

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 27/01/2027



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Araçatuba

ANA CLAUDIA RODRIGUES DA SILVA CONFORTE

**INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO COM ÔMEGA-3 EM
RATOS EXPOSTOS A FUMAÇA DO CIGARRO
ASSOCIADOS A PERIODONTITE APICAL INDUZIDA:
ANÁLISE ÓSSEA E INFLAMATÓRIA**

Araçatuba - SP
2026

ANA CLAUDIA RODRIGUES DA SILVA CONFORTE

**INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO COM ÔMEGA-3 EM
RATOS EXPOSTOS A FUMAÇA DO CIGARRO
ASSOCIADOS A PERIODONTITE APICAL INDUZIDA:
ANÁLISE ÓSSEA E INFLAMATÓRIA**

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia de Araçatuba, para obtenção do título de Doutor(a). Área de Concentração: Endodontia

Orientador: Prof. Dr. Eloi Dezan Junior
Coorientador: Prof. Dr. Luciano Tavares
Ângelo Cintra
Coorientadora: Prof. Dra. Ana Maria Veiga
Vasques

Araçatuba – SP
2026

AGRADECIMENTOS

A Deus e a Nossa Senhora Aparecida,

pela constante proteção, amparo e por serem meus guias durante toda a execução deste trabalho.

À minha família,

Aos meus pais, Claudio Archanjo da Silva e Socorra de Jesus Rodrigues da Silva, e à minha irmã, Clarelise Rodrigues da Silva, por serem meus maiores exemplos de força, respeito e dedicação. Obrigada por estarem presentes em todos os momentos, por não medirem esforços para que meus sonhos se realizassem e por caminharem comigo em cada etapa dessa trajetória. Esta conquista é nossa. Minha eterna gratidão e todo o meu amor.

Ao meu marido e pai do José Pedro,

Jadison Junio Conforte, por ser meu apoio constante, por me tranquilizar nos momentos mais difíceis e por caminhar ao meu lado com paciência, respeito e dedicação. Ao longo de dez anos juntos, construímos uma trajetória marcada por companheirismo, amadurecimento e superação. Tenho orgulho da nossa história e da família que estamos formando. Seu amor, incentivo e presença foram essenciais para que eu chegasse até aqui. Esta conquista também é sua. Amamos você, papai!

Aos mestres,

Ao meu orientador, Prof. Dr. Eloi Dezan Junior, por ter me apresentado à Endodontia e por abrir as portas da pós-graduação, possibilitando minha formação no mestrado e no doutorado. Exemplo de clínico, pesquisador e docente, agradeço pela confiança depositada em mim, pelos ensinamentos técnicos e científicos e pelo estímulo constante ao meu crescimento profissional. Na pós-graduação, vivenciamos desafios e emoções intensas, e sua postura humana e acolhedora sempre demonstrou que somos mais do que uma equipe de trabalho: somos parte de uma família acadêmica.

À Profa. Dra. Mariza Akemi Matsumoto, minha orientadora de iniciação científica, coorientadora de mestrado e amiga, que esteve comigo desde o primeiro ano da graduação. Agradeço por todo acompanhamento, orientação e dedicação ao longo de três anos na iniciação científica, além de ser uma grande inspiração na decisão de seguir a pós-graduação. Seu exemplo de bondade, fé e amor ao próximo sempre foi marcante. Guardarei seus

ensinamentos com carinho e profunda admiração. Obrigada por tudo, professora; a senhora é como uma mãe para todos nós.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Luciano Tavares Ângelo Cintra, pela atenção, disponibilidade, conselhos e auxílio na execução deste projeto de pesquisa. Agradeço pela confiança e por ser um grande exemplo de profissional.

À minha coorientadora, Profa. Dra. Ana Maria Veiga Vasques, por toda orientação acadêmica, amizade e acolhimento. Agradeço pelas conversas, pelo apoio constante e pela inspiração que representa em minha vida pessoal e profissional.

À Profa. Dra. Claudia Cristina Bigueti, minha orientadora de iniciação científica, agradeço pelo carinho, pelos ensinamentos e pelas oportunidades proporcionadas. Tenho grande admiração por sua trajetória e por tudo o que tem conquistado. Agradeço por estar novamente ao meu lado nesta caminhada e espero continuar aprendendo e trabalhando juntas. Exemplo de ética, dedicação e compromisso com o ensino.

Ao Prof. Dr. Renan Dal Fabbro, expresse minha sincera gratidão pela orientação e convivência desde a graduação. Sua atuação como monitor e, posteriormente, como colegas na pós-graduação foi fundamental para minha formação clínica e acadêmica. Sempre atencioso, generoso e disponível, contribuiu de maneira decisiva para meu aprendizado.

Ao Prof. Dr. Carlos Roberto Emerenciano Bueno, agradeço a disponibilidade, atenção e valiosas contribuições ao longo da minha formação na pós-graduação. Seu constante incentivo à reflexão acadêmica foi essencial para o aprimoramento deste trabalho, contribuindo de forma significativa para o meu amadurecimento profissional e intelectual.

Aos professores do Departamento de Endodontia, Prof. Dr. Gustavo Sivieri de Araújo, Prof. Dr. Rogério de Castilho Jacinto e Prof. Dr. João Eduardo Gomes Filho, pelas contribuições diretas ou indiretas à minha formação. São grandes inspirações na docência, na pesquisa e na clínica. Agradeço pelas aulas, orientações, considerações e pelo apoio ao longo da pós-graduação.

Aos professores do Departamento de Ciências Básicas, Profa. Dra. Alaide Gonçalves, Prof. Dr. Edilson, Prof. Antonio Hernandes pela receptividade, disponibilidade e apoio na pesquisa, seus ensinamentos foram valiosos. Agradeço por toda ajuda sempre que precisei.

Aos amigos,

Priscila Novais, Nathalia Gianoto, Elisa Furquim e Julia Nakazoni, por fazerem parte da minha história, mesmo à distância. Vocês são essenciais nessa caminhada. Amo vocês.

Gladiston, Rafaela Ricci, Rômulo, Laura, Nathalia e Ana Paula, pela convivência na pós-graduação, apoio e por contribuírem para meu crescimento pessoal e profissional, tornando essa jornada mais leve e acolhedora.

À Marina, Roberta, Karina, Kennia, Samuel e Rafael, meus amigos e parceiros de profissão, agradeço pelo apoio constante sempre que precisei. Com cada um de vocês, aprendi valiosas lições sobre ética, docência e amor à profissão.

Ao Rodrigo e Vitor, por todo aprendizado compartilhado. Foram excelentes alunos de iniciação científica, e agradeço pela confiança e parceria no desenvolvimento deste projeto.

À equipe Matsumoto, em especial à Carol Bacelar, pelo auxílio na execução deste trabalho e pela atenção e disponibilidade.

Aos funcionários,

do Departamento de Odontologia Restauradora, em especial Carlos, Jorge e Autran, pela constante solicitude e paciência. Às funcionárias da Seção de Pós-Graduação, Cristiane e Valéria, pela dedicação, paciência e auxílio com prazos e documentações.

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba,

Na pessoa do Prof. Titular Alberto Botazzo Delbem, digníssimo Diretor, e do Prof. Titular Luciano Tavares Ângelo Cintra, digníssimo Vice-Diretor.

À agência de fomento,

à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo auxílio à pesquisa (Processo nº 2020/06310-5) e pela concessão da bolsa de doutorado (Processo nº 2022/06930-9).

Por fim, a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a elaboração e conclusão deste trabalho, minha sincera gratidão.

RESUMO

Conforte, ACRS. **Influência da suplementação com ômega-3 em ratos expostos a fumaça do cigarro associados a periodontite apical induzida: análise óssea e inflamatória.** 2026. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2026.

O objetivo deste estudo foi investigar a influência da suplementação sistêmica com Ômega-3 (O) na associação entre tabagismo (F) e periodontite apical (PA) induzida em ratos, avaliando repercussões sistêmicas, inflamatórias e ósseas. Sessenta e quatro ratos foram distribuídos em oito grupos (n=8): controle (C), PA, F, F+PA, PA+O, F+O, F+PA+O e C+O. Os animais fumantes foram expostos à fumaça de cigarro por 50 dias em câmara de inalação. A PA foi induzida 20 dias após o início da exposição, por abertura da polpa coronária do primeiro molar inferior direito, mantida exposta por 30 dias. A suplementação com Ômega-3, em esquema profilático e terapêutico, foi administrada por 45 dias; os controles receberam água. Após eutanásia por exsanguinação, coletaram-se amostras sanguíneas para hemograma e análises de estresse oxidativo, incluindo substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs), capacidade antioxidante total (TAC) e conteúdo oxidante total (TOC). Tecidos periapicais foram avaliados histologicamente (HE) quanto a inflamação e reabsorção óssea. Realizou-se imunomarcagem para IL-1 β , TNF- α , IL-10, RANKL e OPG. A reabsorção óssea foi mensurada por microtomografia computadorizada (micro-CT). O teste de Shapiro-Wilk avaliou a normalidade; ANOVA/Tukey ou teste t foram usados para variáveis paramétricas e Kruskal-Wallis/Dunn para variáveis não paramétricas ($\alpha=5\%$). O hemograma não apresentou diferenças entre C, C+O, F e F+O. A suplementação aumentou o hematócrito em PA+O ($p=0,0005$) e melhorou parâmetros hematológicos em F+PA+O comparado a F+PA ($p<0,05$). TBARs aumentaram em F e F+PA versus C e PA ($p<0,05$), respectivamente, e todos os grupos suplementados apresentaram redução ($p<0,05$). A TAC aumentou apenas em C+O. Histologicamente, F+PA apresentou maior inflamação ($p<0,01$). A imunomarcagem demonstrou aumento de IL-1 β e TNF- α em F+PA versus PA ($p<0,05$). O Ômega-3 reduziu IL-1 β (F+PA+O vs. F+PA) e TNF- α tanto em PA+O vs. PA quanto em F+PA+O vs. F+PA, indicando modulação inflamatória significativa. IL-10 não apresentou diferenças. RANKL aumentou em F+PA e reduziu em F+PA+O, enquanto OPG aumentou em PA+O e F+PA+O. A micro-CT mostrou maior reabsorção óssea em F+PA do que em F+PA+O ($p=0,026$). A suplementação com Ômega-3 reduziu o estresse oxidativo, a inflamação periapical e a reabsorção óssea agravada pelo tabagismo associado à PA, sugerindo efeito terapêutico adjuvante.

Palavras-chave: Fumantes; Inflamação; Osso; Periodontite periapical; Ômega-3.

ABSTRACT

Conforte, A.C.R.S. **Influence of omega-3 supplementation in rats exposed to cigarette smoke associated with induced apical periodontitis: bone and inflammatory analysis.** 2026. Thesis (PhD) – School of Dentistry, São Paulo State University (UNESP), Araçatuba, 2026.

This study aimed to investigate the influence of systemic Omega-3 (O) supplementation on the association between smoking (F) and experimentally induced apical periodontitis (PA) in rats, assessing systemic, inflammatory, and bone-related outcomes. Sixty-four rats were assigned to eight groups (n=8): control (C), PA, F, F+PA, PA+O, F+O, F+PA+O, and C+O. Smoking exposure was performed in an inhalation chamber for 50 days. PA was induced 20 days after the beginning of exposure by pulp chamber opening of the right mandibular first molar, maintained exposed for 30 days. Omega-3 supplementation (prophylactic and therapeutic) was administered for 45 days; controls received water. After euthanasia by exsanguination, blood samples were collected for complete blood count and oxidative stress analyses, including thiobarbituric acid reactive substances (TBARs), total antioxidant capacity (TAC), and total oxidant content (TOC). Periapical tissues were processed for histological evaluation (H&E) of inflammatory severity and bone resorption. Immunohistochemistry was performed for IL-1 β , TNF- α , IL-10, RANKL, and OPG. Bone resorption was quantified by micro-computed tomography (micro-CT). Data normality was assessed by Shapiro–Wilk; parametric variables were analyzed using ANOVA/Tukey or t-test, and non-parametric variables by Kruskal–Wallis/Dunn ($\alpha=5\%$). No significant hematological differences were observed among C, C+O, F, and F+O. Omega-3 increased hematocrit in PA+O ($p=0.0005$) and improved several parameters in F+PA+O compared with F+PA ($p<0.05$). TBARs levels were higher in F and F+PA versus C and PA ($p<0.05$), whereas all supplemented groups showed reductions ($p<0.05$). TAC increased only in C+O. Histologically, F+PA showed the most severe inflammation ($p<0.01$). Immunohistochemistry revealed elevated IL-1 β and TNF- α in F+PA versus PA ($p<0.05$). Omega-3 supplementation significantly reduced IL-1 β (F+PA+O vs. F+PA) and TNF- α (PA+O vs. PA; F+PA+O vs. F+PA), demonstrating a marked anti-inflammatory effect. IL-10 expression showed no differences. RANKL expression was elevated in F+PA and reduced in F+PA+O, whereas OPG expression increased in PA+O and F+PA+O. Micro-CT showed greater bone resorption in F+PA compared with F+PA+O ($p=0.026$), while PA and PA+O did not differ. Omega-3 supplementation attenuated oxidative stress, reduced pro-inflammatory cytokine expression, and decreased bone resorption associated with smoking-exacerbated apical periodontitis, indicating its potential as an adjuvant therapeutic strategy.

Keywords: Smokers; Inflammation; Bone; Apical periodontitis; Omega-3.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma representativo do desenho experimental do estudo, ilustrando a distribuição dos animais nos grupos experimentais, as intervenções realizadas, o período experimental e os momentos de coleta e análise das amostras. 17

Figura 2- Gráficos de barras representando os parâmetros do estado redox plasmático em ratos com e sem lesão periapical, submetidos ou não à suplementação com ômega-3. Foi aplicada ANOVA com teste *post hoc* de Tukey ($p<0,05$). Os símbolos indicam diferenças estatísticas ($p<0,05$). 26

Figura 3 – Aspectos histológicos da região periapical em coloração de Hematoxilina e Eosina (HE). Grupos sem lesão periapical: C (a, a1), C+O (b, b1), F (c, c1) e F+O (d, d1). Grupos com periodontite apical: PA (e, e1), PA+O (f, f1), F+PA (g, g1) e F+PA+O (h, h1). Imagens gerais em $10\times$ (a–h) e detalhes em $40\times$ (a1–h1). 29

Figura 4 – Gráficos de barras representando a imunomarcação de IL-1 β , TNF- α , IL-10, RANKL e OPG em ratos com e sem lesão periapical, submetidos ou não à suplementação com ômega-3. A análise estatística foi realizada por ANOVA seguida do teste pós-hoc de Tukey ($p<0,05$). Símbolos indicam diferenças estatisticamente significantes entre os grupos; 31

Figura 5 – Imagens representativas da imunohistoquímica dos marcadores inflamatórios IL-1 β , TNF- α e IL-10 na região periapical dos diferentes grupos experimentais (aumento de $40\times$). 32

Figura 6 – Imagens representativas da imunohistoquímica dos marcadores de remodelação óssea OPG e RANKL na região periapical dos diferentes grupos experimentais (aumento de $20\times$). 33

Figura 7 – Imagens de microtomografia computadorizada (Micro-CT), em vista sagital, do primeiro molar inferior direito dos grupos experimentais: (A) C; (B) F; (C) PA; (D) FPA; (E) C+O; (F) F+O; (G) PA+O; (H) FPA+O. 34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Média e desvio padrão dos parâmetros sanguíneos dos grupos sem lesão periapical (C, C+O, F e F+O). As comparações foram realizadas por meio do teste *t*, avaliando diferenças entre grupos semelhantes suplementados ou não. 24

Tabela 2 – Média e desvio padrão dos parâmetros sanguíneos dos grupos com lesão periapical (PA, PA+O, F+PA e F+PA+O). As comparações foram realizadas por meio do teste *t*, avaliando diferenças entre grupos semelhantes suplementados ou não. 25

Tabela 3 – Avaliação do infiltrado inflamatório de todos os grupos experimentais.

Tabela 4 – Valores de média e desvio-padrão do volume total do espaço poroso (Po.V(tot)), correspondente à reabsorção óssea periapical, obtidos por micro-CT em ratos submetidos ou não à suplementação com ômega-3, na presença ou ausência de lesão periapical. 28 34

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

TBARs	Ácido tiobarbitúrico
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ω -3 PUFAs	Ácidos graxos ômega-3
EPA	Ácido eicosapentaenoico
DHA	Ácido docosapentaenoico
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
TAC	Capacidade antioxidante total
Th2	Células T auxiliares tipo 2
TOC	Conteúdo antioxidante total
RNS	Espécies reativas de oxigênio
EO	Estresse oxidativo
IL-1 β	Interleucina 1-beta
IL-6	Interleucina seis
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
PA	Grupo com periodontite apical induzida
F+PA	Grupo com periodontite apical induzida e exposto à fumaça de cigarro
C+O	Grupo controle suplementado com ômega-3
F	Grupo exposto à fumaça de cigarro
F+O	Grupo exposto à fumaça do cigarro e suplementado com ômega-3
F+PA+O	Grupo exposto à fumaça do cigarro com periodontite apical induzida suplementado com ômega-3
PA+O	Grupo com periodontite apical induzida suplementado com ômega-3
He	Hemácias
Hct	Hematócrito
Hb	Hemoglobina
IM	Intra muscular
Mg/kg	Miligrama por quilo
Mm ³	Milímetro cúbico
Micro-CT	Microtomografia computadorizada
C	Não exposto à fumaça de cigarro

O	Ômega-3
OPG	Osteoprotegerina
pH	Potencial de hidrogênio
PRIASE	Preferred Reporting Items for Animal Studies in Endodontology
PPT	Proteína plasmática total
ROI	Região de interesse
TV	Volume do tecido
VGM	Volume globular médio
BV	Volume ósseo

Efeitos da suplementação com ômega-3 sobre as respostas óssea e inflamatória em ratos com periodontite apical expostos à fumaça do cigarro

Ana Claudia Rodrigues da Silva¹, Ana Maria Veiga Vasques¹, Rodrigo Ribeiro de Camargo¹, Vitor Cavalini Gomes¹, Larissa Victorino Sampaio², Carlos Roberto Emerenciano Bueno¹, Edilson Ervolino², Antonio Hernandes Chaves Neto², Luciano Tavares Ângelo Cintra¹, Mariza Akemi Matsumoto², Eloi Dezan-Junior¹

¹Departamento de Odontologia Restauradora. Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araçatuba, São Paulo, Brasil

²Departamento de Ciências Básicas. Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia de Araçatuba, São Paulo, Brasil

Título curto (Running title): Ômega-3 e tabagismo na PA

Palavras-chaves: smokers, inflammation, periapical periodontitis, bone, omega-3 fatty acids.

Informação de Financiamento

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), números de concessão 2020/06310-5 e processo nº 2022/06930-9.

Autor Correspondente: Eloi Dezan Junior

Departamento de Odontologia Restauradora. Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araçatuba, São Paulo, Brasil

Rua José Bonifácio, 1193, 16015-050 Araçatuba, SP – BRASIL

Número de telefone: +55.18.3636.3254 Fax: +55.18.3636.3236

Email: eloi.dezan@unesp.br

Contribuições dos autores

Ana Claudia Rodrigues da Silva contribuiu para a concepção do estudo, metodologia, curadoria dos dados, análise formal, obtenção de recursos, redação do rascunho original, revisão e edição do manuscrito, visualização e captação de financiamento. Ana Maria Veiga Vasques contribuiu para a concepção do estudo, metodologia, revisão e edição do manuscrito e visualização. Rodrigo Ribeiro de Camargo contribuiu para a concepção do estudo e metodologia. Vitor Cavalini Gomes contribuiu para a concepção do estudo e metodologia. Larissa Victorino Sampaio contribuiu para a concepção do estudo e metodologia. Carlos Roberto Emerenciano Bueno contribuiu para a curadoria dos dados, revisão e edição do manuscrito e visualização. Edilson Ervolino contribuiu para a análise formal, obtenção de recursos, revisão e edição do manuscrito e visualização. Antonio Hernandez Chaves Neto contribuiu para metodologia, validação e análise formal. Luciano Tavares Angelo Cintra contribuiu para a concepção do estudo, metodologia, validação, análise formal, investigação, obtenção de recursos, revisão e edição do manuscrito, supervisão e administração do projeto. Mariza Akemi Matsumoto e Eloi Dezan Junior contribuíram para a concepção do estudo, metodologia, análise formal, investigação, obtenção de recursos, redação do rascunho original, revisão e edição do manuscrito, visualização, captação de financiamento, supervisão e administração do projeto.

SUMÁRIO

Introdução	13
Objetivo	16
Material e Métodos	16
Resultados	23
Discussão	34
Conclusão	39
Referências	40
APÊNDICES	46

INTRODUÇÃO

A fumaça do cigarro é composta por mais de 4.700 substâncias químicas (Borgerding et al., 2005), entre elas a nicotina, principal agente ativo capaz de interagir com receptores nicotínicos de acetilcolina no sistema nervoso central e em tecidos não neuronais (Gahring et al., 2005; Thielen et al., 2008). A fumaça também contém produtos de combustão, como monóxido de carbono, dióxido de carbono e óxido nítrico, além de espécies reativas de oxigênio (ROS), espécies reativas de nitrogênio (RNS) e diversos compostos tóxicos e carcinogênicos, incluindo formaldeído, acetaldeído e benzeno (Thielen et al., 2008), hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (Wynder & Hoffmann, 1959) e nitrosaminas específicas do tabaco (Klus et al., 1974; Hoffmann et al., 1979).

Os efeitos sistêmicos do tabagismo são amplamente documentados (Wong et al., 2016; Kondo et al., 2019), e sua influência sobre a saúde bucal tem recebido crescente atenção (Pinto et al., 2020). Na doença periodontal, o tabagismo constitui um importante fator de risco, pois altera tecidos gengivais, ligamento periodontal, sistema vascular e resposta inflamatória (Nociti-Junior et al., 2002; Palmer et al., 2005).

O processo de remodelação óssea, regulado pelo eixo RANK/RANKL/OPG e por citocinas e mediadores inflamatórios (Simionato et al., 2021; Yoon et al., 2012), parece ser afetado pela fumaça do cigarro, que estimula a osteoclastogênese (Yoon et al., 2012; Giorgetti et al., 2010; Junqueira et al., 2021). Citocinas como IL-1 β , IL-6 e TNF- α induzem a expressão de RANKL em osteoblastos (Ojima et al., 2010; Yasuda et al., 1998), enquanto a OPG atua como receptor “decoy”, inibindo a ativação osteoclástica (Simonet et al., 1997). O tabagismo

também aumenta IL-6 e TNF- α pela ativação direta de células osteoclásticas (Kamer et al., 2006), além de elevar o estresse oxidativo e favorecer a reabsorção óssea (Hapidin et al., 2007).

O estresse oxidativo (EO) ocorre quando há desequilíbrio entre a geração de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e a capacidade das células de neutralizá-las por mecanismos antioxidantes (Persson et al., 2014). O EO é conhecido por causar danos oxidativos a lipídios de membrana, proteínas, carboidratos e DNA (Halliwell, 1987). A literatura aponta que fatores exógenos, como o tabagismo, podem aumentar a formação de radicais livres e comprometer o sistema de defesa antioxidante (Park et al., 1998; Hu et al., 2007). Os níveis do marcador de peroxidação lipídica, as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), mostram correlação positiva com o hábito de fumar (Lykkesfeldt, 2007).

A periodontite apical (PA) é uma infecção bacteriana que se desenvolve nos tecidos periapicais após a contaminação do sistema de canais radiculares, desencadeando uma intensa resposta inflamatória, com produção de IL-6, IL-1 β e TNF- α e posterior ativação osteoclástica (Siqueira & Rôças, 2007; Rôças et al., 2014; Araujo-Pires et al., 2014; Ojima et al., 2010). Além disso, a PA também apresenta citocinas anti-inflamatórias, como IL-10 (Menezes et al., 2008; De Rossi et al., 2008), que modulam negativamente a reabsorção óssea (Mohamed et al., 2007), a fim de equilibrar o processo inflamatório local.

Estudos anteriores demonstraram que o tabagismo agravou a PA induzida em ratos, com maior expressão de citocinas pró-inflamatórias (IL-6, IL-1 β , TNF- α), predomínio de macrófagos M1 (fenótipo pró-inflamatório) e alterações hematológicas (Vasques et al., 2023; Silva et al., 2023). Análises microtomográficas e imuno-histoquímicas (OPG/RANKL) confirmaram maior reabsorção óssea nos grupos expostos à fumaça (Vasques et al., 2024).

Diante desses achados, tornou-se necessário investigar possíveis terapias coadjuvantes capazes de reduzir esse processo inflamatório.

Em humanos, a suplementação com ω -3 melhorou parâmetros clínicos periodontais (Deore et al., 2014) e reduziu TNF- α salivar (Keskiner et al., 2017). Em modelos de PA, o ômega-3 reduziu inflamação sistêmica e local, diminuiu osteoclastogênese e aumentou formação óssea (Azuma et al., 2017; 2018; 2021). Em modelos com múltiplos focos, controlou triglicerídeos alterados pela PA e preveniu reabsorção óssea (Azuma et al., 2017b). Em tabagistas, o ômega-3 mostrou potencial adjuvante na redução da dependência de nicotina e do estresse oxidativo (Zaparoli et al., 2016; Sadeghi-Ardekani et al., 2018). Até o momento, não há estudos avaliando o efeito sistêmico e local do ômega-3 na interação entre tabagismo e periodontite apical. Diante desse cenário, estabeleceu-se a seguinte hipótese nula: a suplementação com ácidos graxos ômega-3 não exerce efeito sistêmico ou local sobre a inflamação, remodelação óssea ou extensão da periodontite apical em animais expostos ou não à fumaça do cigarro.

CONCLUSÃO

Conclui-se que a suplementação com ômega-3 reduziu a peroxidação lipídica e atenuou tanto a resposta inflamatória quanto a reabsorção óssea local em animais expostos à fumaça do cigarro e com periodontite apical induzida. Entretanto, estudos adicionais são necessários para esclarecer os mecanismos envolvidos e consolidar o potencial do ômega-3 como terapia adjuvante em condições inflamatórias associadas ao tabagismo.

REFERÊNCIAS

Aitchison R, Russell N (1988) Smoking – a major cause of polycythaemia. *Journal of the Royal Society of Medicine* 81, 89–91.

Annagür A, Örs R, Altunhan H, Kurban S, Ertuğrul S, Konak M, et al. (2015) Total antioxidant and total oxidant states, and serum paraoxonase-1 in neonatal sepsis. *Pediatrics International* 57, 608–613. <https://doi.org/10.1111/ped.12557>

Araujo-Pires AC, Francisconi CF, Bigueti CC, Cavalla F, Aranha AM, et al. (2014) Simultaneous analysis of T helper subsets (Th1, Th2, Th9, Th17, Th22, Tfh, Tr1 and Tregs) markers expression in periapical lesions reveals multiple cytokine clusters accountable for lesions activity and inactivity status. *Journal of Applied Oral Science* 22(4), 336–346. <https://doi.org/10.1590/1678-775720140140>

Austah ON, Ruparel NB, Henry MA, Fajardo RJ, Schmitz JE, Diogenes A (2020) Capsaicin-sensitive innervation modulates the development of apical periodontitis. *Journal of Endodontics* 42, 1496–1502.

Azuma MM, Cardoso CBM, Samuel RO, Pipa CB, Bomfim SRM, Narciso LG, et al. (2021) Omega-3 fatty acids alter systemic inflammatory mediators caused by apical periodontitis. *Journal of Endodontics* 47, 272–277. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.11.015>

Azuma MM, Gomes-Filho JE, Ervolino E, Cardoso CBM, Pipa CB, Kawai T, et al. (2018) Omega-3 fatty acids reduce inflammation in rat apical periodontitis. *Journal of Endodontics* 44, 604–608. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.12.008>

Azuma MM, Gomes-Filho JE, Ervolino E, Pipa CB, Cardoso CBM, Andrada AC, et al. (2017) Omega-3 fatty acids reduce bone resorption while promoting bone formation in rat apical periodontitis. *Journal of Endodontics* 43, 970–976. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.01.006>

Formatado de acordo com a International Endodontics Journal-
<https://onlinelibrary.wiley.com/page/journal/13652591/homepage/forauthors.html>

Borgerding M, Klus H (2005) Analysis of complex mixtures – cigarette smoke. *Experimental Toxicology and Pathology* 57(Suppl 1), 43–73. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2005.05.010>

Brasilino MDS, Stringhetta-Garcia CT, Pereira CS, Pereira AAF, Stringhetta K, Leopoldino AM, et al. (2018) Mate tea (*Ilex paraguariensis*) improves bone formation in alveolar socket healing after tooth extraction in rats. *Clinical Oral Investigations* 22, 1449–1461. <https://doi.org/10.1007/s00784-017-2249-1>

Calder PC (2015) Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: effects, mechanisms and clinical relevance. *Biochimica et Biophysica Acta* 1851, 469–484. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2014.08.010>

Carallo C, Pujia A, Irace C, De Franceschi MS, Motti C, Gnasso A (1998) Whole blood viscosity and haematocrit are associated with internal carotid atherosclerosis in men. *Coronary Artery Disease* 9, 113–117.

Carvalho MD, Benatti BB, César-Neto JB, Nociti FH Jr, da Rocha Nogueira Filho G, Casati MZ, et al. (2006) Effect of cigarette smoke inhalation and estrogen deficiency on bone healing around titanium implants: a histometric study in rats. *Journal of Periodontology* 77, 599–605. <https://doi.org/10.1902/jop.2006.050190>

César-Neto JB, Duarte PM, Sallum EA, Barbieri D, Moreno H Jr, Nociti FH Jr (2003) A comparative study on the effect of nicotine administration and cigarette smoke inhalation on bone healing around titanium implants. *Journal of Periodontology* 74, 1454–1459. <https://doi.org/10.1902/jop.2003.74.10.1454>

- Cintra LTA, Samuel RO, Azuma MM, de Queiróz AO, Ervolino E, Sumida DH, et al. (2016) Multiple apical periodontitis influences serum levels of cytokines and nitric oxide. *Journal of Endodontics* 42, 747–751. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.01.022>
- Colic M, Gazivoda D, Vasilijic S, Vucevic D, Lukic A (2010) Production of IL-10 and IL-12 by antigen-presenting cells in periapical lesions. *Journal of Oral Pathology & Medicine* 39, 690–696.
- Cosme-Silva L, Dal-Fabbro R, Cintra LTA, et al. (2020) Reduced bone resorption and inflammation in apical periodontitis evoked by dietary supplementation with probiotics in rats. *International Endodontic Journal* 53, 1084–1092. <https://doi.org/10.1111/iej.13311>
- Cronenberg C, Mould DR, Roethig HJ, Sarkar M (2008) Population pharmacokinetic analysis of carboxyhaemoglobin concentrations in adult cigarette smokers. *British Journal of Clinical Pharmacology* 65, 30–39.
- da Silva ACR, Vasques AMV, Bueno CRE, Ervolino E, Cintra LTA, Bigueti CC, et al. (2023) Effects of cigarette smoke inhalation on the immune-inflammatory profile of experimental apical periodontitis in rats. *International Endodontic Journal* 56, 1559–1570. <https://doi.org/10.1111/iej.13981>
- Dal-Fabbro R, Cosme-Silva L, Rezende Silva Martins de Oliveira F, Capalbo LC, Piazza FA, Ervolino E, Cintra LTA, Gomes-Filho JE (2021) Effect of red wine or its polyphenols on induced apical periodontitis in rats. *International Endodontic Journal* 54(12), 2276–2289. <https://doi.org/10.1111/iej.13633>
- De Rossi A, Rocha LB, Rossi MA (2008) Interferon-gamma, interleukin-10, intercellular adhesion molecule-1 and chemokine receptor 5, but not interleukin-4, attenuate the

development of periapical lesions. *Journal of Endodontics* 34, 31–38.
<https://doi.org/10.1016/j.joen.2007.09.021>.

Deore GD, Gurav AN, Patil R, Shete AR, Naiktari RS, Inamdar SP. (2014) Omega-3 fatty acids as a host modulator in chronic periodontitis patients: a randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Journal of Periodontal & Implant Science* 44, 25–32.
<https://doi.org/10.5051/jpis.2014.44.1.25>

Ercan A, Baghaki S, Suleymanov S, Aydın O, Konukoglu D, Cetinkale O. (2019) Effects of cigarette smoke on fat graft survival in an experimental rat model. *Aesthetic Plastic Surgery* 43, 815–825. <https://doi.org/10.1007/s00266-019-01327-3>

Ferreira CL, Nunes CMM, Bernardo DV, Pedroso JF, Longo M, Santamaria M Jr, et al. (2018) Effect of orthodontic force associated with cigarette smoke inhalation in healthy and diseased periodontium: a histometric and immunohistochemical analysis in rats. *Journal of Periodontal Research* 53, 924–931. <https://doi.org/10.1111/jre.12584>

Frazão DR, Santos Mendes PF, Baia-da-Silva DC, Mendonça de Moura JD, Neves dos Santos VR, Matos-Sousa JM, et al. (2023) Modulation of blood redox status by the progression of induced apical periodontitis in rats. *Frontiers in Physiology* 14, 1214990.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1214990>

Gahring LC, Days EL, Kaasch T, González de Mendoza M, Owen L, Persiyanov K, et al. (2005) Pro-inflammatory cytokines modify neuronal nicotinic acetylcholine receptor assembly. *Journal of Neuroimmunology* 166, 88–101. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2005.05.007>

Giorgetti AP, César-Neto JB, Ruiz KG, Casati MZ, Sallum EA, Nociti FH Jr. (2010) Cigarette smoke inhalation modulates gene expression in sites of bone healing: a study in rats. *Oral*

Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology 110, 447–452.

<https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2010.02.029>

Halliwell B. (1987) Oxidants and human disease: some new concepts. *FASEB Journal* 1, 358–364.

Hapidin H, Othman F, Soelaiman IN, Shuid AN, Luke DA, Mohamed N. (2007) Negative effects of nicotine on bone-resorbing cytokines and bone histomorphometric parameters in male rats. *Journal of Bone and Mineral Metabolism* 25, 93–98. <https://doi.org/10.1007/s00774-006-0733-9>

Heshmati J, et al. (2019) Omega-3 fatty acids supplementation and oxidative stress: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Journal of Nutritional Biochemistry* 68, 1–11.

Heshmati J, et al. (2019) Omega-3 fatty acids supplementation and oxidative stress: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Journal of Nutritional Biochemistry* 68, 1–11.

Hoffmann D, Adams JD, Brunnemann KD, Hecht SS. (1979) Assessment of tobacco-specific N-nitrosamines in tobacco products. *Cancer Research* 39, 2505–2509.

Horbas H, Bauer M, Eckert A, Bethmann D, Wilfer A, Seliger B, et al. (2025) Comparison of manual versus QuPath software-based immunohistochemical scoring using oral squamous cell carcinoma as a model. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 73, 181–196. <https://doi.org/10.1369/00221554251335698>

Hotamisligil GS. (2006) Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 444, 860–867. <https://doi.org/10.1038/nature05485>

Hu Y, Zhang Z, Yang C. (2007) Determination of hydrogen peroxide generated from cigarette smoke using an ultrasensitive and highly selective chemiluminescence method. *Analytica Chimica Acta* 601, 95–100.

Husson MO, Ley D, Portal C, Gottrand M, Hueso T, Desseyn JL, et al. (2016) Modulation of host defence against bacterial and viral infections by omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Journal of Infection* 73, 523–535. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2016.10.001>

Indahyani DE, Pudyani PS, Santoso AL, Jonarta AL, Sosroseno W. (2002) The effect of fish oil on bone resorption following pulp exposure in rats. *Dental Traumatology* 18, 206–211. <https://doi.org/10.1034/j.1600-9657.2002.00082.x>

Junqueira JJM, Lourenço JD, da Silva KR, Jorgetti V, Vieira RP, de Araujo AA, De Angelis K, Correia AT, Alves LHV, Tibério IFLC, Barbosa AP, Lopes FDTQDS (2021) Increased bone resorption by long-term cigarette smoke exposure in animal model. *Heliyon* 7(12), e08587. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08587>

Kalatzis-Sousa NG, Spin-Neto R, Wenzel A, Tanomaru-Filho M, Faria G (2017) Use of micro-computed tomography for the assessment of periapical lesions in small rodents: a systematic review. *International Endodontic Journal* 50, 352–366.

Kamer AR, El-Ghorab N, Marzec N, Margarone JE 3rd, Dziak R (2006) Nicotine-induced proliferation and cytokine release in osteoblastic cells. *International Journal of Molecular Medicine* 17(1), 121–127.

Kang B, Cheong S, Chaichanasakul T, et al. (2013) Periapical disease and bisphosphonates induce osteonecrosis of the jaws in mice. *Journal of Bone and Mineral Research* 28, 1631–1640.

Kesavalu L, Vasudevan B, Raghu B, Browning E, Dawson D, Novak JM, Correll MC, Steffen MJ, Bhattacharya A, Fernandes G, Ebersole JL (2006) Effect of omega-3 fatty acids on alveolar bone loss in rats. *Journal of Dental Research* 85(7), 648–652. <https://doi.org/10.1177/154405910608500713>

Formatado de acordo com a International Endodontics Journal-
<https://onlinelibrary.wiley.com/page/journal/13652591/homepage/forauthors.html>

- Keskiner I, Saygun I, Bal V, Serdar M, Kantarci A (2017) Dietary supplementation with low-dose omega-3 fatty acids reduces salivary tumor necrosis factor- α levels in patients with chronic periodontitis: a randomized controlled clinical study. *Journal of Periodontal Research* 52(4), 695–703. <https://doi.org/10.1111/jre.12434>
- Klus H, Kuhn H (1974) Estimation of the nitrosonornicotine in the smoke from nornicotine-rich cigarettes. *Fachliche Mitteilungen der Österreichischen Tabakregie* 275–288.
- Kondo T, Nakano Y, Adachi S, Murohara T (2019) Effects of tobacco smoking on cardiovascular disease. *Circulation Journal* 83(10), 1980–1985. <https://doi.org/10.1253/circj.CJ-19-0323>
- Kwon Y (2020) Immuno-resolving ability of resolvins, protectins, and maresins derived from omega-3 fatty acids in metabolic syndrome. *Molecular Nutrition & Food Research* 64(4), 1900824. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201900824>
- Lindemann RA, Riedel D, Oster W, et al. (1988) Production of interleukin-1 and tumor necrosis factor by monocytes stimulated with free or bacteria-bound lipopolysaccharide (LPS). *Journal of Dental Research* 67, 1130–1134.
- Lykkesleldt J (2007) Malondialdehyde as biomarker of oxidative damage to lipids caused by smoking. *Clinica Chimica Acta* 380(1–2), 50–58.
- Lymperaki E, Makedou K, Iliadis S, Vagdatli E (2015) Effects of acute cigarette smoking on total blood count and markers of oxidative stress in active and passive smokers. *Hippokratia* 19(4), 293–297.
- McDonough P, Moffatt RJ (1999) Smoking-induced elevations in blood carboxyhaemoglobin levels: effects on exercise and performance. *Sports Medicine* 27(5), 275–283.
- McFarlane CG, Reynolds JJ, Meikle MC (1990) The release of interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α by human monocytes in response to bacterial lipopolysaccharide. *Journal of Periodontal Research* 25(4), 257–264.
- Menezes R, Garlet TP, Trombone AP, Repeke CE, Letra A, Granjeiro JM, Campanelli AP, Garlet GP (2008) The potential role of suppressors of cytokine signaling in the attenuation of

inflammatory reaction and alveolar bone loss associated with apical periodontitis. *Journal of Endodontics* 34(12), 1480–1484. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2008.09.003>

Mohamed SG, Sugiyama E, Shinoda K, Taki H, Hounoki H, Abdel-Aziz HO, Maruyama M, Kobayashi M, Ogawa H, Miyahara T (2007) Interleukin-10 inhibits RANKL-mediated expression of NFATc1 in part via suppression of c-Fos and c-Jun in RAW264.7 cells and mouse bone marrow cells. *Bone* 41(4), 592–602. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2007.05.016>

Mosser DM, Zhang X (2008) Interleukin-10: new perspectives on an old cytokine. *Immunological Reviews* 226, 205–218.

Nagendrababu V, Kishen A, Murray PE, Nekoofar MH, de Figueiredo JA, Priya E, Jayaraman J, Pulikkotil SJ, Camilleri J, S RM, Dummer PMH (2021) PRIASE 2021 guidelines for reporting animal studies in Endodontology: a consensus-based development. *International Endodontic Journal* 54, 848–857. <https://doi.org/10.1111/iej.13477>

Nagendrababu V, Kishen A, Murray PE, Nekoofar MH, de Figueiredo JA, Priya E, Jayaraman J, Pulikkotil SJ, Jakovljevic A, Dummer PMH (2021) PRIASE 2021 guidelines for reporting animal studies in Endodontology: explanation and elaboration. *International Endodontic Journal* 54, 858–886. <https://doi.org/10.1111/iej.13481>

Nociti FH Jr, Cesar Neto JB, Carvalho MD, Sallum EA, Sallum AW (2002) Intermittent cigarette smoke inhalation may affect bone volume around titanium implants in rats. *Journal of Periodontology* 73(9), 982–987. <https://doi.org/10.1902/jop.2002.73.9.982>

Ojima M, Hanioka T (2010) Destructive effects of smoking on molecular and genetic factors of periodontal disease. *Tobacco Induced Diseases* 8(1), 4. <https://doi.org/10.1186/1617-9625-8-4>

Palmer RM, Wilson RF, Hasan AS, Scott DA (2005) Mechanisms of action of environmental factors: tobacco smoking. *Journal of Clinical Periodontology* 32(Suppl 6), 180–195. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2005.00786.x>

Park EM, Park YM, Gwak YS (1998) Oxidative damage in tissues of rats exposed to cigarette smoke. *Free Radical Biology and Medicine* 25(1), 79–86. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00041-0](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00041-0)

Persson T, Popescu BO, Cedazo-Minguez A (2014) Oxidative stress in Alzheimer's disease: why did antioxidant therapy fail? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2014, 427318. <https://doi.org/10.1155/2014/427318>

Pinto KP, Ferreira CM, Maia LC, Sassone LM, Fidalgo TKS, Silva EJNL (2020) Does tobacco smoking predispose to apical periodontitis and endodontic treatment need? A systematic review and meta-analysis. *International Endodontic Journal* 53(8), 1068–1083. <https://doi.org/10.1111/iej.13316>

Pogson ZEK, McKeever TM, Fogarty A (2008) The association between serum osmolality and lung function in adults. *European Respiratory Journal* 32, 98–104.

Rodan GA, Martin TJ (1981) Role of osteoblasts in hormonal control of bone resorption: a hypothesis. *Calcified Tissue International* 33, 349–351. <https://doi.org/10.1007/BF02409454>

Rosa RC, Pereira SC, Cardoso FAG, Caetano AG, Santiago HAR, Volpon JB. (2017) Second-hand tobacco smoke adversely affects the bone of immature rats. *Clinics* 72, 785–789. [https://doi.org/10.6061/clinics/2017\(12\)11](https://doi.org/10.6061/clinics/2017(12)11)

Sadeghi-Ardekani K, Haghighi M, Zarrin R. (2018) Effects of omega-3 fatty acid supplementation on cigarette craving and oxidative stress index in heavy-smoker males: a double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial. *Journal of Psychopharmacology* 32, 995–1002. <https://doi.org/10.1177/0269881118788806>

Santiago HA, Zamarioli A, Sousa Neto MD, Volpon JB. (2017) Exposure to secondhand smoke impairs fracture healing in rats. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 475, 894–902. <https://doi.org/10.1007/s11999-016-5184-6>.

Serhan CN, Chiang N, van Dyke TE. (2008) Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. *Nature Reviews Immunology* 8, 349–361. <https://doi.org/10.1038/nri2294>

Shaikh SR, Kinnun JJ, Leng X, Williams JA, Wassall SR. (2015) How polyunsaturated fatty acids modify molecular organization in membranes: insight from NMR studies of model systems. *Biochimica et Biophysica Acta* 1848, 211–219. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2014.04.020>

Simionato GB, da Silva ACR, Oliva AH, de Abreu Furquim EM, Couto MCR, Shinohara AL, et al. (2021) Lack of 5-lipoxygenase in intramembranous and endochondral 129Sv mice skeleton and intramembranous healing. *Archives of Oral Biology* 131, 105266. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2021.105266>

Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Lüthy R, et al. (1997) Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 89, 309–319. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80209-3](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80209-3)

Siqueira JF Jr, Rôças IN, Ricucci D, Hülsmann M. (2014) Causes and management of post-treatment apical periodontitis. *British Dental Journal* 216, 305–312. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2014.200>

Siqueira JF Jr, Rôças IN. (2007) Bacterial pathogenesis and mediators in apical periodontitis. *Brazilian Dental Journal* 18, 267–280. <https://doi.org/10.1590/S0103-64402007000400001>

Suda T, Takahashi N, Udagawa N, Jimi E, Gillespie MT, Martin TJ. (1999) Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. *Endocrine Reviews* 20, 345–357.

Tajuddin N, Shaikh A, Hassan A. (2016) Prescription omega-3 fatty acid products: considerations for patients with diabetes mellitus. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy* 9, 109–118. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S97036>. Thielen A, Klus H,

Formatado de acordo com a International Endodontics Journal-
<https://onlinelibrary.wiley.com/page/journal/13652591/homepage/forauthors.html>

Müller L. (2008) Tobacco smoke: unraveling a controversial subject. *Experimental Toxicology and Pathology* 60, 141–156. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2008.01.014>

van den Berg JJ, de Fouw NJ, Kuypers FA, Roelofsen B, Houtsmuller UM, Op den Kamp JA. (1991) Increased n-3 polyunsaturated fatty acid content of red blood cells from fish oil-fed rabbits increases in vitro lipid peroxidation, but decreases hemolysis. *Free Radical Biology and Medicine* 11, 393–399. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(91\)90156-W](https://doi.org/10.1016/0891-5849(91)90156-W)

Vardar-Sengül S, Buduneli N, Buduneli E, Kardeşler L, Baylas H, Atilla G, et al. (2006) Dietary supplementation of omega-3 fatty acid and circulating levels of interleukin-1beta, osteocalcin, and C-reactive protein in rats. *Journal of Periodontology* 77, 814–820. <https://doi.org/10.1902/jop.2006.050214>

Vasques AMV, da Silva ACR, Bueno CRE, Cury MTS, Ervolino E, Cintra LTA, et al. (2023) Inflammatory profile of apical periodontitis exacerbated by cigarette smoke inhalation: histological and immunohistochemical analysis in rats. *International Endodontic Journal* 56, 465–474. <https://doi.org/10.1111/iej.13883>

Veiga Vasques AM, da Silva ACR, Bueno CRE, Duarte MAH, Ervolino E, Cintra LTA, et al. (2024) Bone resorption in apical periodontitis enhanced by cigarette smoke inhalation: histometric, immunohistochemical, and microtomographic analysis in rats. *Journal of Endodontics* 50, 493–498. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2024.01.005>

Wannamethee SG, Lowe GDO, Shaper AG, Rumley A, Lennon L, Whincup PH. (2005) Associations between smoking, pipe/cigar smoking, smoking cessation and hemostatic and inflammatory markers for cardiovascular disease. *European Heart Journal* 26, 1765–1773.

- Wilson M, Reddi K, Henderson B, Poole S (1996) Cytokine-inducing components of periodontopathogenic bacteria. *Journal of Periodontal Research* 31(6), 393–407. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.1996.tb00508.x>
- Wong J, Magun BE, Wood LJ. (2016) Lung inflammation caused by inhaled toxicants: a review. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease* 11, 1391–1401. <https://doi.org/10.2147/COPD.S106009>
- Wynder EL, Hoffmann D. (1959) A study of tobacco carcinogenesis: VII. The role of higher polycyclic hydrocarbons. *Cancer* 12, 1079–1086.
- Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Mochizuki SI, Yano K, Fujise N, et al. (1998) Identity of osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF) and osteoprotegerin (OPG): a mechanism by which OPG/OCIF inhibits osteoclastogenesis in vitro. *Endocrinology* 139, 1329–1337. <https://doi.org/10.1210/endo.139.3.5837>
- Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinosaki M, Mochizuki S, et al. (1998) Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95, 3597–3602. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.7.3597>
- Yoon V, Maalouf NM, Sakhaee K. (2012) The effects of smoking on bone metabolism. *Osteoporosis International* 23, 2081–2092. <https://doi.org/10.1007/s00198-012-1940-y>
- Zaparoли JX, Sugawara EK, de Souza AA, Tufik S, Galduróz JC. (2016) Omega-3 levels and nicotine dependence: a cross-sectional study and clinical trial. *European Addiction Research* 22, 153–162. <https://doi.org/10.1159/000439525>.

APÊNDICE A

CEUA- COMISSÃO DE ÉTICA DE USO DE ANIMAIS



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"



CAMPUS ARAÇATUBA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
CEUA - Ethics Committee on the Use of Animals

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado **"Influência da suplementação do Ômega-3 em ratos expostos a fumaça do cigarro associados a periodontite apical induzida. Análise óssea e inflamatória"**, Processo FOA nº 0399-2022, sob responsabilidade de Elói Dezan Júnior apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 30 de Maio de 2022.

VALIDADE DESTE CERTIFICADO: 03 de Dezembro de 2025.

DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL: até 03 de Janeiro de 2026.

CERTIFICATE

We certify that the study entitled **"Influence of Omega-3 supplementation in rats exposed to cigarette smoke associated with induced apical periodontitis. Bone and inflammatory analysis"**, Protocol FOA nº 0399-2022, under the supervision of Elói Dezan Júnior presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on May 30, 2022.

VALIDITY OF THIS CERTIFICATE: December 03, 2025.

DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: January 03, 2026.

Prof. Dr. João Carlos Callera
Coordenador da CEUA
CEUA Coordinator

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba
Rua José Bonifácio, 1193 – Vila Mendonça - CEP: 16015-050 – ARAÇATUBA – SP
Fone (16) 3636-3234 Email CEUA: ceua.foa@unesp.br