

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

JOÃO CASSETTARI RUPP

**IMPLICAÇÕES DA PERIODONTITE APICAL NA FISIOPATOLOGIA
DO ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL ISQUÊMICO**

**CRICIÚMA
2026**

JOÃO CASSETTARI RUPP

**IMPLICAÇÕES DA PERIODONTITE APICAL NA FISIOPATOLOGIA
DO ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL ISQUÊMICO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Jaqueline S. Generoso

**CRICIÚMA
2026**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

R946i Rupp, João Cassettari.

Implicações da periodontite apical na
fisiopatologia do acidente vascular cerebral
isquêmico / João Cassettari Rupp. - 2026.

53 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do
Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-
Graduação em Ciências da Saúde, Criciúma, 2026.

Orientação: Jaqueline S. Generoso.

1. Periodontite periapical. 2. Acidente
vascular cerebral. 3. Doenças neuroinflamatórias.
4. Dano cognitivo. I. Título.

CDD. 22. ed. 617.632

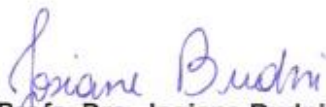
Bibliotecária Eliziane de Lucca Alosilla - CRB 14/1101
Biblioteca Central Prof. Eurico Back - UNESC




UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO, INOVAÇÃO E EXTENSÃO
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado)
Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria Nº 609 de 14.03.2019

ATA DE MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – Nº 495

Com início às 14 (quatorze) horas do dia 17 (dezesete) de dezembro de 2025 (dois mil e vinte e cinco), realizou-se, na Sala 227/Bloco S, o seminário formal de apresentação dos resultados da Dissertação de Mestrado de **JOÃO CASSETTARI RUPP**, sob a orientação da **Profa. Dra. Jaqueline da Silva Generoso**, intitulada “**IMPLICAÇÕES DA PERIODONTITE APICAL NA FISIOPATOLOGIA DO ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL ISQUÊMICO**”. A dissertação foi examinada por uma banca constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. Cinara Ludvig Gonçalves (Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC) – Conceito final: Aprovado, Prof. Dr. Eduardo Pacheco Rico (Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC) – Conceito final: Aprovado, e Profa. Dra. Lucineia Gainski Danielski (The University of Texas Medical Branch – UNISUL) – Conceito final: Aprovado. Com o resultado final: **APROVADO**, o aluno finalizou seus estudos em nível de Mestrado, fazendo jus ao grau de **MESTRE EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**. Os trabalhos foram concluídos às 16h (dezesesseis) horas, dos quais eu, Samiris Albano Pereira, Secretária do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC, lavrei a presente ata, que assino juntamente com a Profa. Dra. Josiane Budni, Coordenadora do Programa. Criciúma, 17 (dezesete) de dezembro de 2025 (dois mil e vinte e cinco).


Profa. Dra. Josiane Budni
Coordenadora do PPGCS


Samiris Albano Pereira
Secretária do PPGCS

FOLHA INFORMATIVA

A dissertação foi elaborada seguindo o estilo ABNT e será apresentada no formato tradicional. Este trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Neurologia Experimental do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da UNESC

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela dádiva da vida e por conceder-me força, coragem e resiliência ao longo desta trajetória. Pela presença constante que me amparou nos momentos de dificuldade e me guiou na superação dos inúmeros desafios que se apresentaram durante este período.

À minha orientadora Dra. Jaqueline da Silva Generoso, pela dedicação, disponibilidade e competência com que conduziu este processo. Sua orientação técnica e científica, aliada à sabedoria, foram fundamentais para a realização desta pesquisa e para meu crescimento intelectual.

Ao colega doutorando Cristiano Julio Faller, pela valiosa colaboração na etapa laboratorial e pelo apoio contínuo ao longo de todo o processo de construção deste trabalho. Sua contribuição técnica e disposição em compartilhar conhecimentos foram determinantes para o êxito desta pesquisa.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para que esta jornada fosse possível, expresso minha sincera gratidão. Aos familiares, amigos, colegas e professores, agradeço pelo apoio, incentivo e compreensão, que foram essenciais para que eu pudesse concluir esta etapa e superar os obstáculos encontrados ao longo do caminho.

A todos, o meu mais profundo agradecimento e reconhecimento.

RESUMO

A periodontite apical (PA) é um processo inflamatório crônico em resposta a uma infecção endodôntica. A contaminação do tecido pulpar pode acontecer devido à cárie, fissuras ou trauma, que induz uma resposta inflamatória. Estudos indicam que a PA pode potencializar os efeitos da doença periodontal no sangue e a resposta inflamatória local decorrente da infecção bacteriana leva à liberação de citocinas na circulação sistêmica e a subsequentes efeitos vasculares deletérios. Assim, a PA vem sendo alvo de estudos sobre seu papel em diversas patologias, incluindo o acidente vascular cerebral isquêmico (AVCi), que é causado por alterações no suprimento sanguíneo, levando a perda de função da área afetada. Diante disso, o objetivo desse trabalho foi avaliar o papel da PA na fisiopatologia do AVCi em ratos Wistar adultos-jovens. Para isso, foram utilizados ratos Wistar machos (250 a 300 g), com 60 dias de vida, que foram submetidos ao modelo experimental de PA divididos em 3 grupos experimentais: controle + salina (n = 45), PA em 1 dente (n = 45) e PA em 4 dentes (n = 45) e posteriormente os animais foram subdivididos em 6 grupos: controle (n = 15), MCAO (n = 30), PA em 1 dente (n = 15), PA em 4 dentes (n=15), PA em 1 dente + MCAO (n = 30) e PA em 4 dentes + MCAO (n = 30), onde foi realizado a indução do modelo de AVCi por oclusão da artéria cerebral média (MCAO). Os animais foram avaliados quanto a peso, temperatura e escore neurológico em 1, 24, 46, 72, 96 e 120 horas após indução experimental. No 30º dia após a indução da PA, os animais foram submetidos aos testes comportamentais de habituação ao campo aberto e reconhecimento de objetos novos e após a finalização foram eutanasiados para retirada de soro, córtex frontal, córtex total e hipocampo. Logo as amostras foram submetidas a dosagem de IL-6, IL-10, IL-1 β , TNF α e tamanho do volume do infarto cerebral. Os resultados demonstram que um maior número de lesões dentárias associado a MCAO acarreta aumento de citocinas inflamatórias e redução de mediadores anti-inflamatórios, e que estes achados podem estar intimamente relacionados a um volume de infarto maior e aumento de escore neurológico, resultando em um pior desempenho em testes comportamentais demonstrando o impacto neurológico e cognitivo causado. Tais dados podem fornecer novos *insights* para pesquisas futuras e auxiliar na compreensão do impacto da associação entre PA e AVC.

Palavras-chave: periodontite apical, AVC, neuroinflamação, dano cognitivo.

ABSTRACT

Apical periodontitis (AP) is a chronic inflammatory process in response to an endodontic infection. Pulp tissue contamination can occur due to caries, fissures, or trauma, which induces an inflammatory response. Studies indicate that AP can potentiate the effects of periodontal disease on the blood, and the local inflammatory response resulting from bacterial infection leads to the release of cytokines into the systemic circulation and subsequent deleterious vascular effects. Therefore, AP has been the subject of studies regarding its role in several pathologies, including ischemic stroke (ischemic stroke), which is caused by changes in blood supply, leading to loss of function in the affected area. Therefore, the objective of this study was to evaluate the role of AP in the pathophysiology of ischemic stroke in young adult Wistar rats. For this purpose, male Wistar rats (250 to 300 g), 60 days old, were used, which were subjected to the experimental PA model and divided into 3 experimental groups: control + saline (n = 45), PA in 1 tooth (n = 45) and PA in 4 teeth (n = 45) and subsequently the animals were subdivided into 6 groups: control (n = 15), MCAO (n = 30), PA in 1 tooth (n = 15), PA in 4 teeth (n = 15), PA in 1 tooth + MCAO (n = 30) and PA in 4 teeth + MCAO (n = 30), where the induction of the ischemic stroke model was performed by middle cerebral artery occlusion (MCAO). The animals were evaluated for weight, temperature and neurological score at 1, 24, 46, 72, 96 and 120 hours after experimental induction. On day 30, the animals underwent behavioral tests of open-field habituation and novel object recognition. After completion, they were euthanized for removal of serum, frontal cortex, total cortex, and hippocampus. The samples were then subjected to measurement of IL-6, IL-10, IL-1 β , TNF α , and cerebral infarct volume size. The results demonstrate that a greater number of dental lesions associated with MCAO leads to an increase in inflammatory cytokines and a reduction in anti-inflammatory mediators. These findings may be closely related to a larger infarct volume and increased neurological scores, resulting in poorer performance on behavioral tests, demonstrating the neurological and cognitive impact caused. These data may provide new insights for future research and help understand the impact of the association between PA and stroke.

Keywords: apical periodontitis, stroke, neuroinflammation, cognitive impairment.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Avaliação radiográfica de PA	14
Figura 2: Mecanismos do acidente vascular cerebral isquêmico.	16
Figura 3: Representação da linha do tempo do experimento.	23
Figura 4: Esquema da MCAO utilizando fio de sutura intralimuninal.....	25
Figura 5: Aparato para a avaliação do teste comportamental de campo aberto	26
Figura 6: Aparato para avaliação do teste comportamental de reconhecimento de objetos.....	27
Figura 7: Avaliação do índice de escore neurológico nos animais dos grupos experimentais em 1, 24, 48, 72 e 96 horas após a indução do modelo	30
Figura 8: Avaliação do peso corporal nos animais dos grupos experimentais em 1, 24, 48, 72 e 96 horas após a indução do modelo.....	31
Figura 9: Avaliação da temperatura corporal nos animais dos grupos experimentais em 1, 24, 48, 72 e 96 horas após a indução do modelo.....	32
Figura 10: Índice de levantamentos e cruzamentos realizados pelos animais dos grupos experimentais em seções treino e teste em análises comportamentais de habituação de campo aberto.....	33
Figura 11: Índice de reconhecimento de novos objetos entre as seções treino e testes nos animais dos grupos experimentais.....	33
Figura 12: Dosagem de TNF- α em córtex frontal, hipocampo, córtex total e soro após 32 dias da indução experimental.....	35
Figura 13: Dosagem de IL-1 β em córtex frontal, hipocampo, córtex total e soro após 32 dias da indução experimental.....	36
Figura 14: Dosagem de IL-6 em córtex frontal, hipocampo, córtex total e soro após 32 dias da indução experimental.....	36
Figura 15: Dosagem de IL-10 em córtex frontal, hipocampo, córtex total e soro após 32 dias da indução experimental.....	37
Figura 16: Volume de infarto cerebral após 32 dias da indução experimental	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CEUA - Comissão de ética no uso de animais;

CONCEA - Conselho nacional de controle de experimentação animal;

DCF-DA - diacetato de 2',7'- diclorodihidrofluoresceína;

DCFH - 2',7'-diclorofluoresceína;

EROs - Espécies reativas de oxigênio;

FOV - Campo de visão (do inglês *field of view*);

GSH - Glutathiona;

IL – Interleucina;

LTA - Ácido lipoteicoico (do inglês *Lipoteichoic acid*);

MDA – Malondialdeído;

NF-κB - Fator nuclear kappa B (do inglês *The Nuclear Factor NF-κB*);

PA – Periodontite apical;

PAR - Periodontite apical refratária;

PBS - Solução salina tamponada com fosfato (do inglês *Phosphate-buffered salina*);

SOD - Superóxido dismutase;

SPE - Substâncias poliméricas extracelulares;

TBARS - Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (do inglês *thiobarbituric acid reactive species*);

TCFC - Tomografia computadorizada de feixe cônico;

TNF-α – Fator de necrose tumoral alfa.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	PERIODONTITE APICAL (PA) E DIVERSIDADE MICROBIANA EM BIOFILMES ENDODÔNTICOS	12
1.2	ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL ISQUEMICO (AVCi)	15
1.3	JUSTIFICATIVA	19
2	OBJETIVOS	21
2.1	OBJETIVO GERAL	21
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
3	MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1	TIPO DE ESTUDO	22
3.2	LOCAL DE REALIZAÇÃO DA PESQUISA	22
3.3	CRITÉRIO DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO	22
3.4	ANIMAIS	22
3.5	DESENHO EXPERIMENTAL	23
3.6	MODELO EXPERIMENTAL DE INDUÇÃO DE PA	24
3.7	MODELO ANIMAL DE ISQUEMIA POR MCAO	24
3.8	ESCORE DE DÉFICIT NEUROLÓGICO E CONDIÇÃO DE SAÚDE CORPORAL DOS ANIMAIS	25
3.9	TESTES COMPORTAMENTAIS	25
3.9.1	Habituação de campo aberto	25
3.9.2	Memória de reconhecimento de novos objetos	26
3.10	VOLUME DO INFARTO CEREBRAL	28
3.11	DESCARTE DAS COBAIAS	28
3.12	ANÁLISE ESTATÍSTICA	28
4	RESULTADOS	30
4.1	ESCORE DE DÉFICIT NEUROLÓGICO E CONDIÇÃO DE SAÚDE CORPORAL DOS ANIMAIS	30
4.2	TESTES COMPORTAMENTAIS	32
4.2.1	Habituação de campo aberto	32
4.2.2	Memória de reconhecimento de novos objetos	33
4.3	ANÁLISES NEUROQUÍMICAS: AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-10	34
4.4	VOLUME DO INFARTO CEREBRAL	37
5	DISCUSSÃO	38
	REFERÊNCIAS	45

1 INTRODUÇÃO

1.1 PERIODONTITE APICAL (PA) E DIVERSIDADE MICROBIANA EM BIOFILMES ENDODÔNTICOS

A PA é um processo inflamatório crônico em resposta a uma infecção endodôntica, sendo definida como uma inflamação com destruição das estruturas ósseas do periodonto devido à interação entre fatores microbianos e a resposta imune do hospedeiro (Conti et al., 2020). A gravidade da PA varia de acordo com a virulência do biofilme podendo ser classificadas como PA aguda e crônica (Ricucci, Siqueira 2010, Felipe Pereira et al., 2021). A PA crônica está associada a bactérias menos virulentas, por outro lado infecções agudas demonstram-se ser decorrentes de bactérias altamente virulentas e colonização de múltiplas espécies (Ferreira et al., 2024).

A etiologia infecciosa da PA foi bem estabelecida nas últimas décadas e isso contribuiu para definir as espécies microbianas associadas à doença (Ricucci, Siqueira 2010). Estudos de microbiologia molecular independente de cultura identificaram mais de 1.000 espécies/filótipos bacterianos diferentes na cavidade oral e mais de 400 espécies/filótipos microbianos diferentes foram identificados em amostras endodônticas de dentes com diferentes formas de PA (Siqueira et al., 2010). As infecções do canal radicular são consideradas mistas e semi-específicas com predominância de bactérias obrigatoriamente anaeróbicas. Essas características são dadas pela correlação entre alguns grupos bacterianos e formas particulares da periapicopatia (Siqueira, Rôças 2009).

Os gêneros mais prevalentes em infecções endodônticas primária e secundárias são a *Veillonella*, *Streptococcus*, *Rothia*, *Cutibacterium* (anteriormente *Propionibacterium*), *Porphyromonas*, *Enterococcus* e *Fusobacterium*, e *Corynebacterium* (Zahran et al., 2021). *Porphyromonas*, *Enterococcus* e *Fusobacterium* são bactérias anaeróbicas Gram-negativas que estão associadas a infecções endodônticas, além de serem relatadas em abscessos periapicais e infecções extrarradiculares (Zheng et al., 2019, Zahran et al., 2021).

A patogênese da PA requer a ação conjunta de bactérias em uma comunidade multiespécies com variação da diversidade e tipo de infecção, resultando em manifestações clínicas diversas (Rodrigues et al., 2018). Na avaliação

da microbiota endodôntica estudos morfológicos relacionam a infecção primária a dentes não tratados e colonizados, infecção persistente a bactérias residuais, e infecções secundárias a reinfecção do canal radicular desinfetado, demonstrando que o padrão dominante de colonização bacteriana do sistema de canais radiculares se assemelha ao dos biofilmes típicos na cavidade bucal (Siqueira et al., 2010).

Embora a etiopatogenia e a prevalência dos microrganismos presente na PA esteja claramente comprovada, sabe-se também que a progressão e a exacerbação desse processo estão vinculadas a resposta imune do hospedeiro frente as bactérias e seus produtos (Cintra et al., 2018). Dentre as causas da infecção do periodonto apical está a contaminação do tecido pulpar, que pode ser desencadeado por diferentes fatores como fissuras em restauração ou em dentes, cárie dental, trauma e através do periodonto que, se não tratado, induz uma expressiva resposta inflamatória levando a necrose pulpar (Azuma et al., 2021). Na mucosa oral e dentária, o biofilme bacteriano também se demonstra como um causador de doenças bucais como cárie, gengivite, periodontite marginal e PA (Conti et al., 2020).

O processo de formação do biofilme ocorre gradualmente na parede dentinária do canal, ramificações apicais, canais laterais e istmos conectando os canais radiculares à medida que a infecção se move apicalmente. Conforme o processo inflamatório e invasivo avança essas bactérias são suportadas por novas cepas da saliva e tornam-se cada vez mais organizados, atingindo um estado de homeostase comunitária e equilíbrio (Ricucci et al., 2021).

O biofilme bacteriano ocorre pelo crescimento de células individuais que se agregam formando micro colônias ordenadas na matriz de substâncias poliméricas extracelulares (SPE), como um filme multicelular. Esse composto de biopolímeros hidratados pode exibir mais de 300 camadas, sendo formado por diferentes componentes como polissacarídeos, peptídeos, ácidos nucléicos e lipídios secretados pelas células do biofilme conferindo características inerentes para sua manutenção (Siqueira et al., 2010, Tennert et al., 2014, Galler et al., 2021).

Estudos sobre biofilmes microbianos são muito importantes para a compreensão da microbiologia médica bucal. Um estudo de meta-análise recente estimou que cerca de 65-80% das infecções bucais humanas são decorrentes de biofilmes, ademais 52% da população adulta em todo o mundo foi relatada como tendo pelo menos um dente acometido com PA (Tibúrcio-Machado et al., 2021).

Globalmente a PA, consequência direta das cáries dentais, afetam aproximadamente 2,5 bilhões de pessoas (Jakovljevic et al., 2020). A figura 1 elucida os achados radiográficos em pacientes com PA.

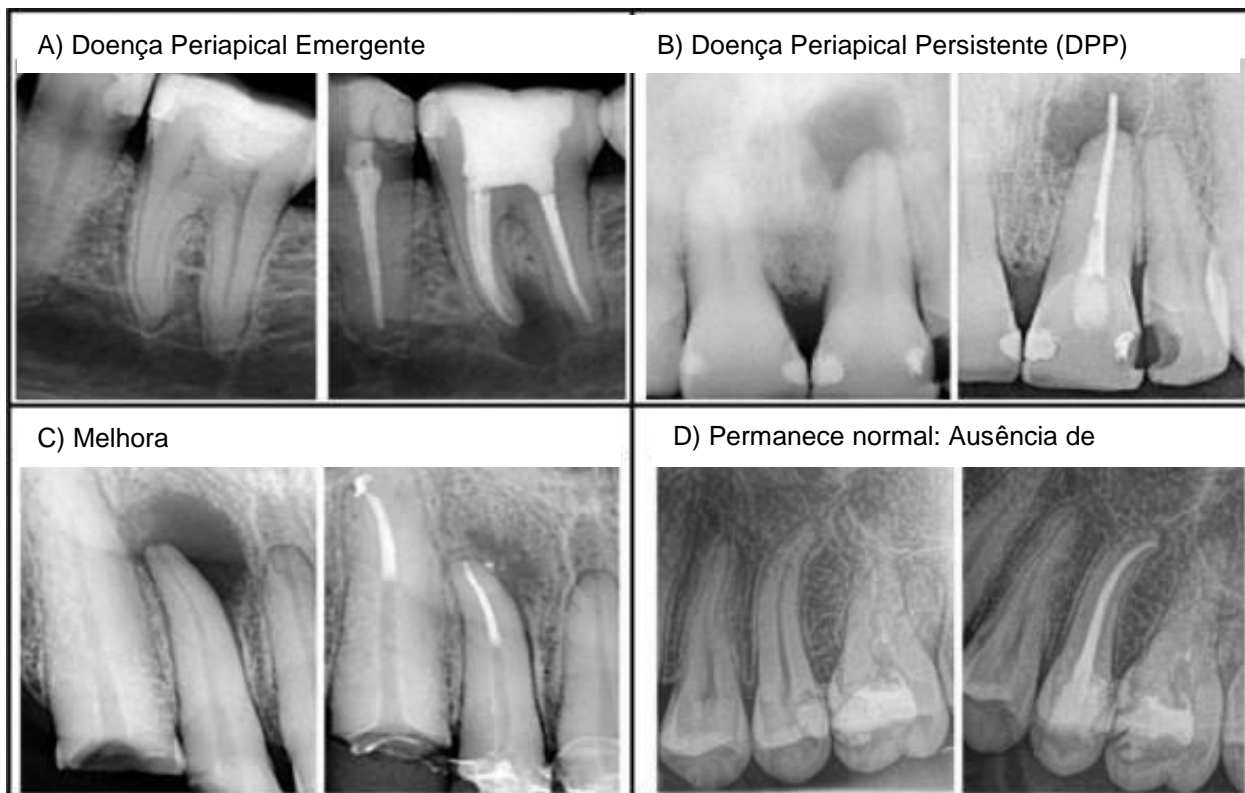


Figura 1: Avaliação radiográfica de PA. A) Doença Periapical Emergente (DEP): Periodontite apical na consulta de acompanhamento ou "novo"; B) Doença Periapical Persistente (DPP): Periodontite apical não resolvida após o tratamento; C) Melhora: Periodontite apical que se resolve ou melhora após a realização do tratamento; D) Permanece normal: Ausência de Periodontite Apical (Estruturas periapicais normais; ou pequenas alterações na estrutura óssea) antes e depois do tratamento. Fonte: Adaptado de (Sánchez Aleman et al., 2023).

A cárie é uma doença causada por biofilmes formados de colônias bacterianas em áreas do tecido do hospedeiro associadas às células inflamatórias (Zhao et al., 2020). Conforme a lesão de cárie progride em direção à polpa, o mesmo acontece com o biofilme que a causa, sendo esta capaz de afetar a última camada de dentina que se torna destruída em lesões de cárie avançada. Esse processo leva a inflamação e necrose da porção pulpar abaixo da lesão cariosa que progride ao tecido na câmara pulpar e posteriormente move-se para dentro da polpa em direção apical, ocasionando a necrose e infecção do canal radicular (Siqueira et al., 2010). Cerca de 34% das PA estão associadas às cáries profundas, indicando uma relação muito próxima entre o desenvolvimento de biofilmes bacterianos, cárie dental e lesões periapicais (Georgiou et al., 2019). Além disso, infecções como PA e

doenças periodontais, são considerados risco potencial para doenças sistêmicas, como diabetes, doença hepática, doenças cardiovasculares e doenças hereditárias (Sánchez-Domínguez et al., 2015, Conti et al., 2020).

Nos últimos anos, a associação entre PA e doença sistêmica tem atraído a atenção, levando ao conceito de medicina endodôntica (Cintra et al., 2021). Estudos prévios demonstram que microrganismos e toxinas virulentas em lesões periapicais têm acesso à corrente sanguínea a partir do sistema de canais radiculares durante ou após a terapia endodôntica dos dentes (Debelian et al., 1995, Georgiou et al., 2025). A PA pode potencializar os efeitos da doença periodontal no sangue, incluindo alterações no perfil lipídico e aumentando o número de células inflamatórias (Azuma et al., 2021). Além disso, sabe-se que existe uma relação entre infecção endodôntica e doenças cardíacas coronárias, que é o tipo mais comum de doença cardiovascular que corresponde a cerca de 49% da carga total de enfermidades cardíacas (Caplan et al., 2009, Liljestrand et al., 2021). A relação entre a PA e o desenvolvimento de acidente vascular cerebral (AVC) também se mostram relevantes alvos de estudos e discussões na comunidade científica. No entanto ainda se sabe muito pouco sobre o assunto, necessitando de mais pesquisas na área (Cintra et al., 2018).

Processos inflamatórios crônicos têm sido considerados como potenciais preditores de aterosclerose nos últimos anos (Conti et al., 2020). As ligações entre inflamação endodôntica e desfechos cardiovasculares são biologicamente plausíveis, considerando a predominância de bactérias anaeróbias Gram-negativas associadas a infecções endodônticas. Além disso, níveis sistêmicos elevados de mediadores inflamatórios têm sido observados em pacientes submetidos a tratamento endodôntico (Caplan et al., 2009). Joshipura e colaboradores (2006), relataram em seu estudo que os ateromas calcificados da artéria carótida observados em radiografias tinham uma carga maior de infecção dentária crônica especificamente com defeitos ósseos periodontais mesiais e distais avançados de 4 mm (Joshipura et al., 2006).

1.2 ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL ISQUEMICO (AVCi)

Na última década, a associação entre PA e doenças cardiovasculares tem sido amplamente investigada, uma vez que níveis elevados de biomarcadores

inflamatórios podem induzir uma resposta inflamatória sistêmica aumentando o risco de eventos cardiovasculares (Minassian et al., 2010, Chen et al., 2018).

O AVC, uma importante doença cardiovascular, é a segunda maior causa de óbitos no mundo, além de ser altamente incapacitante para os sobreviventes provocando danos neurológicos irreversíveis (Campbell et al., 2019). Estima-se que o custo global com o AVC seja de aproximadamente US\$ 891 bilhões por ano, o que representa em termos absolutos que o equivalente a 1,12% do produto interno bruto mundial é gasto com o tratamento e com as consequências do AVC, devido a isto se faz necessário ampliar os conhecimentos sobre a fisiopatologia da doença (Feigin et al., 2022).

O AVC é caracterizado pela interrupção do fluxo sanguíneo cerebral, sendo dividido em dois tipos distintos. O AVC hemorrágico, ocorre devido ao sangramento em decorrência do rompimento de um vaso, já o AVC isquêmico (AVCi) acontece após um bloqueio trombolítico arterial, geralmente causado pelo deslocamento de uma placa de ateroma, figura 2. Ambos causam isquemia na porção cerebral que deixou de ser perfundida (Campbell et al., 2019). Dados recentes demonstram que a incidência global de AVC, em 2020, foi de 11,71 milhões de pessoas e, de todos os AVCs, o AVCi foi de aproximadamente 65% de todos os casos (Tsoo et al., 2022).

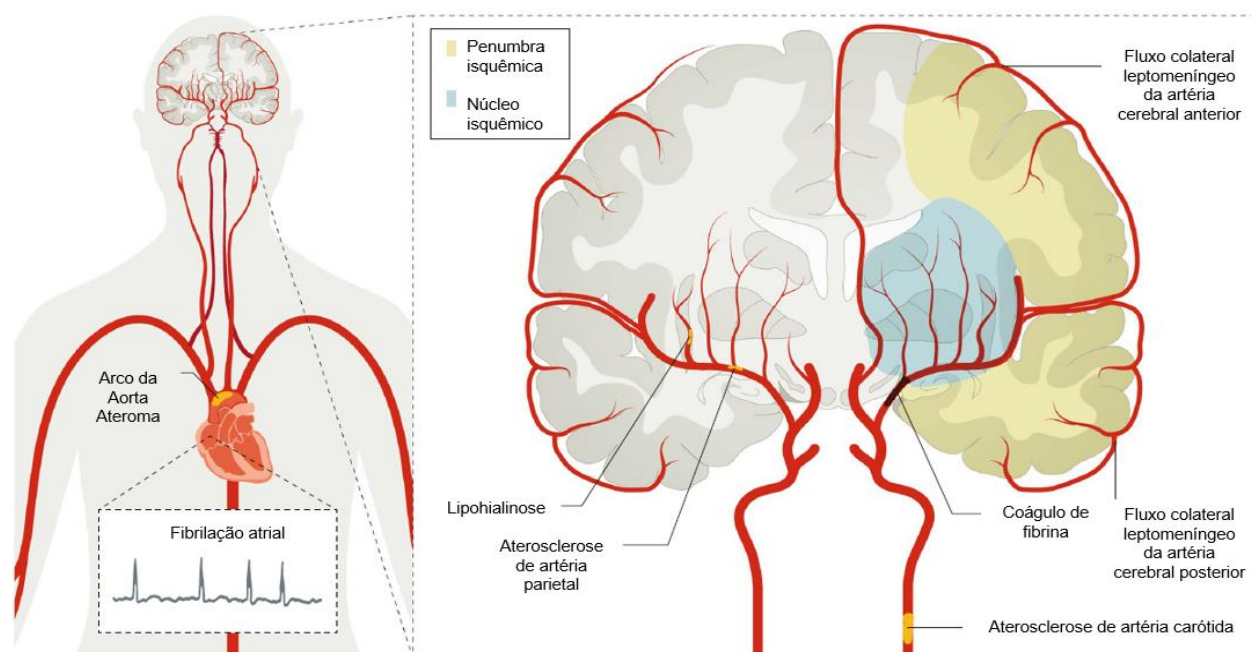


Figura 2: Mecanismos do acidente vascular cerebral isquêmico. Árvore cardíaca e cerebrovascular ilustrando acidente vascular cerebral cardioembólico do apêndice atrial esquerdo em

fibrilação atrial, aterosclerose da artéria carótida e doença de pequenos vasos devido à lipo-hialinose e aterosclerose do vaso parental. Quando um trombo oclui a artéria cerebral média distal ao polígono de Willis (ou seja, a anastomose circulatória que fornece sangue ao cérebro e às estruturas circundantes), as anastomoses leptomeníngicas com ramos da artéria cerebral anterior (ACA) e da artéria cerebral posterior (ACP) fornecerão fluxo sanguíneo retrógrado a uma proporção variável do território da artéria cerebral média. Esse fluxo colateral pode ser suficiente para sustentar a viabilidade metabólica, mas não a atividade elétrica na penumbra isquêmica. A penumbra contribuirá para o déficit clínico, mas este é reversível com reperfusão rápida. Regiões sem fluxo sanguíneo colateral adequado sofrerão lesões irreversíveis, denominadas núcleo isquêmico, e a extensão da lesão irreversível aumenta com o tempo. Fonte: Adaptado de (Campbell et al., 2019).

Os principais fatores de risco para o acontecimento do AVCi são: diabetes mellitus, idade avançada, hipertensão arterial, dislipidemia, tabagismo, fibrilação atrial e hereditariedade (Mai, Liang 2020). Para que o AVCi ocorra é necessário a oclusão do fluxo sanguíneo cerebral, privando as células de oxigênio e impedindo os processos de fosforilação oxidativa (geração de adenosina 5'-trifosfato (ATP) pela mitocôndria) levando a um quadro de isquemia cerebral. Esse quadro isquêmico desencadeia uma cascata de eventos os quais culminarão na morte celular (Campbell et al., 2019).

Na situação da formação da placa de ateroma, o LDL causa a inflamação da túnica íntima do vaso desencadeando a formação biomarcadores glicoproteicos na membrana endotelial como as quimiocinas. Os monócitos presentes na circulação podem então aderirem a essas glicoproteínas e migrar para dentro da íntima onde se transformarão em macrófagos iniciando a resposta inflamatória e, por conseguinte o processo de fagocitose do LDL (Libby et al., 2019). As células endoteliais de músculo liso também desempenham um papel imune importante atuando como “fagócitos não profissionais”, ou seja, podem sofrer metaplasia (evento no qual um tecido se diferencia em outro tipo tecidual) de modo que essas células musculares passam a fagocitar o LDL. No entanto, a modificação celular aumenta a ação inflamatória culminando na produção de mais bio-sinalisadores na membrana celular e, portanto, facilitando a entrada e acúmulo de mais monócitos, o que aumenta ainda mais o conteúdo interno da placa (Sorokin et al., 2020).

As células fagocitárias, macrófagos e células de músculo liso que sofreram metaplasia, eventualmente acabam morrendo e liberando além do conteúdo fagocitado: o cálcio presente em seus retículos sarcoplasmáticos contribuindo para a calcificação da placa de ateroma e formação da cápsula (Vergallo et al., 2025). Caso a cápsula fibrosa da placa se rompa as substâncias trombolíticas oriundas da ação dos macrófagos e das células musculares lisas

juntamente com o potencial inflamatório do LDL serão expostas ao tecido hematopoiético e por conseguinte levarão à formação de um coágulo o qual ao obstruir uma artéria, inicia a cascata do AVCi (Libby et al., 2019).

A morte celular é caracterizada pela degeneração irreversível das funções celulares vitais para produção energética e manutenção da homeostase levando ao fim da integridade da membrana plasmática uma vez que não é possível manter os gradientes iônicos celulares (Galluzzi et al., 2018). No AVCi nos primeiros minutos após o término do fluxo sanguíneo e início da hipoxia celular, a produção de ATP pela via aeróbica cessa, aumentando o estresse oxidativo devido ao acúmulo de radicais livres de oxigênio (Qin et al., 2022). Além disso, inicia-se a via anaeróbica de produção energética, a qual produz cerca de 15 vezes menos ATP do que a via aeróbica (Sifat et al., 2022).

A falta de ATP impede o funcionamento da bomba Na^+/K^+ -ATPase (dependente de energia), o que por consequência favorece o acúmulo de íons sódio no citoplasma do neurônio. Esse aumento dos níveis de sódio intracelular estimula a entrada de água por osmose provocando um edema citotóxico. Ademais, a bomba $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ também é inibida pela falta de ATP, aumentando assim a concentração de cálcio intracelular. O influxo aumentado de Ca^{2+} perturba a homeostase iônica, resultando em sobrecarga de Ca^{2+} estimulando uma variedade de proteases, lipases, quinases, fosfatases, endonucleases e radicais livres (Armada-Moreira et al., 2020), bem como processos biológicos que causam morte celular, como ativação de calpaína, estresse oxidativo e comprometimento mitocondrial. O dano à mitocôndria culmina na liberação de estímulos apoptóticos iniciando o processo de morte celular (Marchi et al., 2018).

O aumento de cálcio favorece a liberação de uma alta carga de neurotransmissores principalmente o glutamato, devido ao desbalanceamento dos gradientes iônicos, provocando assim uma excitotoxicidade. Isto é, uma vez que os neurônios ficam hiper estimulados pela alta carga de neurotransmissores eles começam a sofrer danos irreversíveis (Belov Kirdajova et al., 2020). A presença de excesso de glutamato, que não pode ser processado com eficiência, pode levar à estimulação excessiva dos receptores ionotrópicos de N-metil-D-aspartato (NMDARs), influxo maciço de Ca^{2+} e sinalização intracelular desregulada, que é conhecida por causar a morte celular (Pietrogrande et al., 2019).

Uma via específica na excitotoxicidade mediada por glutamato é a interação de NMDARs com a proteína pós-sináptica de densidade-95 (PSD-95). O PSD-95 facilita o acoplamento de NMDARs com a síntese neuronal de óxido nítrico (nNOS), que por sua vez pode resultar na produção de óxido nítrico (NO), que contribui para a formação de peroxinitrito e isso pode causar oxidação de proteínas, peroxidação lipídica e danos ao DNA, podendo levar à morte celular por apoptose ou necrose (Wu, Tymianski 2018).

A morte celular resultante do quadro isquêmico resulta em três principais zonas de lesão: o núcleo, onde o suprimento de sangue foi interrompido totalmente levando a danos irreversíveis (Salaudeen et al., 2024). Anexa à região central, há uma área transicional, na qual o fluxo foi apenas parcialmente obstruído de modo que somente algumas células sofreram danos que as levaram a morte, e esta região é denominada penumbra isquêmica sendo eletricamente sem atividade e uma região levemente hipoperfundida chamada de oligemia sem danos (Chalet et al., 2022).

Por fim, após lesão isquêmica, a restauração do fluxo sanguíneo causa lesão de isquemia-reperfusão (I/R), que piora o resultado em alguns casos (Galkin 2019). Os mecanismos de lesão secundária após qualquer AVC são semelhantes e englobam inflamação, disfunção endotelial, dano na barreira hematoencefálica e apoptose celular (Lee et al., 2020).

1.3 JUSTIFICATIVA

A PA é um processo inflamatório crônico em resposta a uma infecção endodôntica, e a progressão e exacerbação da inflamação estão vinculadas a resposta imune do hospedeiro. Patologias como a PA e doenças periodontais são consideradas risco potencial para outras doenças, incluindo diabetes, doença hepática e doenças cardiovasculares. Sendo assim, a PA tornou-se alvo de estudos e discussões na comunidade científica sobre seu papel no AVCi, onde uma resposta inflamatória localizada decorrente da infecção bacteriana causa liberação de mediadores inflamatórios na circulação sistêmica e a subsequentes efeitos vasculares deletérios.

Diante disso, hipotetiza-se que a PA modula a resposta inflamatória do hospedeiro exacerbando o volume do infarto cerebral e causa prejuízos de memória e aprendizagem. Para testar essa hipótese, ratos Wistar adultos-jovens serão

submetidos ao modelo experimental de PA e posteriormente os mesmos animais serão submetidos ao AVCi através do modelo de oclusão da artéria cerebral média (MCAO), para avaliação do perfil inflamatório e comportamental dos animais.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o papel da PA na fisiopatologia do AVCi em ratos Wistar adultos-jovens.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar os níveis de citocinas (TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL10) no soro, hipocampo, córtex pré-frontal e córtex total de ratos Wistar adultos-jovens submetidos aos modelos de PA com uma ou quatro lesões e ao modelo de AVCi.

Avaliar a memória e aprendizagem em ratos Wistar adultos submetidos aos modelos de PA com uma ou quatro lesões e ao modelo de AVCi.

Correlacionar a PA com uma ou quatro lesões com o tamanho da lesão cerebral em ratos Wistar machos submetidos ao modelo experimental de AVCi

Correlacionar se a PA é um modulador de mediadores inflamatórios e alterações comportamentais em ratos Wistar adultos-jovens submetidos ao modelo experimental de AVCi através do MCAO.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDO

Estudo experimental pré-clínico, utilizando modelo animal de AVCi e PA.

3.2 LOCAL DE REALIZAÇÃO DA PESQUISA

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Fisiopatologia Experimental e Laboratório de Neurologia Experimental, da Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC), Criciúma, SC, Brasil. O estudo foi realizado dentro das diretrizes estabelecidas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) para pesquisas utilizando animais e passou pela aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UNESC com os protocolos 45/2021 e 37/2022 (Anexo A e B). Sendo assim, todos os cuidados para evitar ou minimizar o sofrimento dos animais durante os experimentos foram adotados.

3.3 CRITÉRIO DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Para este estudo, foram utilizados ratos *Wistar* machos com 8 semanas de vida pesando entre 250 e 300 g e que não passaram por estudos anteriores, procedentes do Biotério da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC. Os animais foram acondicionados em caixas de no máximo cinco animais, com comida e água *ad libitum*, mantidos em ambiente com temperatura de 23 °C +/- 1 °C e umidade relativa entre 55 e 65%, num ciclo de 12 horas claro-escuro (7:00 às 19:00). Foram excluídos do estudo os animais que apresentaram qualquer má-formação aparente, peso inferior a 250 g ou superior a 350 g, animais que já foram usados em experimentos anteriores, animais que eventualmente morreram durante o experimento, antecedendo o tempo de eutanásia pré-estabelecido.

3.4 ANIMAIS

Foram utilizados na pesquisa 135 ratos *Wistar* machos com 8 semanas de vida, oriundos do Biotério da Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC).

Para a determinação do número de animais para o experimento, foi levada em consideração a utilização de um número mínimo possível de animais, a eficiência do modelo experimental e a estatística adequada para este tipo de avaliação.

3.5 DESENHO EXPERIMENTAL

Na primeira etapa os animais foram divididos aleatoriamente em 3 grupos experimentais: controle + salina (n = 45), PA em 1 dente (n = 45) e PA em 4 dentes (n = 45), e foram submetidos a indução da PA. Na segunda etapa, 21 dias após a primeira, os grupos foram subdivididos em 6 grupos: controle (n = 15), MCAO (n = 30), PA em 1 dente (n = 15), PA em 4 dentes (n=15), PA em 1 dente + MCAO (n = 30) e PA em 4 dentes + MCAO (n = 30), onde foi realizado a indução do modelo de AVCi por MCAO. Em 1 hora, 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a MCAO, foram avaliados o peso e temperatura dos animais, bem como os déficits neurológicos pelo sistema de pontuação de déficit neurológico adaptado de Bederson e colaboradores (1986).

No 30º dia, os animais foram submetidos aos testes comportamentais de habituação ao campo aberto e reconhecimento de objetos novos. Logo após o término dos testes comportamentais, os animais foram eutanasiados para a coleta das estruturas e posterior análises experimentais no hipocampo e córtex pré-frontal de citocinas inflamatórias, e tamanho do volume do infarto cerebral (figura 3).

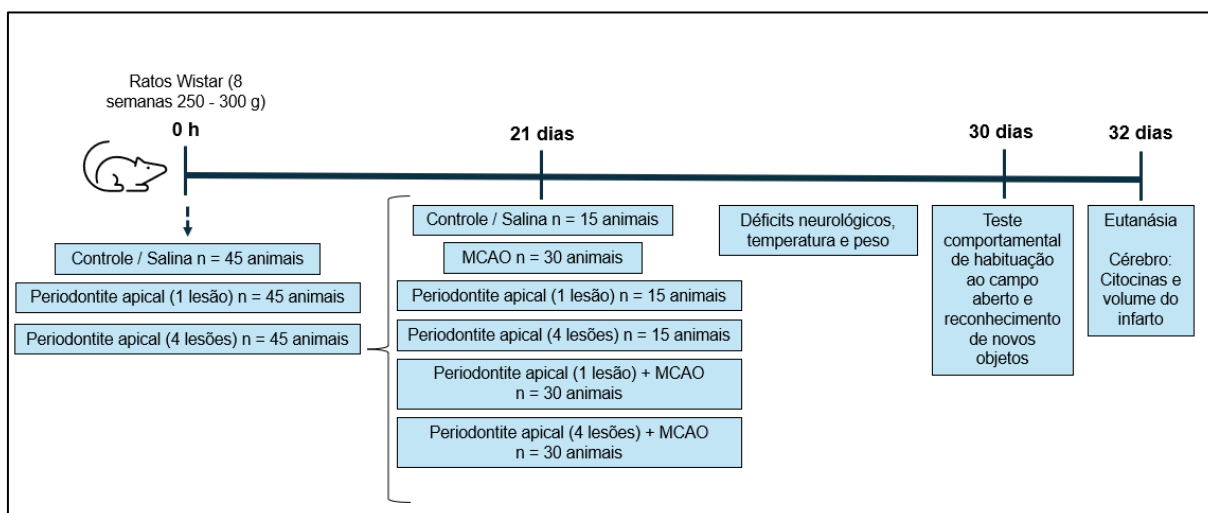


Figura 3: Representação da linha do tempo do experimento. Figura elaborada pelo autor.

3.6 MODELO EXPERIMENTAL DE INDUÇÃO DE PA

Para efetuar a indução da PA os ratos foram anestesiados com injeção intraperitoneal (i.p.) de cloridrato de cetamina – 6,6 mg/kg (Ketamina Agener; Embu Guacu, SP, Brasil) e cloridrato de xilazina – 0,3 mg/kg (Dorcipec; Montes Claros, MG, Brasil). No experimento houve dois grupos de lesão. No grupo PA em 1 dente (1LP) foi realizado a indução da PA no primeiro molar superior direito e no grupo PA em 4 dentes (4LP) no primeiro e segundo molar superior direito e no primeiro e segundo molar inferior direito. A periapicopatia foi induzida através do acesso da câmara pulpar pela face oclusal com broca Carbide esférica de ½ (American Burns, Palhoça, SC, Brasil) em alta rotação sem irrigação, as cavidades foram deixadas expostas ao meio bucal por 30 dias (Barichello et al, 2015; Pereira et al, 2017).

3.7 MODELO ANIMAL DE ISQUEMIA POR MCAO

O AVCi foi induzido utilizando a técnica de MCAO (Li et al, 2013). Os animais foram anestesiados com isoflurano (1L/min de O₂ e 1L/min O₂ ambiente) e mantidos sob anestesia utilizando o fluxo de 1 – 2% de isoflurano com vaporizador de kit de anestesia (Hipnos 50 I, Previtich, Brasil). Foi realizada tricotomia na região cervical ventral e em seguida assepsia com clorexidina 4%. A incisão foi realizada no local asséptico no pescoço na linha média ventral. Para a MCAO unilateral, foi inserido um monofilamento revestido com borracha de silicone na artéria carótida interna direita a 6 mm da bifurcação da artéria carótida interna através de um coto da artéria carótida externa. Em seguida, fechou-se o plano cirúrgico com fio de sutura nylon 3-0 e a isquemia cerebral induzida teve duração de 60 minutos (min.) de MCAO. Os animais controles foram submetidos ao mesmo procedimento, exceto a oclusão da artéria carótida interna (Figura 4). Após 60 min de MCAO, sob anestesia, a oclusão foi removida para permitir a reperfusão. A temperatura dos animais foi monitorada e mantida a aproximadamente 37 °C durante a cirurgia e isquemia (Mccullough et al, 2003).

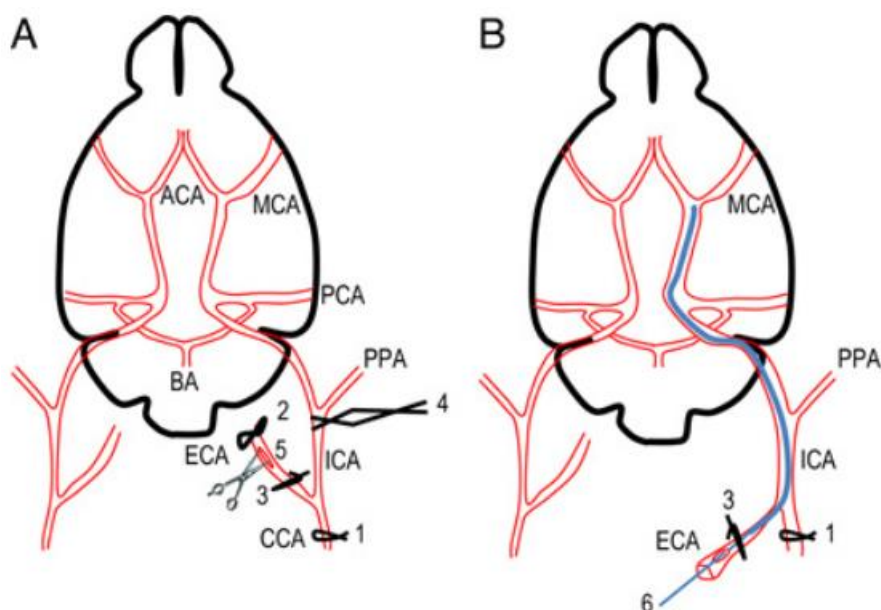


Figura 4: Esquema da MCAO utilizando fio de sutura intraluminal. (A) Esquema ilustrativo de cérebro de rato e artérias cerebrais, mostrando suturas sucessivas e clips para preparar a introdução do fio de sutura intraluminal. (B) Representação da posição do fio de sutura nas artérias. O fio de sutura é inserido na ACE, percorre até ACC e é inserido na ICA até chegar a MCA. CCA, artéria carótida comum; ECA, artéria carótida externa; ICA, artéria carótida interna; PPA, artéria pterigopalatina; PCA artéria comunicante posterior; MCA, artéria cerebral média, ACA artéria cerebral anterior; BA, artéria basilar. Fonte: (Rousselet et al., 2012).

3.8 ESCORE DE DÉFICIT NEUROLÓGICO E CONDIÇÃO DE SAÚDE CORPORAL DOS ANIMAIS

O peso corporal e a temperatura dos animais foram monitorados diariamente, utilizando uma balança digital (SF-400) e um termômetro, respectivamente. A função neurológica foi avaliada por um observador cego, utilizando um escore neurológico adaptado de Bederson e colaboradores (1986), que varia de 0 (sem déficit) a 18 (déficit grave). Essa avaliação foi realizada em 1 hora, 24, 48, 72, 96 e 120 horas para analisar o dano neurológico após a indução de isquemia e reperfusão (I/R).

3.9 TESTES COMPORTAMENTAIS

3.9.1 Habituação de campo aberto

Esse teste comportamental serviu para avaliar as atividades locomotoras e memória e foi realizado no aparato de campo aberto. O aparelho mede 40 cm x 60

cm de campo aberto cercado por 50 cm de parede feita de madeira com um vidro frontal. O piso do campo aberto é dividido em 9 retângulos por linhas pretas (figura 5). Os animais foram cuidadosamente colocados no quadrante traseiro esquerdo e, em seguida, deixados sozinhos para explorar a arena por 5 min (sessão treino). Imediatamente após este procedimento, os animais foram levados novamente para a sua gaiola e 24 h depois foram submetidos a uma nova sessão no aparelho de campo aberto (sessão teste). Durante 5 min, em ambas as sessões, foram observadas e documentadas todas as vezes que o animal cruzou as linhas pretas (*crossings*) ou se apoiou com as patas traseiras levantando as dianteiras, atividade exploratória (*rearings*). A diminuição do número *crossings* e *rearings* entre as duas sessões foi tomado como uma medida da retenção de memória de habituação (Vianna et al., 2000).

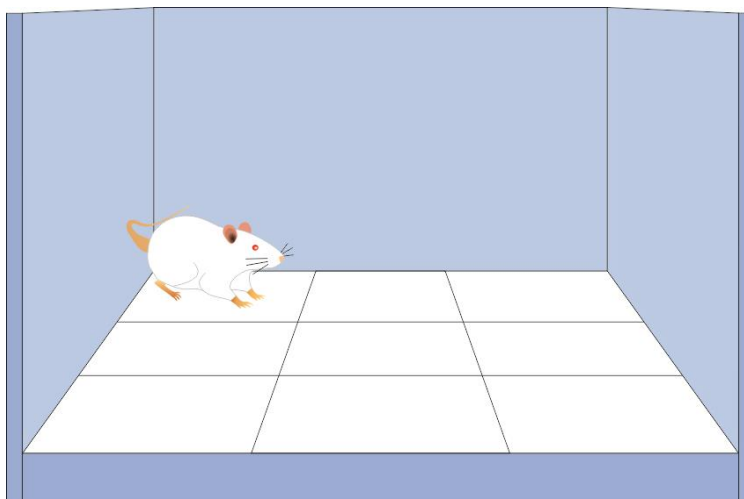


Figura 5: Aparato para a avaliação do teste comportamental de campo aberto. Fonte: Laboratório de Fisiopatologia Experimental, desenvolvida por Allan Collodel, 2017.

3.9.2 Memória de reconhecimento de novos objetos

O teste de reconhecimento foi realizado em um aparelho que mede 40 cm x 60 cm de campo aberto cercado por 50 cm de parede feita de madeira com um vidro frontal. O piso do campo aberto é dividido em 9 retângulos por linhas pretas (figura 6). No primeiro dia foi realizado o treino, onde o animal foi colocado cuidadosamente no quadrado do canto posterior esquerdo do aparelho, no qual explorou o ambiente por 5 min, este dia serviu como habituação do animal. No segundo dia o animal foi recolocado no aparato, no qual estão dois objetos iguais, o objeto A e objeto B (forma, tamanho e cor), contou-se o tempo que o animal

explorou cada objeto A e B. No mesmo dia, 1h30min após, foi avaliada a memória de curta duração, o animal explorou novamente o ambiente na presença do primeiro objeto familiar (objeto A) e um novo objeto (objeto C), contou-se novamente o tempo total que o animal explorou cada objeto. No dia seguinte, 24h após, avaliou-se memória de longa duração onde foi realizado o mesmo procedimento trocando o objeto C pelo objeto D (diferente do objeto A), contou-se o tempo de exploração de cada objeto. Este teste avaliou as memórias de curta e longa duração (De Lima *et al.*, 2005).

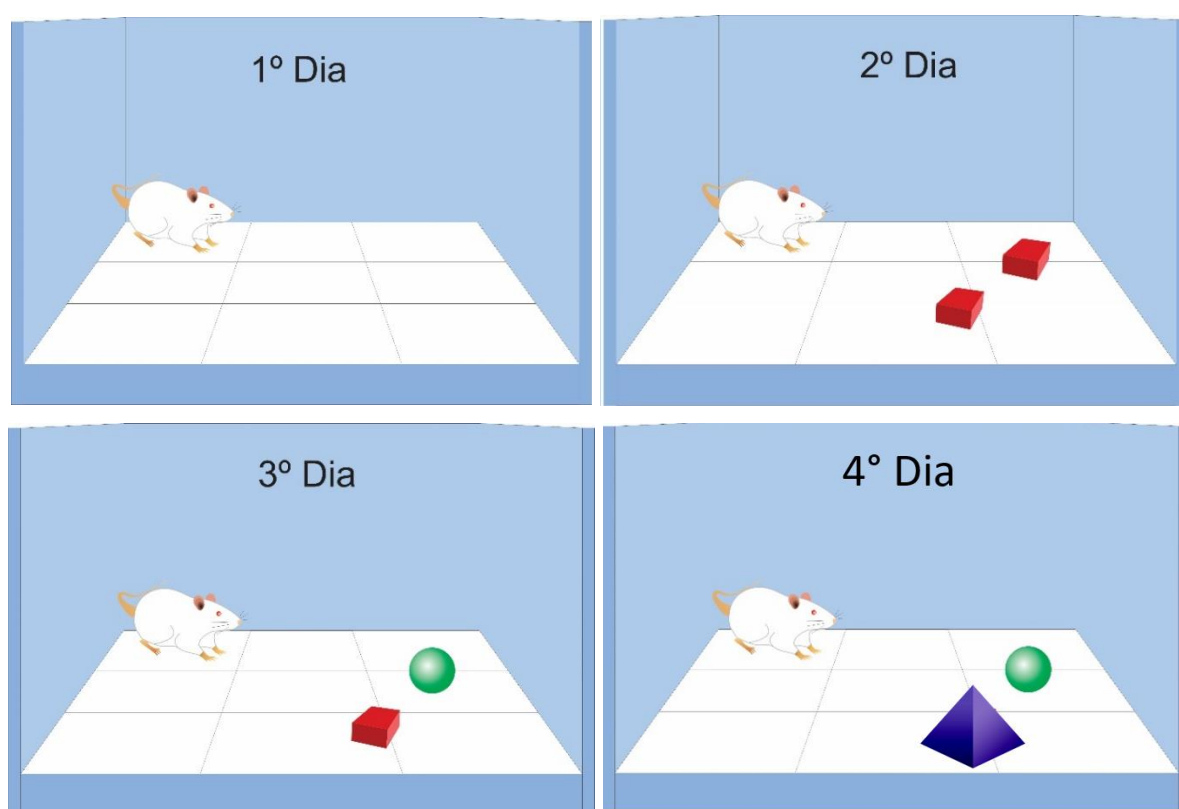


Figura 6: Aparato para avaliação do teste comportamental de reconhecimento de objetos. Fonte: Laboratório de Fisiopatologia Experimental, desenvolvida por Allan Collodel, 2017.

3.10 ANÁLISES NEUROQUÍMICAS: AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10

As amostras de hipocampo, córtex frontal, córtex total e soro foram removidas e armazenadas a -80 °C para as análises. A quantificação de citocinas foi mensurada por kits ELISA, de acordo com as recomendações do fabricante.

3.10 VOLUME DO INFARTO CEREBRAL

Secções coronais (2 mm) de cérebro foram coradas, nas regiões que não sofreram hipóxia, com solução de cloreto de 0,1% de TTC e fixadas usando 4% de formaldeído. O tamanho da área de infarto não corado foi analisado utilizando o programa *ImageJ* (Kramer et al., 2010).

3.11 DESCARTE DAS COBAIAS

Após os experimentos, todos os animais foram anestesiados e decapitados por guilhotina. O descarte foi feito por acondicionamento em saco branco leitoso, identificados como “lixo infectante” e levados para um freezer de resíduos localizado no biotério da UNESC para a conservação até o momento de coleta por uma empresa terceirizada, que fez o tratamento e disposição final, conforme RDC nº 306/2004 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

3.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados quanto à normalidade utilizando o teste de *Shapiro-Wilk* e para homogeneidade usando o teste de *Levene*. Os dados que foram normais e homogeneidade de variância confirmada, foram submetidos a testes paramétricos; já para os dados que não cumpriram estas condições, foram utilizados os testes não-paramétricos. Dados da tarefa de habituação ao campo aberto foram relatados como média \pm erro padrão da média (EPM), e as comparações dentro os grupos foram feitas utilizando-se teste *t* de *Student* pareado. Dados da tarefa de reconhecimento de objetos foram realizados pelo teste *U-Mann-Whitney*. As comparações dentro dos grupos serão realizadas pelo teste de *Wilcoxon*. Para as análises bioquímicas os dados foram apresentados como média \pm EPM e analisados por ANOVA de duas vias, seguido de teste *post hoc Tukey*. O tamanho da área de infarto não corado será analisado utilizando o programa *ImageJ*. Os dados são apresentados como média \pm desvio padrão e foram analisados por ANOVA de uma via seguida pelo teste *post hoc Tukey*. Em todas as comparações, $p < 0,05$ foi considerado significativamente estatístico. Todas as

análises foram realizadas utilizando o programa *Statistical Package for the Social Science* (SPSS) versão 20.0.

4 RESULTADOS

4.1 ESCORE DE DÉFICIT NEUROLÓGICO E CONDIÇÃO DE SAÚDE CORPORAL DOS ANIMAIS

As avaliações de escore neurológico (figura 7), peso corporal (figura 8) e temperatura (figura 9) foram realizadas em 1 hora, 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a indução de isquemia e reperfusão (I/R).

No gráfico 7, após uma hora da indução do modelo experimental visualiza-se nos grupos controle + salina e PA em 1 dente uma pontuação de escore neurológico entre 2 e 3, enquanto os grupos PA em 4 dentes e PA em 1 dente + MCAO apresentaram pontuação entre 3 e 4. Pontuações mais elevadas foram observadas nos grupos MCAO e PA em 4 dentes + MCAO, registradas entre 4 e 6.

Em 24 e 48 horas houve uma diminuição na pontuação de escore neurológico registrada em todos os grupos experimentais. Em 72 horas um aumento na pontuação foi novamente registrado nos grupos MCAO, mantendo uma tendência de aumento em 96 horas após indução.

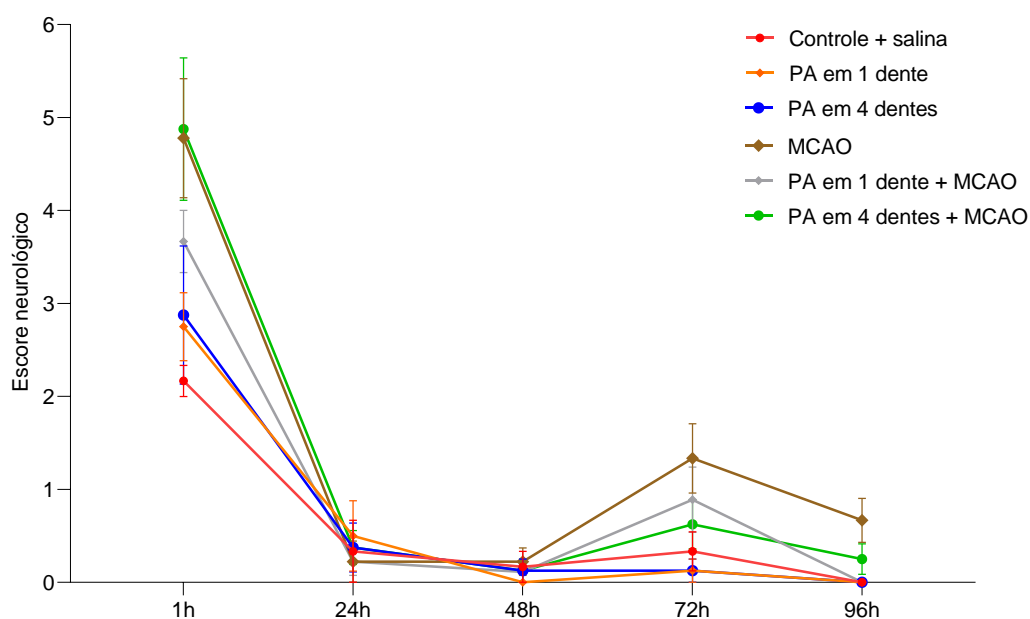


Figura 7: Avaliação do índice de escore neurológico nos animais dos grupos experimentais em 1, 24, 48, 72 e 96 horas após a indução do modelo. Fonte: Do Autor, 2025.

Quando avaliado o peso corporal (figura 8), nota-se uma diminuição de peso dos animais dos grupos experimentais em 24 e 48 horas após a indução do modelo, sendo perceptível com mais enfoque no grupo PA em 1 dente + MCAO. Os animais do grupo PA em 1 dente apresentaram pequeno ganho de peso em 24 e 48 horas após início do experimento bem como os animais do grupo controle, mantendo-se estável até o fim dos registros.

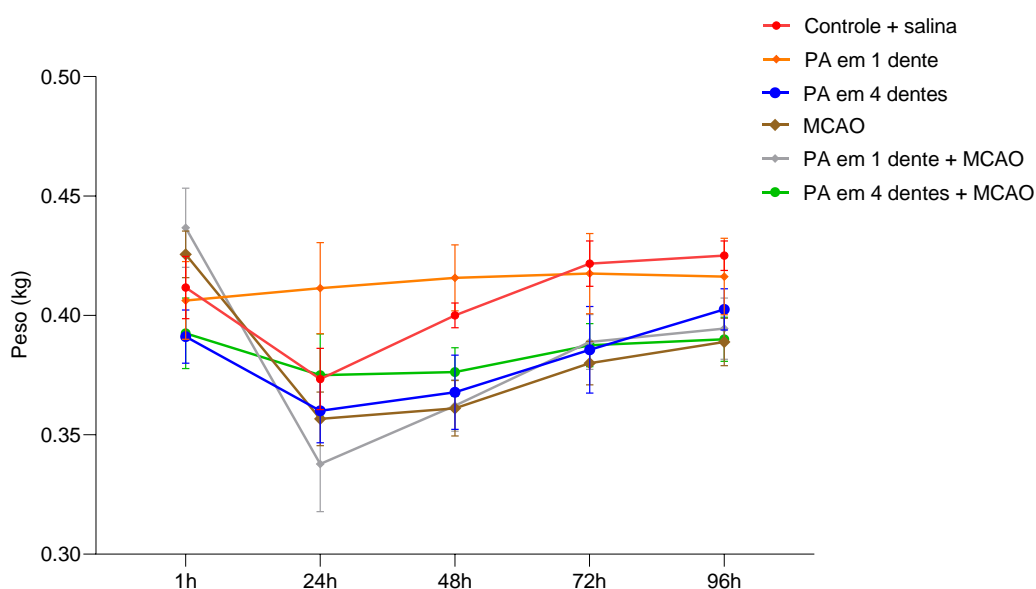


Figura 8: Avaliação do peso corporal nos animais dos grupos experimentais em 1, 24, 48, 72 e 96 horas após a indução do modelo. Fonte: Do Autor, 2025.

A análise de temperatura corporal (figura 9) mostra que os animais do grupo controle + salina mantiveram temperatura estável em torno de 35 °C, exceto 96 horas após o início experimental onde houve uma diminuição. Já os demais grupos experimentais apresentaram uma queda na temperatura a partir de 24 horas após o início experimental permanecendo estável até o fim da análise em 120 horas. Observa-se que o grupo PA em 4 dentes apresentou resultados semelhantes, porém, um aumento da temperatura corporal neste grupo foi detectado em 96 horas após a indução do modelo.

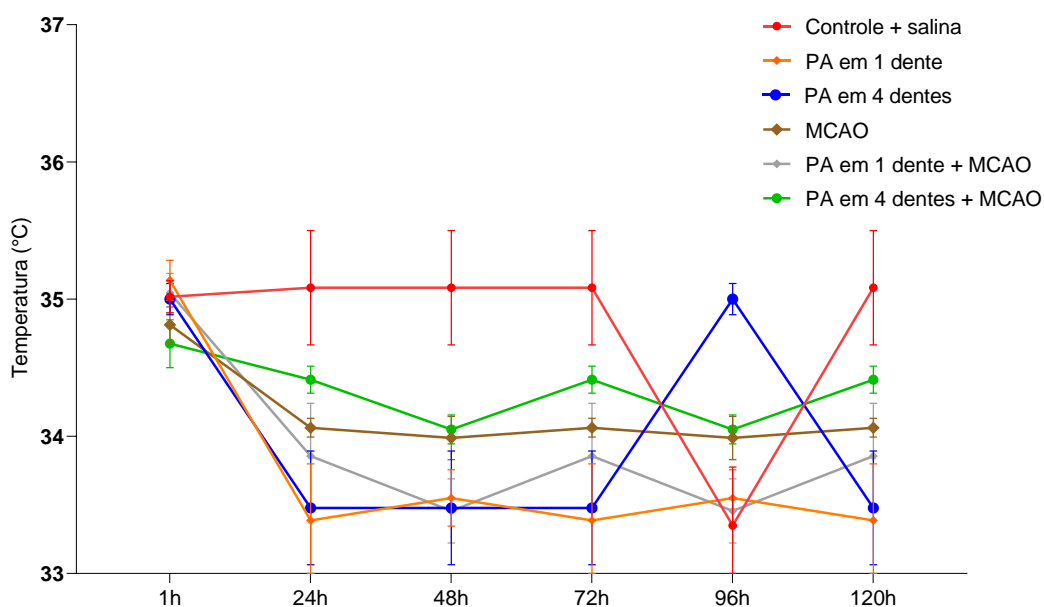


Figura 9: Avaliação da temperatura corporal nos animais dos grupos experimentais em 1, 24, 48, 72 e 96 horas após a indução do modelo. Fonte: Do Autor, 2025.

4.2 TESTES COMPORTAMENTAIS

4.2.1 Habituação de campo aberto

Na avaliação comportamental houve diferença significativa no número de cruzamentos (figura 10A) entre análise treino e teste apenas no grupo controle + salina. Quando avaliado o número de levantamentos (figura 10B) observou-se diferença significativa entre sessões treino e teste nos grupos controle + salina e PA em um dente apenas. Nos demais grupos não foram observadas diferenças entre as sessões treino e teste em cruzamentos e levantamentos.

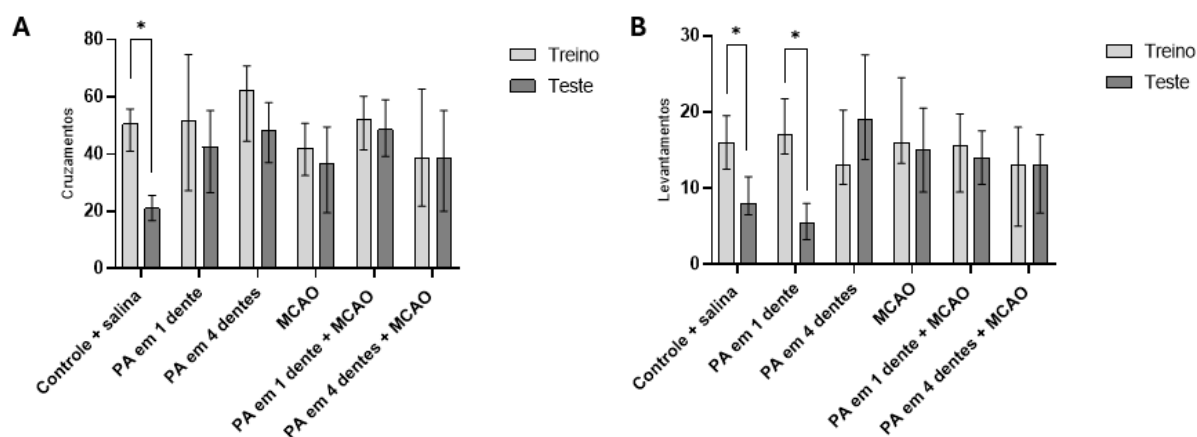


Figura 10: Índice de levantamentos e cruzamentos realizados pelos animais dos grupos experimentais em sessões treino e teste em análises comportamentais de habituação de campo aberto. Os dados foram relatados como média \pm EPM, de 10 animais por grupo e as comparações dentre os grupos realizadas com teste *t* de *Student* pareado. * $p < 0,05$ indicam significância estatística entre as sessões treino e teste. Fonte: Do autor, 2025.

4.2.2 Memória de reconhecimento de novos objetos

O gráfico 11, apresenta o índice de reconhecimento de novos objetos. Observa-se que somente no grupo controle + salina houve diferença significativa entre a sessão treino e teste, demonstrando retenção de memória. Nos demais grupos não foram observadas diferenças entre as sessões treino e teste.

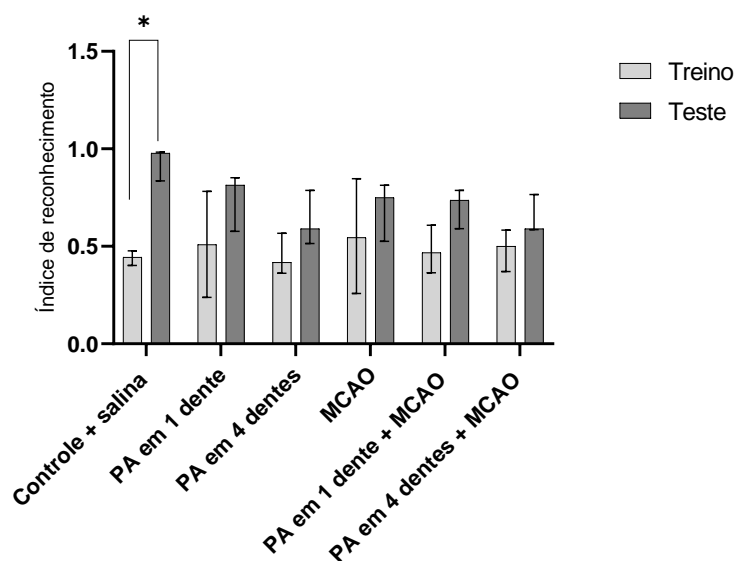


Figura 11: Índice de reconhecimento de novos objetos entre as sessões treino e testes nos animais dos grupos experimentais. Os dados foram apresentados como mediana e intervalo interquartil de 10 animais por grupo e as comparações entre os grupos foram analisadas utilizando-se o teste *U Mann-Whitney*. As comparações dentro de cada grupo foram realizadas pelo

teste de *Wilcoxon*. O símbolo * $p < 0.05$ indicam significância estatística entre as sessões treino e teste. Fonte: Do Autor, 2025.

4.3 ANÁLISES NEUROQUÍMICAS: AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-10

Na análise dos níveis de TNF- α (figura 12) em córtex pré-frontal foi verificado com aumento dos níveis dessa citocina no grupo PA em 1 dente, PA em 4 dentes e grupo MCAO quando comparado ao controle. No grupo PA em 4 dentes também houve aumento significativo na comparação ao grupo PA em 1 dente. O grupo PA em 4 dentes + MCAO apresentou aumento significativo quando comparado aos grupos PA em 1 dente + MCAO, grupo MCAO e PA em 4 dentes sem MCAO. Além disso, o grupo PA em 1 dente + MCAO apresentou aumento significativo quando comparado ao grupo PA em 1 dente sem MCAO.

No hipocampo os níveis de TNF- α foram aumentados nos grupo PA em 1 dente, PA em 4 dentes e MCAO quando comparados ao grupo controle. No grupo PA em 4 dentes também houve aumento significativo na comparação ao grupo PA em 1 dente. O grupo PA em 4 dentes + MCAO apresentou aumento significativo quando comparado aos grupos MCAO e PA em 4 dentes sem MCAO. O grupo PA em 1 dente + MCAO também apresentou aumento quando comparado ao grupo MCAO. Além disso, o grupo PA em 1 dente + MCAO apresentou aumento significativo quando comparado ao grupo PA em 1 dente sem MCAO.

Na avaliação do córtex total dos animais os níveis de TNF- α houve aumento nos grupo PA em 4 dentes e MCAO quando comparados ao grupo controle. No grupo PA em 4 dentes também houve aumento significativo na comparação ao grupo PA em 1 dente. O grupo PA em 4 dentes + MCAO apresentou aumento significativo quando comparado aos grupos PA em 1 dente + MCAO, grupo MCAO e PA em 4 dentes sem MCAO. Já o grupo PA em 1 dente + MCAO apresentou aumento significativo quando comparado ao grupo PA em 1 dente sem MCAO.

Outro local avaliado foi o soro dos animais onde verificou-se que os níveis de TNF- α foram aumentados nos grupo PA em 1 dente, PA em 4 dentes e MCAO quando comparados ao grupo controle. Além disso o grupo PA em 4 dentes também houve demonstrou aumento significativo na comparação ao grupo PA em 1 dente. Por fim o grupo PA em 4 dentes + MCAO apresentou aumento significativo quando

comparado aos grupos PA em 1 dente + MCAO, grupo MCAO e PA em 4 dentes sem MCAO.

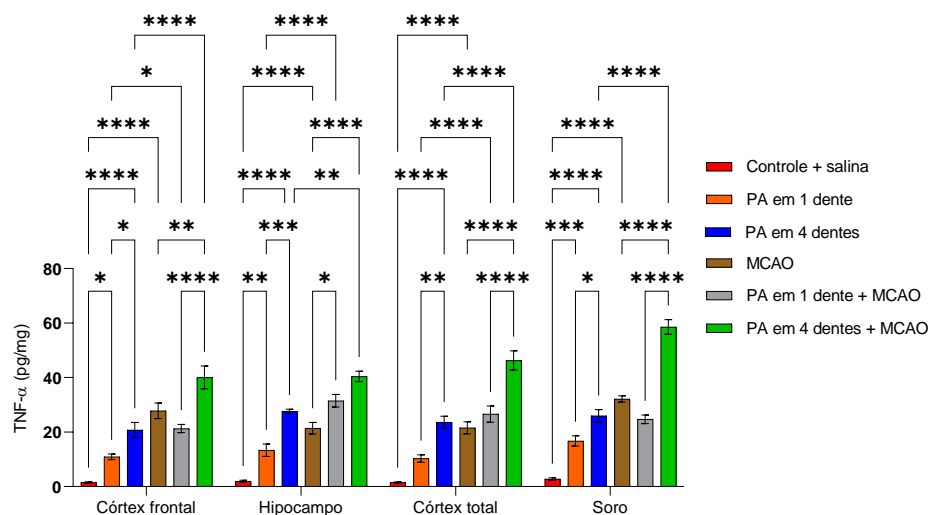


Figura 12: Dosagem de TNF- α em córtex frontal, hipocampo, córtex total e soro após 32 dias da indução experimental. Os dados foram relatados como média \pm EPM, de 5 animais por grupo e as comparações utilizando teste ANOVA de 2 vias. Os símbolos * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ indicam diferença estatisticamente significativa quando comparado entre os grupos. Fonte: Do Autor, 2025.

Ao averiguar a concentração de IL-1 β (figura 13), em córtex frontal foi constatado que houve um aumento significativo no grupo PA em 4 dentes quando comparado ao grupo controle + salina. No hipocampo, uma concentração aumentada foi constatada no grupo PA em 4 dentes + MCAO quando comparado ao grupo PA em 4 dentes. Em córtex total obteve-se dosagens aumentadas no grupo PA em 1 dente + MCAO quando comparado ao grupo PA em 1 dente, e no grupo PA em 4 dentes quando comparado ao controle. Na análise do soro foram verificadas dosagens significativamente mais elevadas nos grupos PA em 4 dentes + MCAO quando comparado ao grupo MCAO, bem como no grupo PA em 4 dentes quando comparado ao grupo controle + salina e no grupo PA em 1 dente + MCAO quando comparado ao grupo PA em 1 dente.

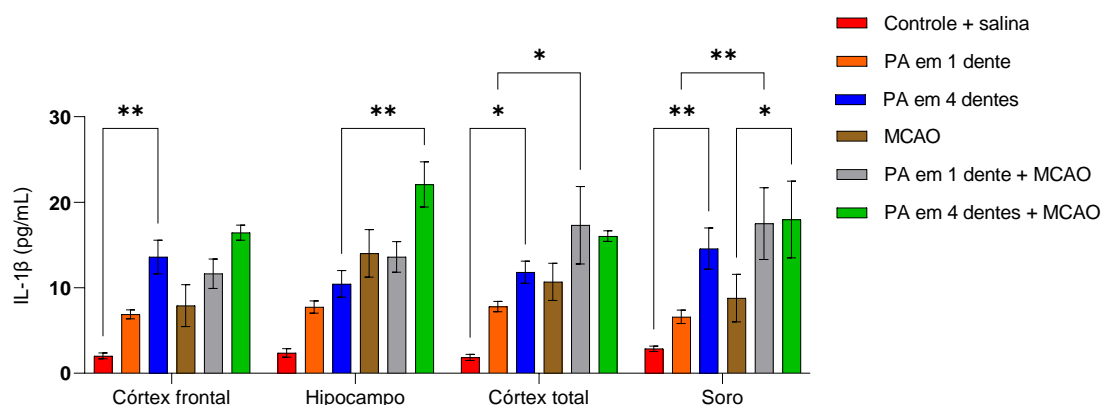


Figura 13: Dosagem de IL-1 β em córtex frontal, hipocampo, córtex total e soro após 32 dias da indução experimental. Os dados foram relatados como média \pm EPM, de 5 animais por grupo e as comparações utilizando teste ANOVA de 2 vias. Os símbolos * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ indicam diferença estatisticamente significativa quando comparado entre os grupos. Fonte: Do Autor, 2025.

Analisando a concentração de IL-6 (figura 14), em córtex frontal um aumento significativo pôde ser observado no grupo PA em 4 dentes + MCAO quando comparado ao grupo MCAO. Em hipocampo houve um aumento perceptível no grupo PA em 1 dente quando comparado ao grupo controle + salina. No soro, houve um aumento de concentração de IL-6 observado no grupo PA em 1 dente quando comparado ao grupo controle + salina, e grupo PA em 4 dentes + MCAO quando comparado ao grupo MCAO.

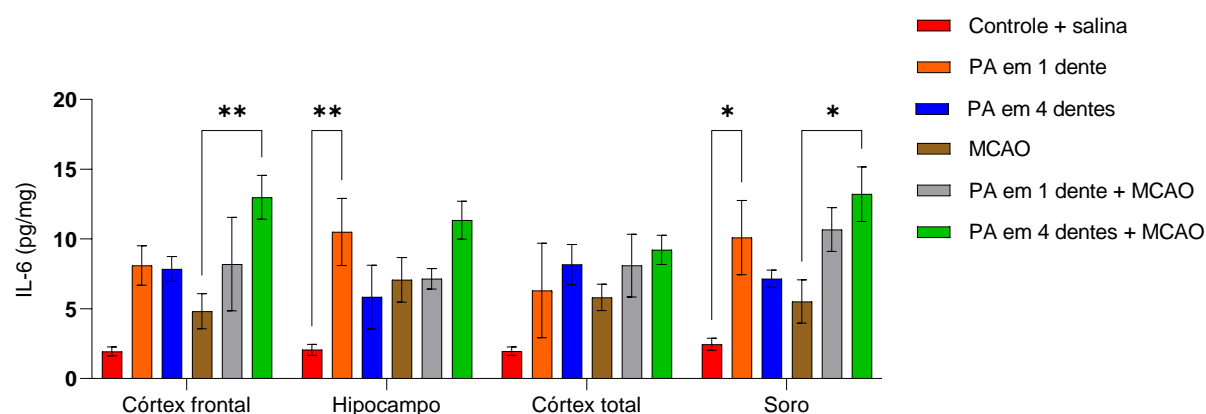


Figura 14: Dosagem de IL-6 em córtex frontal, hipocampo, córtex total e soro após 32 dias da indução experimental. Os dados foram relatados como média \pm EPM, de 5 animais por grupo e as comparações utilizando teste ANOVA de 2 vias. Os símbolos * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ indicam diferença estatisticamente significativa quando comparado entre os grupos. Fonte: Do Autor, 2025.

A análise de concentrações de IL-10 (figura 15) constatou uma diferença estatística somente em córtex frontal, onde o grupo PA em 1 dente foi expressivamente mais elevado quando comparado ao grupo controle + salina.

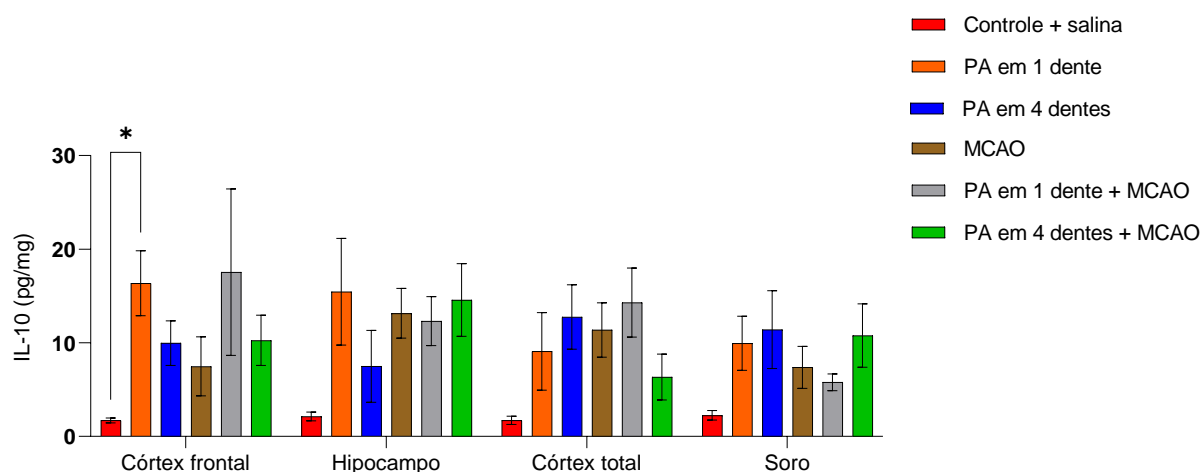


Figura 15: Dosagem de IL-10 em córtex frontal, hipocampo, córtex total e soro após 32 dias da indução experimental. Os dados foram relatados como média \pm EPM, de 5 animais por grupo e as comparações utilizando teste ANOVA de 2 vias. Os símbolos * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ indicam diferença estatisticamente significativa quando comparado entre os grupos. Fonte: Do Autor, 2025.

4.4 VOLUME DO INFARTO CEREBRAL

Ao avaliar o volume de infarto (figura 16), foi constatado um aumento significativamente estatístico no grupo MCAO quando comparado ao grupo PA em 1 dente, PA em 4 dentes e ao grupo controle + salina. Também houve aumento no grupo PA em 4 dentes + MCAO quando comparado ao grupo PA em 4 dentes.

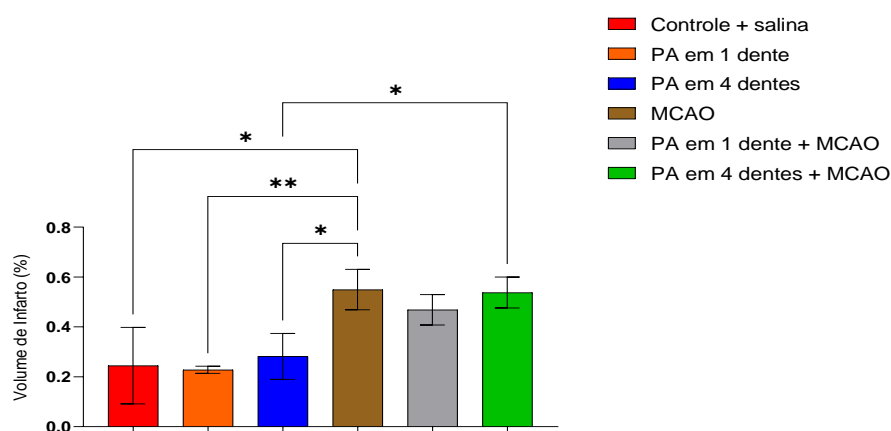


Figura 16: Volume de infarto cerebral após 32 dias da indução experimental. Os dados são apresentados como média \pm desvio padrão e foram analisados por ANOVA de uma via seguida pelo teste post hoc de Tukey. * $p < 0.05$, Fonte: Do autor, 2025.

5 DISCUSSÃO

Os dentes podem sofrer injúrias como cárie dental, traumas e doenças periodontais ao longo da vida de um indivíduo (Velázquez-Moreno et al., 2023). Quando não tratadas, estas injúrias acarretam perda do elemento dental, favorecendo a invasão sistêmica de patógenos presentes na cavidade oral através de canais radiculares por diferentes vias (Dioguardi et al., 2019).

Uma infecção endodôntica pode ocasionar um processo inflamatório crônico levando a destruição de estruturas ósseas do periodonto devido à interação entre fatores microbianos e a resposta imune do hospedeiro que culminam em PA (Conti et al., 2020). A PA consiste em uma lesão inflamatória de tecidos perirradiculares que surge principalmente devido à saída de bactérias e toxinas de uma polpa inflamada ou necrótica pelo forame apical, levando à destruição do ligamento periodontal e do osso alveolar (Naruse et al., 2021).

A gravidade da PA (aguda e/ou crônica) varia de acordo com a virulência do biofilme (Ricucci, Siqueira 2010, Felipe Pereira et al., 2021), definido como colônias de microrganismos, nos quais as bactérias estão inseridas em uma matriz de SPE aderidas umas às outras e/ ou a uma superfície, criando um microambiente que disponibiliza uma variedade de nutrientes para estas bactérias. Esta matriz SPE, não apenas fornece suporte para que as células possam aderir-se, mas também cria um microambiente onde existe a disponibilidade de vários nutrientes para estas bactérias (Jiao et al., 2019, Karygianni et al., 2020). A cronificação dos casos de PA depende da capacidade virulenta dos patógenos, sendo os casos mais agudos decorrentes de microrganismos mais virulentos e casos crônicos de bactérias com menor virulência (Ferreira et al., 2024).

Na cavidade oral foram identificados uma grande quantidade de microrganismos sendo que 400 espécies diferentes foram catalogadas em amostras diferentes de PA (Siqueira et al., 2010). Além disso, uma infecção local, decorrente da PA, demonstrou uma correlação positiva para o risco de doenças sistêmicas como doenças hereditárias como o diabetes e doenças cardiovasculares (Sánchez-Domínguez et al., 2015, Conti et al., 2020).

De modo geral, a saúde de um indivíduo pode ser influenciada de maneira significativa pela condição bucal e dentária que apresenta, inclusive, tem-se

associado uma saúde bucal precária ao risco aumentado de acidente vascular cerebral, uma doença multifatorial caracterizada pela redução do suporte sanguíneo para regiões do cérebro de maneira abrupta, causando lesões celulares e teciduais que estão associadas as principais causas de incapacidade e mortalidade na população mundial adulta (Shahi et al., 2022).

Em estudos utilizando modelos animais a avaliação dos déficits neurológicos tem grande importância para compreender a evolução prognóstica em curto e longo prazo (Bieber et al., 2019). A avaliação clínica de lesões neurológicas utiliza uma ferramenta qualitativa como auxiliar para avaliar déficit neurológico, esta abordagem mostra-se útil para auxiliar a tomada de decisões clínicas de maneira individual para cada paciente (Edwards et al., 1995). Tal ferramenta pode além de auxiliar a tomada de decisões clínicas, ajudar na previsão prognóstica evolutiva do paciente (Adams 1999). Neste estudo análises a curto prazo foram realizadas nos animais em experimentação em 1 hora, 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a indução para temperatura corporal, peso e escore neurológico. O peso teve uma maior variação com uma queda drástica em 24 horas, enquanto a temperatura sofreu pequenas oscilações com exceção do grupo controle + salina que em 96 horas apresentou uma diminuição, e no grupo PA em 4 dentes que apresentou em 96 hora uma elevação. Quanto ao score neurológico o grupo PA em 4 dentes + MCAO foi o que apresentou maior escore seguido do grupo MCAO se aproximando a 6 em ambos, demonstrando o impacto neurológico e cognitivo agudo que lesões periapicais associadas a MCAO podem ocasionar.

Também foram avaliados parâmetros comportamentais verificando-se uma diferença significativa no número de cruzamentos e levantamentos no grupo controle + salina e somente levantamento no grupo PA em 1 dente. Nos demais grupos não foram observadas diferenças entre as sessões treino e teste em cruzamentos e levantamentos. Esses resultados corroboram com um estudo que associou meningite bacteriana e PA sendo verificado inexistência de diferenças no número de cruzamentos e movimentos de elevação entre sessão de treinamento e teste nos grupos de meningite e lesão periapical, demonstrando comprometimento da memória de habituação (Barichello et al., 2015).

Outro teste comportamental utilizado foi de reconhecimento de novos objetos, verificando-se diferença significativa somente no grupo controle. Os demais grupos não apresentaram diferenças entre sessões teste e treino, demonstrando

mesmo tempo de exploração ao novo objeto e indicando uma redução na memória de longo prazo dos animais. A utilização deste teste comportamental no modelo de PA apresenta limitações na literatura, sendo este um dos poucos estudos que o utilizaram. A utilização desse teste comportamental para avaliação de memória possui boa receptividade uma vez que não requer reforço ou punição para motivar o comportamento e não requer treinamento prolongado antes de poder ser realizado, evitando o estresse do animal e, portanto, sem alterações dos resultados (Wooden et al., 2021).

Patógenos periodontais desencadeiam aumento cerebral de mediadores inflamatórios, através de suas toxinas, acarretando respostas neuroinflamatórias. Esse processo pode induzir a ativação microglial e desencadear respostas inflamatórias periféricas locais ou sistêmicas, com produção de mediadores inflamatórios (como IL-1 β e TNF- α), capazes de adentrar barreira hematoencefálica através da circulação sistêmica e iniciar a neuroinflamação (Hao, Li, Li et al. 2022, Wang, Huang, Chan et al. 2023). Infecções agudas, incluindo infecções orais, podem desencadear uma resposta inflamatória sistêmica devido a produção de mediadores inflamatórios decorrente do avanço bacteriano e invasão de outros tecidos, possibilitando um aumento no risco de desenvolvimento de AVC (Fagundes et al., 2019). Estudos realizados com modelos animais de PA verificaram um aumento do processo inflamatório no hipocampo de camundongos e ratos infectados por via oral com *Porphyromonas gingivalis* concomitante com níveis elevados de TNF- α , IL-1 β e IL-6 (Wu, Ni, Liu et al. 2017, Dominy, Lynch, Ermini et al. 2019).

Ao observar os dados obtidos nas análises de TNF- α , embora estatisticamente diferenças significativas tenham sido constatadas entre as comparações dos diversos grupos experimentais, nota-se um aumento acentuado na dosagem das amostras do grupo PA em 4 dentes + MCAO quando comparado aos demais grupos em amostras de córtex frontal, hipocampo, córtex total e soro. Um estudo de coorte avaliou 61 indivíduos com periodontite, e verificou maiores índices de TNF- α nos indivíduos com periodontite crônica, indicando um estado pró-inflamatório sistêmico quando comparada aos indivíduos controle (Passoja et al., 2010). Embora nos últimos anos o TNF- α tenha emergido como um potencial marcador em AVC devido seu papel na fisiopatologia da doença (Xue et al., 2022), de maneira controversa, estudos clínicos não foram capazes de apontar citocinas como TNF- α como preditores confiáveis de resultados funcionais em pacientes com

AVC menos grave (Rezaeitalab et al., 2020), também não puderam apontar esta citocina de maneira associada ao desfecho funcional global após AVC agudo (Flores-Cantú et al., 2016). Deste modo, o papel e os mecanismos que o TNF- α desempenha na fisiopatologia do AVC precisam de uma compreensão melhor (Rezaeitalab et al., 2020), demonstrando que a pesquisa pré-clínica pode ser uma aliada, visto seu amplo potencial de esclarecimento antes da tradução para ensaios clínicos (Huang et al., 2020), como o caso dos resultados do presente estudo, que podem trazer esclarecimento quanto a associação de lesões orais e AVC para o prognóstico após um AVC.

Adicionalmente, as análises de IL-1 β , trouxeram dados relevantes ao comparar os diferentes grupos experimentais. Estudos demonstram que a IL-1 β está relacionada diretamente à progressão da PA (Fróes et al., 2020). Esta citocina, também demonstra ser um potencial biomarcador para o prognóstico de AVC (Catană et al., 2023). No presente estudo, um dado destacável para análise desta citocina, além da expressão exacerbada no grupo PA em 4 dentes + MCAO em relação aos demais grupos, é a comparação estatisticamente relevante entre o grupo PA em 4 dentes + MCAO e o grupo onde os animais foram submetidos somente a PA em 4 dentes, principalmente quando avaliado no hipocampo, demonstrando que a associação com MCAO pode exacerbar a resposta inflamatória. Sabe-se que no SNC a micróglia é uma célula imune responsável por secretar mediadores pró-inflamatórios como resposta a uma injúria, e que a produção excessiva destes pode acelerar danos neuronais que estão associados ao declínio cognitivo (Mekhora et al., 2024).

Marcadores inflamatórios estão relacionados a doença sistêmicas, embora, na periodontite a IL-6, TNF- α e proteína C reativa estejam presentes (Fagundes et al., 2019). Inclusive, a IL-6 pode ser apontada como um biomarcador de periodontite e um indicador de aumento do risco de AVC, sugerindo um possível agravamento do processo fisiopatológico deste importante DCV (Gani et al., 2012, Esenwa, Elkind 2016). No presente estudo, um acompanhamento de 32 dias foi realizado, e diferentes estruturas cerebrais e adicionalmente o soro dos animais submetidos a experimentação para quantificação citocinas. Em soro, dosagens significativamente aumentadas de IL-6 foram observadas no grupo que foi submetido a uma lesão periapical quando comparado ao grupo controle. Observou-se ainda que o grupo com maior número de lesões associado ao MCAO (grupo PA em 4

dentes + MCAO) apresentou níveis aumentados de maneira estatisticamente significativa quando comparado ao grupo que foi submetido somente ao modelo experimental de MCAO. No córtex frontal, um resultado semelhante foi observado nos animais do grupo PA em 4 dentes + MCAO quando comparado aos animais submetidos somente ao MCAO, corroborando com indícios de que uma infecção oral pode potencializar e/ou desencadear uma resposta inflamatória sistêmica.

Recentemente, um estudo demonstrou que IL-10 desempenha um papel fundamental na restrição da sinalização prejudicial da IL-17A no AVC, e que camundongo com déficits de IL-10 apresentam um aumento no volume de infarto e atrofia cerebral, impactando diretamente no resultado neurológico (Piepke et al., 2021). Outro estudo apontou que os níveis mais baixos de IL-10 estão associados ao acometimento de depressão pós-AVC (Chi et al., 2021). Além disso, sabe-se que a IL-10 impacta positivamente nas doenças periodontais. Um estudo transversal avaliou 60 indivíduos com periodontite e identificou que estes apresentavam níveis mais alto de IL-10 (Cebesoy et al., 2024). Deste modo, níveis altos de IL-10 diminuem a síntese de TNF- α , IL-1 e IL-6 (Berniyanti et al., 2024).

No estudo presente, em contrapartida, ao avaliar a IL-10, uma citocina anti-inflamatória, foi possível observar que em córtex frontal foi mais expressiva e com significância estatística no grupo PA em 1 dente quando comparado ao grupo controle. Nas demais estruturas não houve dados estatisticamente relevantes, embora no córtex total sua expressão tenha sido drasticamente atenuada no grupo PA em 4 dentes + MCAO em comparação aos demais grupos, exceto ao grupo controle + salina.

Outro parâmetro relevante para avaliação conjunta do estado neurológico do animal submetido a experimentação é o volume de infarto (Adams 1999). Sabe-se do benefício da correlação de resultados do teste neurológico com o volume de infarto em animais com AVCs para prever a gravidade da lesão. Um estudo demonstrou que os escores neurológicos estavam significativamente associados ao volume de infarto subjacente (Bieber et al., 2019). Nesta investigação presente, foi avaliado o volume de área infartada no cérebro dos animais submetidos a experimentação. Nesta análise o grupo que apresentou maior volume de infarto foi o MCAO, seguido pelo grupo PA em 4 dentes + MCAO. Tal fato, em associações com os achados complementares desta experimentação demonstram que um maior número de lesões dentárias associado a MCAO acarreta aumento de mediadores

inflamatórios e um volume de infarto maior, que podem estar correlacionados a um escore neurológico maior e conseqüentemente déficits neurológicos e cognitivos.

5. CONCLUSÃO

Neste estudo foi possível observar que um maior número de lesões dentárias associado a MCAO acarreta aumento de mediadores pró-inflamatórios e redução de mediadores anti-inflamatórios, e que estes podem estar intimamente relacionados a um volume de infarto maior, bem como aumento de escore neurológico, piora no índice de estudos comportamentais, demonstrando o impacto neurológico e cognitivo. Os achados encontrados no presente trabalho auxiliam na compreensão da fisiopatologia da PA e do AVC, bem como o que a associação entre ambos pode acarretar. Tais dados podem fornecer novos insights para pesquisas futuras.

REFERÊNCIAS

Adams, J., 3rd. "Impact of troponins on the evaluation and treatment of patients with acute coronary syndromes." **Curr Opin Cardiol** 14(4): 310-313. 1999.

Armada-Moreira, A., *et al.* "Going the Extra (Synaptic) Mile: Excitotoxicity as the Road Toward Neurodegenerative Diseases." **Front Cell Neurosci** 14: 90. 2020.

Azuma, M. M., *et al.* "Omega-3 Fatty Acids Alter Systemic Inflammatory Mediators Caused by Apical Periodontitis." **J Endod** 47(2): 272-277. 2021.

Barichello, T., *et al.* "Association between Experimental Bacterial Meningitis and Periapical Lesion." **J Clin Diagn Res** 9(5): Df01-03. 2015.

Belov Kirdajova, D., *et al.* "Ischemia-Triggered Glutamate Excitotoxicity From the Perspective of Glial Cells." **Front Cell Neurosci** 14: 51. 2020.

Berniyanti, T., *et al.* "Duration and frequency of betel quid chewing affects periodontitis severity and life quality of people in Tanini Village, Kupang, Indonesia." **Int J Dent Hyg** 22(1): 229-235. 2024.

Bieber, M., *et al.* "Validity and Reliability of Neurological Scores in Mice Exposed to Middle Cerebral Artery Occlusion." **Stroke** 50(10): 2875-2882. 2019.

Campbell, B. C. V., *et al.* "Ischaemic stroke." **Nat Rev Dis Primers** 5(1): 70. 2019.

Caplan, D. J., *et al.* "The relationship between self-reported history of endodontic therapy and coronary heart disease in the Atherosclerosis Risk in Communities Study." **J Am Dent Assoc** 140(8): 1004-1012. 2009.

Catană, M. G., *et al.* "IL-1 Beta-A Biomarker for Ischemic Stroke Prognosis and Atherosclerotic Lesions of the Internal Carotid Artery." **Medicina (Kaunas)** 59(10). 2023.

Cebesoy, E. I., *et al.* "Associations between interleukin-10, -12, and -18 and periodontal health and disease: a cross-sectional study." **Clin Oral Investig** 28(8): 458. 2024.

Chalet, L., *et al.* "Clinical Imaging of the Penumbra in Ischemic Stroke: From the Concept to the Era of Mechanical Thrombectomy." **Front Cardiovasc Med** 9: 861913. 2022.

Chen, C., *et al.* "Oral microbiota of periodontal health and disease and their changes after nonsurgical periodontal therapy." **Isme j** 12(5): 1210-1224. 2018.

Chi, C. H., *et al.* "Interleukin-10 level is associated with post-stroke depression in acute ischaemic stroke patients." **J Affect Disord** 293: 254-260. 2021.

Cintra, L. T. A., *et al.* "Endodontic medicine: interrelationships among apical periodontitis, systemic disorders, and tissue responses of dental materials." **Braz Oral Res** 32(suppl 1): e68. 2018.

Cintra, L. T. A., *et al.* "Evolution of endodontic medicine: a critical narrative review of the interrelationship between endodontics and systemic pathological conditions." **Odontology** 109(4): 741-769. 2021.

Conti, L. C., *et al.* "Relationship between apical periodontitis and atherosclerosis in rats: lipid profile and histological study." **Int Endod J** 53(10): 1387-1397. 2020.

Debelian, G. J.;I. Olsen and L. Tronstad. "Bacteremia in conjunction with endodontic therapy." **Endod Dent Traumatol** 11(3): 142-149. 1995.

Dioguardi, M., *et al.* "Inspection of the Microbiota in Endodontic Lesions." **Dent J (Basel)** 7(2). 2019.

Edwards, D. F.;Y. W. Chen and M. N. Diringer. "Unified Neurological Stroke Scale is valid in ischemic and hemorrhagic stroke." **Stroke** 26(10): 1852-1858. 1995.

Esenwa, C. C. and M. S. Elkind. "Inflammatory risk factors, biomarkers and associated therapy in ischaemic stroke." **Nat Rev Neurol** 12(10): 594-604. 2016.

Fagundes, N. C. F., *et al.* "Periodontitis As A Risk Factor For Stroke: A Systematic Review And Meta-Analysis." **Vascular Health and Risk Management** 15(null): 519-532. 2019.

Feigin, V. L., *et al.* "World Stroke Organization (WSO): Global Stroke Fact Sheet 2022." **Int J Stroke** 17(1): 18-29. 2022.

Felipe Pereira, R., *et al.* "Apical periodontitis promotes insulin resistance and alters adaptive immunity markers in rats." **Saudi Dent J** 33(8): 979-986. 2021.

Ferreira, R. O., *et al.* "Physical training attenuates systemic cytokine response and tissue damage triggered by apical periodontitis." **Sci Rep** 14(1): 8030. 2024.

Flores-Cantú, H., *et al.* "Tumor Necrosis Factor alpha, prognosis and stroke subtype etiology." **Medicina Universitaria** 18(73): 194-200. 2016.

Fróes, A., *et al.* "The role of interleukin-1 beta in the pathophysiology of periodontal disease: a literature review." 9(7): 1-14. 2020.

Galkin, A. "Brain Ischemia/Reperfusion Injury and Mitochondrial Complex I Damage." **Biochemistry (Mosc)** 84(11): 1411-1423. 2019.

Galler, K. M., *et al.* "Inflammatory Response Mechanisms of the Dentine-Pulp Complex and the Periapical Tissues." **Int J Mol Sci** 22(3). 2021.

Galluzzi, L., *et al.* "Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018." **Cell Death Differ** 25(3): 486-541. 2018.

Gani, D. K., *et al.* "Estimation of the levels of C-reactive protein, interleukin-6, total leukocyte count, and differential count in peripheral blood smear of patients with chronic periodontitis in a South Indian population." **West Indian Med J** 61(8): 826-831. 2012.

Georgiou, A. C., *et al.* "Apical Periodontitis Is Associated with Elevated Concentrations of Inflammatory Mediators in Peripheral Blood: A Systematic Review and Meta-analysis." **J Endod** 45(11): 1279-1295.e1273. 2019.

Georgiou, A. C., *et al.* "Modelling of the Systemic Inflammatory Host Response in Relation to the Microbiome of the Endodontic Infection." **Int Endod J**. 2025.

Huang, W., *et al.* "General Principles of Preclinical Study Design." **Handb Exp Pharmacol** 257: 55-69. 2020.

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." **J Endod** 46(10): 1371-1386.e1378. 2020.

Jiao, Y., *et al.* "Advancing antimicrobial strategies for managing oral biofilm infections." **Int J Oral Sci** 11(3): 28. 2019.

Joshipura, K. J., *et al.* "Pulpal inflammation and incidence of coronary heart disease." **J Endod** 32(2): 99-103. 2006.

Karygianni, L., *et al.* "Biofilm Matrixome: Extracellular Components in Structured Microbial Communities." **Trends Microbiol** 28(8): 668-681. 2020.

Kramer, M., *et al.* "TTC staining of damaged brain areas after MCA occlusion in the rat does not constrict quantitative gene and protein analyses." **J Neurosci Methods** 187(1): 84-89. 2010.

Lee, N. T., *et al.* "Characterization of a novel model of global forebrain ischaemia-reperfusion injury in mice and comparison with focal ischaemic and haemorrhagic stroke." **Sci Rep** 10(1): 18170. 2020.

Libby, P., *et al.* "Atherosclerosis." **Nat Rev Dis Primers** 5(1): 56. 2019.

Liljestrand, J. M., *et al.* "Association between dental factors and mortality." **Int Endod J** 54(5): 672-681. 2021.

Mai, X. and X. Liang. "Risk Factors for Stroke Based on the National Health and Nutrition Examination Survey." **J Nutr Health Aging** 24(7): 791-795. 2020.

Marchi, S., *et al.* "Mitochondrial and endoplasmic reticulum calcium homeostasis and cell death." **Cell Calcium** 69: 62-72. 2018.

Mekhora, C.;D. J. Lamport and J. P. E. Spencer. "An overview of the relationship between inflammation and cognitive function in humans, molecular pathways and the impact of nutraceuticals." **Neurochem Int** 181: 105900. 2024.

Minassian, C., *et al.* "Invasive dental treatment and risk for vascular events: a self-controlled case series." **Ann Intern Med** 153(8): 499-506. 2010.

Naruse, H., *et al.* "The Wnt/ β -catenin signaling pathway has a healing ability for periapical periodontitis." **Sci Rep** 11(1): 19673. 2021.

Passoja, A., *et al.* "Serum levels of interleukin-10 and tumour necrosis factor- α in chronic periodontitis." **J Clin Periodontol** 37(10): 881-887. 2010.

Piepkke, M., *et al.* "Interleukin-10 improves stroke outcome by controlling the detrimental Interleukin-17A response." **J Neuroinflammation** 18(1): 265. 2021.

Pietrogrande, G., *et al.* "Low oxygen post conditioning prevents thalamic secondary neuronal loss caused by excitotoxicity after cortical stroke." **Sci Rep** 9(1): 4841. 2019.

Qin, C., *et al.* "Signaling pathways involved in ischemic stroke: molecular mechanisms and therapeutic interventions." **Signal Transduct Target Ther** 7(1): 215. 2022.

Rezaeitalab, F., *et al.* "Predictive value of inflammatory markers for functional outcomes in patients with ischemic stroke." **Curr J Neurol** 19(2): 47-52. 2020.

Ricucci, D. and J. F. Siqueira, Jr. "Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings." **J Endod** 36(8): 1277-1288. 2010.

Ricucci, D., *et al.* "Bacterial Invasion of Pulp Blood Vessels in Teeth with Symptomatic Irreversible Pulpitis." **J Endod** 47(12): 1854-1864. 2021.

Rodrigues, C. T., *et al.* "Antibacterial properties of silver nanoparticles as a root canal irrigant against *Enterococcus faecalis* biofilm and infected dentinal tubules." **Int Endod J** 51(8): 901-911. 2018.

Rousselet, E.;J. Kriz and N. G. Seidah. "Mouse model of intraluminal MCAO: cerebral infarct evaluation by cresyl violet staining." **J Vis Exp** 6(69). 2012.

Salaudeen, M. A.;S. Allan and E. Pinteaux. "Hypoxia and interleukin-1-primed mesenchymal stem/stromal cells as novel therapy for stroke." **Hum Cell** 37(1): 154-166. 2024.

Sánchez-Domínguez, B., *et al.* "Glycated hemoglobin levels and prevalence of apical periodontitis in type 2 diabetic patients." **J Endod** 41(5): 601-606. 2015.

Sánchez Aleman, J. A.;D. I. Jiménez Prieto and C. C. García Guerrero. "Post-treatment Apical Periodontitis in Primary Non-surgical Root Canal Treatment: A Multiple Correspondence Analysis." **Iran Endod J** 18(4): 233-240. 2023.

Shahi, S., *et al.* "The Link between Stroke Risk and Oro dental Status—A Comprehensive Review." 11(19): 5854. 2022.

Sifat, A. E., *et al.* "Brain Energy Metabolism in Ischemic Stroke: Effects of Smoking and Diabetes." 23(15): 8512. 2022.

Siqueira, J. F., Jr. and I. N. Rôças. "Diversity of endodontic microbiota revisited." **J Dent Res** 88(11): 969-981. 2009.

Siqueira, J. F.;I. N. Rôças and D. J. E. T. Ricucci. "Biofilms in endodontic infection." 22(1): 33-49. 2010.

Sorokin, V., *et al.* "Role of Vascular Smooth Muscle Cell Plasticity and Interactions in Vessel Wall Inflammation." **Front Immunol** 11: 599415. 2020.

Tennert, C., *et al.* "New bacterial composition in primary and persistent/secondary endodontic infections with respect to clinical and radiographic findings." **J Endod** 40(5): 670-677. 2014.

Tibúrcio-Machado, C. S., *et al.* "The global prevalence of apical periodontitis: a systematic review and meta-analysis." **Int Endod J** 54(5): 712-735. 2021.

Tsao, C. W., *et al.* "Heart Disease and Stroke Statistics-2022 Update: A Report From the American Heart Association." **Circulation** 145(8): e153-e639. 2022.

Velázquez-Moreno, S., *et al.* "Use of a Cellulase from *Trichoderma reesei* as an Adjuvant for *Enterococcus faecalis* Biofilm Disruption in Combination with Antibiotics as an Alternative Treatment in Secondary Endodontic Infection." **Pharmaceutics** 15(3). 2023.

Vergallo, R., *et al.* "Vulnerable or High-Risk Plaque: A JACC: Cardiovascular Imaging Position Statement." **JACC Cardiovasc Imaging** 18(6): 709-740. 2025.

Vianna, M. R., *et al.* "Role of hippocampal signaling pathways in long-term memory formation of a nonassociative learning task in the rat." **Learn Mem** 7(5): 333-340. 2000.

Wooden, J. I., *et al.* "A Sensitive Homecage-Based Novel Object Recognition Task for Rodents." **Front Behav Neurosci** 15: 680042. 2021.

Wu, Q. J. and M. Tymianski. "Targeting NMDA receptors in stroke: new hope in neuroprotection." **Mol Brain** 11(1): 15. 2018.

Xue, Y., *et al.* "Tumor Necrosis Factor- α : The Next Marker of Stroke." **Dis Markers** 2022: 2395269. 2022.

Zahran, S., *et al.* "Characterization of Root Canal Microbiota in Teeth Diagnosed with Irreversible Pulpitis." **J Endod** 47(3): 415-423. 2021.

Zhao, Y., *et al.* "Characterization and regulation of osteoclast precursors following chronic Porphyromonas gingivalis infection." **J Leukoc Biol** 108(4): 1037-1050. 2020.

Zheng, J., *et al.* "Microbiome of Deep Dentinal Caries from Reversible Pulpitis to Irreversible Pulpitis." **J Endod** 45(3): 302-309.e301. 2019.

ANEXOS

Anexo A- Certificado de aprovação CEUA



Universidade do Extremo Sul Catarinense
Comissão de Ética no Uso de Animais



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto abaixo especificado, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA da Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC, em reunião de **19/04/2022**.

Título do projeto	Avaliação da neuroinflamação e de parâmetros comportamentais em modelo de lesão periapical com Porphyromonas gingivalis e Enterococcus faecium em rato Wistar adultos.
Project title	Evaluation of neuroinflammation and behavioral parameters in a periapical lesion model with Porphyromonas gingivalis and Enterococcus faecium in adult Wistar rats.
Número do protocolo Protocol number	45/2021
Pesquisador principal Principal Investigator	Tatiana Barichello
Pesquisadores Researchers	Jaqueline da Silva Generoso, Allan Minatto Collodel, Karina Marcon, Soraia Netto, Daiane Soethe Coan, Atilio Silvestre Negro, Patricia Mendes Viana, Rafael da Silva de Moura, Samuel Brasil Stonoga, Elisa Tassi Mondardo, Renan Antonio Ceretta.
Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	20/04/2022 a 19/04/2023
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico/Wistar
Idade/Peso	60 dias / 250-300g
Número de animais	107 / masculino
Procedência	Biotério UNESC

The Ethics Committee on Animal Use on Research, sanctioned by the resolution number 03/2017/Câmara Propex, in accordance with federal law number 11.794/08, has analyzed the Project that was Approved in its ethical and methodological aspects. Any alteration of the original version of this project must be previously submitted to the Committee for further analyzes. May you have further questions, please contact us by e-mail ceua@unesc.net.

Josiane Budni
Josiane Budni

Coordenadora da CEUA

Criciúma-SC, 19 de abril de 2022

Anexo B- Certificado de aprovação CEUA



Universidade do Extremo Sul Catarinense
Comissão de Ética no Uso de Animais



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto abaixo especificado, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA da Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC, em reunião de **14/06/2022**.

Título do projeto	Avaliação da neuroinflamação e de parâmetros comportamentais em modelo de lesão periapical com <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> e <i>Streptococcus mutans</i> em ratos Wistar adultos machos e fêmeas.
Project title	Evaluation of neuroinflammation and behavioral parameters in a periapical lesion model with <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> and <i>Streptococcus mutans</i> in adult male and female Wistar rats.
Número do protocolo Protocol number	37/2022
Pesquisador principal Principal Investigator	Tatiana Barichello
Pesquisadores Researchers	Jaqueline da Silva Generoso, Karina Marcon, Soraia Netto, Elisa Tassi Mondardo, Renan Antonio Ceretta, Diogo Dominguni, Daniel Paulo Bortoluzzi.
Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	15/06/2022 a 15/06/2023
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico / Wistar
Idade/Peso	60 dias / 250 – 300g
Número de animais	Feminino 324 e Masculino 162 = 486
Procedência	Biotério UNESC

The Ethics Committee on Animal Use on Research, sanctioned by the resolution number 03/2017/Câmara Propex, in accordance with federal law number 11.794/08, has analyzed the Project that was Approved in its ethical and methodological aspects. Any alteration of the original version of this project must be previously submitted to the Committee for further analyzes. May you have further questions, please contact us by e-mail ceua@unesc.net.

Josiane Budni

Coordenadora da CEUA

Criciúma-SC, 14 de junho de 2022