

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 27/02/2025.



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

ARIELI RAYMUNDO VAZÃO

**Avaliação da composição salivar e estado redox das
glândulas salivares de ratos Wistar portadores de
periodontite apical induzida**

**Araçatuba
2024**

ARIELI RAYMUNDO VAZÃO

**Avaliação da composição salivar e estado redox das
glândulas salivares de ratos Wistar portadores de
periodontite apical induzida**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho – UNESP”, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências, na área de concentração em Saúde Bucal da Criança.

Orientador: Prof. Ass. Dr. Antonio
Hernandes Chaves Neto
Coorientador: Prof. Assoc. Luciano
Tavares Ângelo Cintra

**Araçatuba
2024**

Catálogo-na-Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

V393a Vazão, Arieli Raymundo.
Avaliação da composição salivar e estado redox das glândulas salivares de ratos Wistar portadores de periodontite apical induzida / Arieli Raymundo Vazão. - Araçatuba, 2024
63 f. : il. ; tab.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Orientador: Prof. Antonio Hernandes Chaves Neto
Coorientador: Prof. Luciano Tavares Ângelo Cintra

1. Periodontite periapical 2. Modelos animais 3. Saliva
4. Glândulas salivares 5. Estresse oxidativo 6. Proteínas e peptídeos salivares I. T.

Black D27
CDD 617.645

Claudio Hideo Matsumoto – CRB-8/5550

*Aos meus pais, que são minha base e estão
presentes em todos os momentos mais importantes
da minha vida.*

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, quem permitiu que eu realizasse este sonho, e vem abençoando e guiando minha jornada durante a graduação e pós-graduação, me dando força em todas as dificuldades, dando sabedoria para superar todos os obstáculos da melhor maneira possível, e colocando pessoas especiais em meu caminho, das quais sou extremamente grata.

Ao **meu orientador Prof. Ass. Dr. Antonio Hernandes Chaves-Neto**, que é minha grande referência e inspiração como pesquisador e professor. Poder conviver com o senhor é um privilégio, agradeço imensamente toda confiança depositada em mim, todas as conversas, incentivo e por sempre me entender perante as dificuldades. A cada dia que passava eu me tornava mais grata por ter o senhor ao meu lado. Não poderia ter um orientador melhor! O senhor sabe exatamente como orientar um aluno! Quem orienta encara de frente o que vier e está sempre pronto a ensinar. Obrigada por tudo, e por ser essa pessoa incrível, que me enche de orgulho e me ensina cada dia mais a fazer o bem ao próximo. O senhor com o seu coração imenso, nos enche de amor e gratidão! Seus ensinamentos ao longo desses anos foram essenciais para a minha formação e o desenvolvimento deste trabalho. Sempre terá minha gratidão.

Ao meu coorientador **Prof. Associado Luciano Tavares Ângelo Cintra** sou grata por todo auxílio na elaboração deste trabalho. Foi uma honra poder contar com o senhor!

As **Prof^a. Marcelle Danelon e Prof^a. Gracieli Prado Elias**, agradeço o pronto aceite e disponibilidade em serem banca examinadora deste trabalho, ambas colaborações serão essenciais para engrandecer o trabalho realizado.

A **todo o grupo de pesquisa**, orientado pelo professor Antonio, que me permitiu conhecer pessoas muito talentosas e competentes, que foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho, e de muitos outros que realizamos em todo esse período. Sentirei saudades de todos! Obrigada por sempre serem meu ponto de apoio. Minha família LaBiqS, amo vocês!

A todos **alunos de iniciação científica** do nosso grupo de pesquisa, que tanto auxiliam em nossos trabalhos de pesquisa, sem vocês o desenvolvimento desde trabalho não seria possível. Sempre serei muito grata, em especial a **Lívia Claudino e Pedro Penati Pimpinato**, que participaram comigo em todas as etapas deste trabalho.

Ao **meu namorado, João Matheus**, que de todas as oportunidades que a vida me deu, a possibilidade de ter você do meu lado foi a melhor de todas. Poder compartilhar a vida com você é o que me faz mais feliz a cada dia. Você me inspira a ser cada dia melhor, tanto no pessoal, como no profissional. Sem o seu suporte eu não chegaria até onde estou chegando hoje. Te amo, obrigada por estar sempre comigo!

Aos **meus pais**, por toda a base que sempre me deram, o que sempre me motivou a ir mais longe, a vocês minha eterna gratidão. Espero conseguir retribuir tudo que fizeram e ainda fazem por mim. Amo vocês mais que tudo!

A todos os funcionários e professores da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, pelo auxílio prestado ao longo desses anos.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 pela bolsa concedida.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) Processo nº 2022/11532-2, pela bolsa concedida ao aluno de iniciação científica deste trabalho, Pedro Penati Pimpinato.

A Pró-Reitoria de Pesquisa da Unesp (PROPe – Unesp – Process nº 2022-5529-4-PIBIC, pela bolsa concedida à aluna de iniciação científica deste trabalho Lívia Claudino.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

José de Alencar

VAZÃO, A. R. **Avaliação da composição salivar e estado redox das glândulas salivares de ratos Wistar portadores de periodontite apical induzida**. 2024. 63 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2024.

RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar os efeitos da periodontite apical experimental nos parâmetros inflamatórios, funcionais, bioquímicos e redox das glândulas parótida e submandibular em ratos. Vinte ratos Wistar machos, com 12 semanas de idade, foram divididos aleatoriamente em dois grupos ($n = 10$): grupo controle, sem lesões induzidas e grupo periodontite apical, com 4 dentes com lesões induzidas. Após 28 dias, a saliva estimulada por pilocarpina foi coletada para análise da taxa de fluxo salivar e composição bioquímica (proteína total, amilase e eletrólitos). As glândulas parótida e submandibular foram coletadas para quantificação do fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), capacidade oxidativa total, peroxidação lipídica, expressa como substância reativa ao ácido tiobarbitúrico, proteína carbonila, capacidade antioxidante total, glutathione, superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase. As análises estatísticas foram realizadas usando o teste t de Student pareado (esquerda *versus* direita) e o teste t de Student não pareado (controle *versus* periodontite apical), $p < 0,05$. As concentrações de TNF- α foram mais elevadas em ambas as glândulas salivares adjacentes às lesões periapicais em animais com periodontite apical ($p < 0,05$), e também em comparação com o grupo controle ($p < 0,01$). Embora a taxa de fluxo salivar, o pH e a capacidade tampão fossem semelhantes entre os grupos, o grupo com periodontite apical aumentou a amilase salivar ($p < 0,01$), cloreto ($p < 0,05$), potássio ($p < 0,01$), cálcio ($p < 0,01$) e fosfato ($p < 0,05$). A capacidade oxidante total aumentou na glândula parótida adjacente às lesões periapicais ($p < 0,001$) no mesmo rato e em comparação com o grupo controle ($p < 0,05$). Em contraste, a peroxidação lipídica e proteica não diferiram entre os grupos em nenhuma das glândulas salivares. Pelo contrário, a capacidade antioxidante total das glândulas parótidas em ambos os lados no grupo com periodontite apical foi menor do que no grupo controle ($p < 0,05$). Além disso, a atividade da glutathione peroxidase aumentou na glândula submandibular adjacente ao grupo com periodontite apical em comparação com o grupo controle ($p < 0,05$), enquanto as atividades de glutathione, superóxido dismutase e catalase não foram alteradas pela periodontite apical. Conclui-se que a periodontite apical

experimental altera a composição bioquímica salivar, além de aumentar os marcadores inflamatórios e induzir distúrbios locais no estado redox nas glândulas parótidas e submandibulares de ratos machos.

Palavras-chave: Periodontite apical. Modelo animal. Saliva. Glândulas salivares. Estresse oxidativo. Proteínas salivares.

VAZÃO, A. R. **Assessment of salivary composition and redox status in the salivary glands of Wistar rats with induced apical periodontitis**. 2024. 63 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2024.

ABSTRACT

The objective of the study was to evaluate the effects of experimental apical periodontitis on the inflammatory, functional, biochemical, and redox parameters of the parotid and submandibular glands in rats. Twenty 12-week-old male Wistar rats were randomly divided into two groups ($n = 10$): a control group, without induced lesions and apical periodontitis group, with 4 teeth with induced lesions. After 28 days, pilocarpine-stimulated saliva was collected for salivary flow rate and biochemistry composition analysis (total protein, amylase, and electrolytes). The parotid and submandibular glands were sampled for quantification of the tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), total oxidative capacity, lipid peroxidation, expressed as thiobarbituric acid-reactive substance, carbonyl protein, total antioxidant capacity, glutathione, superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase. Statistical analyses were conducted using the paired Student's t-test (left *versus* right) and unpaired Student's t-test (control *versus* apical periodontitis), $p < 0.05$. TNF- α concentrations were higher in both salivary glands adjacent to the periapical lesions in animals with apical periodontitis ($p < 0.05$), and also compared to the control group ($p < 0.01$). Although the salivary flow rate, pH, and buffer capacity were similar between groups, the apical periodontitis group increased the salivary amylase ($p < 0.01$), chloride ($p < 0.05$), potassium ($p < 0.01$), calcium ($p < 0.01$), and phosphate ($p < 0.05$). The total oxidant capacity increased in the parotid gland adjacent to the periapical lesions ($p < 0.001$) in the same rat and compared to the control group ($p < 0.05$). In contrast, lipid and protein peroxidation did not differ between groups in either salivary gland. Conversely, the total antioxidant capacity of the parotid glands on both sides in the apical periodontitis group was lower than the control group ($p < 0.05$). Furthermore, glutathione peroxidase activity increased in the submandibular gland adjacent to the apical periodontitis group compared to the control group ($p < 0.05$), while glutathione, superoxide dismutase, and catalase activities were not altered by apical periodontitis. It is concluded that experimental apical periodontitis alters salivary biochemical composition, in addition to

increasing inflammatory markers and inducing local disturbances in the redox state in the parotid and submandibular glands of male rats.

Keywords: Apical periodontitis. Animal model. Saliva. Salivary glands. Oxidative stress. Salivary proteins.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Efeitos da periodontite apical no peso corpóreo, peso e 26
índice das glândulas salivares, consumo de ração e água e conteúdo
de proteína total das glândulas salivares

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Evolução histológica da periodontite apical	27
Figura 2 – Efeitos da periodontite apical na concentração de TNF- α nos homogenatos das glândulas parótidas e submandibulares	28
Figura 3 – Efeitos da periodontite apical na disfunção das glândulas salivares em fluxo salivar (A), pH (B), capacidade tamponante (C), proteína total (D), atividade da amilase (E), atividade da amilase normalizada pelo conteúdo de proteína total (F), sódio (G), cloreto (H), potássio (I), cálcio (J) e fosfato (K)	30
Figura 4 – Efeitos da periodontite apical na capacidade oxidante total (A), TBARs (B) e proteína carbonilada (C) nos homogenatos das glândulas parótidas e submandibulares	32
Figura 5 – Efeitos da periodontite apical na capacidade antioxidante total (A) e GSH (B) nos homogenatos das glândulas parótidas e submandibulares	34
Figura 6 – Efeitos da periodontite apical na atividade da SOD (A), CAT (B) e GPx (C) nos homogenatos das glândulas parótidas e submandibulares	36

LISTA DE SIGLAS

AU	Ácido úrico
CAT	Catalase
CEUA	Comitê de Ética do Uso de Animais
DNPH	2,4-dinitrofenilhidrazina
DTNB	5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoato)
DTPA	Ácido dietilenotriaminopentacético
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
GPx	Glutathione peroxidase salivar
GR	Glutathione Redutase
GSH	Glutathione reduzida
HE	Hematoxilina-eosina
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
PG	Glândulas parótidas
PMSF	Fluoreto de fenilmetanossulfonil
SLG	Glândulas sublinguais
SMG	Glândulas submandibulares
SOD	Superóxido dismutase
TBARs	Ácido tiobarbitúrico
TCA	Ácido tricloroacético
TNF- α	Fator de necrose tumoral-alfa

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	17
3 METODOLOGIA.....	18
3.1 Delineamento Experimental	18
3.1.1 Animais.....	18
3.1.2 Cálculo amostral.....	19
3.1.3 Indução da periodontite apical.....	19
3.1.4 Coleta da saliva para análises de fluxo salivar, pH e capacidade tamponante	19
3.1.5 Coleta das glândulas salivares.....	20
3.1.6 Coloração com hematoxilina e eosina.....	20
3.2 Parâmetros bioquímicos.....	21
3.3 Análises bioquímicas da saliva.....	21
3.4 Preparação dos homogenatos e análises bioquímicas das glândulas salivares	21
3.4.1 Determinação da concentração de TNF- α	22
3.4.2 Determinação da capacidade oxidante total.....	22
3.4.3 Determinação do dano oxidativo aos lipídeos e proteínas	23
3.4.4 Determinação da defesa antioxidante não enzimática	23
3.4.5 Determinação da defesa antioxidante enzimática	23
3.5 Análise estatística	24
4 RESULTADOS	25
4.1 Efeitos da periodontite apical no peso corpóreo, peso e índice das glândulas salivares, consumo de ração e água e conteúdo de proteína total das glândulas salivares	25
4.2 Análise histológica da periodontite apical.....	26
4.3 Análise da concentração de TNF- α no homogenato das glândulas salivares	28
4.4 Análise bioquímica da saliva	29
4.5 Análises de dano oxidativo.....	31
4.6 Análises da capacidade antioxidante não enzimática	33
4.7 Análises da capacidade antioxidante enzimática	35
5 DISCUSSÃO	38
6 CONCLUSÃO.....	46
REFERÊNCIAS.....	47

ANEXOS	59
--------------	----

1 INTRODUÇÃO

Doenças bucais que desencadeiam respostas imune/inflamatória resultam na liberação de uma série de mediadores inflamatórios que podem afetar as glândulas salivares e consequente composição salivar (BAG et al., 2018; PROCTOR; SHAALAN, 2021). Modelos experimentais de doença periodontal em animais demonstraram aumento das concentrações de leucotrienos (BUSCH et al., 2009), fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α) (EKUNI et al., 2010; SHIKAYAMA et al., 2020), óxido nítrico sintase (BUSCH et al., 2009; MIOZZA et al., 2010) e prostaglandinas (BUSCH et al., 2009; MIOZZA et al., 2009, 2010) nas glândulas salivares de ratos. Tais alterações foram associadas com disfunções das glândulas salivares caracterizadas pelo aumento da secreção de amilase (MIOZZA et al., 2009, 2011), mucinas (BUSCH; STERIN-BORDA; BORDA, 2008) e redução da massa das glândulas salivares (NAKAMURA-KIYAMA et al., 2014). No entanto, ainda não está claro se a periodontite apical poderia ter os mesmos efeitos nas glândulas salivares.

A periodontite apical é um processo inflamatório em torno do ápice de uma raiz, sequela de uma infecção microbiana do espaço pulpar, pois desenvolve-se tipicamente a partir da exposição da polpa vital a diferentes microbiotas bucais, devido à cárie dentária, trauma accidental ou causas iatrogênicas (SEGURA-EGEA; MARTÍN-GONZÁLEZ; CASTELLANOS-COSANO, 2015; JAKOVLJEVIC et al., 2020). O seu desenvolvimento é regulado pela resposta imune/inflamatória local aguda e/ou crônica do hospedeiro, que está sujeita a influência de doenças metabólicas sistêmicas (SASAKI et al., 2016; CANTIGA-SILVA et al., 2021). Apesar da heterogeneidade de fatores que influenciam no seu diagnóstico e frequência nos pacientes, há o consenso de que sua prevalência é alta e está aumentando na população (JAKOVLJEVIC et al., 2020; TIBÚRCIO-MACHADO et al., 2021a).

O processo inflamatório decorrente da periodontite apical não se limita ao periodonto marginal, uma vez que estudos demonstraram aumento da concentração de citocinas pró-inflamatórias no sangue (GOMES et al., 2013; RASHMI et al., 2017; STYS et al., 2022). Nesse contexto, estudos experimentais com ratos demonstraram que a periodontite apical também aumenta a concentração plasmática do fator de necrose tumoral-alfa (ASTOLPHI et al., 2013), piora dislipidemias (CONTI et al., 2020), reduz a transdução do sinal da insulina e desequilibra o estado redox no

músculo esquelético (ASTOLPHI et al., 2015; TSOSURA et al., 2021; SANTOS et al., 2023), além de aumentar a produção de espécies reativas no coração (BARCELOS et al., 2020; SAMANOVIC et al., 2021) e fígado (XIAO et al., 2023) e reduzir a atividade da catalase no pâncreas (BARCELOS et al., 2020). Apesar das evidências no sangue e em diferentes tecidos, os efeitos da periodontite apical no estado redox das glândulas salivares não são conhecidos.

A saliva é o fluido produzido principalmente pelas glândulas salivares maiores, glândulas parótidas (PG), glândulas submandibulares (SMG) e as glândulas sublinguais (SLG) (YOON et al., 2022). É constituída por 99% de água e o restante por compostos orgânicos como mucinas, imunoglobulinas, α -amilase, lipídios, além de compostos inorgânicos como cálcio, fósforo, sódio, cloretos e fosfatos, e tem um importante papel na manutenção da saúde bucal, como a eliminação de patógenos, barreira lubrificante, capacidade tampão, manutenção da integridade do dente, reparo de tecido e digestão (MACIEJCZYK et al., 2019; MIRANDA et al., 2023). A produção e secreção de saliva depende do equilíbrio redox nas glândulas salivares, que é assegurado por antioxidantes enzimáticos, por exemplo glutathione peroxidase salivar (GPx), catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e glutathione redutase (GR), e antioxidantes não-enzimáticos composto pelo ácido úrico (AU), glutathione reduzida (GSH), albumina, lactoferrina e transferrina, ceruloplasmina e polifenóis (ZUKOWSKI et al., 2018; MACIEJCZYK et al., 2019; SKUTNIK-RADZISZEWSKA et al., 2020). Modelos experimentais em animais demonstraram que prejuízos no estado redox são reconhecidos por exercerem função chave nos mecanismos patofisiológicos das disfunções das glândulas salivares decorrentes do diabetes (IBUKI et al., 2020), radioterapia (ÖZGÜR et al., 2019), envelhecimento (BHATTARAI et al., 2018a) e do consumo intenso e episódico do etanol (FAGUNDES et al., 2016). Em algumas situações, maiores concentrações de citocinas inflamatórias ocorrem concomitantemente ao aumento do dano oxidativo, como observado nas disfunções das glândulas salivares induzidas pela radioterapia (TAKAHASHI et al., 2015) e quimioterápico 5-fluorocil (BOMFIN et al., 2017).

6 CONCLUSÃO

A periodontite apical experimental altera a composição bioquímica salivar, além de aumentar os marcadores inflamatórios e induzir distúrbios locais do estado redox nas glândulas parótidas e submandibulares de ratos machos.

REFERÊNCIAS

- AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods in Enzymology**, v. 105, p. 121–126, 1984.
- AHMAD, P. *et al.* Salivary proteins as dental caries biomarkers: a systematic review. **Caries Research**, v. 56, p. 385–398, 2022.
- ALMSTÅHL, A.; WIKSTRÖM, M. Electrolytes in stimulated whole saliva in individuals with hyposalivation of different origins. **Archives of Oral Biology**, v. 48, n. 5, p. 337–344, 2003.
- AMER, M. *et al.* Reduced methacholine-induced submandibular salivary secretion in rats with experimental periodontitis. **Archives of Oral Biology**, v. 56, n. 5, p. 421–427, 2011.
- ARCE-FRANCO, M. *et al.* Functional effects of proinflammatory factors present in Sjogren's syndrome salivary microenvironment in an in vitro model of human salivary gland. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 11897, 2017.
- ASTOLPHI, R. D. *et al.* Periapical lesions decrease insulin signal and cause insulin resistance. **Journal of Endodontics**, v. 39, n. 5, p. 648–652, 2013.
- ASTOLPHI, R. D. *et al.* Periapical lesions decrease insulin signaling in rat skeletal muscle. **Journal of Endodontics**, v. 41, n. 8, p. 1305–1310, 2015.
- AZUMA, M. M. *et al.* 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, 2017.
- BAG, A. K. *et al.* Imaging of inflammatory disorders of salivary glands. **Neuroimaging Clinics of North America**, v. 28, n. 2, p. 255–272, 2018.
- BARCELOS, R. C. S. *et al.* Apical periodontitis induces changes on oxidative stress parameters and increases Na⁺/K⁺-ATPase activity in adult rats. **Archives of Oral Biology**, v. 118, p. 104849, 2020.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70–76, 1996.

BEUTLER, E.; DURON, O.; KELLY, B.M. Improved method for the determination of blood glutathione. **The Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 61, p. 882–888, 1963.

BHATTARAI, K. R. *et al.* Potential application of ixeris dentata in the prevention and treatment of aging-induced dry mouth. **Nutrients**, v. 10, n. 12, p. 1989, 2018a.

BHATTARAI, K. R. *et al.* Ixeris dentata extract increases salivary secretion through the regulation of endoplasmic reticulum stress in a diabetes-induced xerostomia rat model. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 4, p. 1059, 2018b.

BHATTARAI, K.R. *et al.* The imprint of salivary secretion in autoimmune disorders and related pathological conditions. **Autoimmunity Reviews**, v. 17, n. 4, p. 376–390, 2018c.

BOMFIN, L. E. *et al.* 5-Fluorouracil induces inflammation and oxidative stress in the major salivary glands affecting salivary flow and saliva composition. **Biochemical Pharmacology**, v. 145, p. 34–45, 2017.

BROWN, A. E. *et al.* Prevalence of the Amylase-Binding Protein A Gene (abpA) in oral streptococci. **Journal Of Clinical Microbiology**, v. 37, p. 4081–4085, 1999.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**, v. 52, p. 302–310, 1978.

BUSCH, L. *et al.* Increased leukotriene concentration in submandibular glands from rats with experimental periodontitis. **Inflammation Research**, v. 58, n. 7, p. 423–430, 2009.

BUSCH, L.; STERIN-BORDA, L.; BORDA, E. Beta-adrenoceptor alterations coupled with secretory response and experimental periodontitis in rat submandibular glands. **Archives of Oral Biology**, v. 53, n. 6, p. 509–516, 2008.

CANTIGA-SILVA, C. *et al.* 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, 2021.

CARPENTER, G. H. *et al.* Rat salivary gland ligation causes reversible secretory hypofunction. **Acta Physiologica**, v. 189, n. 3, p. 241–249, 2007.

CHEN, S. *et al.* Decreased basal and stimulated salivary parameters by histopathological lesions and secretory dysfunction of parotid and submandibular glands in rats with type 2 diabetes. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 19, p. 2707–2719, 2020.

CHENG, R. *et al.* The extent of pyroptosis varies in different stages of apical periodontitis. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease**, v. 1864, n. 1, p. 226–237, 2018.

CINTRA, L. T. A. *et al.* Pulpal and periodontal diseases increase triglyceride levels in diabetic rats. **Clinical Oral Investigations**, v. 17, n. 6, p. 1595–1599, 2013.

CINTRA, L. T. A. *et al.* Blood profile and histology in oral infections associated with diabetes. **Journal of Endodontics**, v. 40, n. 8, p. 1139–1144, 2014a.

CINTRA, L. T. A. *et al.* 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, 2014b.

CINTRA, L. T. A. *et al.* Multiple Apical periodontitis influences serum levels of cytokines and nitric oxide. **Journal of Endodontics**, v. 42, n. 5, p. 747–751, 2016.

CONTI, L. C. *et al.* Relationship between apical periodontitis and atherosclerosis in rats: lipid profile and histological study. **International Endodontic Journal**, v. 53, n. 10, p. 1387–1397, 2020.

CORREIA, P. N. *et al.* Acute salivary gland hypofunction in the duct ligation model in the absence of inflammation. **Oral Diseases**, v. 14, n. 6, p. 520–528, 2008.

CYPRIANO, M. L. *et al.* Effect of testosterone replacement therapy and mate tea (*Ilex paraguariensis*) on biochemical, functional and redox parameters of saliva in orchietomized rats. **Archives of Oral Biology**, v. 132, p. 1052891, 2021.

DAL-FABBRO, R. *et al.* Chronic alcohol consumption increases inflammation and osteoclastogenesis in apical periodontitis. **International Endodontic Journal**, v. 52, n. 3, p. 329–336, 2019.

DAL-FABBRO, R. *et al.* Excessive caffeine intake increases bone resorption associated with periapical periodontitis in rats. **International Endodontic Journal**, v. 54, n. 10, p. 1861–1870, 2021.

OLIVEIRA, A. C. F. *et al.* Analysis of salivary flow rate, biochemical composition, and redox status in orchietomized spontaneously hypertensive rats. **Archives of Oral Biology**, v. 152, p. 105732, 2023.

NASCIMENTO, I. V. *et al.* Chronic systemic corticosteroid therapy influences the development of pulp necrosis and experimental apical periodontitis, exacerbating the inflammatory process and bone resorption in rats. **International Endodontic Journal**, v. 55, n. 6, p. 646–659, 2022.

SANTOS, D. R. *et al.* Effects of orchietomy and testosterone replacement therapy on redox balance and salivary gland function in Wistar rats. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 218, p. 106048, 2022.

SANTOS, R. M. *et al.* Melatonin decreases plasma TNF- α and improves nonenzymatic antioxidant defence and insulin sensitivity in rats with apical periodontitis fed a high-fat diet. **International Endodontic Journal**, v. 56, n. 2, p. 164–178, 2023.

EBISUI, L.; FONTES, R. S.; LAPCHIK, V. B. V. Rato. In: LAPCHIK, V. B. V.; MATTARAIA, V. G. M.; KO, G. M. **Cuidados e manejo de animais de laboratório**. São Paulo: Atheneu, 2009. p. 229–250.

EKUNI, D. *et al.* Imbalance of oxidative/anti-oxidative status induced by periodontitis is involved in apoptosis of rat submandibular glands. **Archives of Oral Biology**, v. 55, n. 2, p. 170–176, 2010.

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

FAGUNDES, N. C. F. *et al.* Binge drinking of ethanol during adolescence induces oxidative damage and morphological changes in salivary glands of female rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 7323627, 2016.

FIAIS, G. A. *et al.* Assessment of the toxic effects of levetiracetam on biochemical, functional, and redox parameters of salivary glands in male Wistar rats. **Toxicology**, v. 496, p. 153615, 2023.

FRAZÃO, D. R. *et al.* Modulation of blood redox status by the progression of induced apical periodontitis in rats. **Frontiers in Physiology**, v. 14, p. 1214990, 2023.

FUKUOKA, C. *et al.* Early effect of laser irradiation in signaling pathways of diabetic rat submandibular salivary glands. **PloS One**, v. 15, n. 8, p. e0236727, 2020.

GAFFAR, A.; BLAKE-HASKINS, J.; MELLBERG, J. In vivo studies with a dicalcium phosphate dihydrate/MFP system for caries prevention. **International Dental Journal**, v. 43, p. 81–88, fev. 1993.

GOMES, C. *et al.* increased root canal endotoxin levels are associated with chronic apical periodontitis, increased oxidative and nitrosative stress, major depression, severity of depression, and a lowered quality of life. **Molecular Neurobiology**, v. 55, n. 4, p. 2814–2827, 2018.

GOMES, M. S. *et al.* Can apical periodontitis modify systemic levels of inflammatory markers? A systematic review and meta-analysis. **Journal of Endodontics**, v. 39, p. 1205–1237, 2013.

GOMES-FILHO, J. E. *et al.* Effect of raloxifene on periapical lesions in ovariectomized rats. **Journal of Endodontics**, v. 41, n. 5, p. 671–675, 2015.

GONZÁLEZ, C. R. *et al.* Immunolocalization of the tgfb1 system in submandibular gland fibrosis after experimental periodontitis in rats. **Acta Odontologica Latinoamericana**, v. 29, p. 138–143, 2016.

GUERRERO-BOBADILLA, C. *et al.* Reduction of NrF2 as coadjuvant during the development of persistent periapical lesions. **Medicina Oral Patología Oral y Cirugía Bucal**, v. 28, p. 404–411, 2020.

HARTREE, E. F. Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. **Analytical Biochemistry**, v. 48, n. 2, p. 422–427, 1972.

HAUG, S.; MARTHINUSSEN, M. Acute dental pain and salivary biomarkers for stress and inflammation in patients with pulpal or periapical inflammation. **Journal of Oral & Facial Pain and Headache**, v. 33, n. 2, p. 227–233, 2019.

HENSKENS, Y. M. C. *et al.* Effect of periodontal treatment on the protein composition of whole and parotid saliva. **Journal of Periodontology**, v. 67, n. 3, p. 205–212, 1996.

HOMANN, V. *et al.* Calcium transport in human salivary glands: A proposed model of calcium secretion into saliva. **Histochemistry and Cell Biology**, v. 125, n. 5, p. 583–591, 2006.

IBUKI, F. K. *et al.* Effect of vitamin C and E on oxidative stress and antioxidant system in the salivary glands of STZ-induced diabetic rats. **Archives of Oral Biology**, v. 116, p. 104765, 2020.

IKUTA, K. *et al.* Systemic network for dietary inorganic phosphate adaptation among three organs. **Pflügers Archiv European Journal of Physiology**, v. 471, n. 1, p. 123–136, 2019.

INCHINGOLO, F. *et al.* Influence of endodontic treatment on systemic oxidative stress. **International Journal of Medical Sciences**, v. 11, n. 1, p. 1–6, 2013.

JAKOVLJEVIC, A. *et al.* Prevalence of apical periodontitis and conventional nonsurgical root canal treatment in general adult population: an updated systematic review and meta-analysis of cross-sectional studies published between 2012 and 2020. **Journal of Endodontics**, v. 46, n. 10, p. 1371–1386, 2020.

JUSTO, M. P. *et al.* Curcumin reduces inflammation in rat apical periodontitis. **International Endodontic Journal**, v. 55, n. 11, p. 1241–1251, 2022.

KANG, W. S. *et al.* Gemigliptin suppresses salivary dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 137, p. 111297, 2021.

KRAMER, P.R. *et al.* A non-invasive model for measuring nociception after tooth pulp exposure. **Journal of Dental Research**, v. 91, n. 9, p. 883–887, 2012.

KUO, M. L.; LAMSTER, I. B.; HASSELGREN, G. Host mediators in endodontic exudates. II. Changes in concentration with sequential sampling. **Journal of Endodontics**, v. 24, n. 10, p. 636–640, 1998.

LARSEN, M. J.; FEJERKOV, O. Chemical and structural challenges in remineralization of dental enamel lesions. **Scandinavian Journal of Dental Research**, v. 97, n. 4, p. 285–296, 1989.

LEE, H. J. *et al.* Radioprotective effect of heat shock protein 25 on submandibular glands of rats. **The American Journal of Pathology**, v. 169, n. 5, p. 1601–1611, 2006.

LEE, J. H. *et al.* The adaptive nature of the bone-periodontal ligament-cementum complex in a ligature-induced periodontitis rat model. **BioMed Research International**, v. 2013, p. 876316, 2013.

LORENZEN, I. *et al.* Redox regulation of inflammatory processes is enzymatically controlled. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2017, p. 8459402, 2017.

MACIEJCZYK, M. *et al.* Antioxidant defense, oxidative modification, and salivary gland function in an early phase of cerulein pancreatitis. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2019, p. 8403578, 2019.

MARKLUND, S.; MARKLUND, G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. **European Journal of Biochemistry**, v. 47, n. 3, p. 469–474, 1974.

MARTON, I. J. *et al.* The role of reactive oxygen intermediates in the pathogenesis of chronic apical periodontitis. **Oral Microbiology and Immunology**, v. 8, p. 254–257, 1993.

MELVIN, J. E. *et al.* Regulation of fluid and electrolyte secretion in salivary gland acinar cells. **Annual Review of Physiology**, v. 67, p. 445–469, 2005.

MESQUITA, C. S. *et al.* Simplified 2,4-dinitrophenylhydrazine spectrophotometric assay for quantification of carbonyls in oxidized proteins. **Analytical Biochemistry**, v. 458, p. 69–71, 2014.

MINCZYKOWSKI, A. *et al.* Hydrogen peroxide and superoxide anion production by polymorphonuclear neutrophils in patients with chronic periapical granuloma, before and after surgical treatment. **Clinical Oral Investigations**, v. 5, n. 1, p. 6–10, 2001.

MIOZZA, V. *et al.* Experimental periodontitis induces a cAMP-dependent increase in amylase activity in parotid glands from male rats. **Inflammation**, v. 32, n. 6, p. 357–363, 2009.

MIOZZA, V. *et al.* Increase nitric oxide synthase activity in parotid glands from rats with experimental periodontitis. **Oral Diseases**, v. 16, n. 8, p. 801–806, 2010.

MIOZZA, V. *et al.* Enhancement of carbachol-induced amylase secretion in parotid glands from rats with experimental periodontitis. **Archives of Oral Biology**, v. 56, n. 12, p. 1514–1520, 2011.

MIOZZA, V. A.; SÁNCHEZ, G. A.; BUSCH, L. Influence of experimental periodontitis on cholinergic stimulation of K⁺ release in rat parotid glands. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v. 169, n. 1, p. 43–48, 2012.

MIRANDA, L. F. B. *et al.* Effect of processing methods of human saliva on the proteomic profile and protein-mediated biological processes. **Journal of Proteome Research**, v. 22, n. 3, p. 857–870, 2023.

MOHAMMADI, Z. Chlorhexidine gluconate, its properties and applications in endodontics. **Iranian Endodontic Journal**, v. 2, p. 113–125, 2008.

MOSTAFA, O. A. A.; IBRAHIM, F.; BORAI, E. Protective effects of hesperidin in cyclophosphamide-induced parotid toxicity in rats. **Scientific Reports**, v. 13, p. 158, 2023.

NAGLER, R. M.; LAUFER, D. Protection against irradiation-induced damage to salivary glands by adrenergic agonist administration. **International Journal of Radiation Oncology Biology Physics**, v. 40, n. 2, p. 477–481, 1998.

NAIR, P. N. R. Apical periodontitis: a dynamic encounter between root canal infection and host response. **Periodontology 2000**, v. 13, n. 1, p. 121–148, 1997.

NAKAMURA-KIYAMA, M. *et al.* Changes of salivary functions in experimental periodontitis model rats. **Archives of Oral Biology**, v. 59, n. 2, p. 125–132, 2014.

NATER, U. M.; ROHLEDER, N. Salivary alpha-amylase as a non-invasive biomarker for the sympathetic nervous system: current state of research. **Psychoneuroendocrinology**, v. 34, p. 486–496, 2009.

ÖZGÜR, A. *et al.* Protective effect of whortleberry extract on salivary gland damage induced by neck irradiation in rats. **Ear, Nose, Throat Journal**, v. 98, n. 6, p. 64–69, 2019.

PATTERSON, K. *et al.* A quantitative analysis of electrolyte exchange in the salivary duct. **American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 303, p. 1153–1163, 2012.

PAULA-SILVA, F. W. G. *et al.* Root canal contamination or exposure to lipopolysaccharide differentially modulate prostaglandin E 2 and leukotriene B 4 signaling in apical periodontitis. **Journal of Applied Oral Science**, v. 28, p. 1–9, 2020.

PERALTA, I. *et al.* Larrea divaricata Cav. aqueous extract and nordihydroguariaretic acid modulate oxidative stress in submandibular glands of diabetic rats: A buccal protective in diabetes. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 19, n. 1, p. 227, 2019.

PEREIRA, R.F. *et al.* Periapical lesions increase macrophage infiltration and inflammatory signaling in muscle tissue of rats. **Journal of Endodontics**, v. 43, n. 6, p. 982–988, 2017.

PEZELJ-RIBARIĆ, S. *et al.* Tumor necrosis factor-alpha in peripical tissue exudates of teeth with apical periodontitis. **Mediators of Inflammation**, v. 2007, p. 69416, 2007.

PRIETO, A. K. C. *et al.* Influence of apical periodontitis on stress oxidative parameters in diabetic rats. **Journal of Endodontics**, v. 43, n. 10, p. 1651–1656, 2017.

PROCTOR, G. B.; SHAALAN, A. M. Disease-induced changes in salivary gland function and the composition of saliva. **Journal of Dental Research**, v. 100, n. 11, p. 1201–1209, 2021.

RASHMI, N. *et al.* Assessment of C-reactive proteins, cytokines, and plasma protein levels in hypertensive patients with apical periodontitis. **Journal of Contemporary Dental Practice**, v. 18, n. 6, p. 516–521, 2017.

- RECHENBERG, D. K. *et al.* Pain levels and typical symptoms of acute endodontic infections: a prospective, observational study. **BMC Oral Health**, v. 16, n. 1, p. 61, 2016.
- RIVERA, E. B. Bem-estar animal. In: LAPCHIK, V. B. V.; MATTARAIA, V. G. M.; KO, G. M. **Cuidados e manejo de animais de laboratório**. São Paulo: Atheneu, 2009. p. 59–69.
- ROUSSA, E. Channels and transporters in salivary glands. **Cell and Tissue Research**, v. 343, n. 2, p. 263–287, 2011.
- SAMANOVIC, A. M. *et al.* Cardiac, biochemical and histopathological analysis reveals impaired heart function in hypertensive rats with apical periodontitis. **International Endodontic Journal**, v. 54, n. 9, p. 1581–1596, 1 set. 2021.
- SAMUEL, R. O. *et al.* Th1/Th2/Th17/Treg balance in apical periodontitis of normoglycemic and diabetic rats. **Journal of Endodontics**, v. 45, n. 8, p. 1009–1015, 2019.
- SASAKI, H. *et al.* Interrelationship between periapical lesion and systemic metabolic disorders. **Current Pharmaceutical Design**, v. 22, n. 15, p. 2204–2215, 2016.
- SCANNAPIECO, F. A. Saliva-bacterium interactions in oral microbial ecology. **Critical Reviews in Oral Biology and Medicine**, v.5, p. 203–248, 1994.
- SEGURA-EGEA, J. J.; MARTÍN-GONZÁLEZ, J.; CASTELLANOS-COSANO, L. Endodontic medicine: connections between apical periodontitis and systemic diseases. **International Endodontic Journal**, v. 48, n. 10, p. 933–951, 2015.
- SHABANI, E. *et al.* Berberine ameliorates testosterone-induced benign prostate hyperplasia in rats. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 21, n. 1, p. 773, 2021.
- SHIKAYAMA, T. *et al.* Hematogenous apoptotic mechanism in salivary glands in chronic periodontitis. **Archives of Oral Biology**, v. 117, p. 104775, 2020.
- SHIMAUCHI, H. *et al.* Development of a quantitative sampling method for periapical exudates from human root canals. **Journal of Endodontics**, v. 22, p. 612–615, 1996.

SKUTNIK-RADZISZEWSKA, A. *et al.* Salivary antioxidants and oxidative stress in psoriatic patients: can salivary total oxidant status and oxidative status index be a plaque psoriasis biomarker? **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2020, p. 9086024, 2020.

SNEYD, J.; CRAMPIN, E.; YULE, D. Multiscale modelling of saliva secretion. **Mathematical Biosciences**, v. 257, p. 69–79, 2014.

SNEYD, J. *et al.* Simulation of calcium dynamics in realistic three-dimensional domains. **Biomolecules**, v. 12, n. 10, p. 1455, 2022.

STYS, L. P. A. *et al.* Serum levels of inflammatory markers and HbA1c in patients with type 2 diabetes and apical periodontitis: preliminary findings. **Australian Endodontic Journal**, v. 48, n. 1, p. 105–115, 2022.

TAKAHASHI, A. *et al.* Evaluation of the effects of quercetin on damaged salivary secretion. **PloS One**, v. 10, n. 1, p. e0116008, 2015.

TENOVUO, J. Community dentistry and oral epidemiology salivary parameters of relevance for assessing caries activity in individuals and populations. **Community Dentistry Oral Epidemiology**, v. 25, n. 1, p. 82–86, 1997.

TIBÚRCIO-MACHADO, C. S. *et al.* The global prevalence of apical periodontitis: a systematic review and meta-analysis. **International endodontic journal**, v. 54, n. 5, p. 712–735, 2021a.

TIBÚRCIO-MACHADO, C. S. *et al.* High-fat diet effect on periapical lesions and hepatic enzymatic antioxidant in rats. **Life Science**, v. 264, p. 118637, 2021b.

TSOSURA, T. V. S. *et al.* Maternal apical periodontitis is associated with insulin resistance in adult offspring. **International Endodontic Journal**, v. 52, n. 7, p. 1040–1050, 2019.

TSOSURA, T. V. S. *et al.* Maternal apical periodontitis increases insulin resistance and modulates the antioxidant defense system in the gastrocnemius muscle of adult offspring. **Journal of Endodontics**, v. 47, n. 7, p. 1126–1131, 2021.

VASQUES, A. M. V. *et al.* Inflammatory profile of apical periodontitis exacerbated by cigarette smoke inhalation: Histological and immunohistochemical analysis in rats. **International Endodontic Journal**, v. 56, n. 4, p. 465–474, 2023.

WENDEL, A. Glutathione peroxidase. **Methods in Enzymology**, v. 77, p. 325–333, 1981.

WHITE, D. J. Dental calculus: recent insights into occurrence, formation, prevention, removal and oral health effects of supragingival and subgingival deposits. **European Journal of Oral Sciences**, v. 105, n. 5, p. 508–522, 1997.

WOLLE, C. F. B. *et al.* Outcome of periapical lesions in a rat model of type 2 diabetes: refractoriness to systemic antioxidant therapy. **Journal of Endodontics**, v. 39, n. 5, p. 643–647, 2013.

WU, Y. H. *et al.* Effect of ischemic preconditioning on radiation damage to the submandibular gland in rats. **European Journal of Oral Sciences**, v. 129, n. 3, p. 12785, 2021.

XIAO, S. *et al.* Is oxidative stress involved in the hepatic inflammatory response to apical periodontitis? A comparative study in normal and hyperlipidaemic rat. **International endodontic journal**, v. 56, n. 6, p. 722–733, 2023.

YOON, Y. J. *et al.* Salivary gland organoid culture maintains distinct glandular properties of murine and human major salivary glands. **Nature Communications**, v. 13, n. 1, p. 3291, 2022.

ZALEWSKA, A. *et al.* Antioxidant profile, carbonyl and lipid oxidation markers in the parotid and submandibular glands of rats in different periods of streptozotocin induced diabetes. **Archives of Oral Biology**, v. 60, n. 9, p. 1375–1386, 2015.

ZALEWSKA, A. *et al.* N-acetylcysteine supplementation did not reverse mitochondrial oxidative stress, apoptosis, and inflammation in the salivary glands of hyperglycemic rats. **Nutrition and Diabetes**, v. 11, n. 1, p. 35, 2021.

ZHOU, J.; KAWAI, T.; YU, Q. Pathogenic role of endogenous TNF- α in the development of Sjögren's-like sialadenitis and secretory dysfunction in non-obese diabetic mice. **Laboratory Investigation**, v. 97, n. 4, p. 458–467, 2017.

ZUKOWSKI, P. *et al.* Effect of N-Acetylcysteine on antioxidant defense, oxidative modification, and salivary gland function in a rat model of insulin resistance. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2018, p. 6581970, 2018.