; DE LIMA, V. M. F.; SUMIDA, D. H.; ERVOLINO, E.; CINTRA, L. T. A. Diabetes increases interleukin-17 levels in periapical, hepatic, and renal tissues in rats. *Archives of Oral Biology*, v. 83, p. 230-235, nov. 2017.
  9. AZUMA, M. M.; SAMUEL, R. O.; GOMES-FILHO, J. E.; DEZAN-JÚNIOR, E.; CINTRA, L. T. O papel da IL-6 na periodontite apical: uma revisão sistemática. *International Endodontic Journal*, v. 47, n. 7, p. 615-621, 2014.
  10. BILLINGS, F. Chronic focal infections and their etiologic relations to arthritis and nephritis. *Archives of Internal Medicine*, v. 9, p. 484-498, 1912.
  11. BOYCE, B. F.; XING, L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 473, n. 2, p. 139-146, 15 maio 2008.
  12. BOYCE, B. F.; XING, L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 473, p. 139-146, 2008.
  13. BRINK, M.; HANSSON, M.; MATHSSON-ALM, L.; WIJAYATUNGA, P.; VERHEUL, M. K.; TROUW, L. A.; HOLMDAHL, R.; RÖNNELID, J.; KLARESGOG, L.; RANTAPÄÄ-DAHLQVIST, S. Rheumatoid factor isotypes in relation to antibodies against citrullinated peptides and carbamylated proteins before the onset of rheumatoid arthritis. *Arthritis Research & Therapy*, v. 18, p. 43, 9 fev. 2016.
  14. CANTIGA-SILVA, C.; ESTRELA, C.; SEGURA-EGEA, J. J.; AZEVEDO, J. P.; DE OLIVEIRA, P. H. C.; CARDOSO, C. B. M.; PINHEIRO, T. N.; ERVOLINO, E.; SIVIERI-ARAÚJO, G.; CINTRA, L. T. A. Inflammatory profile of apical periodontitis associated with liver fibrosis in rats: histological and immunohistochemical analysis. *International Endodontic Journal*, v. 54, n. 8, p. 1353-1361, ago. 2021.
  15. CECIL, R. L.; ARCHER, B. H. Chronic infectious arthritis: an analysis of 200 cases. *American Journal of Medical Sciences*, v. 173, p. 258-270, 1927.
  16. CINTRA, L. T.; DA SILVA FACUNDO, A. C.; AZUMA, M. M.; SUMIDA, D. H.; ASTOLPHI, R. D.; BOMFIM, S. R.; NARCISO, L. G.; GOMES-FILHO, J. E.

- Pulpal and periodontal diseases increase triglyceride levels in diabetic rats. *Clinical Oral Investigations*, v. 17, p. 1595-1599, 2013.
17. CINTRA, L. T.; DA SILVA FACUNDO, A. C.; PRIETO, A. K.; SUMIDA, D. H.; NARCISO, L. G.; MOGAMI BOMFIM, S. R.; OLIVEIRA E SILVA, C.; DEZAN-JÚNIOR, E.; GOMES-FILHO, J. E. Blood profile and histology in oral infections associated with diabetes. *Journal of Endodontics*, v. 40, n. 8, p. 1139-1144, ago. 2014.
  18. CINTRA, L. T.; FACUNDO, A. C. S.; VALENTIM, D.; PRIETO, A. K. C.; SILVA, C. O.; SUMIDA, D. H.; BOMFIM, S. R. M.; DEZAN-JÚNIOR, E.; GOMES-FILHO, J. E. Effect of oral infections on serum creatinine levels in diabetic rats. *International Journal of Diabetic Vascular Disease Research*, v. 1, n. 3, p. 1-6, 2013.
  19. CINTRA, L. T.; SAMUEL, R. O.; AZUMA, M. M.; DE QUEIRÓZ, A. O.; ERVOLINO, E.; SUMIDA, D. H.; DE LIMA, V. M.; GOMES-FILHO, J. E. Multiple apical periodontitis influences serum levels of cytokines and nitric oxide. *Journal of Endodontics*, v. 42, n. 5, p. 747-751, 2016.
  20. CINTRA, L. T.; SAMUEL, R. O.; AZUMA, M. M.; RIBEIRO, C. P.; NARCISO, L. G.; DE LIMA, V. M.; SUMIDA, D. H.; COCLETE, G. A.; DEZAN-JÚNIOR, E.; GOMES-FILHO, J. E. Apical periodontitis and periodontal disease increase serum IL-17 levels in normoglycemic and diabetic rats. *Clinical Oral Investigations*, v. 18, n. 9, p. 2123-2128, dez. 2014.
  21. CINTRA, L. T.; SAMUEL, R. O.; AZUMA, M. M.; DE QUEIRÓZ, A. O.; ERVOLINO, E.; SUMIDA, D. H.; DE LIMA, V. M.; GOMES-FILHO, J. E. Multiple apical periodontitis influences serum levels of cytokines and nitric oxide. *Journal of Endodontics*, v. 42, n. 5, p. 747-751, 2016.
  22. CINTRA, L. T.; SAMUEL, R. O.; AZUMA, M. M.; RIBEIRO, C. P.; NARCISO, L. G.; DE LIMA, V. M.; SUMIDA, D. H.; COCLETE, G. A.; DEZAN-JÚNIOR, E.; GOMES-FILHO, J. E. Apical periodontitis and periodontal disease increase serum IL-17 levels in normoglycemic and diabetic rats. *Clinical Oral Investigations*, v. 18, n. 9, p. 2123-2128, dez. 2014.
  23. CINTRA, L. T.; SAMUEL, R. O.; FACUNDO, A. C.; PRIETO, A. K.; SUMIDA, D. H.; BOMFIM, S. R.; SOUZA, J. C.; DEZAN-JÚNIOR, E.; GOMES-FILHO, J. E. Relationships between oral infections and blood glucose concentrations or HbA1c levels in normal and diabetic rats. *International Endodontic Journal*, v. 47, n. 3, p. 228-237, mar. 2014.
  24. CINTRA, L. T.; SAMUEL, R. O.; PRIETO, A. K.; SUMIDA, D. H.; DEZAN-JÚNIOR, E.; GOMES-FILHO, J. E. Oral health, diabetes, and body weight. *Archives of Oral Biology*, v. 73, p. 94-99, jan. 2017.
  25. CINTRA, L. T. A.; ESTRELA, C.; AZUMA, M. M.; QUEIROZ, Í. O. A.; KAWAI, T.; GOMES-FILHO, J. E. Endodontic medicine: interrelationships among apical periodontitis, systemic disorders, and tissue responses of dental materials. *Brazilian Oral Research*, v. 32, supl. 1, e68, 18 out. 2018.
  26. CINTRA, L. T. A.; FERREIRA, L. L.; BENETTI, F.; GASTÉLUM, A. A.; GOMES-FILHO, J. E.; ERVOLINO, E.; BRISO, A. L. F. The effect of dental bleaching on pulpal tissue response in a diabetic animal model. *International Endodontic Journal*, v. 50, n. 8, p. 790-798, ago. 2017.
  27. CINTRA, L. T. A.; GOMES, M. S.; DA SILVA, C. C.; FARIA, F. D.; BENETTI, F.; COSME-SILVA, L.; SAMUEL, R. O.; PINHEIRO, T. N.; ESTRELA, C.; GONZÁLEZ, A. C.; SEGURA-EGEA, J. J. 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, out. 2021.
28. CLAVEL, C. et al. Induction of macrophage secretion of TNF $\alpha$  through Fc $\gamma$  receptor IIa engagement by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies to citrullinated proteins complexed with fibrinogen. *Arthritis & Rheumatism*, v. 58, n. 3, p. 678-688, 2008.
  29. COLÉGIO AMERICANO DE REUMATOLOGIA. 2021. Disponível em: <https://www.rheumatology.org/>. Acesso em: 18 dez. 2024.
  30. COLIĆ, M.; GAZIVODA, D.; VUCEVIĆ, D.; VASILJIĆ, S.; RUDOLF, R.; LUKIĆ, A. Proinflammatory and immunoregulatory mechanisms in periapical lesions. *Molecular Immunology*, v. 47, n. 1, p. 101-113, nov. 2009.
  31. CONCEA. 2015. Disponível em: <https://www.foa.unesp.br/#!/pesquisa/comissoes/ceua/legislacao/>. Acesso em: 18 dez. 2024.
  32. CONTI, L. C.; SEGURA-EGEA, J. J.; CARDOSO, C. B. M.; BENETTI, F.; AZUMA, M. M.; OLIVEIRA, P. H. C.; BOMFIM, S. R. M.; CINTRA, L. T. A. Relationship between apical periodontitis and atherosclerosis in rats: lipid profile and histological study. *International Endodontic Journal*, v. 53, n. 10, p. 1387-1397, out. 2020.
  33. COSME-SILVA, L.; DAL-FABBRO, R.; CINTRA, L. T. A.; DOS SANTOS, V. R.; DUQUE, C.; ERVOLINO, E.; MOGAMI BOMFIM, S.; GOMES-FILHO, J. E. Systemic administration of probiotics reduces the severity of apical periodontitis. *International Endodontic Journal*, v. 52, n. 12, p. 1738-1749, dez. 2019.
  34. COSME-SILVA, L.; DAL-FABBRO, R.; CINTRA, L. T. A.; ERVOLINO, E.; PLAZZA, F.; MOGAMI BOMFIM, S.; DUARTE, P. C. T.; JUNIOR, V. E. D. S.; GOMES-FILHO, J. E. Reduced bone resorption and inflammation in apical periodontitis evoked by dietary supplementation with probiotics in rats. *International Endodontic Journal*, v. 53, n. 8, p. 1084-1092, ago. 2020.
  35. COTTI, E.; SCHIRRU, E.; ACQUAS, E.; USAI, P. Uma visão geral sobre medicamentos biológicos e seu possível papel na periodontite apical. *Journal of Endodontics*, v. 40, n. 12, p. 1902-1911, 2014.
  36. DAL-FABBRO, R.; MARQUES-DE-ALMEIDA, M.; COSME-SILVA, L.; ERVOLINO, E.; CINTRA, L. T. A.; GOMES-FILHO, J. E. Chronic alcohol consumption increases inflammation and osteoclastogenesis in apical periodontitis. *International Endodontic Journal*, v. 52, n. 3, p. 329-336, mar. 2019.
  37. DAMIANI, B. A. M.; PINTO, K. P.; FERREIRA, C. M. A.; SARMENTO, E. B.; DE LIMA, C. O.; CASSIMIRO, C. S.; SASSONE, L. M.; DA SILVA, E. J. N. L. Apical periodontitis as an aggravating factor for the severity of rheumatoid arthritis: an animal study. *International Endodontic Journal*, v. 57, n. 11, p. 1669-1681, nov. 2024. doi: 10.1111/iej.14130. Epub 30 jul. 2024. PMID: 39080736.
  38. DUNN, O. J. Estimation of the means of dependent variables. *Annals of Mathematical Statistics*, v. 29, n. 4, p. 1095-1111, 1958.
  39. EBERSOLE, J. L.; CAPPELLI, D. Acute-phase reactants in infections and inflammatory diseases. *Periodontol 2000*, v. 23, p. 19-49, jun. 2000.
  40. FERREIRA, L. L.; GOMES, J. E. FILHO; SUMIDA, D. H.; BOMFIM, S. R. M.; SIVIERI-ARAÚJO, G.; GUIMARÃES, G.; CINTRA, L. T. A. Diabetic rats

- present high mean platelet count in the presence of oral infections. *Brazilian Dental Journal*, v. 28, n. 5, p. 548-551, set.-out. 2017.
41. FIRESTEIN, G. S. Evolving concepts of rheumatoid arthritis. *Nature*, v. 423, n. 6937, p. 356-361, 15 maio 2003.
  42. GAFFEN, S. L. Recent advances in the IL-17 cytokine family. *Current Opinion in Immunology*, v. 23, n. 5, p. 613-619, out. 2011.
  43. GEUSENS, P. Emerging treatments for postmenopausal osteoporosis – focus on denosumab. *Clinical Interventions in Aging*, v. 4, p. 241-250, 2009.
  44. GIERUT, A.; PERLMAN, H.; POPE, R. M. Imunidade inata e artrite reumatoide. *Rheumatic Diseases Clinics of North America*, v. 36, n. 2, p. 271-296, 2010. DOI: 10.1016/j.rdc.2010.03.004.
  45. GIERUT, A.; PERLMAN, H.; POPE, R. M. Innate immunity and rheumatoid arthritis. *Rheumatic Diseases Clinics of North America*, v. 36, n. 2, p. 271-296, maio 2010.
  46. GOMES-FILHO, J. E.; WAYAMA, M. T.; DORNELLES, R. C.; ERVOLINO, E.; YAMANARI, G. H.; LODI, C. S.; SIVIERI-ARAÚJO, G.; DEZAN-JÚNIOR, E.; CINTRA, L. T. Raloxifene modulates regulators of osteoclastogenesis and angiogenesis in an oestrogen deficiency periapical lesion model. *International Endodontic Journal*, v. 48, n. 11, p. 1059-1068, nov. 2015.
  47. HIRANO, T. Interleukin 6 in autoimmune and inflammatory diseases: a personal memoir. *Proceedings of the Japan Academy Series B: Physical and Biological Sciences*, v. 86, n. 7, p. 717-730, 2010.
  48. HOFBAUER, L. C.; KUHNE, C. A.; VIREECK, V. The OPG/RANKL/RANK system in metabolic bone diseases. *Journal of Musculoskeletal & Neuronal Interactions*, v. 4, p. 268-275, 2004.
  49. JAKOVLJEVIC, A.; KNEZEVIC, A.; KARALIC, D.; SOLDATOVIC, I.; POPOVIC, B.; MILASIN, J.; ANDRIC, M. Pro-inflammatory cytokine levels in human apical periodontitis: Correlation with clinical and histological findings. *Australian Endodontic Journal*, v. 41, n. 2, p. 72-77, ago. 2015.
  50. JOSEPH, R.; RAJAPPAN, S.; NATH, S. G.; PAUL, B. J. Associação entre periodontite crônica e artrite reumatoide: um estudo de caso-controle baseado em hospital. *Rheumatology International*, v. 33, n. 1, p. 103-109, 2013.
  51. KÄBER, U. R.; MICHEL, A.; BOLTEN, W. W.; GLEISSNER, C.; DEHNE, F.; WILLERSHAUSEN-ZÖNNCHEN, B. Risco de doença periodontal em pacientes com artrite reumatoide de longa data. *Arthritis & Rheumatism*, v. 40, n. 12, p. 2248-2251, 1997.
  52. KARATAŞ, E.; KUL, A.; TEPECİK, E. Association between Rheumatoid Arthritis and Apical Periodontitis: A Cross-sectional Study. *European Endodontic Journal*, v. 5, n. 2, p. 155-158, 2020.
  53. KIM, Y. G.; LEE, C. K.; OH, J. S. et al. Effect of interleukin-32 gamma on differentiation of osteoclasts from CD14+ monocytes. *Arthritis & Rheumatism*, v. 62, p. 515-522, 2010.
  54. LITTLE, J. W.; FALACE, D. A.; MILLER, C. S.; RHODUS, N. L. Rheumatologic and connective tissue disorders. In: LITTLE, J. W.; FALACE, D. A.; MILLER, C. S.; RHODUS, N. L. *Dental Management of the Medically Compromised Patient*. Mosby, 2013. p. 320-346.
  55. LUBBERTS, E. The IL-23-IL-17 axis in inflammatory arthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, v. 11, n. 7, p. 415-429, jul. 2015.

56. SALINAS-MUÑOZ, M.; GARRIDO-FLORES, M.; BAEZA, P.; HUAMÁN CHIPANA, J.; GARCÍA-SESNICH, R.; BOLOGNA, M.; HERNÁNDEZ, M. Bone resorptive activity in symptomatic and asymptomatic apical lesions of endodontic origin. *Clinical Oral Investigations*, v. 21, n. 8, p. 2653-2662, ago. 2017.
57. MARÇAL, J. R.; SAMUEL, R. O.; FERNANDES, D.; DE ARAUJO, M. S.; NAPIMOGA, M. H.; PEREIRA, S. A.; CLEMENTE-NAPIMOGA, J. T.; ALVES, P. M.; MATTAR, R.; RODRIGUES, V. Jr; RODRIGUES, D. B. The helper T cell type 17/regulatory T cell immunoregulatory balance in human radicular cysts and periapical granulomas. *Journal of Endodontics*, v. 36, p. 995-999, 2010.
58. MAROTTA, P. S.; FONTES, T. V.; ARMADA, L.; LIMA, K. C.; RÔÇAS, I. N.; SIQUEIRA, J. F. Jr. Type 2 diabetes mellitus and the prevalence of apical periodontitis and endodontic treatment in an adult Brazilian population. *Journal of Endodontics*, v. 38, n. 3, p. 297-300, mar. 2012.
59. MARTINS, C. M.; SASAKI, H.; HIRAI, K.; ANDRADA, A. C.; GOMES-FILHO, J. E. Relationship between hypertension and periapical lesion: an in vitro and in vivo study. *Brazilian Oral Research*, v. 30, n. 1, e78, 10 out. 2016.
60. MÁRTON, I. J.; KISS, C. Sobreposição de vias regulatórias protetoras e destrutivas na periodontite apical. *Journal of Endodontics*, v. 40, n. 2, p. 155-163, 2014.
61. MAYO, C. H. Mouth infection as a source of systemic disease. *JAMA*, 1914.
62. MERCADO, F.; MARSHALL, R. I.; KLESTOV, A. C.; BARTOLD, P. M. Existe uma relação entre artrite reumatoide e doença periodontal? *Journal of Clinical Periodontology*, v. 27, n. 4, p. 267-272, 2000.
63. MOELANTS, E. A.; MORTIER, A.; VAN DAMME, J.; PROOST, P. Regulation of TNF- $\alpha$  with a focus on rheumatoid arthritis. *Immunology and Cell Biology*, v. 91, n. 6, p. 393-401, jul. 2013.
64. NARAZAKI, M.; TANAKA, T.; KISHIMOTO, T. The role and therapeutic targeting of IL-6 in rheumatoid arthritis. *Expert Review of Clinical Immunology*, v. 13, n. 6, p. 535-551, jun. 2017.
65. NOH, M.; JUNG, M.; KIM, S. et al. Assessment of IL 6, IL 8 and TNF- $\alpha$  levels in the gingival tissue of patients with periodontitis. *Experimental and Therapeutic Medicine*, v. 6, p. 847-851, 2013.
66. OLIVEIRA, A. A.; MARTINS, F. M.; FURLANETTO JÚNIOR, R.; MICHELIN, M. A.; SOUSA, A. P.; NUNES, P. R. P.; MURTA, E. F. C.; CHICA, J. E. L.; ORSATTI, F. L. Rheumatoid arthritis-increased gene expressions in muscle atrophy are restored back to control as a response to acute resistance exercise. *Revista Brasileira de Ciências e Movimento*, v. 26, n. 2, p. 24-33, 2018.
67. PEREIRA, R. F.; DE OLIVEIRA DA MOTA, M. S.; DE LIMA COUTINHO MATTERA, M. S.; TSOSURA, T. V.; CHIBA, F. Y.; GARBIN, C. A.; ERVOLINO, E.; CINTRA, L. T.; OKAMOTO, M. M.; MACHADO, U. F.; SUMIDA, D. H. Periapical lesions decrease Akt serine phosphorylation and plasma membrane GLUT4 content in rat skeletal muscle. *Clinical Oral Investigations*, v. 20, n. 7, p. 1625-1630, set. 2016.
68. PETTIT, A. R.; WALSH, N. C.; MANNING, C.; GOLDRING, S. R.; GRAVALLESE, E. M. RANKL protein is expressed at the pannus-bone interface at sites of articular bone erosion in rheumatoid arthritis. *Rheumatology*, v. 45, p. 1068-1076, 2006.

69. RENVERT, S.; BERGLUND, J. S.; PERSSON, G. R.; SÖDERLIN, M. K. The association between rheumatoid arthritis and periodontal disease in a population-based cross-sectional case-control study. *BMC Rheumatology*, v. 4, p. 31, 20 jul. 2020.
70. SAKAGUCHI, W.; TO, M.; YAMAMOTO, Y.; INABA, K.; YAKEISHI, M.; SARUTA, J.; FUCHIDA, S.; HAMADA, N.; TSUKINOKI, K. Detection of anti-citrullinated protein antibody (ACPA) in saliva for rheumatoid arthritis using DBA mice infected with *Porphyromonas gingivalis*. *Archives of Oral Biology*, v. 108, p. 104510, dez. 2019.
71. SAMBORSKA-MAZUR, J.; SIKORSKA, D.; WYGANOWSKA-SWIĄTKOWSKA, M. The relationship between periodontal status and rheumatoid arthritis - systematic review. *Reumatologia*, v. 58, n. 4, p. 236-242, 2020.
72. SAMUEL, R. O.; ERVOLINO, E.; DE AZEVEDO QUEIROZ, Í. O.; AZUMA, M. M.; FERREIRA, G. T.; CINTRA, L. T. A. Th1/Th2/Th17/Treg Balance in Apical Periodontitis of Normoglycemic and Diabetic Rats. *Journal of Endodontics*, v. 45, n. 8, p. 1009-1015, ago. 2019.
73. SAMUEL, R. O.; GOMES-FILHO, J. E.; AZUMA, M. M.; SUMIDA, D. H.; DE OLIVEIRA, S. H. P.; CHIBA, F. Y.; BOMFIM, S. R. M.; CIARLINI, P. C.; NARCISO, L. G.; CINTRA, L. T. A. Endodontic infections increase leukocyte and lymphocyte levels in the blood. *Clinical Oral Investigations*, v. 22, n. 3, p. 1395-1401, abr. 2018.
74. SARKAR, S.; FOX, D. A. Targeting IL-17 and Th17 cells in rheumatoid arthritis. *Rheumatic Diseases Clinics of North America*, v. 36, n. 2, p. 345-366, maio 2010.
75. SCHENKEIN, H. A.; KOERTGE, T. E.; BROOKS, C. N.; SABATINI, R.; PURKALL, D. E.; TEW, J. G. IL-17 in sera from patients with aggressive periodontitis. *Journal of Dental Research*, v. 89, n. 9, p. 943-947, set. 2010.
76. SHANDALOW, S. L. Oral focal sepsis in relation to systemic disease. *Dental Cosmos*, v. 70, p. 609-618, 1928.
77. SIEGEL, S. *Non-parametric statistics for the behavioral sciences*. McGraw-Hill Book Co., Nova York, 1956. p. 184-194.
78. SILVA, I.; BRANCO, J. C. Rank/RANKL/OPG: literatura revisada. *Acta Reumatológica Portuguesa*, v. 36, n. 3, p. 209-218, jul.-set. 2011.
79. SOCIEDADE BRASILEIRA DE REUMATOLOGIA. 2020. Disponível em: <https://www.reumatologia.org.br/>. Acesso em: 18 dez. 2024.
80. TANAKA, K.; HASHIZUME, M.; MIHARA, M.; YOSHIDA, H.; SUZUKI, M.; MATSUMOTO, Y. Anti-interleukin-6 receptor antibody prevents systemic bone mass loss via reducing the number of osteoclast precursors in bone marrow in a collagen-induced arthritis model. *Clinical and Experimental Immunology*, v. 175, n. 2, p. 172-180, fev. 2014.
81. TANSEY, M. G.; SZYMKOWSKI, D. E. The TNF superfamily in 2009: new pathways, new indications, and new drugs. *Drug Discovery Today*, v. 14, p. 1082-1088, 2009.
82. TAT, S. T.; PELLETIER, J. P.; VELASCO, C. R.; PADRINES, M.; PELLETIER, J. M. New perspective in osteoarthritis: the OPG and RANKL system as a potential therapeutic target? *Keio Journal of Medicine*, v. 58, p. 29-40, 2009.
83. VEGA, D.; MAALOUF, N. M.; SAKHAE, K. The role of receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B (RANK)/RANK ligand/Osteoprotegerin: clinical implications.

- The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, v. 92, p. 4514-4521, 2007.
84. WANG, J.; ZHANG, S. X.; CHANG, J. S.; CHENG, T.; JIANG, X. J.; SU, Q. Y. et al. IL-2 em baixa dosagem melhorou os sintomas clínicos ao restaurar células T reguladoras reduzidas em pacientes com artrite reumatoide refratária: um ensaio clínico randomizado. *Frontiers in Immunology*, v. 13, p. 947341, 2022.
85. XIONG, H.; WEI, L.; PENG, B. Immunohistochemical localization of IL-17 in induced rat periapical lesions. *Journal of Endodontics*, v. 35, p. 216-220, 2009.
86. YAMAZAKI, S.; HAYASHI, R.; MUTOH, N.; OHSHIMA, H.; TANI-ISHII, N. Effects of Rheumatoid Arthritis on the Progression of Pulpitis and Apical Periodontitis in SKG Mice. *Journal of Endodontics*, v. 49, n. 11, p. 1501-1507, nov. 2023. DOI: 10.1016/j.joen.2023.08.003.
87. YANG, N. Y.; ZHOU, Y.; ZHAO, H. Y.; LIU, X. Y.; SUN, Z.; SHANG, J. J. O aumento da expressão de interleucina 1 $\alpha$  e interleucina 1 $\beta$  está envolvido na progressão de lesões periapicais em dentes primários. *BMC Oral Health*, v. 18, n

## 9. Disciplinas Ministradas / Atividades de Extensão

Não houve a participação em disciplinas de Pós-graduação. Entretanto a aluna, ministrou aulas na graduação nos cursos de Endodontia Integral e Noturno da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Unesp.

Não houve participação em Atividades de Extensão.

## 10. Comentários do Supervisor

A aluna participou de todas as etapas do presente projeto, desde a sua elaboração até a confecção do relatório final. Participou também de toda a parte experimental, procedimentos laboratoriais, análise dos resultados e redação final.

Mesmo tendo passado por um período de gravidez, não deixou de cumprir os compromissos assumidos com o pós-doutorado.