



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CAMPUS DE SOBRAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA

MARCUS VINÍCIUS MARTINS FARIAS JÚNIOR

**MODULAÇÃO DA PERIODONTITE POR UM TRITERPENOS SEMISSINTÉTICO
(CL-P2) E SUAS CONSEQUÊNCIAS PARA A FOLICULOGÊNESE OVARIANA
EM CAMUNDONGOS**

SOBRAL

2026

MARCUS VINÍCIUS MARTINS FARIAS JÚNIOR

**MODULAÇÃO DA PERIODONTITE POR UM TRITERPENO SEMISSINTÉTICO
(CL-P2) E SUAS CONSEQUÊNCIAS PARA A FOLICULOGÊNESE OVARIANA EM
CAMUNDONGOS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia. Linha de Pesquisa: Análises Integrativas de Sistemas Biológicos. Setor de estudos: Fisiologia Reprodutiva.

Orientador: Prof. Dr. Anderson Weiny Barbalho Silva

Coorientadora: Profa. Dra. Mirna Marques Bezerra Brayner

SOBRAL

2026

MARCUS VINÍCIUS MARTINS FARIAS JÚNIOR

**MODULAÇÃO DA PERIODONTITE POR UM TRITERPENO SEMISSINTÉTICO
(CL-P2) E SUAS CONSEQUÊNCIAS PARA A FOLICULOGÊNESE OVARIANA EM
CAMUNDONGOS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia. Linha de Pesquisa: Análises Integrativas de Sistemas Biológicos. Setor de estudos: Fisiologia Reprodutiva.

Aprovada em: 22/05/2026

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Anderson Weiny Barbalho Silva (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC) – *Campus* de Sobral

Prof. Dr. José Roberto Viana Silva - Examinador Interno
Universidade Federal do Ceará (UFC) – *Campus* de Sobral

Prof. Dr. Ernando Igo Teixeira de Assis - Examinador Externo
Faculdade Luciano Feijão (FLF)

*Dedico este trabalho a todos que, direta ou indiretamente,
contribuíram para a sua realização. Esta vitória é nossa,
construída com esforço, resiliência e a certeza de que
nenhum caminho é trilhado sozinho.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por Sua infinita grandeza, por guiar meus passos e permitir que eu alcance este objetivo acadêmico em paz e com a plena sensação de dever cumprido.

À minha mãe, Maria Eliete Gonçalves Cruz, pelo amor incondicional e por jamais me abandonar. Obrigado por fazer dos meus sonhos os seus também e por me ensinar o valor da humildade, da lealdade e do respeito à nossa história. Sua força me ensinou que sempre é possível recomeçar e que lutar por aquilo em que acreditamos é o que dá sentido à vida.

Ao meu amor, Paulo Victor de Almeida Miguel, meu porto seguro em qualquer circunstância. Obrigado por me apoiar em cada mudança de rota, por acreditar nos meus sonhos mesmo quando eles se transformavam e por enxergar em mim um potencial que eu mesmo desconhecia.

Às minhas irmãs, Karla Kellen Gonçalves Sales e Sabrina Gonçalves Martins Farias, por todo o carinho e pelo vínculo inabalável que as palavras não conseguem mensurar. Vocês são fundamentais em minha vida.

À minha avó, Josefa Gonçalves Cruz, e à minha tia-avó, Maria Onélia Gonçalves, minhas segundas mães. Obrigado por terem sido meu alicerce e por ajudarem na minha criação com tanto zelo. Espero retribuir todo o amor e dedicação com que fui nutrido por vocês..

À professora Virgínia Régia Souza da Silveira, minha primeira orientadora de Monitoria e Iniciação Científica. Sou grato pela paciência e por ter despertado em mim o amor pela Periodontia. Sua orientação lapidou minha técnica e abriu as portas para este universo acadêmico.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Anderson Weiny Barbalho Silva, pela confiança ao me acolher como seu orientando. Obrigado por cada conselho, pelo apoio nos momentos de incerteza e por ser essa presença iluminada que fortalece a todos ao redor. Sou muito grato por todo o conhecimento compartilhado e toda a sua leveza durante todo esse processo. Levarei comigo seu ensinamento: *“Seja responsável por fortalecer pessoas”*.

À minha coorientadora, Profa. Dra. Mirna Marques Bezerra Brayner, pela valiosa disponibilidade e por compartilhar seu olhar científico apurado, essencial para o amadurecimento desta pesquisa.

Às professoras Dra. Alana Nogueira Godinho e Dra. Jordânia Marques de Oliveira Freire, pelos conhecimentos compartilhados e pela prontidão em ajudar. A contribuição de vocês foi peça-chave para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Ernando Igo Teixeira de Assis, por toda a paciência e cuidado durante a pesquisa e a todos os ensinamentos que não eram da minha área, mas você com toda paciência me orientou e me ajudou a seguir com a minha pesquisa.

Ao Prof. Dr. José Roberto Viana Silva e a todos os colegas do Laboratório de Biotecnologia e Fisiologia da Reprodução (LABIREP), pelo acolhimento e companheirismo. A paciência de vocês em me ensinar o novo foi muito importante para o meu crescimento, não apenas como pesquisador, mas como docente.

A todos os estudantes, IC's, mestrandos, doutorandos, técnicos e professores da UFC, obrigado por me permitirem viver mais um sonho na UFC, universidade que tanto admiro e que tenho tanto orgulho de fazer parte mais uma vez.

RESUMO

A fisiologia reprodutiva feminina depende da integridade dos mecanismos hormonais, celulares e teciduais que regulam a foliculogênese e a homeostase ovariana. Alterações inflamatórias sistêmicas e o aumento do estresse oxidativo podem comprometer esses processos, interferindo negativamente na maturação folicular e na qualidade reprodutiva. A periodontite é uma doença inflamatória crônica de alta prevalência que compromete os tecidos de suporte dental e atua como um foco sistêmico de mediadores pró-inflamatórios e estresse oxidativo. Essa inflamação pode interferir na homeostase ovariana, prejudicando a foliculogênese e a competência oocitária, comprometendo assim, a fertilidade feminina. Nesse contexto, compostos bioativos com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias têm sido investigados como alternativas terapêuticas promissoras. O triterpeno semissintético 3 β ,6 β ,16 β -tripropioniloxi-lup-20(29)-eno (CL-P2), derivado da espécie *Combretum leprosum*, destaca-se por seu potencial farmacológico. Este estudo teve como objetivo investigar os efeitos do CL-P2 incorporado em hidrogel sobre a foliculogênese em camundongos fêmeas da linhagem Swiss submetidas à periodontite experimental. Para esta investigação foram utilizados quarenta e oito animais (distribuídos aleatoriamente em quatro grupos experimentais): grupo Naive (sem manipulação; n=12), grupo Salina (periodontite tratada com solução salina; n=12), grupo CL-P2 1 mg (periodontite tratada com CL-P2 1 mg/kg; n=12) e grupo CL-P2 10 mg (periodontite tratada com CL-P2 10 mg/kg; n=12). A periodontite foi induzida por ligadura durante 14 dias, período em que os animais receberam uma dose duas vezes ao dia de solução salina ou CL-P2 (1 mg ou 10 mg). Após o período experimental, os animais foram submetidos a eutanásia, os ovários foram processados para classificação e avaliação do desenvolvimento folicular, integridade morfológica e densidade do estroma. Os dados foram analisados por ANOVA seguida do teste de Bonferroni ($p < 0,05$). Os achados sugerem que o CL-P2 demonstrou efeito modulador sobre a sobrevivência folicular, preservando a morfologia ovariana. O tratamento com 10 mg/kg reduziu a proporção de folículos primordiais e aumentou a densidade do estroma tecidual. Esses achados evidenciam um efeito dose-dependente do composto na modulação e proteção do microambiente ovariano sob insulto inflamatório. Os resultados apontam o CL-P2 como um candidato promissor para a modulação da função ovariana, especialmente em contextos associados à inflamação sistêmica como a periodontite.

Palavras chaves: Periodontite; foliculogênese; CL-P2; camundongos; perda óssea alveolar

ABSTRACT

Female reproductive physiology depends on the integrity of hormonal, cellular, and tissue mechanisms that regulate folliculogenesis and ovarian homeostasis. Systemic inflammatory changes and increased oxidative stress can compromise these processes, negatively interfering with follicular maturation and reproductive quality. Periodontitis is a chronic inflammatory disease of high prevalence that compromises dental support tissues and acts as a systemic focus of pro-inflammatory mediators and oxidative stress. This inflammation can interfere with ovarian homeostasis, impairing folliculogenesis and oocyte competence, thus compromising female fertility. In this context, bioactive compounds with antioxidant and anti-inflammatory properties have been investigated as promising therapeutic alternatives. The semisynthetic triterpene 3 β ,6 β ,16 β -tripropionyloxy-lup-20(29)-ene (CL-P2), derived from the species *Combretum leprosum*, stands out for its pharmacological potential. This study aimed to investigate the effects of CL-P2 incorporated into a hydrogel on folliculogenesis in female Swiss mice submitted to experimental periodontitis. For this investigation, forty-eight animals were used (randomly distributed into four experimental groups): Naive group (no manipulation; n=12), Saline group (periodontitis treated with saline solution; n=12), CL-P2 1 mg group (periodontitis treated with CL-P2 1 mg/kg; n=12), and CL-P2 10 mg group (periodontitis treated with CL-P2 10 mg/kg; n=12). Periodontitis was induced by ligature for 14 days, during which the animals received a twice-daily dose of saline solution or CL-P2 (1 mg or 10 mg). After the experimental period, the animals were euthanized, and the ovaries were processed for classification and evaluation of follicular development, morphological integrity, and stromal density. Data were analyzed by ANOVA followed by Bonferroni's test ($p < 0.05$). The findings suggest that CL-P2 demonstrated a modulatory effect on follicular survival, preserving ovarian morphology. Treatment with 10 mg/kg reduced the proportion of primordial follicles and increased tissue stromal density. These findings evidence a dose-dependent effect of the compound in modulating and protecting the ovarian microenvironment under inflammatory insult. The results point to CL-P2 as a promising candidate for the modulation of ovarian function, especially in contexts associated with systemic inflammation such as periodontitis.

Keywords: Periodontitis; folliculogenesis; CL-P2; mice; alveolar bone loss

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Representação esquemática da oogênese e da dinâmica da foliculogênese ovariana ao longo do desenvolvimento. Inicialmente, as células germinativas primordiais (CGPs) migram para a crista gonadal durante o período embrionário, onde ocorre intensa proliferação celular e entrada em meiose no ovário fetal. No período neonatal, os oócitos são circundados por células foliculares, formando os folículos primordiais que constituem a reserva ovariana. Durante a vida reprodutiva, os folículos passam progressivamente pelos estágios de folículo primário, secundário e antral, acompanhados pela diferenciação das células da granulosa e da teca, vascularização folicular e formação do complexo cúmulus-oócito. O desenvolvimento culmina com a formação do folículo pré-ovulatório e a ovulação do oócito maduro no ovário adulto..... **20**
- Figura 2.** Imagem representativa da estrutura básica de folículos ovarianos A) primordial, B) primário, C) secundário e D) antral..... **23**
- Figura 3.** Representação esquemática comparativa entre um periodonto saudável e um periodonto acometido por periodontite. Observa-se, no tecido saudável, integridade gengival e manutenção do nível ósseo alveolar. Em contraste, a periodontite caracteriza-se pelo acúmulo de placa bacteriana e cálculo dentário, formação de bolsa periodontal, inflamação gengival e reabsorção óssea, alterações associadas à resposta inflamatória crônica e à destruição progressiva dos tecidos de suporte dental..... **24**
- Figura 4.** Representação esquemática das interações entre o estresse e os eixos Hipotálamo-Hipófise-Adrenal (HHA) e Hipotálamo-Hipófise-Gonadal (HHG). O estímulo estressor promove ativação hipotalâmica com liberação de CRH, estimulando a hipófise anterior a secretar ACTH e, subsequentemente, induzindo a produção de cortisol pela glândula adrenal. O aumento dos níveis de cortisol exerce efeito inibitório sobre o eixo hipotálamo-hipófise-gonadal, reduzindo a liberação de GnRH, FSH e LH, além de modular negativamente a atividade da aromatase e a produção de estradiol. Essas alterações comprometem a resposta folicular ao LH, favorecendo disfunções na foliculogênese, alterações endócrinas ovarianas e aumento da apoptose celular no tecido ovariano..... **26**
- Figura 5.** Representação esquemática da via intrínseca da apoptose mediada pela mitocôndria. Sinais apoptóticos promovem a ativação de proteínas pró-apoptóticas da família BH3, levando à ativação de BAX e BAK e consequente permeabilização da membrana externa mitocondrial. Esse processo resulta na liberação de citocromo C e SMAC para o citoplasma. O citocromo C associa-se ao fator ativador da protease apoptótica-1 (APAF1), promovendo a formação do apoptossomo e a ativação da caspase-9. Subsequentemente, ocorre a ativação das caspases executoras 3, 6 e 7, culminando no apoptose celular. As proteínas antiapoptóticas BCL-2 e BCL-X, bem como a proteína inibidora de apoptose XIAP, atuam regulando negativamente diferentes **28**

etapas dessa cascata apoptótica.....

Figura 6. Imagens representativas da espécie *Combretum leprosum* Mart., evidenciando aspectos morfológicos da planta, incluindo hábito arbóreo, folhas, inflorescências e estruturas reprodutivas. Popularmente conhecida como mofumbo, a espécie pertence à família Combretaceae e apresenta ampla distribuição no bioma Caatinga, sendo descrita na literatura por seu potencial farmacológico associado a propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e cicatrizantes.....

LISTA DE FIGURAS ARTIGO 1:

- Figure 1** - Classification of periodontal microbial complexes adapted from Socransky et al. (1998), highlighting the bacterial distribution in chromatic complexes according to their correlation with periodontal health and periodontitis severity.....47
- Figure 2** - Illustrative scheme of the pathogenesis of periodontitis, showing the activation of the inflammatory response induced by the subgingival biofilm, the release of pro-inflammatory cytokines, and the mechanisms involved in alveolar bone resorption. Adapted from Machado et al. (2020).....49
- Figure 3** - Schematic representation of mitochondrial dysfunction resulting from ovarian energy collapse, culminating in the activation of the intrinsic apoptosis pathway, mediated by the release of cytochrome c and apoptosome formation. Adapted from Barbalho et al. (2024).....51

LISTA DE FIGURAS ARTIGO 2:

Figura 1 - Estrutura química do triterpeno semissintético CL-P2.....65

Figura 2 - Representação esquemática da indução de periodontite experimental em modelo murino por meio da colocação de ligadura ao redor dos molares. O procedimento favorece o acúmulo de biofilme bacteriano e desencadeia resposta inflamatória local, promovendo destruição progressiva dos tecidos periodontais, incluindo inflamação gengival, formação de bolsa periodontal e reabsorção óssea alveolar. Fonte: O autor.
.....67

Figura 3 - Fluxograma representativo das etapas de coleta, processamento e análise histológica dos ovários em modelo experimental murino. Inicialmente, realizou-se a identificação anatômica do órgão e a coleta dos ovários, seguida da fixação das amostras para preservação da arquitetura tecidual. Posteriormente, os tecidos foram submetidos ao processamento histológico, incluindo inclusão, microtomia e coloração, permitindo a fotodocumentação das lâminas histológicas e a posterior análise morfológica e interpretação dos dados relacionados à dinâmica folicular e ao estroma ovariano. Fonte: O autor.....68

Figura 4 - Representação esquemática da foliculogênese e dos principais estágios do desenvolvimento folicular ovariano. O processo inicia-se com os folículos primordiais, constituídos por oócitos circundados por células da granulosa pavimentosas, evoluindo para os estágios de folículo primário, secundário e terciário, caracterizados pela proliferação das células da granulosa, diferenciação das células da teca e formação da cavidade antral. Sob influência hormonal, especialmente do FSH e LH, ocorre o desenvolvimento do folículo pré-ovulatório, culminando na ovulação do oócito maduro. Fonte: Adaptado de Guerreiro et al., 2015.....69

Figura 5 - A imagem mostra a morfologia (A-H) e os percentuais de folículos morfológicamente normais (I) no grupo controle (NT - não tratado) e em amostras tratadas por 14 dias com CL-P2 (1 mg/kg ou 10 mg/kg). As imagens de histologia ilustram os folículos ovarianos avaliados como normais (A-D) ou degenerados (E-H), sendo primordiais (A-E), primários (B-F), secundários (C-G) e terciários (D-H). A escala de imagem utilizada é de 50 μ m. O gráfico demonstra o percentual de folículos normais e o total de folículos observados nos grupos NAIVE, NT, CL-P2 1 mg e CL-P2 10 mg, apresentando valores ajustados em escala percentual de 0 a 100%. N: núcleo

do oócito; O: oócito; GC: células da granulosa; AN: antro. Barra de escala = 50 μm . Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais ($p > 0,05$; ANOVA seguida do teste de Bonferroni).....72

Figura 6 - Incidência de folículos primordiais e folículos em desenvolvimento em ovários de camundongas tratadas com $3\beta,6\beta,16\beta$ -tripropioniloxi-lup-20(29)-eno (CL-P2). Observou-se redução significativa do percentual de folículos primordiais no grupo tratado com 10 mg de CL-P2 em comparação ao grupo controle ($p < 0,05$), sugerindo ativação da reserva folicular. Em contrapartida, os grupos tratados apresentaram aumento proporcional de folículos em desenvolvimento, sem diferenças estatisticamente significativas entre si ($p > 0,05$). Esses achados indicam que o CL-P2 favorece a dinâmica folicular sem evidências de comprometimento da integridade ovariana ou efeitos deletérios sobre a foliculogênese. Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão. Análise estatística realizada por ANOVA seguida do teste de Bonferroni. $p < 0,05$. Fonte: O autor.73

Figura 7. Densidade de células estromais ovarianas em camundongos fêmeas submetidas aos tratamentos experimentais com CL-P2. Os grupos NT e CL-P2 1 mg apresentaram redução significativa da densidade celular em comparação ao grupo NAIVE ($p < 0,05$). Em contraste, o grupo tratado com CL-P2 10 mg demonstrou aumento significativo da densidade de células estromais em relação aos grupos NT e CL-P2 1 mg ($p < 0,05$), sugerindo efeito modulador do composto sobre o estroma ovariano. Os dados estão expressos como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa entre os grupos (ANOVA seguida do teste de Bonferroni, $p < 0,05$). Fonte: O autor.74

Figura 8. Fotomicrografias representativas do estroma ovariano de camundongos fêmeas submetidas aos diferentes tratamentos experimentais: (A) grupo NAIVE; (B) grupo NT (periodontite experimental); (C) grupo tratado com CL-P2 na dose de 1 mg; e (D) grupo tratado com CL-P2 na dose de 10 mg. Observam-se diferenças na densidade celular estromal entre os grupos experimentais, com redução aparente da celularidade nos grupos NT e CL-P2 1 mg, enquanto o grupo tratado com CL-P2 10 mg apresentou maior organização e densidade celular do estroma ovariano. Cortes histológicos corados por hematoxilina e eosina (HE). Barra de escala = 50 μm . Fonte: O autor.....75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Evidências científicas sobre os efeitos da inflamação e estresse oxidativo na homeostase ovariana e desfechos reprodutivos.....	29
---	----

LISTA DE TABELAS ARTIGO 2:

Tabela 1 - Distribuição dos grupos experimentais.....	66
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH	Hormônio Adrenocorticotrófico
ALP	Fosfatase Alcalina
ALT	Enzima Alanina Aminotransferase
AOA	Acetato de Ácido Oleanólico
Apaf-1	Fator Ativador da Protease Apoptótica-1
AST	Enzima Aspartato Aminotransferase
AU	Ácido Ursólico
BMP	Proteína Morfogenética Óssea
CL-1	Triterpeno 3 β ,6 β ,16 β -triidroxilup-20(29)-eno
CLF-1	Fração Purificada de Triterpeno (Trihidroxilup-20(29)-eno)
CLPP	Protease Caseinolítica Mitocondrial P
CL-P2	Triterpeno Semissintético (3 β ,6 β ,16 β -tripropioniloxilup-20(29)-eno)
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação em Animais
CRH	Hormônio Liberador de Corticotrofina
DL50	Dose Letal Média
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
FAO	Fosfatase Alcalina Óssea
FOXO3	Fator de Transcrição Forkhead Box O3
FSH	Hormônio Folículo-Estimulante
GDF-9	Fator de Diferenciação de Crescimento 9
GnIH	Hormônio Inibidor de Gonadotrofinas
GnRH	Hormônio Liberador de Gonadotrofinas
H&E	Hematoxilina-Eosina
JCE	Junção Cimento-Esmalte
LH	Hormônio Luteinizante
MEC	Matriz extracelular
MMP	Metaloproteinases
OECD	Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico
OPG	Osteoprotegerina
OPN	Osteopontina
PE	Periodontite Experimental
CGPs	Células Germinativas Primordiais

PI3K	Via da Fosfatidilinositol 3-quinase
PTEN	Homólogo de Fosfatase e Tensina
RANKL	Ligante do Receptor Ativador do Fator Nuclear Kappa-B
RUNX2	Fator de Transcrição Relacionado ao Runt 2
SISGEN	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético
SOP	Síndrome do Ovário Policístico
TGF- β	Fator de Crescimento Transformador Beta
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
TSC-1	Complexo de Esclerose Tuberosa 1
UFC	Universidade Federal do Ceará
UPRmt	Resposta de Proteína Desdobrada Mitocondrial
VDAC	Canal Aniônico Dependente de Voltagem
ZP	Zona Pelúcida

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1	<i>Desenvolvimento embrionário e organização morfofuncional do ovário</i>	19
2.2	<i>Oogênese</i>	20
2.3	<i>Foliculogênese</i>	21
2.4	<i>Fisiopatologia da doença periodontal e sua relação com o fisiologia reprodutiva feminina</i>	24
2.5	<i>Modelos murinos como ferramenta experimental em estudos biomédicos</i>	30
2.6	<i>Avaliação do potencial bioativo de <i>Combretum leprosum</i> Mart. na pesquisa farmacológica</i>	31
2.7	<i>Aplicações farmacológicas dos triterpenos na modulação do metabolismo ósseo</i>	34
2.8	<i>Aplicação de hidrogéis na liberação controlada e direcionada de fármacos</i>	35
3	JUSTIFICATIVA	37
4	HIPÓTESES	39
5	OBJETIVOS	42
5.1	<i>Objetivo Geral</i>	40
5.2	<i>Objetivos Específicos</i>	40
6	ARTIGO 1 PATHOPHYSIOLOGICAL BASES OF THE RELATIONSHIP BETWEEN PERIODONTAL DISEASE AND FEMALE FERTILITY	42
7	ARTIGO 2 THE INFLUENCE OF A SEMISYNTHETIC TRITERPENE (CL-P2) ON FOLLICULOGENESIS IN A MURINE MODEL OF PERIODONTITIS	61
8	CONCLUSÃO	84
9	PERSPECTIVAS	85
	REFERÊNCIAS	86

1. INTRODUÇÃO

A fisiologia reprodutiva feminina é sustentada por uma complexa interação entre mecanismos endócrinos, celulares e moleculares responsáveis pela manutenção da homeostase ovariana e pela adequada progressão da foliculogênese. O desenvolvimento folicular depende do equilíbrio entre proliferação celular, regulação hormonal, angiogênese e controle do estresse oxidativo no microambiente ovariano. Alterações sistêmicas capazes de induzir respostas inflamatórias crônicas podem comprometer esses processos, favorecendo alterações na ativação da reserva folicular, na sobrevivência dos oócitos e na qualidade funcional do tecido ovariano (Sá et al., 2025). Nesse contexto, evidências recentes demonstram que mediadores pró-inflamatórios circulantes, como $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$ e espécies reativas de oxigênio, exercem impacto direto sobre a dinâmica folicular, promovendo desequilíbrio redox e prejuízos à fisiologia reprodutiva (Catunda et al., 2026).

Entre as condições associadas à inflamação sistêmica, a periodontite destaca-se como uma doença inflamatória crônica multifatorial desencadeada por biofilmes patogênicos capazes de induzir intensa resposta imunoinflamatória do hospedeiro, culminando na liberação persistente de mediadores inflamatórios e estresse oxidativo sistêmico (Wang et al., 2025). Embora classicamente relacionada à destruição progressiva dos tecidos de suporte dental, a periodontite tem sido associada a repercussões sistêmicas importantes, incluindo alterações em tecidos metabolicamente ativos e sensíveis à inflamação, como o ovário. Dessa forma, compreender os efeitos da inflamação sistêmica sobre a fisiologia ovariana torna-se importante para elucidar mecanismos envolvidos na disfunção reprodutiva e no comprometimento da foliculogênese em condições inflamatórias crônicas.

No ovário, esse desequilíbrio redox pode resultar em danos à função mitocondrial, alterações na dinâmica meiótica dos oócitos, indução de apoptose em células da granulosa e disfunção do corpo lúteo, culminando em envelhecimento ovariano acelerado e redução da competência embrionária (Wetzel et al., 2026). Adicionalmente, a ativação crônica do eixo hipotálamo–hipófise–adrenal leva ao aumento sustentado dos níveis de cortisol, o qual exerce efeito inibitório sobre o eixo hipotálamo–hipófise–gonadal, reduzindo a secreção de gonadotrofinas e comprometendo a esteroidogênese ovariana, especialmente a produção de estradiol (Geraghty et al., 2015).

Nesse cenário, a farmacologia de produtos naturais desponta como uma alternativa promissora, utilizando a biodiversidade como uma fonte diversificada de metabólitos secundários com alta especificidade biológica e perfis de segurança favoráveis (Roustaei et al., 2023). No contexto brasileiro, destaca-se a espécie *Combretum leprosum* Mart. (Combretaceae), popularmente conhecida como "mofumbo". Tradicionalmente utilizada na medicina popular por suas múltiplas propriedades, o potencial terapêutico desta planta tem sido validado cientificamente através do isolamento de triterpenos pentacíclicos do tipo lupano (Oliveira et al., 2026). A partir do triterpeno natural 3 β ,6 β ,16 β -triidroxilup-20(29)-eno (CL-1), isolado da casca ou cerne do *C. leprosum*, obteve-se por via semissintética o derivado esterificado 3 β ,6 β ,16 β -tripropioniloxilup-20(29)-eno, designado como CL-P2 (Garcez et al., 2025).

O CL-P2 tem demonstrado um perfil biotecnológico promissor e segurança pré-clínica estabelecida. Investigações *in vitro* e *in silico* revelaram que este composto possui notável potencial osteogênico, interagindo com proteínas-chave como a BMP-2, componentes da via WNT e o eixo RANK-L/OPG, o que favorece a proliferação e mineralização de osteoblastos (Nogueira-Júnior et al., 2024). Além disso, o CL-P2 exibiu potente atividade anti-inflamatória e antinociceptiva, além de um efeito antirreabsortivo em modelos de osteoporose induzida por glicocorticóides, preservando a microarquitetura óssea e elevando a densidade mineral (Garcez et al., 2025).

Apesar desses avanços, permanece uma lacuna significativa na literatura no que concerne à investigação dos efeitos do CL-P2 sobre a fisiologia reprodutiva feminina, particularmente no contexto da foliculogênese sob condições de inflamação sistêmica (Shirafuji et al., 2026). Considerando que a integridade folicular depende de um equilíbrio rigoroso entre proliferação, diferenciação e apoptose celular, a identificação de compostos capazes de preservar esse equilíbrio em ambientes fisiopatológicos adversos representa uma estratégia inovadora e de elevado potencial translacional (Hirano et al., 2025).

Diante do exposto, o presente estudo tem como objetivo investigar os efeitos da Modulação da periodontite por um Triterpeno Semissintético (CL-P2) e suas consequências para a foliculogênese ovariana em camundongos swiss fêmeas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Desenvolvimento embrionário e organização morfofuncional do ovário

O sistema reprodutivo feminino nos mamíferos constitui uma unidade funcional altamente especializada, responsável pela produção de gametas competentes, pela regulação da homeostase hormonal e pelo suporte biológico ao desenvolvimento embrionário inicial (Figura 1) (Atwood et al., 2016). Como órgão central deste sistema, o ovário desempenha funções exócrinas e endócrinas essenciais, apresentando uma arquitetura estrutural compartimentada em epitélio germinativo, túnica albugínea, córtex periférico e medula vascularizada (Li et al., 2021).

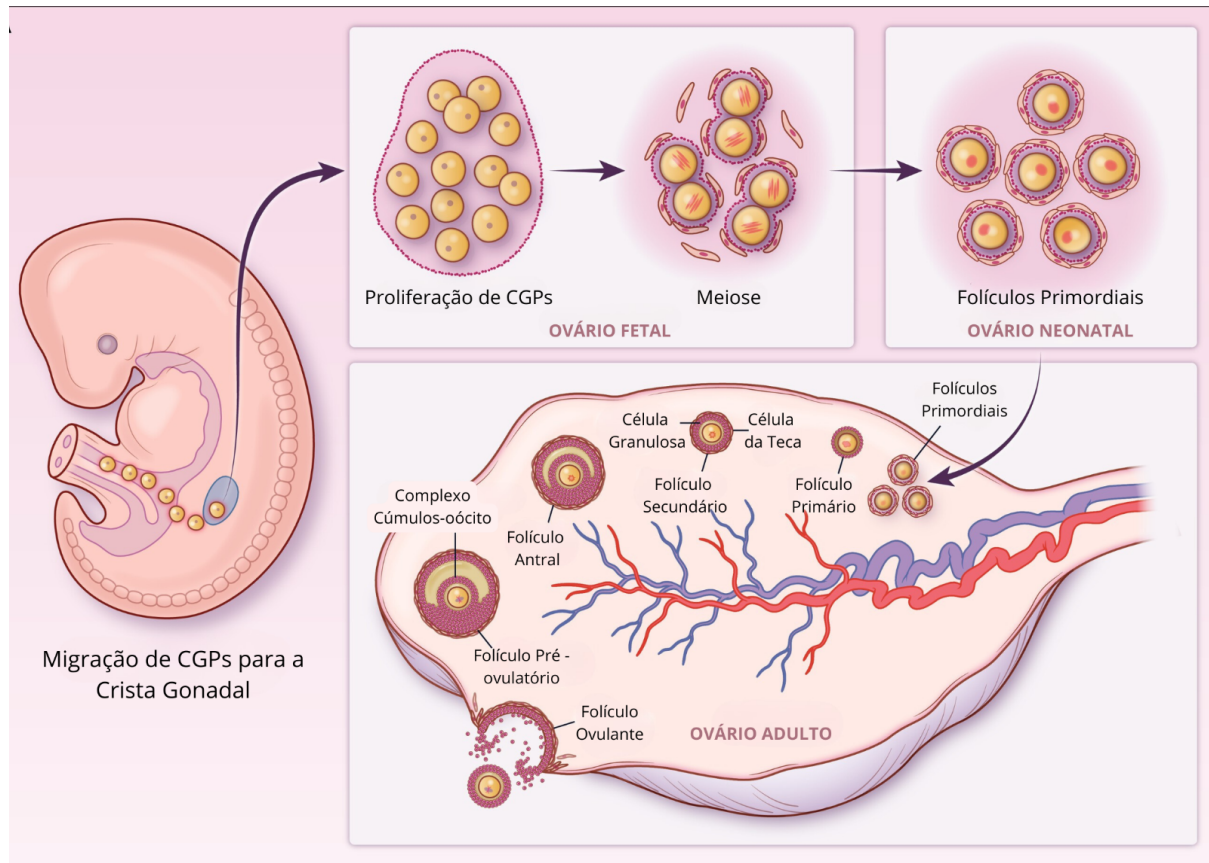
Anatomicamente, o ovário maduro organiza-se em duas regiões distintas com composições celulares e funções interdependentes: o córtex periférico e a medula central, cada uma com composições celulares e funções especializadas. Essa organização regional é fundamental para a função ovariana, com o córtex abrigando principalmente a reserva ovariana e a medula servindo como centro vascular e esteroidogênico (Campo et al., 2021).

O córtex é a camada periférica, composta por um estroma de tecido conjuntivo densamente celularizado, que contém a grande maioria da reserva folicular ovariana, incluindo folículos primordiais, primários, secundários e antrais em vários estágios de desenvolvimento. É nesta região que ocorrem os eventos centrais da oogênese e da foliculogênese. A análise de células individuais identificou seis tipos celulares principais no córtex ovariano humano: oócitos, células da granulosa, células imunes, células endoteliais, células perivasculares e células estromais (Wagner et al., 2020). O córtex é envolvido pela túnica albugínea, uma cápsula fibrosa que circunda todo o ovário, (Campo et al., 2021).

Durante o desenvolvimento, os folículos primordiais migram progressivamente para locais mais periféricos dentro do córtex, ocupando aproximadamente 41% do comprimento cortical com 20 semanas de desenvolvimento fetal, 53% ao nascimento e 68% aos 8 meses pós-natais. Os folículos primários são tipicamente encontrados no córtex interno (30-40% do comprimento cortical em recém-nascidos), enquanto os folículos secundários e antrais estão posicionados próximos ao limite córtico-medular (Sforza et al., 2003).

A medula, localizada na porção central, é composta por tecido conjuntivo frouxo, sendo ricamente vascularizada e innervada, o que garante o suporte nutricional e a via de transporte para as sinalizações hormonais sistêmicas (Yin et al., 2025).

Figura 1: Representação esquemática da oogênese e da dinâmica da foliculogênese ovariana ao longo do desenvolvimento. Inicialmente, as células germinativas primordiais (CGPs) migram para a crista gonadal durante o período embrionário, onde ocorre intensa proliferação celular e entrada em meiose no ovário fetal. No período neonatal, os oócitos são circundados por células foliculares, formando os folículos primordiais que constituem a reserva ovariana. Durante a vida reprodutiva, os folículos passam progressivamente pelos estágios de folículo primário, secundário e antral, acompanhados pela diferenciação das células da granulosa e da teca, vascularização folicular e formação do complexo cúmulus-oócito. O desenvolvimento culmina com a formação do folículo pré-ovulatório e a ovulação do oócito maduro no ovário adulto.



Fonte: Adaptado de Herbert et al., 2022.

2.2 Oogênese

A oogênese é o processo pelo qual as células germinativas femininas (oogônias) se desenvolvem em oócitos maduros capazes de fertilização, iniciando-se durante a vida fetal e completando-se somente após a fertilização (Wang et al., 2021). Ao contrário da espermatogênese, que é contínua e produz quatro gametas funcionais por divisão meiótica, a oogênese é descontínua, produz apenas um oócito funcional por divisão (com corpúsculos polares) e envolve uma parada meiótica prolongada (Nishimura et al., 2017).

Por volta da 6^a a 8^a semana de desenvolvimento embrionário, as células germinativas primordiais (PGCs), originadas no epiblasto, migram para as cristas gonadais e diferenciam-se em oogônias. Na 12^a semana milhares de oogônias iniciam a Prófase I da primeira divisão meiótica. Um ponto crítico da oogênese é a parada meiótica. O processo é interrompido e as células entram num estado dormente como oócitos primários. Devido ao núcleo grande, são chamadas de vesículas germinativas (De Felici et al., 2005).

Esta dormência pode durar décadas, até que o estímulo hormonal na puberdade reinicie o processo. Sob a influência do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, durante cada ciclo menstrual, o oócito retoma a meiose I (He et al., 2021).

O pico pré-ovulatório do hormônio luteinizante (LH) induz a ovulação e desencadeia a retomada da meiose, a ruptura da vesícula germinativa e a progressão da prófase meiótica I para a metáfase II, onde o oócito para novamente até a fertilização. Se a fertilização ocorrer, o oócito completa a meiose II, seguida de fusão com o núcleo do espermatozoide e preparação para divisões zigóticas; caso contrário, é passado para o útero e degenera (Pei et al., 2023).

2.3 Foliculogênese

A foliculogênese inicia-se com a ativação dos folículos primordiais dormentes, que constituem o pool de reserva ovariana (Figura 2). Esses folículos são formados por um oócito interrompido em dictióteno da prófase I da meiose, envolto por uma única camada de células pré-granulosas escamosas. A manutenção da quiescência e o controle da taxa de ativação desse pool são rigidamente regulados por vias de sinalização intraovarianas, como PI3K/AKT-FOXO3, PTEN e TSC-1, que atuam como importantes mecanismos supressores da ativação precoce. Essas vias integram sinais metabólicos, fatores de crescimento e estímulos locais, garantindo o equilíbrio entre dormência e recrutamento folicular. Assim, a preservação da reserva ovariana e, conseqüentemente, a longevidade da vida reprodutiva feminina dependem da manutenção adequada desse estado de quiescência (Li et al., 2021).

Uma vez ativados, os folículos evoluem para o estágio de folículo primário, caracterizado pela transformação das células da granulosa de morfologia escamosa para cuboide, com aumento da atividade mitótica e intensificação da comunicação bidirecional entre oócito e granulosa, mediada por junções comunicantes (gap junctions) e fatores parácrinos, como GDF-9 e BMP-15. O oócito também aumenta de volume e intensifica sua atividade metabólica (Bernabé et al., 2020).

À medida que o folículo progride para o estágio secundário (ou pré-antral), ocorre a proliferação das células da granulosa, que passam a se organizar em múltiplas camadas ao redor do oócito. Concomitantemente, há a deposição da zona pelúcida, matriz extracelular glicoproteica composta principalmente por ZP1, ZP2 e ZP3, fundamental para o reconhecimento espermático e proteção do oócito. Nesse estágio, inicia-se o recrutamento e a diferenciação de células do estroma ovariano circundante, que passam a constituir a teca folicular (Palma et al., 2012).

A teca diferencia-se em duas camadas distintas: a teca interna e a teca externa. A teca interna é altamente vascularizada e apresenta função endócrina, sendo responsável pela produção de andrógenos sob estímulo do hormônio luteinizante (LH). Esses andrógenos difundem-se para as células da granulosa, onde são aromatizados em estrogênios pela ação da aromatase, estimulada pelo hormônio folículo-estimulante (FSH), caracterizando o modelo das duas células e duas gonadotrofinas. Já a teca externa é composta predominantemente por tecido conjuntivo fibroso e células musculares lisas, desempenhando função estrutural e contribuindo para o suporte mecânico do folículo em crescimento (Binelli et al., 2010).

Com a progressão do desenvolvimento, o folículo atinge o estágio antral (ou terciário), caracterizado pela formação do antro folicular, cavidade preenchida por líquido rico em esteroides, proteínas e fatores de crescimento que constituem um microambiente essencial para a maturação oocitária. Nessa fase, as células da granulosa diferenciam-se funcionalmente em granulosa mural, com maior atividade esteroidogênica, e células do cúmulus oophorus, que permanecem intimamente associadas ao oócito, mantendo intensa comunicação metabólica necessária para a aquisição da competência oocitária (Hsueh et al., 2015).

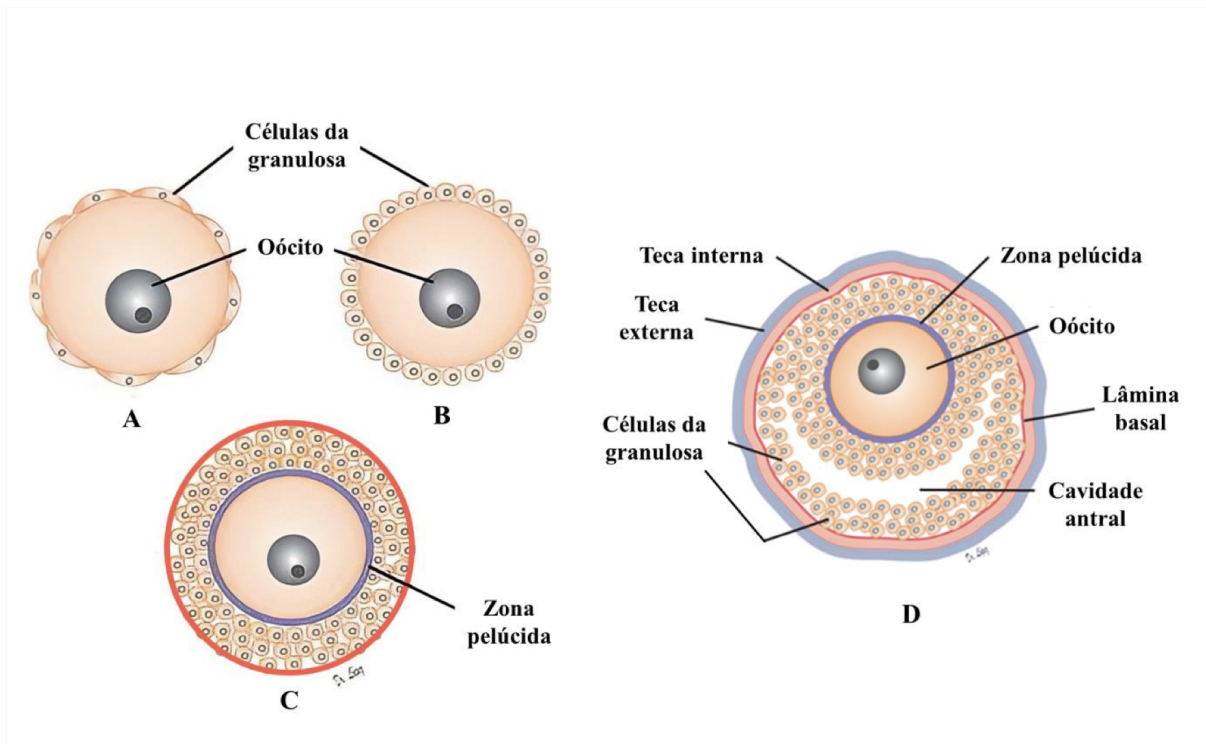
A partir do estágio antral, o crescimento folicular torna-se progressivamente dependente das gonadotrofinas. O FSH estimula a proliferação da granulosa e a produção de estradiol, enquanto o LH atua principalmente na teca interna, promovendo a síntese de andrógenos. O aumento sustentado de estradiol possibilita a seleção de um folículo dominante, que apresenta maior sensibilidade ao FSH e maior capacidade esteroidogênica, enquanto os demais folículos recrutados sofrem atresia por apoptose (Liu et al., 2019).

O folículo dominante evolui para o estágio pré-ovulatório (folículo de Graaf), caracterizado por grande antro e elevada produção estrogênica. O pico de LH desencadeia a retomada da meiose pelo oócito, que progride até metáfase II com extrusão do primeiro

corpúsculo polar, além de promover a expansão do cúmulus, o remodelamento da parede folicular e a ruptura ovulatória (Binelli et al., 2010).

Após a ovulação, as células da granulosa e da teca interna sofrem luteinização, formando o corpo lúteo, estrutura responsável pela produção de progesterona, essencial para a preparação do endométrio à possível implantação embrionária. Na ausência de fecundação, ocorre regressão luteal e formação do corpo albicans; caso haja fecundação, o corpo lúteo é mantido pela ação do hCG até que a placenta assuma a função endócrina (Liu et al., 2019).

Figura 2. Imagem representativa da estrutura básica de folículos ovarianos A) primordial, B) primário, C) secundário e D) antral.



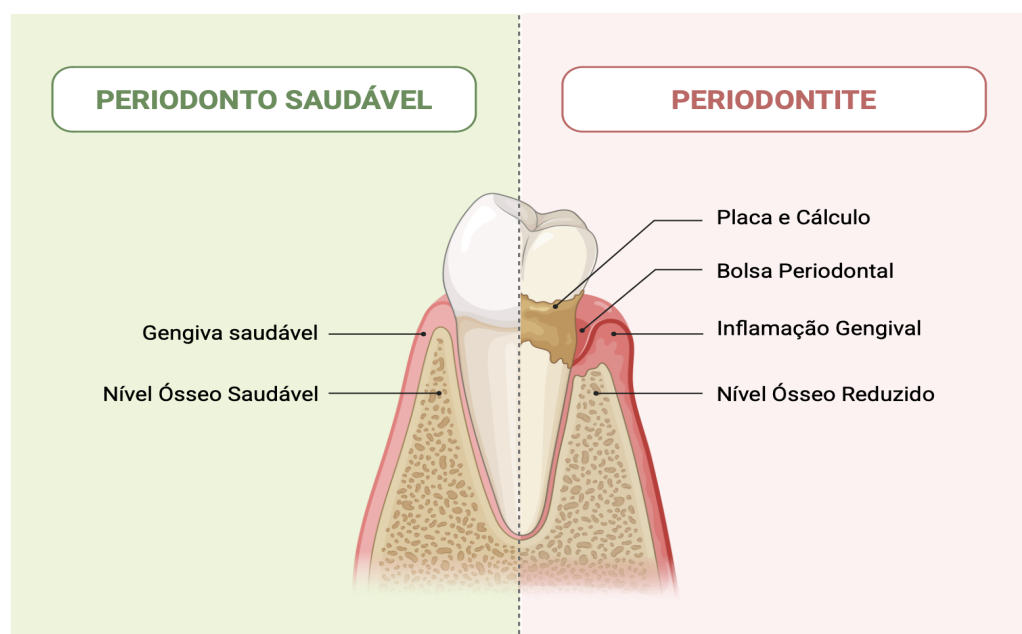
Fonte: Adaptado de Norberto López Serna: Biología del desarrollo. Cuaderno de trabajo. Derechos © McGraw-Hill Education.

2.4 Fisiopatologia da doença periodontal e sua relação com o fisiologia reprodutiva feminina

A periodontite é uma das patologias crônicas mais prevalentes na humanidade, afetando gravemente cerca de 1,07 bilhão de pessoas globalmente (Lancet et al., 2025). Caracteriza-se como uma condição inflamatória multifatorial que resulta na destruição progressiva dos tecidos de

suporte dental, compostos pela gengiva, pelo ligamento periodontal e pelo osso alveolar (Figura 3). A patogênese desta condição é mediada pela resposta inflamatória exacerbada do hospedeiro frente ao desafio microbiano disbiótico (Simpson et al., 2022).

Figura 3. Representação esquemática comparativa entre um periodonto saudável e um periodonto acometido por periodontite. Observa-se, no tecido saudável, integridade gengival e manutenção do nível ósseo alveolar. Em contraste, a periodontite caracteriza-se pelo acúmulo de placa bacteriana e cálculo dentário, formação de bolsa periodontal, inflamação gengival e reabsorção óssea, alterações associadas à resposta inflamatória crônica e à destruição progressiva dos tecidos de suporte dental.



Fonte: O Autor

Os mecanismos propostos que ligam a doença periodontal à disfunção ovariana fundamentam-se em um estado de inflamação crônica de baixo grau, desregulação imunológica e translocação de mediadores inflamatórios para a circulação sistêmica (Wetzel et al., 2026). No sítio periodontal, a resposta imune ativa queratinócitos, neutrófilos, macrófagos e linfócitos, que liberam uma cascata de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-17 e IL-23) e espécies reativas de oxigênio (EROs) (Neurath et al., 2024). A liberação persistente desses mediadores estabelece um ciclo de feedback positivo que retroalimenta a proteólise e a inflamação sistêmica (Sedghi et al., 2021).

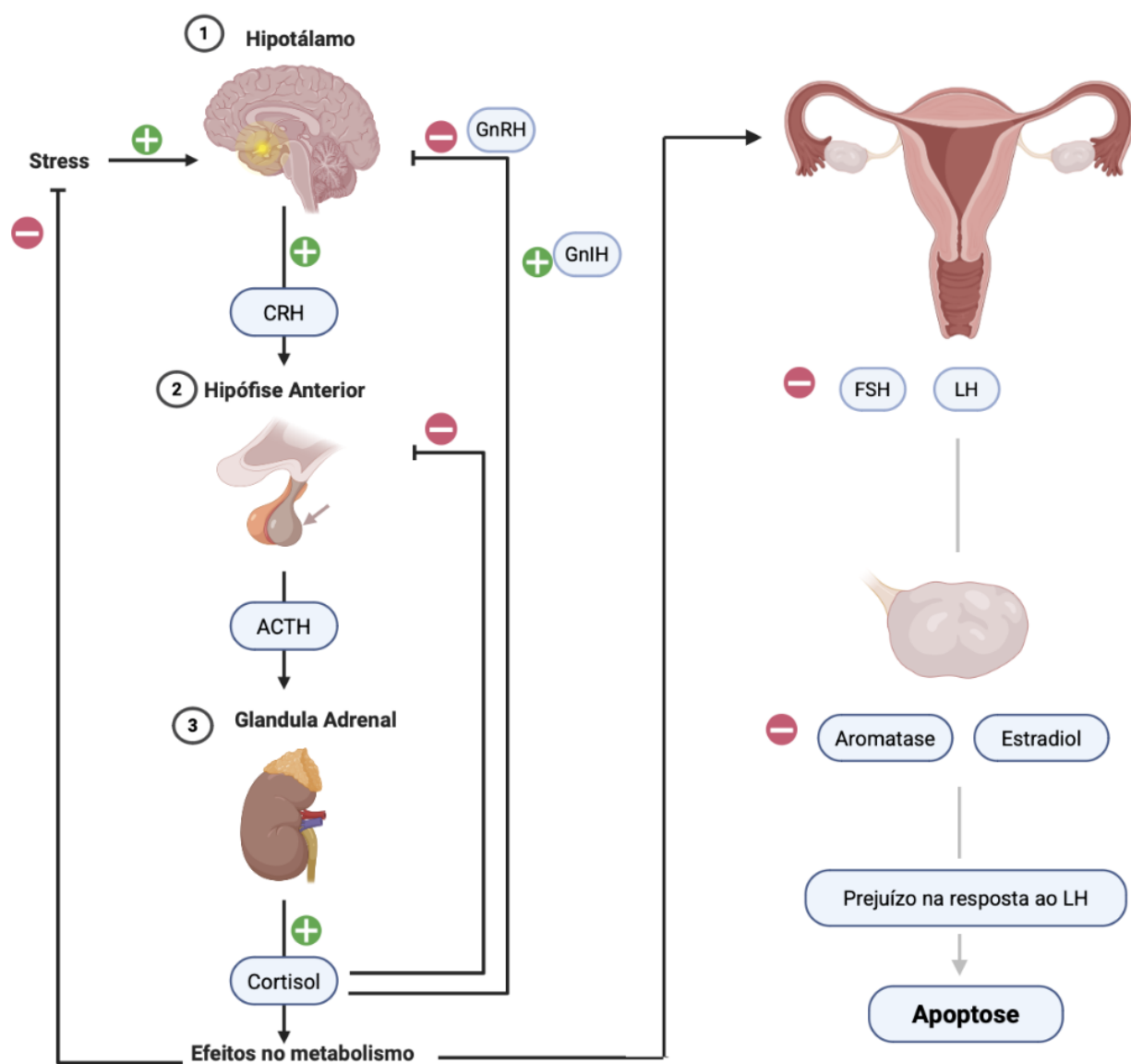
Desta forma, a periodontite gera aumentos sistêmicos de mediadores lipídicos, como as prostaglandinas, e citocinas que podem atravessar a barreira hematofolicular e perturbar o microambiente ovariano (Ameho et al., 2025). A partir do estresse oxidativo crônico, o

hipotálamo é estimulado a liberar o hormônio liberador de corticotrofina (CRH), que, por sua vez, induz a hipófise a secretar o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) (Figura 4). Este hormônio atua sobre o córtex da glândula adrenal, promovendo a liberação de glicocorticóides, principalmente o cortisol. Em condições fisiológicas, o cortisol exerce um mecanismo de retroalimentação negativa, reduzindo a secreção de CRH e ACTH, contribuindo para a manutenção da homeostase. Entretanto, em situações de estresse crônico, esse mecanismo regulatório torna-se insuficiente, resultando na manutenção de níveis persistentemente elevados de cortisol.(Geraghty et al., 2015).

Nesse contexto, os glicocorticóides passam a exercer efeitos inibitórios sobre o eixo hipotálamo-hipófise-gonadal. No nível hipotalâmico, observa-se redução da secreção pulsátil do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), mediada tanto por ação direta dos glicocorticóides quanto pela modulação de reguladores upstream, incluindo a diminuição da expressão de kisspeptina e o aumento da atividade do hormônio inibidor de gonadotrofinas (GnIH)(Ubuka et al., 2012).

Como consequência, ocorre redução da liberação de hormônio luteinizante (LH) e, em menor grau, do hormônio folículo-estimulante (FSH) pela hipófise, comprometendo a adequada estimulação ovariana. Nos ovários, níveis elevados de glicocorticóides contribuem para a diminuição da atividade da aromatase, redução da síntese de estradiol e prejuízo na responsividade ao LH, além de favorecerem processos de apoptose folicular (Geraghty et al., 2015).

Figura 4: Representação esquemática das interações entre o estresse e os eixos Hipotálamo-Hipófise-Adrenal (HHA) e Hipotálamo-Hipófise-Gonadal (HHG). O estímulo estressor promove ativação hipotalâmica com liberação de CRH, estimulando a hipófise anterior a secretar ACTH e, subsequentemente, induzindo a produção de cortisol pela glândula adrenal. O aumento dos níveis de cortisol exerce efeito inibitório sobre o eixo hipotálamo-hipófise-gonadal, reduzindo a liberação de GnRH, FSH e LH, além de modular negativamente a atividade da aromatase e a produção de estradiol. Essas alterações comprometem a resposta folicular ao LH, favorecendo disfunções na foliculogênese, alterações endócrinas ovarianas e aumento da apoptose celular no tecido ovariano.



Fonte: O Autor

Em condições fisiológicas, as espécies reativas de oxigênio (EROs) operam como moléculas de sinalização essenciais durante a oogênese e o desenvolvimento folicular. Níveis basais de EROs regulam a expressão gênica, a angiogênese intratecal e a esteroidogênese, sendo o equilíbrio redox intrafolicular um requisito fundamental para os eventos mediados por gonadotrofinas e para a maturação meiótica (Biswas et al., 2021; Xie et al., 2021).

Para sustentar essa homeostase e a viabilidade oocitária, as células utilizam mecanismos de controle de qualidade mitocondrial, com destaque para a Resposta de Proteína Desdobrada Mitocondrial (UPRmt). Esta via atua como um sistema adaptativo que monitora a proteostase da matriz mitocondrial; em situações de estresse leve a moderado, a protease CLPP degrada proteínas mal dobradas, gerando peptídeos sinalizadores que induzem a transcrição nuclear de chaperonas e enzimas antioxidantes para restaurar a função da organela (Seli et al., 2019). Entretanto, quando a produção de EROs excede as defesas antioxidantes ou quando mecanismos como a UPRmt são comprometidos como observado na deficiência de CLPP, ocorre o acúmulo deletério de proteínas danificadas e estresse oxidativo exacerbado, resultando em disfunção mitocondrial e depleção folicular acelerada (Seli et al., 2019).

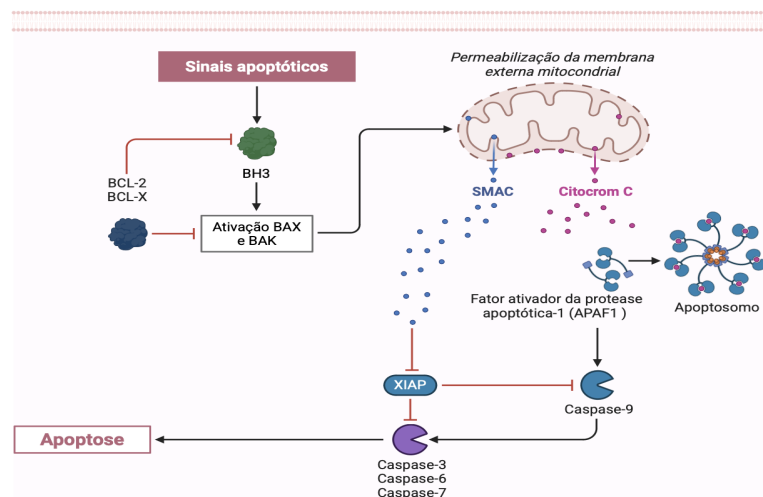
Neste cenário de desequilíbrio, o estresse oxidativo atua como um "iniciador" da atresia folicular ao deflagrar a via apoptótica intrínseca (Figura 5) (Wang et al., 2021; Prasad et al., 2016). A via apoptótica intrínseca é deflagrada no momento em que o incremento das espécies reativas de oxigênio (EROs) intracelulares frequentemente associado a danos genômicos, estresse do retículo endoplasmático e privação de fatores de crescimento culmina na alteração da permeabilidade mitocondrial (Hotchkiss et al., 2009). Esse evento inicial atua como o gatilho para a translocação de proteínas pró-apoptóticas, notadamente o citocromo *c*, do espaço intermembranar para o compartimento citosólico (Murphy et al., 2016).

Subjacente a essa translocação, as EROs operam um mecanismo bifásico fundamentado na oxidação da cardiolipina. Em um primeiro estágio, o estresse oxidativo promove a peroxidação deste fosfolípido, responsável pela ancoragem do citocromo *c* à membrana mitocondrial interna. Tal oxidação dissocia o complexo citocromo *c*-cardiolipina, elevando a fração de proteína solúvel disponível. Em um segundo estágio, as EROs induzem a permeabilização da membrana mitocondrial externa, possivelmente via interação com o canal aniônico dependente de voltagem (VDAC), viabilizando o efluxo proteico definitivo para o citoplasma (Ott et al., 2007; Petrosillo et al., 2003).

Uma vez alcançado o citosol, o citocromo *c* inicia a organização da fase de execução da apoptose ao associar-se ao fator ativador da protease apoptótica-1 (Apaf-1). Essa união recruta a pró-caspase-9 para constituir o apoptossomo, um complexo multimérico que estabiliza a caspase-9 em sua conformação ativa (Call et al., 2008). A ativação desta caspase iniciadora desencadeia, por sua vez, a cascata proteolítica das caspases efetoras 3, 6 e 7. A atividade dessas enzimas sobre substratos celulares vitais e a consequente ativação de DNases resultam nos marcos morfológicos da apoptose, como a fragmentação do DNA e a retração citoplasmática (Madesh et al., 2001).

O mecanismo de ação deste processo é controlado pelo equilíbrio entre membros pró-apoptóticos (BAX, BAK) e antiapoptóticos (Bcl-2, Bcl-xL) da família Bcl-2 (Wu et al., 2013). Sinais de estresse oxidativo ativam proteínas restritas ao domínio BH3, que neutralizam antagonistas antiapoptóticos ou ativam diretamente BAX/BAK, inclinando a balança celular em favor da morte programada (Hougaridy et al., 2005). É importante ressaltar, entretanto, que a magnitude do acúmulo de EROs é o determinante final do destino celular: enquanto níveis moderados induzem a apoptose, o estresse oxidativo exacerbado pode inibir a atividade das caspases, direcionando a célula para uma via de morte necrótica. Tal dualidade reforça o papel crítico do equilíbrio redox na definição do fenótipo da morte celular (Hampton et al., 1998).

Figura 5: Representação esquemática da via intrínseca da apoptose mediada pela mitocôndria. Sinais apoptóticos promovem a ativação de proteínas pró-apoptóticas da família BH3, levando à ativação de BAX e BAK e consequente permeabilização da membrana externa mitocondrial. Esse processo resulta na liberação de citocromo C e SMAC para o citoplasma. O citocromo C associa-se ao fator ativador da protease apoptótica-1 (APAF1), promovendo a formação do apoptossomo e a ativação da caspase-9. Subsequentemente, ocorre a ativação das caspases executoras 3, 6 e 7, culminando no apoptose celular. As proteínas antiapoptóticas BCL-2 e BCL-X, bem como a proteína inibidora de apoptose XIAP, atuam regulando negativamente diferentes etapas dessa cascata apoptótica.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2026).

O estresse oxidativo atua como um "iniciador" da atresia folicular, desencadeando a apoptose na maioria das células germinativas do ovário (Wang et al., 2021). A via intrínseca da apoptose mediada pela mitocôndria desempenha um papel importante na eliminação de células germinativas em condições de estresse oxidativo (Prasad et al., 2016).

Em condições fisiológicas, as EROs (espécies reativas de oxigênio) funcionam como moléculas de sinalização essenciais durante a ovogênese, mas quando a produção excede as defesas antioxidantes, ocorre estresse oxidativo com efeitos prejudiciais à qualidade do oócito e à fertilidade. Baixos níveis de EROs são utilizados para a sinalização celular e regulação da expressão gênica dentro dos folículos, e o equilíbrio redox intrafolicular é essencial para os eventos foliculares mediados por gonadotrofinas, incluindo a esteroidogênese e a maturação meiótica (Biswas et al., 2021).

Tabela 1 - Evidências científicas sobre os efeitos da inflamação e estresse oxidativo na homeostase ovariana e desfechos reprodutivos.

Autor(es)	Ano	Achados principais
Jiao et al.	2021	O estresse oxidativo em oócitos pode destruir a montagem do fuso, a função mitocondrial e a estrutura do DNA, e induzir a apoptose e dificultar a maturação.
Sha et al.	2021	O acúmulo de EROs causa rupturas de DNA e falha no reparo genômico, reduzindo o aporte de nutrientes ao oócito e acelerando o envelhecimento ovariano.
Cao et al.	2018	O dano oxidativo bloqueia o desenvolvimento das células da granulosa e desencadeia a atresia folicular.
Kles et al.	2026	A inflamação oral propaga-se sistemicamente (via baço/linfonodos) até o ovário, alterando citocinas e reduzindo as taxas de nascidos vivos.
Korkmaz et al.	2026	A viabilidade da gestação depende de um microambiente com baixa carga oxidativa, estabelecendo uma relação direta entre o potencial antioxidante do organismo e as taxas de sucesso reprodutivo.

Fonte: Elaborado pelo Autor (2026)

2.5 Modelos murinos como ferramenta experimental em estudos biomédicos

A utilização de modelos animais na pesquisa científica permanece como um pilar indispensável para o progresso da biomedicina, permitindo o mapeamento de mecanismos fisiopatológicos complexos e o desenvolvimento de estratégias terapêuticas que seriam eticamente inviáveis em seres humanos. Nesse cenário, os camundongos da linhagem Swiss são altamente relevantes devido ao seu status de linhagem não consanguínea (*outbred*), o que lhes confere uma diversidade genética e variabilidade fenotípica que mimetizam, com maior fidedignidade, a heterogeneidade encontrada em populações humanas. Tal característica torna esses modelos particularmente valiosos para investigações em que o background genético pode modular as respostas experimentais, como ocorre na toxicologia, farmacologia e, primordialmente, na biologia reprodutiva (Oliveira et al., 2020).

A hegemonia dos murinos na pesquisa biomédica justifica-se pelo fato de compartilharem aproximadamente 99% de seu material genético com a espécie humana, o que possibilita a modelagem de patologias com elevada relevância molecular e funcional. Além da proximidade genética, seu pequeno porte, o ciclo reprodutivo acelerado e a alta prolificidade tornam o uso desses animais uma alternativa economicamente viável e metodologicamente prática para estudos de larga escala (BRUTER et al., 2024). Somado a isso, os camundongos adaptam-se com facilidade a condições de alojamento padronizadas, o que otimiza a reprodutibilidade e a comparabilidade estatística entre diferentes centros de pesquisa (LOGAN et al., 2019).

No âmbito da fertilidade feminina, o uso de modelos murinos é estratégico para ensaios de toxicidade reprodutiva, permitindo avaliar com precisão os impactos de substâncias sobre a morfologia folicular e o desenvolvimento embrionário inicial (ALVES-PIMENTA et al., 2024). Atualmente, protocolos para esses testes encontram-se rigorosamente estabelecidos, incluindo bioensaios especializados como o teste uterotrópico, voltado para a avaliação da estrogenicidade, e o cultivo de embriões inteiros (*whole-embryo culture*), que possibilita uma observação direta de potenciais efeitos embriotóxicos (TUNG et al., 2019).

A funcionalidade ovariana nessas fêmeas é operacionalizada por meio de um ciclo estral rítmico e robusto, com duração média de quatro a cinco dias, sendo essencial para organizar temporalmente os processos fisiológicos e endócrinos necessários à reprodução (ALVORD et al., 2024). Este ciclo é subdividido em quatro fases distintas, identificáveis pela citologia vaginal e

caracterizadas por flutuações hormonais específicas. O proestro associa-se à maturação folicular e ao incremento nos níveis de estrogênio e prolactina, culminando no estro, período de receptividade sexual e pico de atividade física onde ocorre a ovulação. Subsequentemente, o ciclo progride para o metaestro e o diestro, sendo este último o estágio de maior duração, marcado por concentrações basais de estrogênio e níveis elevados de progesterona, fundamentais para a manutenção lútea e o equilíbrio do microambiente reprodutivo (PHILLIPPS et al., 2022; ALVORD et al., 2024). Assim, o domínio dessa cronologia biológica em camundongos Swiss provê a base necessária para investigar como intervenções terapêuticas ou patologias sistêmicas impactam a longevidade e a competência reprodutiva feminina.

Quanto ao uso de murinos para avaliação dos efeitos da periodontite e avaliação do desenvolvimento folicular, já existem protocolos bem estabelecidos pelo Laboratório de Farmacologia de Sobral e Laboratório de Biotecnologia e Fisiologia da Reprodução (França et al., 2022; Sá et al., 2025).

2.6 Avaliação do potencial bioativo de *Combretum leprosum* Mart. na pesquisa farmacológica

As plantas medicinais constituem uma importante matriz biotecnológica para a prospecção de novos fármacos, sendo amplamente exploradas em virtude da diversidade estrutural e funcional de seus metabólitos secundários (Roustaei et al., 2023). Nesse contexto, a família Combretaceae destaca-se globalmente por abrigar gêneros de elevada relevância etnofarmacológica, especialmente o gênero *Combretum*, que compreende aproximadamente 370 espécies (Petrovski et al., 2006).

No cenário da biodiversidade brasileira, *Combretum leprosum* Mart., popularmente conhecido como “mofumbo”, ocupa posição de destaque na medicina tradicional do Nordeste (Figura 6). As partes aéreas da planta — como cascas, folhas e flores — são tradicionalmente utilizadas na forma de infusões, decocções ou xaropes para o tratamento de hemorragias uterinas, distúrbios gastrointestinais e afecções respiratórias, incluindo asma e coqueluche. Além disso, a espécie é reconhecida por suas propriedades sedativas e hemostáticas (Petrovski et al., 2006; Oliveira et al., 2026).

Figura 6. Imagens representativas da espécie *Combretum leprosum* Mart., evidenciando aspectos morfológicos da planta, incluindo hábito arbóreo, folhas, inflorescências e estruturas reprodutivas. Popularmente conhecida como mofumbo, a espécie pertence à família Combretaceae e apresenta ampla distribuição no bioma Caatinga, sendo descrita na literatura por seu potencial farmacológico associado a propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e cicatrizantes.



Fonte: <https://reflora.jbrj.gov.br/>

A atividade terapêutica de *C. leprosum* está intimamente relacionada à sua composição fitoquímica, com destaque para os triterpenos pentacíclicos, considerados seus principais constituintes bioativos. Nesse contexto, a fração fitoquímica CLF-1, obtida a partir do extrato da planta, tem sido amplamente investigada por concentrar compostos com relevante atividade biológica (Coutinho et al., 2022). Estudos demonstram que essa fração apresenta efeitos antinociceptivos significativos, evidenciados pela redução das constrições abdominais induzidas por ácido acético, além de potente ação anti-inflamatória, com diminuição expressiva da migração de neutrófilos e dos níveis de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α e IL-1 β (Longhi-Balbinot et al., 2012).

A versatilidade farmacológica dessa espécie também se estende às áreas de regeneração tecidual e infectologia. Evidências indicam que a fração CLF-1 acelera o processo de cicatrização

por meio da indução precoce da angiogênese e da síntese de matriz extracelular, favorecendo a organização de miofibroblastos e a contração da ferida já nos estágios iniciais do reparo (do Nascimento-Neto et al., 2015). Adicionalmente, destaca-se sua atividade leishmanicida, com eficácia superior a terapias convencionais em modelos experimentais, aliada a um perfil reduzido de citotoxicidade (Sombra et al., 2023). No contexto de doenças inflamatórias cutâneas, como a psoríase, essa fração demonstrou efeitos antiproliferativos em queratinócitos, além de ativar receptores de corticosteroides sem induzir os efeitos adversos típicos dos corticoides sintéticos (Horinouchi et al., 2013; 2017).

No sistema respiratório, o extrato etanólico de *C. leprosum* apresenta propriedades espasmolíticas e antioxidantes, sendo capaz de reduzir a hiperreatividade traqueal e a hipertrofia muscular brônquica em modelos experimentais de asma (Oliveira et al., 2026). A segurança do uso dessa espécie é respaldada por estudos toxicológicos, que demonstram elevada dose letal média (DL50 de 4722 mg/kg), indicando ampla margem de segurança terapêutica (Lira et al., 2002). Além disso, efeitos gastroprotetores têm sido descritos, envolvendo o fortalecimento da barreira mucosa e a inibição da secreção ácida (Nunes et al., 2009; Cavalcanti et al., 2019). Em conjunto, essas propriedades consolidam *C. leprosum* como uma plataforma bioativa promissora, com potencial aplicação em estratégias terapêuticas voltadas à modulação de processos inflamatórios e regenerativos.

Dentre os compostos identificados nessa matriz fitoquímica, destaca-se o triterpeno 3 β ,6 β ,16 β -triidroxilup-20(29)-eno (CL-1), um dos constituintes isolados que serviu como base para o desenvolvimento de derivados semissintéticos com propriedades otimizadas. A partir desse composto, foi sintetizado o derivado esterificado 3 β ,6 β ,16 β -tripropioniloxilup-20(29)-eno (CL-P2), com o objetivo de aprimorar a biodisponibilidade e potencializar a interação molecular com alvos biológicos específicos (Garcez et al., 2025).

O CL-P2 apresenta um perfil biotecnológico promissor, sustentado por evidências pré-clínicas de segurança e eficácia. Estudos in vitro e in silico demonstram seu potencial osteogênico, mediado pela interação com proteínas-chave envolvidas na formação óssea, como BMP-2, a via Wnt/ β -catenina e o eixo RANK-L/OPG, promovendo a proliferação e a mineralização de osteoblastos (Nogueira-Júnior et al., 2024). Além disso, o composto exibe atividade anti-inflamatória e antinociceptiva significativa, atuando como agente antirreabsortivo em modelos de osteoporose induzida por glicocorticoides. Nessas condições, o tratamento foi capaz de preservar a microarquitetura óssea e aumentar a densidade mineral (Garcez et al., 2025).

Diante desse conjunto de evidências, o CL-P2 emerge como uma ferramenta farmacológica de grande relevância, não apenas para o tratamento de distúrbios ósseos sistêmicos, mas também como um potencial modulador de processos inflamatórios crônicos associados à perda tecidual, como observado na periodontite. Sua aplicação pode, portanto, representar uma estratégia inovadora com impacto translacional significativo, especialmente no contexto de doenças sistêmicas que interferem na homeostase tecidual e na saúde reprodutiva.

2.7 Aplicações farmacológicas dos triterpenos na modulação do metabolismo ósseo

A homeostase do tecido ósseo é regida por um equilíbrio dinâmico entre a neoformação osteoblástica e a reabsorção osteoclástica, processo que encontra nos triterpenos uma via proeminente de modulação terapêutica. Essas moléculas exibem um potencial farmacológico bifásico: simultaneamente estimulam a linhagem formadora e atenuam a atividade degradativa (Bellavia et al., 2021). De acordo com Kim et al., 2018, essa regulação fundamental ocorre pelo ajuste da razão Osteoprotegerina (OPG)/RANKL, o que resulta no silenciamento de reguladores mestres da osteoclastogênese — como NFATc1, c-Fos e a enzima cathepsina K — enquanto promove a expressão de proteínas de matriz, como a fosfatase alcalina (ALP) e o colágeno tipo I.

No âmbito da inovação biomédica, triterpenos semissintéticos, como os derivados da espécie *Combretum leprosum*, demonstram alta eficácia osteogênica ao interagir com vias canônicas de sinalização, especificamente a BMP-2 e a cascata Wnt/ β -catenina. A modulação de alvos como o receptor LRP6 e a inibição da esclerostina (Nogueira-Junior et al., 2024) posicionam esses compostos como indutores críticos da mineralização óssea. Adicionalmente, a preservação do compartimento osteoblástico contra danos citotóxicos é essencial; o ácido ursólico (AU), por exemplo, exerce um papel citoprotetor ao estabilizar a integridade mitocondrial e inibir a apoptose via sinalização PI3K-AKT-Bcl2, mitigando o colapso do potencial de membrana induzido pelo estresse oxidativo (Wang et al., 2026). Complementarmente, o AU restringe a diferenciação de osteoclastos por meio da inibição de vias de autofagia, reduzindo a expressão de marcadores específicos (Zheng et al., 2020).

Essa versatilidade mecanística apresenta aplicabilidade direta na regeneração de defeitos ósseos complexos, como os observados na periodontite e no reparo alveolar. O acetato de ácido oleanólico (AOA) atua como um modulador do microambiente de cicatrização pós-exodontia; análises de microtomografia computadorizada (micro-CT) confirmam que o tratamento com AOA acelera a neoformação óssea ao coordenar a redução de infiltrados inflamatórios (marcadores

F4/80 e IL-6) e o estímulo à angiogênese (via CD31), processos orquestrados pela sinalização TGF- β e Wnt (Adhikari et al., 2019).

No contexto da doença periodontal, a betulina demonstra capacidade singular de atenuar a perda óssea induzida por *Porphyromonas gingivalis*, restaurando a expressão de mRNAs e proteínas essenciais para a osteogênese, notadamente a osteopontina (OPN) e o fator de transcrição RUNX2 (Kim et al., 2022). De forma convergente, a obacunona, um triterpeno limonóide, reforça este potencial ao promover a diferenciação osteoblástica desde fases precoces via ativação do eixo BMP2/RUNX2/ β -catenina, culminando em uma mineralização robusta evidenciada pelo aumento da sialoproteína óssea (BSP) (Park et al., 2021). Em síntese, os triterpenos transcendem a função meramente anti-inflamatória, atuando como verdadeiros moduladores osteoimunológicos capazes de reprogramar o metabolismo do alvéolo dental para favorecer o reparo tecidual efetivo.

2.8 Aplicações de Hidrogéis na Liberação Controlada e Direcionada de Fármacos

Os hidrogéis representam plataformas versáteis para a administração controlada de pequenas moléculas, fármacos macromoleculares e células, oferecendo um controle espacial e temporal rigoroso sobre a cinética de liberação. Devido às suas propriedades físicas ajustáveis e degradabilidade controlável, essas redes poliméricas tridimensionais são capazes de proteger fármacos lábeis da degradação prematura, permitindo uma entrega precisa e localizada que minimiza a toxicidade sistêmica e otimiza a eficácia terapêutica em diversas aplicações clínicas (Li et al., 2016).

A evolução desses sistemas permitiu o desenvolvimento de hidrogéis responsivos a estímulos, que atuam como sistemas "inteligentes" ao reagir a gatilhos ambientais como pH, temperatura, luz, enzimas, potencial redox e campos magnéticos. Essa funcionalidade permite a liberação de fármacos sob demanda em locais-alvo, detectando alterações patológicas e liberando concentrações ótimas do agente terapêutico sem comprometer os tecidos saudáveis adjacentes (Rizzo et al., 2021).

Além da função de carreadores, os hidrogéis servem como arcabouços (*scaffolds*) estruturais altamente eficazes que mimetizam a matriz extracelular (MEC) nativa. Por meio de suas redes poliméricas hidrofílicas, alto teor de água e propriedades bioquímicas e biofísicas ajustáveis, esses sistemas regulam diretamente processos de adesão, migração, proliferação e

diferenciação celular (Goswami et al., 2026). Essa capacidade de recapitular diversas características da MEC natural torna os hidrogéis particularmente atraentes para a engenharia de tecidos, permitindo o encapsulamento celular em um ambiente tridimensional altamente hidratado, mecanicamente estável e poroso, que mimetiza o microambiente dos tecidos nativos (Malda et al., 2013; Li et al., 2023).

No campo da odontologia regenerativa, hidrogéis injetáveis e termossensíveis demonstram eficácia significativa na regeneração periodontal ao permitir uma administração minimamente invasiva diretamente nas bolsas periodontais. Esses sistemas são projetados para atender à tríade fundamental da cicatrização periodontal: tratamento antibacteriano, controle da inflamação e indução da regeneração tecidual (Wang et al., 2026). Tais hidrogéis sofrem uma transição sol-gel à temperatura corporal em aproximadamente cinco minutos, adaptando-se aos contornos irregulares das bolsas e resistindo à lavagem pelo fluido crevicular gengival, o que possibilita uma liberação sustentada por períodos superiores a 21 dias (Xu et al., 2019; Wang et al., 2026).

Atualmente, os hidrogéis baseados em quitosana/ β -glicerofosfato (CS/ β -GP) constituem a plataforma mais extensivamente estudada para intervenções periodontais (Tan et al., 2023). Estes sistemas exibem excelente biocompatibilidade e possuem redes porosas tridimensionais que suportam a proliferação celular e a diferenciação osteogênica, apresentando uma cinética de liberação ajustável que favorece a restauração da altura do osso alveolar e da inserção periodontal por meio de efeitos anti-inflamatórios e regenerativos simultâneos (Xu et al., 2019).

3. JUSTIFICATIVA

Nesse contexto, a periodontite destaca-se como uma doença inflamatória crônica multifatorial de elevada prevalência mundial, caracterizada pela destruição progressiva dos tecidos de suporte dental e pela liberação sistêmica persistente de mediadores pró-inflamatórios e espécies reativas de oxigênio (Wu et al., 2026). Evidências recentes sugerem que essa condição pode repercutir negativamente sobre a fisiologia reprodutiva, interferindo na dinâmica folicular, na esteroidogênese ovariana e na homeostase do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal (Ameho et al., 2025).

A relevância dessa interface torna-se ainda mais evidente diante do cenário crescente da infertilidade, considerada um importante problema de saúde pública global. Estima-se que aproximadamente 143,3 milhões de mulheres em idade reprodutiva (15–49 anos) convivam com infertilidade (Lin et al., 2025), condição que ultrapassa os limites biológicos e se associa a impactos sociais, emocionais e econômicos expressivos. Além disso, a infertilidade compromete direitos reprodutivos fundamentais, incluindo a autonomia no planejamento familiar (Zegers-Hochschild et al., 2013), estando frequentemente relacionada à estigmatização, sofrimento psicológico e vulnerabilidade social, especialmente entre mulheres (OMS, 2025).

Do ponto de vista fisiopatológico, destaca-se que processos inflamatórios crônicos e o estresse oxidativo sistêmico exercem papel importante na disfunção ovariana, interferindo diretamente na foliculogênese. Esse processo, dependente da integração entre sinais hormonais, metabólicos e celulares, pode ser afetado por alterações no equilíbrio redox e pela exposição contínua a mediadores inflamatórios. Tais alterações comprometem a função das células da granulosa, a esteroidogênese, a maturação folicular e a competência oocitária, além de favorecerem a ativação precoce de vias apoptóticas, culminando em atresia folicular e redução da reserva ovariana (Shirafuji et al., 2026).

Apesar dos avanços recentes na área, incluindo estratégias antioxidantes, modulação mitocondrial e intervenções voltadas à preservação da função ovariana, ainda existem limitações importantes no desenvolvimento de terapias eficazes, seguras e acessíveis (Hirano et al., 2025). Nesse cenário, é crescente o interesse científico por compostos naturais com propriedades bioativas que possibilitem terapias integradas.

A dinâmica folicular é controlada por uma complexa rede de sinalização que envolve

comunicação entre oócito e células somáticas, equilíbrio redox, remodelamento da matriz extracelular, regulação hormonal e controle da apoptose folicular. Alterações nesses mecanismos podem comprometer a ativação da reserva ovariana, o crescimento folicular e a maturação oocitária, repercutindo diretamente na fertilidade feminina.

O *Combretum leprosum*, espécie nativa da Caatinga brasileira, destaca-se como uma fonte de metabólitos secundários, especialmente triterpenos, amplamente descritos por suas propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e imunomoduladoras (Santos et al., 2026; Miranda et al., 2022; Renda et al., 2021). Dentre seus derivados, o composto CL-P2 apresenta um perfil biotecnológico relevante, com evidências de segurança pré-clínica e atividade biológica significativa, incluindo efeitos anti-inflamatórios, antinociceptivos e potencial modulador de processos celulares (Nogueira-Júnior et al., 2024; Garcez et al., 2025).

Apesar dos avanços recentes na área, ainda há uma lacuna significativa na literatura quanto à compreensão dos efeitos do CL-P2 sobre a fisiologia reprodutiva feminina, especialmente no que se refere à modulação da foliculogênese e à proteção do tecido ovariano frente a condições inflamatórias e ao estresse oxidativo. A integridade e o desenvolvimento folicular dependem de mecanismos complexos que envolvem proliferação e diferenciação celular, comunicação entre oócito e células somáticas, equilíbrio redox e regulação da apoptose. Alterações nesses processos podem comprometer a dinâmica folicular e, consequentemente, a fertilidade feminina. Nesse contexto, a investigação de compostos bioativos capazes de modular essas vias celulares representa uma estratégia promissora para ampliar a compreensão dos mecanismos que regulam a função ovariana e contribuir para o desenvolvimento de abordagens terapêuticas voltadas à preservação da fertilidade.

Nesse contexto, levanta-se a hipótese de que o CL-P2 possa atuar como um agente modulador da função ovariana, contribuindo para a manutenção da homeostase redox, redução do dano inflamatório e inibição de vias apoptóticas associadas à atresia folicular. Tal abordagem apresenta potencial não apenas para ampliar o conhecimento sobre a interface entre doenças inflamatórias sistêmicas e a função reprodutiva, mas também para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas inovadoras, baseadas em produtos naturais, com aplicabilidade translacional. Dessa forma, o presente estudo se justifica pela necessidade de aprofundar a compreensão dos efeitos sistêmicos da periodontite sobre a fisiologia ovariana e pela relevância de investigar o CL-P2 como uma ferramenta terapêutica promissora na preservação da saúde reprodutiva feminina.

4. HIPÓTESES

4.1 Hipótese do Estudo

O CL-P2 apresenta efeito modulador sobre a fisiologia reprodutiva feminina, atuando na manutenção da homeostase ovariana, na regulação da foliculogênese e na proteção do tecido ovariano frente aos danos induzidos pela inflamação sistêmica e pelo estresse oxidativo em modelo de periodontite induzida em camundongos fêmeas.

4.2 Hipótese Nula (H_0)

O tratamento com CL-P2 não promove alterações significativas na dinâmica folicular, na integridade ovariana ou nos mecanismos celulares associados à inflamação, estresse oxidativo e apoptose em camundongos submetidos à periodontite experimental.

4.3 Hipótese Alternativa (H_1)

O tratamento com CL-P2 promove efeitos benéficos sobre a função ovariana, modulando a dinâmica da foliculogênese, reduzindo danos inflamatórios e oxidativos, preservando a integridade folicular e regulando mecanismos celulares relacionados à apoptose e à sobrevivência folicular em camundongos submetidos à periodontite experimental.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos da periodontite experimental sobre a fisiologia reprodutiva feminina, investigando a influência do CL-P2 na dinâmica da foliculogênese, na viabilidade e morfologia dos folículos ovarianos, bem como na densidade do estroma ovariano de camundongos fêmeas submetidas à periodontite experimental.

5.2 Objetivos específicos

- Apresentar, por meio de revisão da literatura, a relação entre a doença periodontal e a fisiologia reprodutiva feminina.
- Investigar, por análise histológica, os efeitos da periodontite experimental e do CL-P2 sobre a morfologia e a viabilidade dos folículos ovarianos em camundongos fêmeas.
- Avaliar a influência da periodontite e do tratamento com CL-P2 na dinâmica folicular, considerando o quantitativo de folículos ovarianos em diferentes estágios de desenvolvimento.
- Analisar os efeitos do CL-P2 sobre a densidade celular do estroma ovariano de camundongos fêmeas submetidas à periodontite experimental.

ARTIGOS

Esta dissertação está baseada no Artigo 52 do Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará, que regulamenta o formato alternativo para dissertação de mestrado e permite a inserção de artigos científicos de autoria ou coautoria do candidato.

Artigo publicado – Qualis B3 – BIOTECNOLOGIA

International Journal of Health Science - ISSN 2764-0159 vol. 6, n. 3, 2026

DOI <https://doi.org/10.22533/at.ed.1595632602036>

ARTIGO 1: “PATHOPHYSIOLOGICAL BASES OF THE RELATIONSHIP BETWEEN PERIODONTAL DISEASE AND FEMALE FERTILITY”.

Autores: Marcus Vinícius Martins Farias Júnior, Rebecca Beatriz Alves Lima, Ernando Igo Teixeira de Assis, Alessandro Farias de Sá, Ilan Matheus Leandro Araújo, Alana Nogueira Godinho, Jordânia Marques de Oliveira Freire, Mirna Marques Bezerra Brayner, Iracema Matos de Melo, José Roberto Viana Silva e Anderson Weiny Barbalho Silva.

Data de aceite: 04/03/2026

International Journal of Health Science

ISSN 2764-0159 vol. 6, n. 3, 2026

DOI <https://doi.org/10.22533/at.ed.1595632602036>

Biotecnologia - Qualis B3

Pathophysiological bases of the relationship between periodontal disease and female fertility

Marcus Vinícius Martins Farias Júnior

Federal University of Ceará - UFC Sobral; Master's Program in Biotechnology - UFC Sobral Laboratory of Biotechnology and Physiology of Reproduction - LABIREP UFC Sobral; Animal Experimentation Research Center - NUPEX UFC Sobral; Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1937585962422586>

Rebecca Beatriz Alves Lima

Federal University of Ceará - UFC Sobral; Master's Program in Biotechnology - UFC Sobral; Laboratory of Biotechnology and Physiology of Reproduction - LABIREP UFC Sobral; Animal Experimentation Research Center - NUPEX UFC Sobral; Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1298328350354377>

Ernando Igo Teixeira de Assis

Federal University of Ceará - UFC Sobral; PhD in Biotechnology, Graduate Program in Biotechnology - RENORBIO UFC; Animal Experimentation Research Center - NUPEX UFC Sobral; Lattes: <http://lattes.cnpq.br/6413266548790564>

Miguel Fernandes de Lima Neto

Federal University of Ceará - UFC Sobral; Biotechnology Graduate Program - RENORBIO UFC; Laboratory of Biotechnology and Physiology of Reproduction - LABIREP UFC Sobral; Animal Experimentation Research Center - NUPEX UFC Sobral; Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7731529552123675>

Alexsandro Farias de Sá

Federal University of Ceará - UFC Sobral; Dentist graduated from the Federal University of Ceará; Laboratory of Biotechnology and Physiology of Reproduction - LABIREP UFC Sobral; Animal Experimentation Research Center - NUPEX UFC Sobral; Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7778348218444166>

Ilan Matheus Leandro Araújo

Federal University of Ceará - UFC Sobral; Undergraduate Student in Dentistry - UFC Laboratory of Biotechnology and Physiology of Reproduction - LABIREP UFC Sobral; Animal Experimentation Research Center - NUPEX UFC Sobral; Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9253126996306087>

Alana Nogueira Godinho

Federal University of Ceará - UFC Sobral Campus; Veterinarian at the Federal University of Ceará (UFC-Sobral); Master's Program in Biotechnology - UFC Sobral; Animal Experimentation Research Center - NUPEX UFC Sobral; Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3622760059922902>

Jordânia Marques de Oliveira Freire

Federal University of Ceará - UFC Sobral; Master's Program in Biotechnology - UFC Sobral Pharmacology Laboratory of Sobral - LAFS UFC Sobral; Animal Experimentation Research Center - NUPEX UFC Sobral; Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9070055317899542>

Mirna Marques Bezerra Brayner

Federal University of Ceará - UFC Sobral Campus. Sobral Pharmacology Laboratory (LaFS), School of Medicine; Faculty Advisor; Master's Program in Biotechnology - UFC Sobral; Lattes: <http://lattes.cnpq.br/0614961188016863>

Iracema Matos de Melo

Federal University of Ceará - UFC Sobral Campus Faculty Advisor; Master's Program in Health Sciences - UFC Sobral Pharmacology Laboratory of Sobral - LAFS UFC Sobral; Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2231667162671725>

José Roberto Viana Silva

Federal University of Ceará - UFC Sobral Campus Faculty Advisor; Biotechnology Graduate Program - Master's in Biotechnology Laboratory of Biotechnology and Physiology of Reproduction - LABIREP UFC Sobral; Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7013269523847698>

Anderson Weiny Barbalho Silva

Federal University of Ceará - UFC Sobral Campus Faculty Advisor; PhD in Biotechnology; Master's Program in Biotechnology - UFC Sobral Laboratory of Biotechnology and Physiology of Reproduction - LABIREP UFC Sobral Animal Experimentation Research Center - NUPEX UFC Sobral; Lattes: <http://lattes.cnpq.br/0128127271859252> ; e-mail: andersonweiny@sobral.ufc.br

ABSTRACT: Female infertility is a multifactorial condition affecting approximately 17.5% of the world's population. Recently, periodontitis, a chronic inflammatory disease resulting from oral biofilm dysbiosis, has been identified as a critical systemic risk factor. The translocation of pathogens such as *Porphyromonas gingivalis* (Pg) and the release of pro-inflammatory cytokines (TNF- α , IL-1 β) into the bloodstream establish a mechanistic link that compromises the homeostasis of the female reproductive system. To elucidate the immunoinflammatory and molecular mechanisms by which periodontal disease interferes with female fertility, emphasizing the impacts on ovarian physiology and endometrial receptivity. The study is based on a critical analysis of scientific evidence, integrating epidemiological data from the WHO, international classifications of periodontal diseases, and findings from multicenter clinical studies. Furthermore, it utilizes the support of animal experimental models for the analysis of histomorphometric and molecular variables (follicular reserve and hormone receptor expression) that could not be detailed in humans due to ethical limitations. In the reviewed articles, evidence demonstrates that periodontitis significantly increases the time to conception (TTC) from 5.0 to 7.1 months. In addition, at the ovarian level, the inflammatory load induces oxidative stress and mitochondrial dysfunction, promoting follicular apoptosis and oocyte DNA damage. In the uterus, Pg infection and the increase in matrix metalloproteinases (MMP-8) cause an abnormal upregulation of estrogen (ER- α) and progesterone (PR) receptors, preventing decidualization and embryo

implantation. Additionally, periodontal comorbidity acts as an inflammatory amplifier in patients with PCOS and endometriosis, exacerbating the severity of these conditions. Periodontitis acts as an aggressive systemic modulator of reproductive function. The integration between the periodontium and the reproductive axis is sustained by an inflammatory-oxidative cascade that impairs both oocyte quality and the endometrial microenvironment. Therefore, periodontal health must be considered an inseparable pillar of family planning, making dental screening essential in assisted reproduction protocols to optimize the chances of conceptual success.

Keywords: Female infertility; Periodontitis; Oxidative stress; Endometrium; Ovarian reserve; Systemic health.

1. Introduction

Female infertility is clinically defined as the inability to achieve pregnancy after 12 months of regular and unprotected sexual intercourse in women under 35 years of age, or after 6 months in women aged 35 or older (ASRM, 2013). This condition transcends the biological sphere, establishing itself as a global public health issue affecting approximately 17.5% of the adult population (WHO, 2023). The etiology of infertility is multifactorial, encompassing genetic, hormonal, anatomical, immunological, and psychosocial determinants (Crosignani et al., 2009).

In this context, periodontitis, a chronic inflammatory disease that affects the supporting tissues of the teeth, has been increasingly associated with systemic health and female fertility. The underlying mechanisms linking periodontal disease to systemic health include chronic inflammation and immune system dysregulation. The pathology is currently understood as a state of persistent immunological imbalance. The disruption of the gingival barrier facilitates the translocation of pathogens and their byproducts into the bloodstream, triggering a low-grade systemic inflammatory cascade. This condition establishes a mechanistic link with several non-communicable diseases, such as diabetes mellitus and cardiovascular disorders, consolidating periodontitis as a significant risk factor for the instability of global organic homeostasis (Hasan et al., 2025).

The impact of this inflammatory load on the female reproductive axis is primarily mediated by the oxidative stress cascade. The dissemination of pro-inflammatory cytokines and the systemic increase in reactive oxygen species (ROS) find an integrating center of cellular damage in the ovarian mitochondria (Xu et al., 2025). Mitochondrial dysfunction induced by chronic inflammatory stimuli compromises oocyte quality by promoting mitochondrial DNA

mutations and meiotic spindle instabilities. This redox imbalance extends to the uterus and endometrium, where persistent inflammation can alter endometrial receptivity and impair the nidation process, creating a hostile microenvironment for early embryonic development (Dekel et al., 2010; Xu et al., 2025).

Clinical evidence suggests that this inflammatory and oxidative dysregulation can exacerbate the pathogenesis of conditions such as Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) and Endometriosis, both characterized by a persistent systemic inflammatory profile. Studies demonstrate a positive correlation between the severity of periodontitis and the worsening of symptoms in these pathologies, suggesting that oral health directly influences the severity of the reproductive condition (Wang et al., 2023; Zhou et al., 2023). Recently, animal model studies have deepened this understanding by demonstrating that infection by *Porphyromonas gingivalis* (Pg) induces uterine hypertrophy and an abnormal upregulation of estrogen α (ER- α) and progesterone (PR) receptors, resulting in a lower number of births and nidation failures (Kamei-Nagata et al., 2025).

Despite the growing body of evidence, a significant gap remains in interdisciplinary care, as oral health is frequently neglected in infertility investigation protocols. The vulnerability lies in the fact that asymptomatic oral inflammatory processes can sabotage reproductive interventions without being diagnosed, highlighting the urgent need to integrate periodontal care into family planning. In this scenario, the use of animal experimental models becomes imperative, as it allows for the investigation of the chronology of follicular and uterine degradation under inflammatory stress in a controlled manner.

Given the ethical complexity of investigating such mechanisms in humans, the use of animal models is fundamental. These models allow for rigorous control of variables and detailed histomorphometric analysis of ovarian and uterine structures, enabling an understanding of how induced periodontitis impacts follicular reserve and reproductive functionality at molecular and tissue levels. Such models enable the analysis of mechanistic variables that, due to ethical and methodological limitations, could not be detailed in clinical studies with humans, conferring upon this dissertation a fundamental role in understanding the reproductive pathophysiology associated with periodontitis (Sá et al., 2025).

Thus, the present chapter aims to highlight the immunoinflammatory and molecular mechanisms by which periodontal disease compromises female fertility, focusing on the ovarian

and endometrial impact. It seeks to clarify the importance of preserving periodontal health as an essential adjuvant strategy for maintaining the homeostasis of the reproductive system, providing insights for an integrated clinical approach aimed at protecting the follicular reserve and optimizing the uterine environment for successful conception.

2. Pathophysiology of Periodontal Disease

According to the classification of the World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-implant Diseases and Conditions (2017), periodontal pathologies are primarily divided into gingivitis and periodontitis. While gingivitis represents a reversible inflammatory response, its therapeutic neglect culminates in progressive degenerative changes in the supporting tissues.

In individuals with a healthy periodontium and regular oral hygiene habits, an eubiotic biofilm is observed, characterized by its structural immaturity and constant renewal. This condition prevents the establishment of pathogenic bacterial communities and maintains a microbial environment compatible with periodontal health. In these cases, Gram-positive cocci and bacilli predominate, especially streptococci, along with representatives of the so-called yellow, blue, green, and purple bacterial complexes, whose presence is associated with a stable and non-inflammatory oral ecosystem (Pérez-Chaparro et al., 2014).

This balance, however, can be compromised through neglect in oral hygiene care. The reduction in the mechanical removal of the biofilm favors its maturation and colonization by microorganisms with greater pathogenic potential that belong to the "Red Complex," such as *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, and *Treponema denticola* (Figure 1), characterizing a process of dysbiosis (Socransky et al., 1998; Carrizales-Sepúlveda et al., 2018). Therefore, periodontitis can be understood as a clinical manifestation of an ecological imbalance in the subgingival biofilm (Van Dyke et al., 2020).

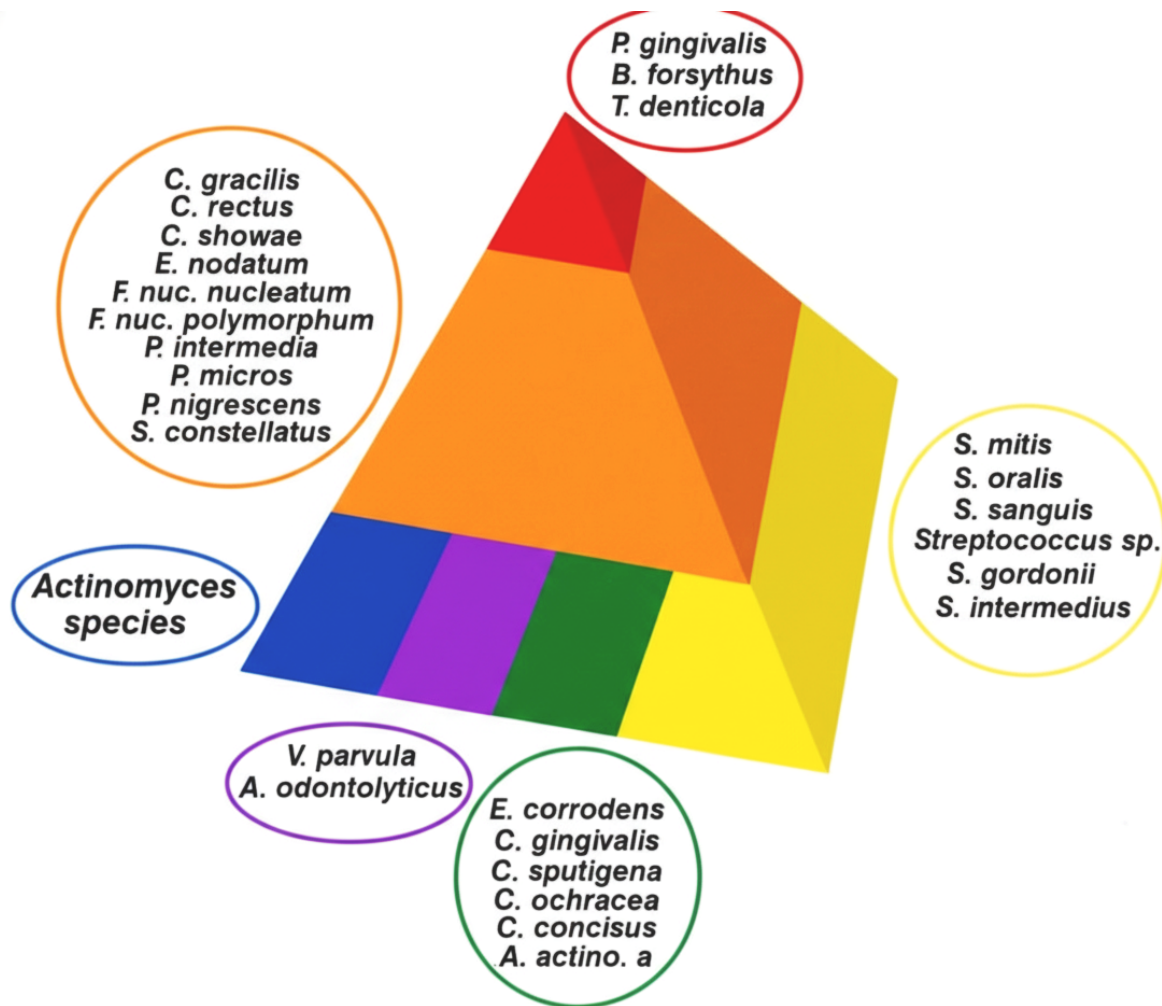


Figure 1: Classification of periodontal microbial complexes adapted from Socransky et al. (1998), highlighting the bacterial distribution in chromatic complexes according to their correlation with periodontal health and periodontitis severity.

Bacterial colonization begins in the cervical regions of the teeth, where the dentogingival plaque provides a microenvironment conducive to the proliferation and protection of these microorganisms, even against topical antimicrobial agents. Bacterial adhesion to oral surfaces and host cells occurs through specific structures, such as fimbriae and LPS molecules, which function as adhesins and enable interaction with cellular receptors. This interaction not only favors the persistence of pathogens in the oral environment but also triggers host immune responses (Socransky et al., 1998; Carrizales-Sepúlveda et al., 2018).

The presence of periodontal pathogens in the oral cavity, through their virulence factors, promotes the activation of various immune system cells, including T and B lymphocytes, macrophages, and neutrophils (Yucel-Lindberg; Båge, 2013). These cells represent the initial line

of defense, being rapidly recruited to the site of infection (Valerio; Kirkwood, 2018), where they initiate the production of pro-inflammatory cytokines to eliminate pathogenic microorganisms and enhance the host's immune response (Mantovani et al., 2019).

As a result of this immune activation, there is a release of inflammatory mediators, such as $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, IL-8 , and prostaglandin E2 (PGE2) (Figure 2), which exert direct effects on the destruction of periodontal tissues (Garlet et al., 2010). Furthermore, this process stimulates the production of matrix metalloproteinases (MMPs), enzymes responsible for the degradation of the collagen fibers that support the periodontium (Pan et al., 2019).

Among these cytokines, IL-1 , IL-8 , and $\text{TNF-}\alpha$ play an important role in the continuous recruitment of neutrophils to the inflammatory site, perpetuating local inflammation. IL-1 , in particular, also induces the expression of the receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand (RANKL) in osteoblasts and T-helper lymphocytes, promoting osteoclast differentiation and favoring the process of alveolar bone resorption (Pan et al., 2019).

From a histological perspective, periodontal inflammation leads to the destruction of the bone crest in the coronary region, the degradation of periodontal ligament fibers, and the apical migration of the junctional epithelium from the cemento-enamel junction. The inflammatory process also spreads to the tissues adjacent to the periodontal pocket, worsening tissue damage (Kinane et al., 2017).

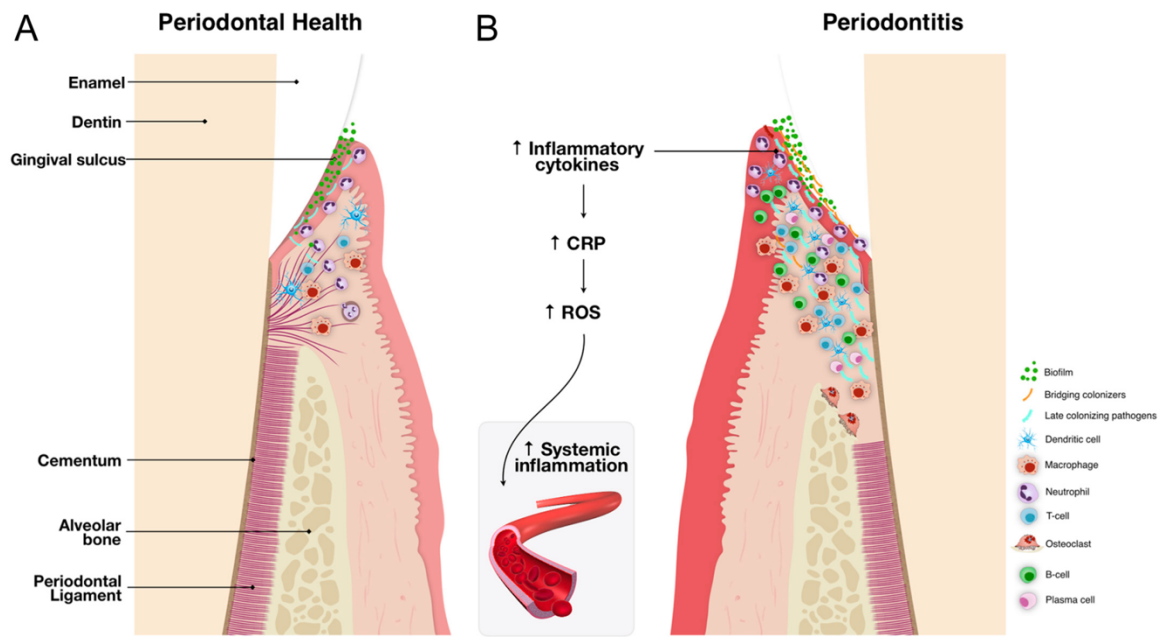


Figure 2: Illustrative scheme of the pathogenesis of periodontitis, showing the activation of the inflammatory response induced by the subgingival biofilm, the release of pro-inflammatory cytokines, and the mechanisms involved in alveolar bone resorption. Adapted from Machado et al. (2020).

2.1 Systemic Impact of Periodontitis on Ovarian Physiology

Periodontitis, due to its systemic inflammatory nature, exerts an impact that extends beyond the limits of the oral cavity, influencing distant organic structures. The progression of this disease is closely associated with the release of pro-inflammatory mediators and reactive oxygen species (ROS) which, upon reaching the bloodstream, destabilize systemic homeostasis (Pouliou et al., 2024). In the periodontium, this condition acts as a catalyst for the destruction of supporting tissues, while at the cellular level, it promotes the degradation of proteins, nucleic acids, and membrane lipids (Almerich-Silla et al., 2015).

To counter this aggression, the organism mobilizes a complex antioxidant arsenal, including the enzymes superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) (Novakovic et al., 2014). However, when the inflammatory load is persistent, as in chronic periodontitis, this redox balance is violated, generating negative repercussions in the ovarian microenvironment (James et al., 2023). In this scenario, mitochondria act as an integrating center that connects oxidative stress to cellular aging. As elucidated by Xu et al. (2025), the mitochondrial genome

(mtDNA) is significantly more vulnerable to oxidative attack than nuclear DNA, both due to its proximity to the respiratory chain and the absence of protective histones.

This vulnerability is exacerbated by the fact that ROS can inhibit the activity of DNA polymerase gamma (POLG), the primary enzyme for mtDNA replication and repair. Under oxidative stress, the efficiency of this enzyme can be reduced by up to 50%, resulting in the accumulation of mutations, such as the formation of 8-oxo-guanine, and the progressive depletion of mitochondrial content (Xu et al., 2025). This ovarian energetic collapse triggers the intrinsic apoptosis pathway (Figure 3) via the release of cytochrome c (Barbalho et al., 2024).

Interestingly, ROS exhibit an ambivalent character in fertility; at controlled levels, they function as essential messengers for meiosis and ovulation (Ribas et al., 2022). However, in excess, they become pathogenic mediators associated with conditions such as endometriosis and polycystic ovary syndrome (Weng et al., 2023). Oocyte vulnerability is intensified by ovarian senescence, as the long meiotic arrest increases exposure to accumulated damage (Wu et al., 2022). Xu et al. (2025) reinforce that this mitochondrial deterioration is a primary determinant of premature cellular aging, inducing instabilities in the meiotic spindle and failures in cytoskeleton dynamics (Zhang et al., 2018; Xu et al., 2025). Such alterations increase the incidence of chromosomal segregation errors, culminating in a sharp decline in oocyte competence and female reproductive efficacy (Yang et al., 2020).

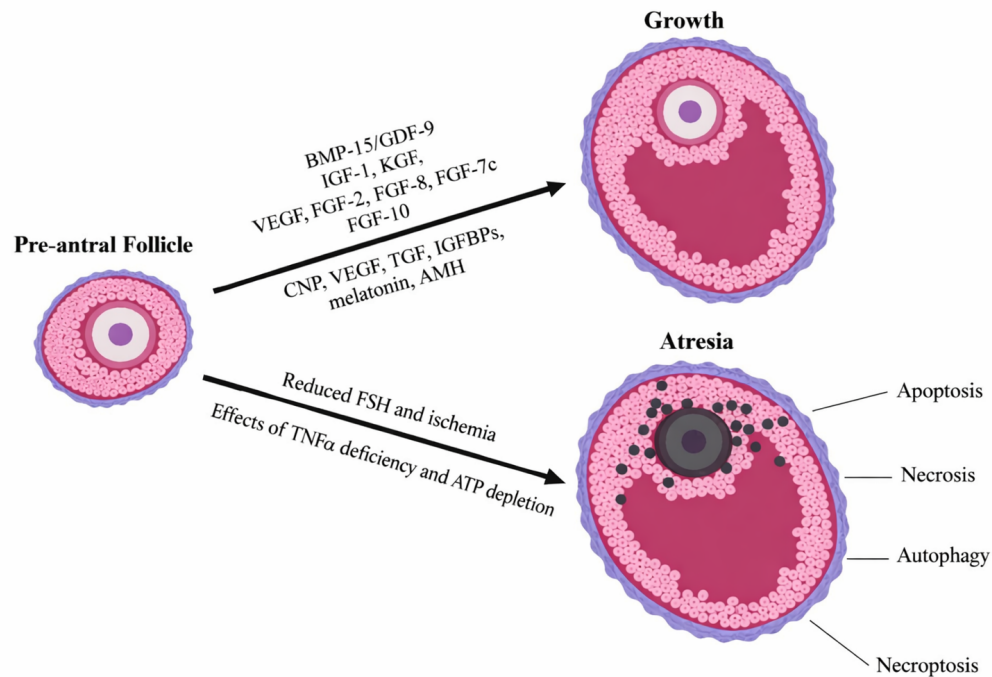


Figure 3: Schematic representation of mitochondrial dysfunction resulting from ovarian energy collapse, culminating in the activation of the intrinsic apoptosis pathway, mediated by the release of cytochrome c and apoptosome formation. Adapted from Barbalho et al. (2024).

In view of this, we highlight that cytokines resulting from the periodontitis process, as well as hormonal changes, are involved in the death of ovarian follicles starting from the secondary follicle stage (Fraser et al., 2006).

2.2 Molecular Mechanisms of Periodontal Disease and Clinical Repercussions on Human Fertility

Female subfertility has a multifactorial etiology, classically associated with advancing chronological age, high body mass index (BMI), and deleterious lifestyle habits. However, recent investigations have positioned periodontal health as an important determinant of time to conception (TTC). Evidence from the multicenter SMILE study, analyzed by Hart et al. (2012), demonstrates that Periodontal Disease (PD) exerts a deleterious influence on the speed of spontaneous conception. Women diagnosed with the pathology presented a mean TTC of 7.1 months, in contrast to the 5.0 months observed in healthy individuals ($P=0.019$). The clinical relevance of this condition is reinforced by its higher prevalence (34.9%) in the group that exceeded the 12-month threshold to conceive, suggesting that oral inflammation acts as an underlying risk factor for clinical infertility.

From a molecular and risk analysis perspective, Nwhator et al. (2014) quantified the impact of this inflammation on the probability of reproductive success. By correlating the Community Periodontal Index (CPI) with the expression of Matrix Metalloproteinase-8 (MMP-8), the authors observed that an increase in gingival inflammation reduces the chances of pregnancy by 52% (OR: 0.482; $P=0.02$). In cases of advanced periodontitis, the prognosis becomes even more reserved, with an 84% reduction in the probability of conception (OR: 0.157; $P<0.01$). It is important to note that although the logistic regression model confirmed the impact of age—with a 15% decline in fertility for each year (OR: 0.842; $P<0.01$)—the periodontal variable remained a significant independent predictor.

This inflammatory profile and tissue degradation state, evidenced by high MMP-8 activity, are frequently stimulated by specific microbiological activities. Paju et al. (2017) pointed out that the prevalence of the bacterium *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) in saliva is significantly higher in women who did not succeed in conceiving (8.3% vs. 2.1%; $P=0.032$). Beyond bacterial presence, the host's immune response proves decisive, as the detection of high salivary antibody titers (IgA and IgG) against *Pg* increases the risk of reproductive failure over one year by 3.75 times.

Kamei-Nagata et al. (2025) established that *Pg* acts as a direct disruptor of uterine physiology through its hematogenous dissemination. The pathogen and its lipopolysaccharides (LPS) induce an abnormal and persistent upregulation of estrogen receptor alpha (ER- α) and progesterone receptors (PR) in the endometrium. This molecular disorder prevents the hormonal "silencing" necessary for decidualization, keeping the uterus in a constant proliferative state that renders the implantation window unfeasible. Consequently, the saturation of these receptors nullifies the functional competence of the endometrium, resulting in successive nidation failures and consolidating periodontitis as a critical biological risk factor for female infertility (Kamei-Nagata et al., 2025).

Corroborating these findings, Machado et al. (2020) demonstrated that women referred to fertility clinics presented significantly greater periodontal impairment than the general population. Paradoxically, despite the worse objective clinical condition, these women reported higher levels of oral health-related quality of life compared to the control group. This dissociation between clinical parameters and self-perception suggests a possible cognitive bias or prioritization of goals, in which concern for fertility may reduce subjective sensitivity to periodontal inflammatory signs. This phenomenon reinforces the hypothesis of functional underdiagnosis of periodontitis in this

group, supporting the need for systematic periodontal screening in reproductive evaluation contexts.

This scenario of low clinical perception is echoed in global epidemiological data. The World Health Organization (WHO) estimates that severe forms of periodontal disease affect approximately 19% of the global adult population, exceeding one billion cases worldwide. However, patient recognition of the pathology is disproportionate to its prevalence: according to Wiernik et al. (2024), only 19% of individuals at risk of severe periodontitis are aware of their condition. From a critical standpoint, this perception gap suggests that the psychological urgency for motherhood may intensify a "blind spot" regarding the oral inflammatory state, where the prioritization of immediate reproductive goals relegates asymptomatic oral conditions to the background (Machado et al., 2020).

Thus, periodontitis should be understood as a potentially underestimated systemic factor in the context of female infertility. While therapeutic approaches focus predominantly on hormonal modulation and uterine structural assessment, the persistence of a chronic inflammatory state of periodontal origin may act as a relevant intervening variable. The systemic inflammatory load resulting from untreated periodontium tends to increase the production of pro-inflammatory cytokines and immunological mediators capable of altering endometrial homeostasis. Considering that uterine receptivity depends on a finely regulated immunological balance an indispensable condition for the opening of the implantation window and for adequate decidualization, any systemic inflammatory dysregulation can compromise nidation and reduce the probability of reproductive success (Dekel et al., 2010).

2.3 The Periodontium–Ovary–Endometrium Interface in Female Subfertility

2.3.1 Polycystic Ovary Syndrome (PCOS)

Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) is an endocrine disorder of complex etiology, centered on the imbalance of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. The pathognomonic feature of this condition is the resistance of the Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH) pulse generator to the negative feedback exerted by progesterone. Consequently, there is a disproportionate secretion of Luteinizing Hormone (LH) relative to Follicle-Stimulating Hormone (FSH), which overstimulates thecal steroidogenesis and results in hyperandrogenemia, interrupting follicular maturation and culminating in chronic anovulation and infertility (Karoline et al., 2025).

Beyond hormonal changes, PCOS is inseparable from a low-grade systemic inflammatory state and metabolic dysfunctions, such as insulin resistance. This immunometabolic profile establishes a two-way street with Periodontal Disease (PD), as both pathologies share identical pro-inflammatory mediators. Women with PCOS frequently present elevated levels of C-Reactive Protein (CRP), Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF- α), and Interleukin-6 (IL-6), creating a systemic environment that heightens the inflammatory response in gingival tissues (Machado et al., 2020).

Literature suggests that the severity of periodontal destruction in PCOS patients is mediated by a pathological triad: subclinical inflammation, oxidative stress, and glycemic instability in the gingival crevicular fluid (Dursun et al., 2011). In this scenario, it is noteworthy that besides PCOS, comorbidities such as Metabolic Syndrome and Diabetes Mellitus act as catalysts, intensifying bone attachment loss and tissue degradation (Preshaw et al., 2012; Nibali et al., 2013).

This synergistic interaction promotes a feedback loop: while PCOS inflammation weakens the oral immune barrier, periodontal bacteremia and the translocation of bacterial byproducts into circulation sustain the pathogenesis of PCOS (Akcali et al., 2017). Reinforcing this molecular connection, Varghese et al. (2019) demonstrated that periodontal comorbidity functions as a potent inflammatory amplifier, doubling the salivary concentration of IL-6 in women with PCOS. Such findings suggest that oral biofilm control may be an important adjuvant strategy to mitigate insulin resistance and ovulatory dysfunctions.

2.3.2 Endometriosis

Currently, science proposes the existence of a periodontium-uterine axis, where endometriosis and periodontitis share an inflammatory identity based on the disruption of immunological homeostasis. Classic epidemiological data have already shown that an endometriosis diagnosis increases the probability of periodontal pathologies by 57% (Kavoussi et al., 2009). However, recent evidence suggests that this relationship transcends mere coexistence: the severity of oral tissue destruction is significantly more pronounced in women with active endometrial foci, indicating a systemic catabolic synergy (Thomas et al., 2018; Machado et al., 2020).

The chronic nature of both diseases serves as the biological pillar of this interaction. In endometriosis, the pelvic microenvironment becomes a production center for cytokines (IL-1 β ,

IL-6, IL-8, and TNF- α) that, via circulation, induce hypersensitivity in the periodontium. Conversely, periodontitis acts as a catalyst for endometrial progression. Through hematogenous dissemination, pathogens such as *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* can translocate to the peritoneum (Katz et al., 2009; Song et al., 2024). Once in the pelvic cavity, these microorganisms trigger immune reactions that favor the attachment of endometrial tissue to ectopic sites.

Oxidative stress and molecular signaling consolidate this definitive link. While ROS-rich peritoneal fluid promotes genomic damage and lesion angiogenesis, the periodontal response generates an excess of free radicals that activate transcription factors such as NF- κ B and AP-1 (Arunachalam et al., 2015; Thomas et al., 2018). This activation regulates pro-inflammatory genes and matrix metalloproteinases, responsible for both alveolar bone resorption and uterine environment instability. In this sense, periodontitis acts as an aggressive systemic modulator, capable of elevating the inflammatory profile necessary for the maintenance and progression of endometriosis (Song et al., 2024).

The consequence of this inflammatory imbalance is the instability of the uterine microenvironment, with impairment to decidualization, endometrial receptivity, and embryonic implantation. In this scenario, periodontitis configures itself as a systemic modulator of the inflammatory response, potentiating molecular pathways that favor the maintenance and progression of endometriosis and, consequently, compromise female reproductive competence (Song et al., 2024).

3. Final Considerations

The present study demonstrated that periodontitis acts as a systemic modulator with direct repercussions on female reproductive physiology. The interaction between the periodontium and reproductive organs, particularly the ovary and endometrium, is sustained by an inflammatory-oxidative axis characterized by the persistent release of pro-inflammatory cytokines and reactive oxygen species. This favors mitochondrial dysfunction in ovarian tissue, impacting cellular bioenergetics and oocyte quality, while simultaneously compromising the endometrial immunological homeostasis required for adequate uterine receptivity. These mechanisms contribute to embryonic implantation failures, providing evidence that links periodontitis to female subfertility.

Clinically, these findings highlight that oral health should not be neglected in assisted reproduction protocols or family planning. The identification of oral pathogens in uterine tissues reinforces the need for interdisciplinary action between dental surgeons and reproductive health professionals. Periodontal management before and during pregnancy presents itself as a primary prevention strategy to optimize time to conception and reduce inflammatory states that exacerbate pathologies such as PCOS and endometriosis.

Although available studies have elucidated relevant mechanisms relating periodontal inflammation to reproductive dysfunction, a significant gap remains regarding the temporality and sequence of these molecular changes. In this sense, the use of animal models remains vital for controlling variables and testing therapies aimed at recovering reproductive functionality under inflammatory stress.

Therefore, the preservation of periodontal health is an inseparable pillar of global reproductive health. The integration of dental care into family planning has the potential to reduce the biological and social burden of infertility, ensuring a favorable biological environment for successful conception. In view of the above, maintaining periodontal integrity can contribute to modulating the systemic inflammatory load and preserving the immunological and endocrine balance necessary for health and reproductive competence.

References

- Akcalı A, Bostanci N, Özçaka Ö, Gümüş P, Öztürk-Ceyhan B, Tervahartiala T, et al. Inflamação gengival e enzimas salivares ou séricos secretadas por granulócitos em pacientes com síndrome dos ovários policísticos. *Jornal de Periodontologia*. 2017;88:1145–52.
- Almerich-Silla JM, Montiel-Company JM, Pastor S, et al. Oxidative stress parameters in saliva and its association with periodontal disease and types of bacteria. *Dis Markers*. 2015;2015:653537.
- Arunachalam R, Reshma AP, Rajeev V, Kurra SB, Prince MR, Syam N. 8-Hydroxydeoxyguanosine salivar – um indicador valioso para dano oxidativo ao DNA na doença periodontal. *Saudi J Dent Res*. 2015;6(1):15–20.
- Barbalho EC, Barrozo LG, de Assis EIT, Nascimento D, Paulino LRFM, Silva JRV. Aquisição da dependência de gonadotrofinas pelos folículos antrais iniciais e os desafios para promover o seu crescimento in vitro. *Ciênc Anim Bras*. 2024;25:e-75908E.

- Carrizales-Sepúlveda EF, Ordaz-Farías A, Vera-Pineda R, Flores-Ramírez R. Periodontal disease, systemic inflammation and the risk of cardiovascular disease. *Heart Lung Circ*. 2018;27(11):1327-34.
- Crosignani PG, Collins JA. Unexplained infertility: a review of diagnosis, prognosis, treatment efficacy and management. *Int J Androl*. 2009;32(3):209-19.
- Dekel N, Gnainsky Y, Granot I, Mor G. The role of inflammation in human endometrium and early pregnancy. *Nat Rev Endocrinol*. 2010;6(9):526-35.
- Dursun E, Akalın FA, Güncü GN, Çnar N, Aksoy DY, Tözüm TF, et al. Doença periodontal na síndrome do ovário policístico. *Fertil Steril*. 2011;95:320–3.
- Fraser HM. Regulation of the ovarian follicular vasculature. *Reprod Biol Endocrinol*. 2006;4:1–9.
- Garlet GP. Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: a re-appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. *J Dent Res*. 2010;89:1349–63.
- Hart R, Doherty DA, Pennell CE, Newnham IA, Newnham JP. Periodontal disease: a potential modifiable risk factor limiting conception. *Hum Reprod*. 2012;27(5):1332-42.
- Hasan F, Tandon A, AlQallaf H, et al. Inflammatory Association between Periodontal Disease and Systemic Health. *Inflammation*. 2025;48:3763–75.
- James KA, et al. Understanding the relationships between physiological and psychosocial stress, cortisol and cognition. *Front Endocrinol*. 2023;14:1085950.
- Kamei-Nagata C, Omori K, Sako H, Sakaida K, Nakayama MA, Ohara T, et al. Periodontitis associated with *Porphyromonas gingivalis* infection is a risk factor for infertility through uterine hypertrophy. *Sci Rep*. 2025;15(1):34964.
- Karoline G, Zen Zortéa B, Cassettari Fontanella R, et al. Idade e Fertilidade Humana: impactos em mulheres e homens, preservação da fertilidade e reprodução assistida na idade materna avançada. *Braz J Implantol Health Sci*. 2025.
- Katz J, Chegini N, Shiverick KT, Lamont RJ. Localização de *P. gingivalis* na placenta de parto prematuro. *J Dent Res*. 2009;88:575–8.
- Kavoussi SK, West BT, Taylor GW, Lebovic DI. Periodontal disease and endometriosis: analysis of the National Health and Nutrition Examination Survey. *Fertil Steril*. 2009;91(2):335–42.
- Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3:17038.
- Machado V, Botelho J, Proença L, Mendes JJ. Comparisons of Periodontal Status between Females Referenced for Fertility Treatment and Fertile Counterparts: A Pilot Case-Control Study. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(15):5281.

- Machado V, Lopes J, Patrão M, Botelho J, Proença L, Mendes JJ. Validade da associação entre periodontite e condições de infertilidade feminina: uma revisão concisa. *Reprodução*. 2020;160(3):R41-R54.
- Mantovani A, Dinarello CA, Molgora M, Garlanda C. Interleukin-1 and related cytokines in the regulation of inflammation and immunity. *Immunity*. 2019;50:778–95.
- Nibali L, Tatarakis N, Needleman I, Tu YK, D'Aiuto F, Rizzo M, et al. Revisão clínica: associação entre síndrome metabólica e periodontite: uma revisão sistemática e meta-análise. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98:913–20.
- Novakovic N, Todorovic T, Rakic M, et al. Salivary antioxidants as periodontal biomarkers in evaluation of tissue status and treatment outcome. *J Periodontal Res*. 2014;49(1):129-136.
- Nwhator S, Opeodu O, Ayanbadejo P, Umezudike K, Olamijulo J, Alade G, et al. Could periodontitis affect time to conception? *Ann Med Health Sci Res*. 2014;4(5):817-22.
- Paju S, Oittinen J, Haapala H, Asikainen S, Paavonen J, Pussinen PJ. *Porphyromonas gingivalis* may interfere with conception in women. *J Oral Microbiol*. 2017;9(1):1330644.
- Pan W, Wang Q, Chen Q. The cytokine network involved in the host immune response to periodontitis. *Int J Oral Sci*. 2019;11:30.
- Pérez-Chaparro PJ, Gonçalves C, Figueiredo LC, Faveri M, Lobão E, Tamashiro N, et al. Newly identified pathogens associated with periodontitis: a systematic review. *J Dent Res*. 2014;93:846–58.
- Pouliou C, Piperi C. Advances of Oxidative Stress Impact in Periodontitis: Biomarkers and Effective Targeting Options. *Curr Med Chem*. 2024;31(38):6187-203.
- Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2013;99(1):63.
- Preshaw PM, Alba AL, Herrera D, Jepsen S, Konstantinidis A, Makrilakis K, et al. Periodontite e diabetes: um relacionamento bidirecional. *Diabetologia*. 2012;55:21–31.
- Ribas DN, et al. Morphological classification of cumulus-oocyte complexes and in vitro embryo production outcomes. *Anim Reprod*. 2022;19(2):e22096.
- Sá AF, Gomes DF, Araújo IML, Lima RBA, Vasconcelos ALC, Monteiro JC, et al. The Effects of Dexamethasone on Periodontitis and the Influence of this Disease in Development and Survival of Mice Ovarian Follicles. *Arch Curr Res Int*. 2025;25(4):273-86.
- Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent Jr RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*. 1998;25:134–44.

Song J, Xiao L, Zhang Z, Wang Y, Kouis P, Rasmussen LJ, et al. Effects of reactive oxygen species and mitochondrial dysfunction on reproductive aging. *Front Cell Dev Biol*. 2024;12:1347286.

Thomas V, Uppoor AS, Pralhad S, Naik DG, Kushtagi P. Towards a common etiopathogenesis: periodontal disease and endometriosis. *J Hum Reprod Sci*. 2018;11(3):269–73.

Van Dyke TE, Bartold PM, Reynolds EC. The Nexus between periodontal inflammation and Dysbiosis. *Front Immunol*. 2020;11:511.

Varghese A, Balu P, RS S, Muthu J, Vineela K. Salivary interleukin-6 levels among polycystic ovary syndrome patients with and without chronic periodontitis - a comparative study. *Contemp Clin Dent*. 2019;10(3):498-501.

Waddington RJ, Moseley R, Embery G. Reactive oxygen species: a potential role in the pathogenesis of periodontal diseases. *Oral Dis*. 2000;6(3):138-151.

Wang F, Yin Y, Nie X, Zou Y, Tong X, Tong Y, et al. Protocatechuic acid alleviates polycystic ovary syndrome symptoms in mice by PI3K signaling in granulosa cells to relieve ROS pressure and apoptosis. *Gynecol Endocrinol*. 2023;39:2228917.

Weng Y, Zhang Y, Wang D, Wang R, Xiang Z, Shen S, et al. Exercise-induced irisin improves follicular dysfunction by inhibiting IRE1 α -TXNIP/ROS-NLRP3 pathway in PCOS. *J Ovarian Res*. 2023;16:151.

Wiernik E, Renuy A, Kab S, Steg PG, Goldberg M, Zins M, et al. Prevalence of self-reported severe periodontitis: Data from the population-based CONSTANCES cohort. *J Clin Periodontol*. 2024;51(7):884-94.

World Health Organization. Infertility prevalence estimates, 1990–2021. Geneva: World Health Organization; 2023.

Wu YW, Li S, Zheng W, Li YC, Chen L, Zhou Y, et al. Dynamic mRNA degradome analyses indicate a role of histone H3K4 trimethylation in association with meiosis-coupled mRNA decay in oocyte aging. *Nat Commun*. 2022;13:3191.

Xu X, Pang Y, Fan X. Mitochondria in oxidative stress, inflammation and aging: from mechanisms to therapeutic advances. *Sig Transduct Target Ther*. 2025;10:190.

Yang Q, Cong L, Wang Y, Luo X, Li H, Wang H, et al. Increasing ovarian NAD(+) levels improve mitochondrial functions and reverse ovarian aging. *Free Radic Biol Med*. 2020;156:1–10.

Yucel-Lindberg T, Båge T. Inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontitis. *Expert Rev Mol Med*. 2013;15:e7.

Zhang Y, Wang C, Jin Y, Yang Q, Meng Q, Liu Q, et al. Activating the PGC-1 α /TERT pathway by catalpol ameliorates atherosclerosis via modulating ROS production, DNA damage, and telomere

function: implications on mitochondria and telomere link. *Oxid Med Cell Longev*. 2018;2018:2876350.

Zhou LH, Zou H, Hao JY, Huang Y, Zhang J N, Xu XH, et al. Metformin inhibits ovarian granular cell pyroptosis through the miR-670-3p/NOX2/ROS pathway. *Aging (Albany NY)*. 2023;15:4429–43.

ARTIGO 2

Modulação da periodontite por um triterpeno semissintético (CL-P2) e suas consequências para a foliculogênese ovariana em camundongos fêmeas swiss

Marcus Vinícius Martins Farias Júnior¹, Erika Vanessa Farias dos Santos², Ernando Igo Teixeira de Assis, Alana Nogueira Godinho¹, Jordânia Marques de Oliveira Freire², Mirna Marques Bezerra Brayner², Iracema Matos de Melo², José Roberto Viana Silva¹ e Anderson Weiny Barbalho Silva¹.

¹Laboratory of Biotechnology and Physiology of Reproduction (LABIREP), Federal University of Ceara, Sobral, Brazil; Nucleus of Research in Animal Experimentation (NUPEX), Federal University of Ceara, Sobral, Brazil. ²Pharmacology Laboratory (LaFS), School of Medicine: Faculty Advisor, Master's Program in Biotechnology - Federal University of Ceará - UFC Sobral Campus.

Correspondence to: Laboratory of Biotechnology and Physiology of Reproduction, Federal University of Ceara, Av. Maurocéllo Rocha Ponte 100, Sobral, CE 62041-040, Brazil.

e-mail: andersonweiny@sobral.ufc.br

Artigo a ser submetido ao periódico: *Frontiers in Reproductive Health* – Qualis B1 – Biotecnologia; <https://www.frontiersin.org/about/mission>

RESUMO

O triterpeno semissintético 3 β ,6 β ,16 β -tripropioniloxi-lup-20(29)-eno (CL-P2), derivado da espécie *Combretum leprosum*, apresenta potencial farmacológico associado às suas propriedades anti-inflamatórias e moduladoras teciduais. Considerando que a periodontite consiste em uma doença inflamatória crônica capaz de desencadear repercussões sistêmicas e comprometer a homeostase ovariana, este estudo teve como objetivo investigar os efeitos do CL-P2 incorporado em hidrogel sobre a dinâmica folicular ovariana em camundongas Swiss submetidas à periodontite experimental. Foram utilizadas 48 camundongas Swiss distribuídas em quatro grupos experimentais: naive, periodontite tratada com solução salina, periodontite tratada com hidrogel contendo CL-P2 na dose de 1 mg e periodontite tratada com CL-P2 na dose de 10 mg. A periodontite foi induzida por ligadura bilateral nos primeiros molares inferiores, seguida de aplicação tópica do hidrogel durante 14 dias. Ao final do período experimental, os ovários foram

coletados, processados histologicamente e avaliados quanto à viabilidade folicular, desenvolvimento folicular e densidade de células estromais. Os resultados demonstraram que o tratamento com CL-P2 preservou a integridade morfológica dos folículos ovarianos, sem evidências de citotoxicidade ou degeneração folicular significativa. A dose de 10 mg promoveu redução significativa no percentual de folículos primordiais, acompanhada por aumento proporcional de folículos em desenvolvimento, sugerindo ativação controlada da reserva folicular. Além disso, o grupo tratado com CL-P2 na dose de 10 mg apresentou maior densidade de células estromais em comparação aos grupos periodontite não tratada e CL-P2 1 mg, aproximando-se do padrão observado no grupo naïve. Esses achados indicam que o CL-P2 pode exercer efeito modulador positivo sobre o microambiente ovariano em condições inflamatórias sistêmicas, favorecendo a manutenção da foliculogênese e da organização estromal.

Palavras chaves: Periodontite; foliculogênese; triterpeno semissintético; murino; perda óssea alveolar

INTRODUÇÃO

A interconexão entre patologias orais e desordens sistêmicas tem se consolidado como um dos campos mais dinâmicos da pesquisa biomédica contemporânea (Wu et al., 2026). Dentre essas condições, a periodontite destaca-se como uma doença imuno-inflamatória crônica de alta prevalência, resultante da disbiose do biofilme dental que culmina na destruição progressiva dos tecidos de suporte dentário. Para além da perda de inserção local, a periodontite atua como um foco persistente de mediadores pró-inflamatórios que, ao atingirem a circulação sistêmica, interferem na homeostase de órgãos distantes. Recentemente, evidências têm apontado que esse estado inflamatório de baixo grau apresenta repercussões deletérias na fisiologia reprodutiva feminina, afetando particularmente a foliculogênese e a competência oocitária (Kles et al., 2026).

O status inflamatório sistêmico crônico gera estresse oxidativo através da produção excessiva de espécies reativas de oxigênio mediada por citocinas pró-inflamatórias, resultando em danos patológicos aos tecidos reprodutivos, incluindo parada meiótica em oócitos, apoptose de células granulosa, disfunção do corpo lúteo e envelhecimento ovariano acelerado que potencialmente desencadeia a não disjunção cromossômica e prejudica a competência de desenvolvimento do embrião (Wetzel et al., 2026).

Nesse cenário, a farmacologia de produtos naturais desponta como uma alternativa promissora, utilizando a biodiversidade como uma fonte diversificada de metabólitos secundários com alta especificidade biológica e perfis de segurança favoráveis (Roustaei et al., 2023). No contexto brasileiro, destaca-se a espécie *Combretum leprosum* Mart. (Combretaceae), popularmente conhecida como "mofumbo". Tradicionalmente utilizada na medicina popular por suas múltiplas propriedades, o potencial terapêutico desta planta tem sido validado cientificamente através do isolamento de triterpenos pentacíclicos do tipo lupano (Oliveira et al., 2026). A partir do triterpeno natural 3 β ,6 β ,16 β -triidroxilup-20(29)-eno (CL-1), isolado da casca ou cerne do *C. leprosum*, obteve-se por via semissintética o derivado esterificado 3 β ,6 β ,16 β -tripropioniloxilup-20(29)-eno, designado como CL-P2 (Garcez et al., 2025).

O CL-P2 tem demonstrado um perfil biotecnológico promissor e segurança pré-clínica estabelecida. Investigações *in vitro* e *in silico* revelaram que este composto possui notável potencial osteogênico, interagindo com proteínas-chave como a BMP-2, componentes da via WNT e o eixo RANK-L/OPG, o que favorece a proliferação e mineralização de osteoblastos (Nogueira-Júnior et al., 2024). Além disso, o CL-P2 exibiu potente atividade anti-inflamatória e antinociceptiva, além de um efeito antirreabsortivo em modelos de osteoporose induzida por glicocorticoides, preservando a microarquitetura óssea e elevando a densidade mineral (Garcez et al., 2025).

A convergência entre a Periodontia Experimental, a Biologia da Reprodução e a Farmacologia de Produtos Naturais estabelece uma perspectiva multidimensional para o manejo da inflamação crônica. Ao investigar o potencial do CL-P2 em um modelo de periodontite induzida, este estudo propõe-se a elucidar se a modulação da carga inflamatória sistêmica e a proteção tecidual local são capazes de mitigar danos ao microambiente ovariano. Tal abordagem busca fundamentar novas estratégias de intervenção que conectem a saúde bucal à preservação da homeostase reprodutiva feminina, preenchendo uma lacuna crítica entre o tratamento de patologias orais e a manutenção de funções sistêmicas vitais.

METODOLOGIA

Ferramenta Farmacológica

As amostras de *Combretum leprosum* Mart. foram coletadas em abril de 2022, na localidade de Sítio São Bento, município de Mombaça, Ceará. O acesso ao patrimônio genético

foi devidamente registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN, nº AC6B01F), com foco na investigação de suas propriedades protetoras.

O composto CL-P2 é um derivado semissintético obtido a partir do triterpeno isolado 3 β ,6 β ,16 β -triidroxilup-20(29)-eno (CL-1). O desenvolvimento e as modificações estruturais para a obtenção do CL-P2 foram realizados pelos professores Dr. Francisco Geraldo Barbosa e Dr. Jair Mafezoli, no Laboratório de Fitoquímica Aplicada (LABFITO) da Universidade Federal do Ceará (UFC).

A preparação do derivado semissintético CL-P2 consistiu na reação de acilação do triterpeno CL-1, o qual foi previamente isolado das inflorescências de *Combretum leprosum* Mart. O procedimento iniciou-se com a solubilização de 100 mg (0,218 mmol) de CL-1 em 2,2 mL de diclorometano (CH₂Cl₂) anidro, no interior de um balão de 25 mL, contendo também 26,59 mg (0,22 mmol) de 4-dimimetilpiridina (DMAP). Na sequência, introduziram-se ao meio reacional 91 μ L (1,041 mmol) de cloreto de propanoila (C₃H₅OCl) e 31 μ L (0,22 mmol) de trietilamina (Et₃N) (Garcez et al., 2025).

O sistema permaneceu sob agitação contínua, em temperatura ambiente, sendo o progresso reacional monitorado por cromatografia em camada delgada (CCD) ao longo de 10 horas. Uma vez constatado o término da reação, o solvente foi removido sob pressão reduzida em evaporador rotativo. O resíduo bruto remanescente (231 mg) foi submetido à purificação por cromatografia líquida de coluna *flash* (coluna com 1,5 cm de diâmetro preenchida com 13 g de sílica gel), empregando como sistema eluente a mistura de hexano/acetato de etila/metanol na proporção de 9:0,5:0,5. Ao final, o produto triacilado CL-P2 foi isolado como uma resina incolor, apresentando um rendimento reacional de 57,80% (Garcez et al., 2025).

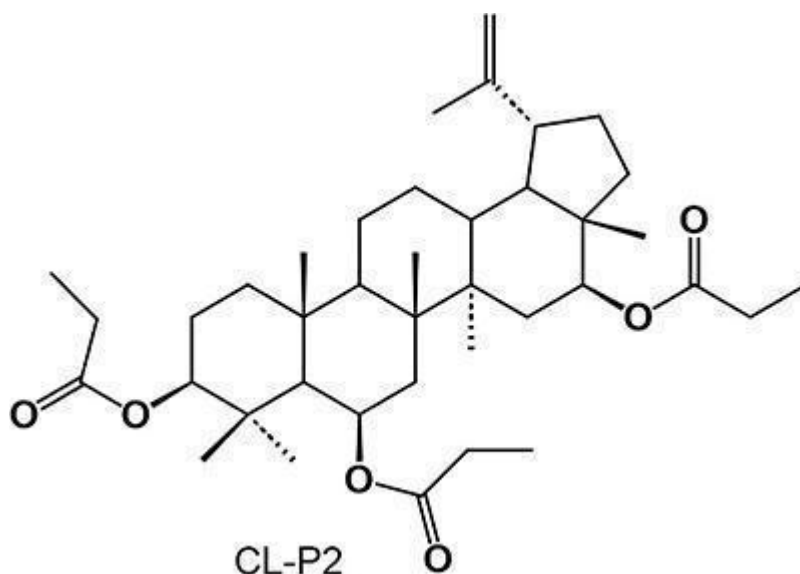


Figura 1 - Estrutura química do triterpeno semissintético CL-P2

Fonte: Garcez et al., 2025

Animais

Foram utilizadas 48 camundongas *Swiss*, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará (UFC) e do Biotério Local da Faculdade de Medicina de Sobral (UFC – Campus Sobral). Os animais foram alojados em gaiolas de polietileno (n=6 por gaiola; duas gaiolas por grupo experimental), forradas com maravalha e mantidas sob temperatura controlada ($23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$) e ciclo claro/escuro de 12/12 h.

Ressalta-se que a sala de alojamento estava equipada com sistema de exaustão para assegurar a qualidade do ar. Os animais tiveram acesso *ad libitum* a água filtrada e ração padrão (Nuvilab). As camundongas foram distribuídas aleatoriamente em quatro grupos experimentais, conforme detalhado na Tabela 1:

Tabela 1 - Distribuição dos grupos experimentais.

GRUPO	DESCRIÇÃO	ABORDAGEM EXPERIMENTAL
G1	Naive	Não tratados
G2	Periodontite + Salina	Periodontite + solução salina
G3	1 mg	Periodontite + hidrogel CL-P2 (1mg)
G4	10 mg	Periodontite + hidrogel CL-P2 (10mg)

Fonte: O Autor.

Ensaio de toxicidade oral aguda

Nosso grupo realizou o ensaio de toxicidade oral aguda seguindo o Procedimento Up-and-Down nº 425 da Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD, 2008). O teste consistiu na administração oral do composto em dose única, com concentração máxima de 2000 mg/kg (ou 5000 mg/kg quando aplicável), seguida de observação clínica dos animais por um período de até 14 dias. Durante esse período, foram monitorados sinais de toxicidade, alterações comportamentais e mortalidade, permitindo a estimativa da dose letal média (DL50) e a classificação toxicológica segundo os critérios do Sistema Globalmente Harmonizado (GHS). CL-P2 não causou mortalidade, perda de peso e nem alterações comportamentais significativas. Estes achados estão em acordo com a literatura que aponta para a segurança dos triterpenos em modelos *in vivo* (Lima et al., 2012; Farias et al., 2015).

Modelo experimental

Após duas semanas de aclimação, os camundongos foram submetidos a periodontite experimental.

Inicialmente, os animais foram anestesiados com cloridrato de cetamina (90 mg / kg de peso corporal) e xilazina (10 mg / kg de peso corporal) por via intraperitoneal (i.p). Em seguida foi realizada a inserção bilateral de ligadura nos primeiros molares inferiores, utilizando fio de sutura de algodão 5-0, material escolhido pela sua elevada capacidade de retenção de biofilme. O fio foi posicionado de forma a circundar o dente, com as extremidades unidas por um nó localizado na

face vestibular, permitindo que a ligadura permaneça supragengival na região vestibular e subgengival na face lingual, favorecendo o acúmulo bacteriano e o desencadeamento do processo inflamatório (CASATI et al., 2013; CORRÊA et al., 2018).

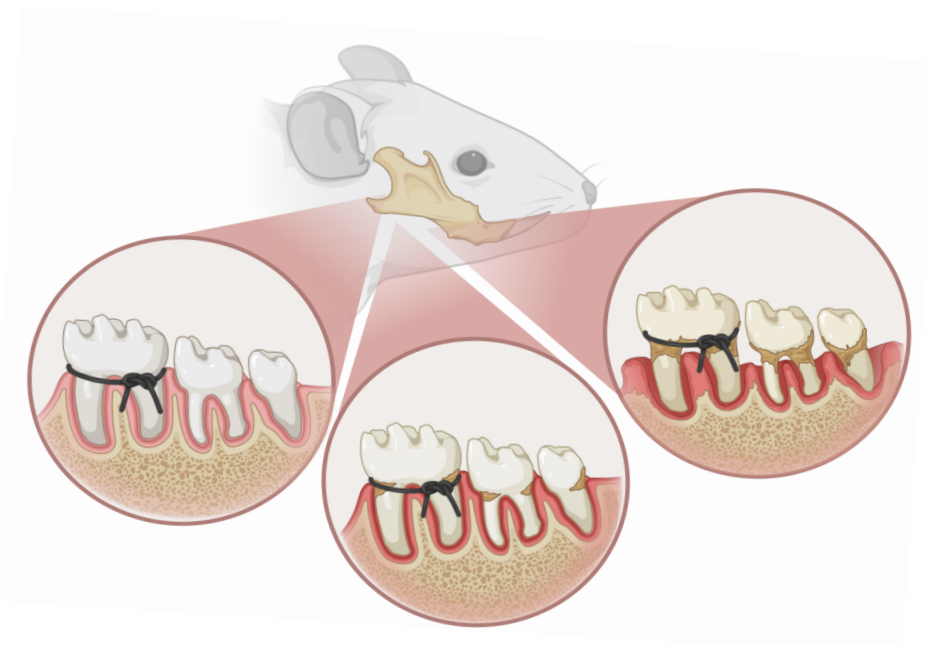


Figura 2. Representação esquemática da indução de periodontite experimental em modelo murino por meio da colocação de ligadura ao redor dos molares. O procedimento favorece o acúmulo de biofilme bacteriano e desencadeia resposta inflamatória local, promovendo destruição progressiva dos tecidos periodontais, incluindo inflamação gengival, formação de bolsa periodontal e reabsorção óssea alveolar.

Fonte: O autor.

Os animais que foram submetidos a periodontite experimental receberam o hidrogel imediatamente após a indução da doença, seguido por duas aplicações diárias totalizando o período de 14 dias.

No 15º dia os animais foram eutanasiados por overdose anestésica. Cada animal recebeu o triplo da dose anestésica: Ketamina 300mg/kg + Xilazina 30mg/kg (via peritoneal). Feito isso, os ovários foram coletados para análise de sobrevivência e desenvolvimento de folículos ovarianos.

Processamento Histológico e Análise Morfométrica Ovariana

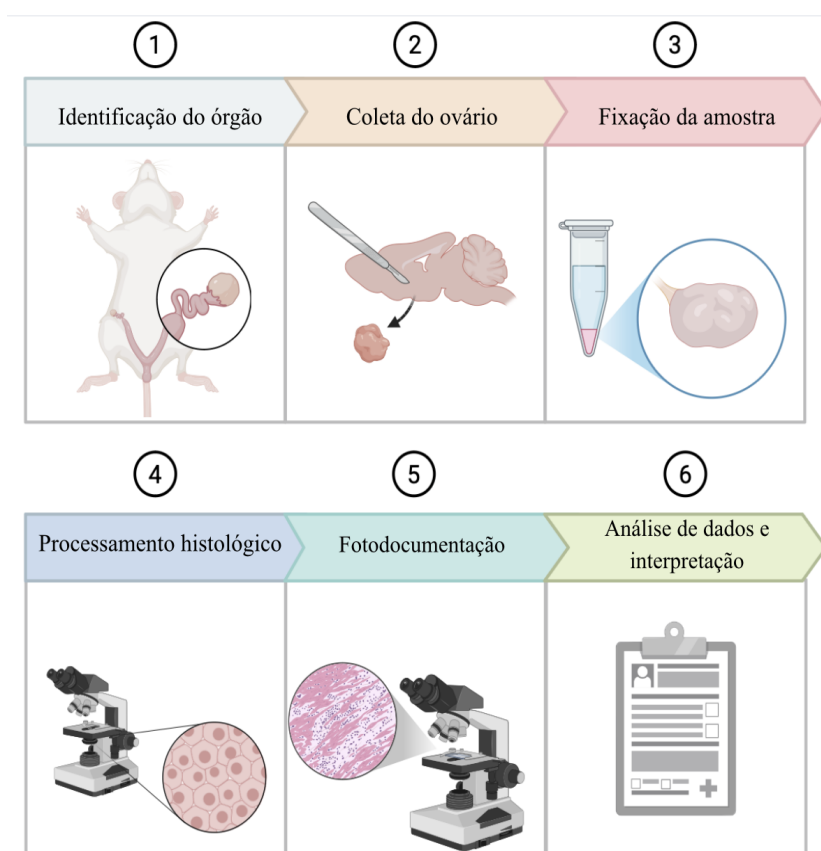


Figura 3. Fluxograma representativo das etapas de coleta, processamento e análise histológica dos ovários em modelo experimental murino. Inicialmente, realizou-se a identificação anatômica do órgão e a coleta dos ovários, seguida da fixação das amostras para preservação da arquitetura tecidual. Posteriormente, os tecidos foram submetidos ao processamento histológico, incluindo inclusão, microtomia e coloração, permitindo a fotodocumentação das lâminas histológicas e a posterior análise morfológica e interpretação dos dados relacionados à dinâmica folicular e ao estroma ovariano.

Fonte: O autor.

Após a finalização do período experimental, os ovários foram coletados, fixados em paraformaldeído a 4%, desidratados em uma série gradual de etanol (70%; 80%; 90%; 100%), clarificados com xilol e incluídos em parafina. Para cada ovário, foram montados fragmentos de 7 μ m em lâminas e seccionados utilizando o método de hematoxilina e eosina. As lâminas foram examinadas em um microscópio (Nikon, Eclipse, TS 100, Japan) com aumentos de 100x e 400x.

As análises histopatológicas dos ovários foram realizadas com objetivo de avaliar a citotoxicidade do composto com relação aos padrões morfológicos de viabilidade (normais ou

degenerados), crescimento e desenvolvimento folicular. Para isso, os folículos foram classificados em primordiais (oócito circundado por uma camada de células da granulosa pavimentosa), primários (oócito circundado por uma camada de células da granulosa cuboides), secundários (oócito circundado por duas ou mais camadas de células da granulosa cuboides) e terciários (oócito circundado por várias camadas de células da granulosa com presença de complexo cumulus oócito e cavidade antral bem desenvolvida). Além disso, os folículos foram classificados individualmente como morfologicamente normais aqueles que apresentaram oócito íntegro, envolto por células da granulosa bem organizadas e ausentes de alterações nucleares, como picnose, e citoplasmáticas. Por outro lado, foram considerados degenerados os folículos que apresentarem sinais de retração do oócito, núcleo picnótico e/ou desorganização das células da granulosa, incluindo sua separação da membrana basal.

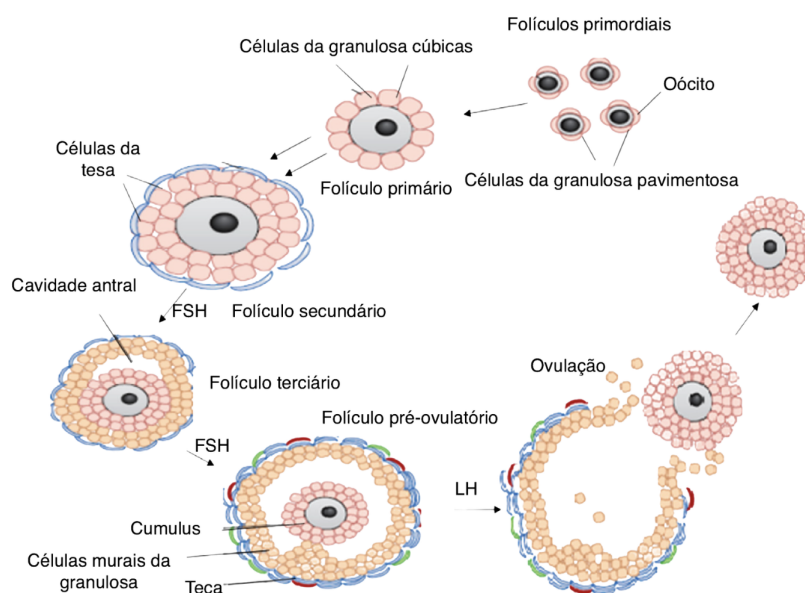


Figura 4. Representação esquemática da foliculogênese e dos principais estágios do desenvolvimento folicular ovariano. O processo inicia-se com os folículos primordiais, constituídos por oócitos circundados por células da granulosa pavimentosa, evoluindo para os estágios de folículo primário, secundário e terciário, caracterizados pela proliferação das células da granulosa, diferenciação das células da teca e formação da cavidade antral. Sob influência hormonal, especialmente do FSH e LH, ocorre o desenvolvimento do folículo pré-ovulatório, culminando na ovulação do oócito maduro.

Fonte: Adaptado de Guerreiro et al., 2015.

No total, aproximadamente 150 folículos foram avaliados para cada tratamento. As porcentagens de folículos normais ou degenerados, bem como as de folículos primordiais e em desenvolvimento, foram calculadas antes e depois do protocolo experimental. As porcentagens de

folículos normais ou degenerados, bem como o percentual de folículos primordiais e em desenvolvimento, foram calculados antes (grupo controle) e após o protocolo experimental.

Análise da densidade de células estromais ovarianas

A densidade de células estromais ovarianas foi avaliada por meio da quantificação celular em áreas padronizadas de 100 μm^2 em cortes histológicos de tecido ovariano, conforme metodologia adaptada de Cavalcante et al. (2019). Para cada grupo experimental, foram analisados 10 campos histológicos aleatórios, obtidos a partir de amostras provenientes de oito animais distintos. As análises foram realizadas utilizando imagens histológicas digitalizadas, considerando exclusivamente regiões representativas do estroma ovariano. Todas as avaliações e mensurações foram conduzidas por um único avaliador previamente treinado, visando reduzir variações interobservador e garantir maior padronização das análises.

Análise morfométrica das mandíbulas

Após a eutanásia, as mandíbulas dos animais foram coletadas e imersas em solução de formol tamponado a 10% por um período de 24 horas para fixação dos tecidos. Posteriormente, as arcadas mandibulares foram divididas em hemiarcadas, sendo a hemiarcada direita submetida à dissecação e coloração com azul de metileno a 1%, procedimento utilizado para facilitar a distinção entre as estruturas dentárias e o tecido ósseo alveolar, que apresentam menor intensidade de coloração (Lima et al., 2000; Lima et al., 2004). Para a avaliação da perda óssea alveolar, as hemiarcadas foram posicionadas sobre lâminas utilizando massa de modelar, de modo a padronizar a orientação para aquisição das imagens fotográficas. As fotografias obtidas foram analisadas com auxílio do software ImageJ (versão 1.44p, National Institutes of Health, EUA). A quantificação da reabsorção óssea foi realizada por meio da mensuração da área compreendida entre a junção cimento-esmalte (JCE) e a crista óssea alveolar remanescente. Os valores obtidos foram calibrados utilizando uma área de referência previamente estabelecida ($5 \times 5 \text{ mm}^2$), conforme metodologia descrita por Kuhr et al. (2004).

Análise estatística

No que se refere a análise estatística da avaliação histopatológica dos ovários, foi utilizado o programa GraphPad Prisma versão 10.0. Os dados referentes a morfologia (percentual de folículos

normais e degenerados), bem como os dados de desenvolvimento folicular (primordial, primário, secundário e terciário), foram avaliados usando o teste qui-quadrado. Os dados de densidade de estroma foram avaliados usando a análise de variância ANOVA. Os resultados foram expressos como média $\pm$ E.P.M. (variáveis com distribuição normal). As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

Análise do efeito do hidrogel CL-P2 e da periodontite sobre a sobrevivência e desenvolvimento de folículos ovarianos de camundongas

A avaliação da viabilidade folicular após o tratamento com o triterpeno semissintético $3\beta,6\beta,16\beta$ -tripropioniloxi-lup-20(29)-eno (CL-P2) demonstrou que as doses administradas (1 mg/kg e 10 mg/kg) promoveram a manutenção da integridade morfológica dos folículos ovarianos ao final do período experimental. Os grupos tratados preservaram os percentuais de folículos morfolologicamente normais similares ao grupo controle. Além disso, não foram observadas alterações histopatológicas sugestivas de degeneração folicular ou comprometimento estrutural do tecido ovariano, indicando que o tratamento com CL-P2 não exerceu efeitos deletérios sobre a sobrevivência e o desenvolvimento folicular nas condições experimentais avaliadas.

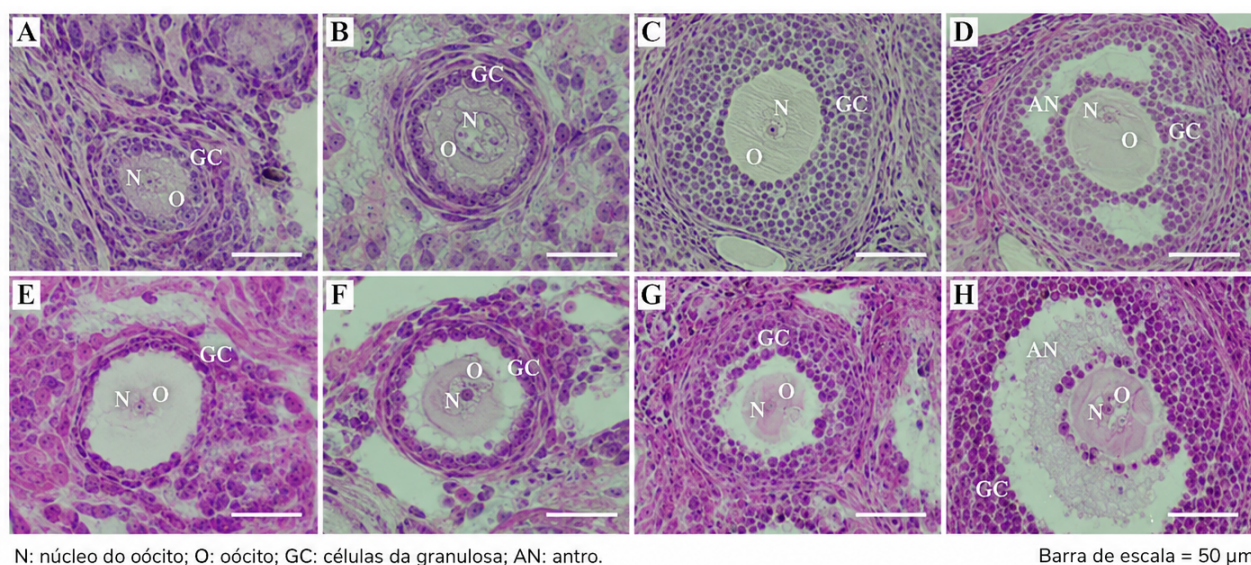


Figura 5. A imagem mostra a morfologia (A-H) e os percentuais de folículos morfologicamente normais (I) no grupo controle (NT - não tratado) e em amostras tratadas por 14 dias com CL-P2 (1 mg/kg ou 10 mg/kg). As imagens de histologia ilustram os folículos ovarianos avaliados como normais (A-D) ou degenerados (E-H), sendo primordiais (A-E), primários (B-F), secundários (C-G) e terciários (D-H). A escala de imagem utilizada é de 50 µm. O gráfico demonstra o percentual de folículos normais e o total de folículos observados nos grupos NAIVE, NT, CL-P2 1 mg e CL-P2 10 mg, apresentando valores ajustados em escala percentual de 0 a 100%. N: núcleo do oócito; O: oócito; GC: células da granulosa; AN: antro. Barra de escala = 50 µm. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais ($p > 0,05$; ANOVA seguida do teste de Bonferroni).

No que tange à ativação da reserva folicular, o tratamento com 10 mg/kg de CL-P2 promoveu uma redução significativa no percentual de folículos primordiais em comparação ao grupo controle. Observou-se aumento correspondente na proporção de folículos em desenvolvimento. Não foram identificadas diferenças significativas no desenvolvimento folicular subsequente entre os grupos tratados.

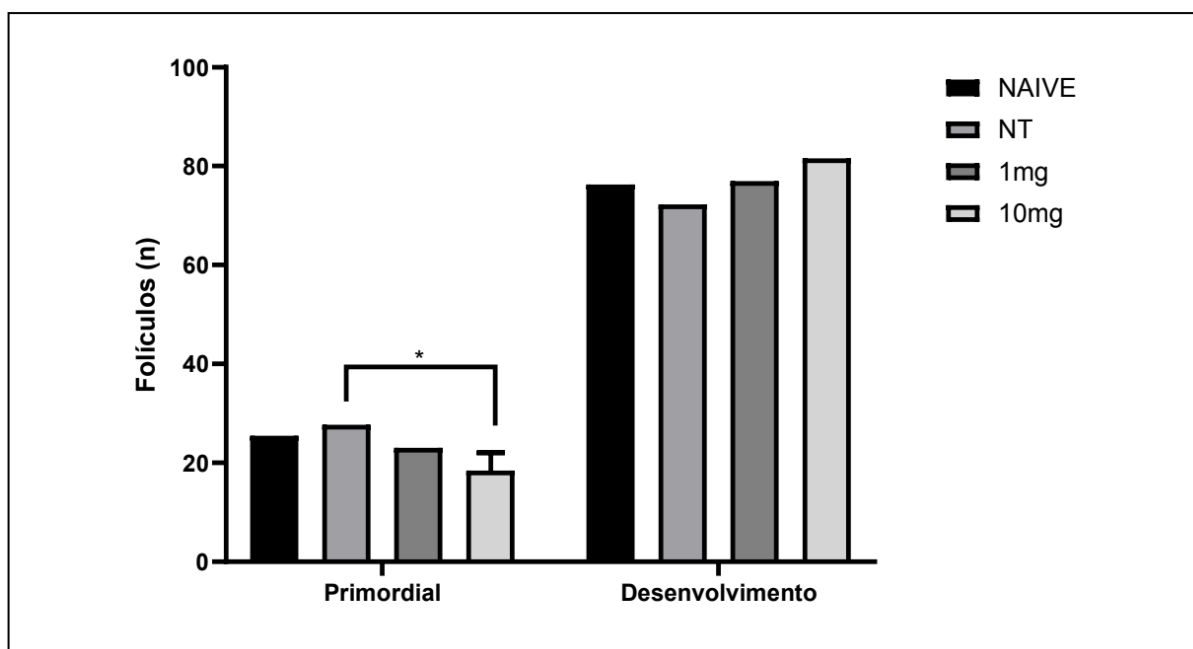


Figura 6. Incidência de folículos primordiais e folículos em desenvolvimento em ovários de camundongos tratadas com 3 β ,6 β ,16 β -tripropioniloxi-lup-20(29)-eno (CL-P2). Observou-se redução significativa do percentual de folículos primordiais no grupo tratado com 10 mg de CL-P2 em comparação ao grupo controle ($p < 0,05$), sugerindo ativação da reserva folicular. Em contrapartida, os grupos tratados apresentaram aumento proporcional de folículos em desenvolvimento, sem diferenças estatisticamente significativas entre si ($p > 0,05$). Esses achados indicam que o CL-P2 favorece a dinâmica folicular sem evidências de comprometimento da integridade ovariana ou efeitos deletérios sobre a foliculogênese. Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão. Análise estatística realizada por ANOVA seguida do teste de Bonferroni. $p < 0,05$. Fonte: O autor.

Análise do efeito do hidrogel CL-P2 e da periodontite sobre a densidade de células do estroma de camundongos fêmeas

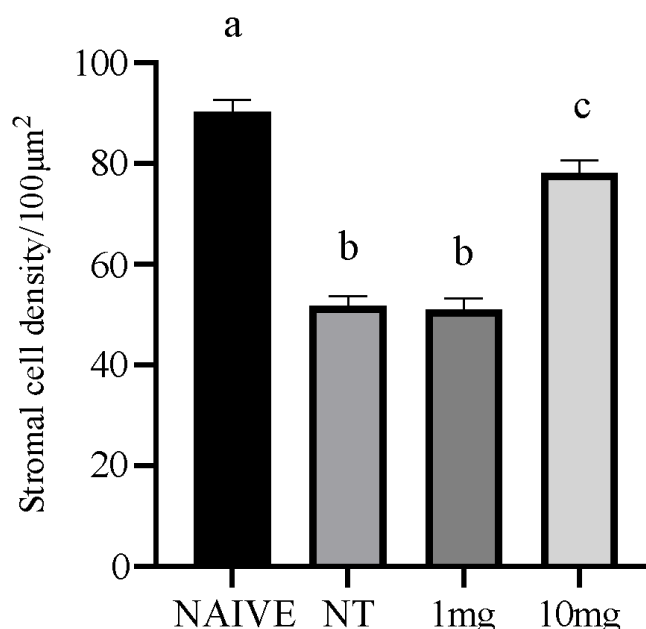


Figura 7. Densidade de células estromais ovarianas em camundongos fêmeas submetidas aos tratamentos experimentais com CL-P2. Os grupos NT e CL-P2 1 mg apresentaram redução significativa da densidade celular em comparação ao grupo NAIVE ($p < 0,05$). Em contraste, o grupo tratado com CL-P2 10 mg demonstrou aumento significativo da densidade de células estromais em relação aos grupos NT e CL-P2 1 mg ($p < 0,05$), sugerindo efeito modulador do composto sobre o estroma ovariano. Os dados estão expressos como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa entre os grupos (ANOVA seguida do teste de Bonferroni, $p < 0,05$). Fonte: O autor.

Densidade de células estromais em ovários de camundongos fêmeas submetidas aos tratamentos experimentais com 3 β ,6 β ,16 β -tripropioniloxi-lup-20(29)-eno (CL-P2). Observou-se redução significativa da densidade celular estromal nos grupos NT e CL-P2 1 mg em comparação ao grupo NAIVE ($p < 0,05$). Por outro lado, o grupo tratado com CL-P2 10 mg apresentou aumento significativo da densidade de células estromais em relação aos grupos NT e CL-P2 1 mg ($p < 0,05$), aproximando-se dos valores observados no grupo controle (Figura 7). Esses achados sugerem um possível efeito dose-dependente do CL-P2 sobre a manutenção da integridade e organização do estroma ovariano, indicando potencial ação moduladora do composto sobre o microambiente tecidual ovariano em condições inflamatórias (Figura 8). Os dados estão expressos

como média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa entre os grupos (ANOVA seguida do teste de Bonferroni, $p < 0,05$).

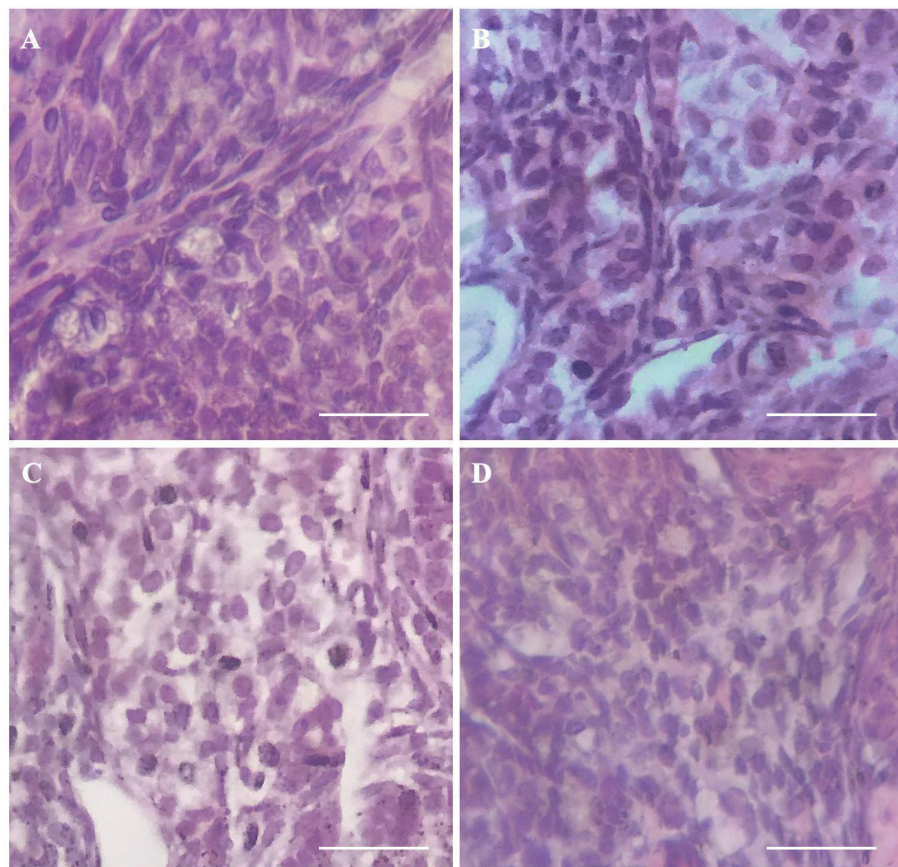


Figura 8. Fotomicrografias representativas do estroma ovariano de camundongos fêmeas submetidas aos diferentes tratamentos experimentais: (A) grupo NAIVE; (B) grupo NT (periodontite experimental); (C) grupo tratado com CL-P2 na dose de 1 mg; e (D) grupo tratado com CL-P2 na dose de 10 mg. Observam-se diferenças na densidade celular estromal entre os grupos experimentais, com redução aparente da celularidade nos grupos NT e CL-P2 1 mg, enquanto o grupo tratado com CL-P2 10 mg apresentou maior organização e densidade celular do estroma ovariano. Cortes histológicos corados por hematoxilina e eosina (HE). Barra de escala = 50 μ m. Fonte: O autor.

Efeito do CL-P2 sobre a Perda Óssea Alveolar

No que se refere a análise morfométrica, estudos recentes do nosso grupo de pesquisa, mostraram que os animais submetidos ao tratamento com hidrogel contendo CL-P2 (10 mg) apresentaram redução significativa da reabsorção óssea alveolar quando comparados ao grupo não tratado (NT). Esse achado sugere que o CL-P2 exerceu efeito osteoprotetor frente à destruição tecidual induzida pela periodontite experimental, contribuindo para a preservação das estruturas de suporte dentário (Figura 9C – dados não publicados – Farias dos Santos, 2024). Nesse contexto, a redução da perda óssea alveolar observada após o tratamento com CL-P2 sugere um efeito local sobre os tecidos periodontais, bem como um potencial impacto na modulação da resposta inflamatória sistêmica, criando condições mais favoráveis para a preservação da fisiologia ovariana e desenvolvimento folicular.

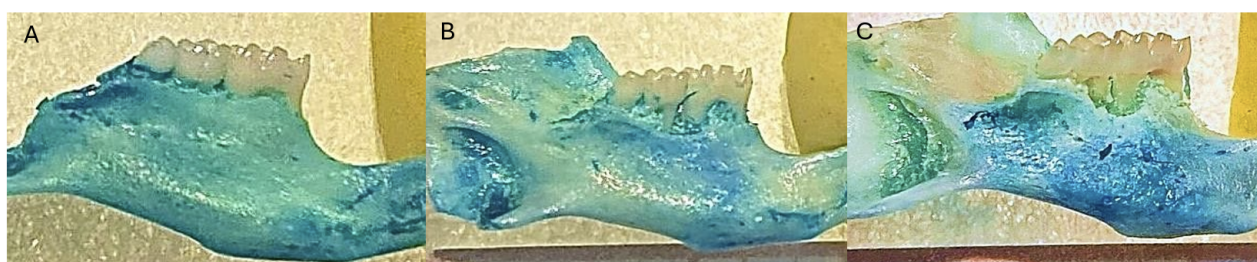


Figura 9. Avaliação macroscópica dos efeitos do hidrogel contendo 3β,6β,16β-tripropioniloxilup-20(29)-eno (CL-P2; 10 mg/g) sobre a perda óssea alveolar em modelo experimental de periodontite induzida por ligadura em camundongos fêmeas. (A) Aspecto mandibular representativo do grupo NAIVE, evidenciando preservação dos tecidos periodontais; (B) Animal pertencente ao grupo não tratado (NT), apresentando acentuada destruição óssea alveolar decorrente do processo inflamatório periodontal; (C) Mandíbula de animal tratado com CL-P2 (10 mg/g), demonstrando atenuação da reabsorção óssea em comparação ao grupo NT. * $p < 0,05$ em relação ao grupo NAIVE; ** $p < 0,05$ em relação ao grupo NT (Adaptado de Farias dos Santos, 2024).

DISCUSSÃO

A preservação da morfologia folicular, associada à redução de folículos primordiais e ao aumento de folículos em desenvolvimento, sugere que o CL-P2 não exerce efeitos citotóxicos sobre o tecido ovariano. Esse perfil indica possível estímulo ao recrutamento folicular de forma

controlada, favorecendo o processo de foliculogênese sem comprometer a integridade estrutural dos folículos. Além disso, os achados sugerem que o composto pode atuar na modulação da atividade da reserva ovariana e na manutenção da homeostase reprodutiva, especialmente em condições associadas ao estresse oxidativo e à inflamação sistêmica em um modelo de periodontite induzida.

A ativação folicular constitui um processo dependente da interação coordenada entre oócito, células da granulosa e componentes da matriz extracelular do microambiente ovariano. A transição dos folículos primordiais para estágios iniciais de crescimento envolve complexas vias de sinalização parácrina e autócrina responsáveis pela manutenção da homeostase folicular, sobrevivência celular e controle da dinâmica da reserva ovariana (De Souza Santana et al., 2025). No presente estudo, a administração de CL-P2 na dose de 10 mg promoveu redução significativa da proporção de folículos primordiais, acompanhada pelo aumento do percentual de folículos em desenvolvimento, sugerindo estímulo ao recrutamento folicular inicial sem comprometimento da integridade morfológica ovariana.

Esse perfil morfofuncional indica que o triterpeno semissintético pode atuar como modulador positivo da ativação folicular, possivelmente influenciando mecanismos relacionados à comunicação bidirecional entre oócito e células da granulosa, considerada etapa essencial para o desencadeamento da foliculogênese inicial. Além disso, os achados sugerem potencial participação do CL-P2 na regulação de vias associadas ao equilíbrio redox, sobrevivência celular e manutenção do microambiente ovariano, fatores reconhecidamente envolvidos na preservação da competência folicular e da função reprodutiva (Zhang et al., 2014).

A análise morfométrica das mandíbulas demonstrou que o tratamento com CL-P2 reduziu significativamente a perda óssea alveolar, evidenciando sua capacidade de atenuar o processo inflamatório periodontal e preservar a integridade dos tecidos de suporte dentário. Considerando que a periodontite é reconhecida como uma importante fonte de mediadores pró-inflamatórios sistêmicos e de estresse oxidativo, a redução da inflamação local pode ter contribuído para minimizar seus efeitos deletérios sobre o microambiente ovariano. Dessa forma, a melhora do quadro periodontal observada nos animais tratados pode estar relacionada à preservação da homeostase reprodutiva e ao padrão de ativação folicular identificado neste estudo, reforçando a existência de uma interação biológica entre saúde periodontal e função ovariana.

Estudos demonstram que a ativação folicular é iniciada por alterações no compartimento somático do folículo, especialmente nas células da pré-granulosa de folículos primordiais, caracterizando a transição dos folículos quiescentes para folículos em desenvolvimento (Zhang et al., 2014). Durante esse processo, as células da granulosa sofrem mudanças morfofuncionais caracterizadas pela transição de um padrão pavimentoso para formato cuboide, acompanhada por aumento da atividade proliferativa e reorganização metabólica celular. Adicionalmente, a ativação folicular encontra-se associada à modulação de vias intracelulares relacionadas à exclusão nuclear de SMAD2/3, mecanismo descrito como essencial para o desencadeamento da foliculogênese inicial (Hardy et al., 2018). Durante a ativação folicular, as proteínas SMAD2/3 deixam o núcleo celular e passam a apresentar distribuição citoplasmática, reduzindo a sinalização inibitória associada à manutenção da quiescência folicular. Esse processo favorece a ativação das células da granulosa e desencadeia importantes alterações morfofuncionais, incluindo a transição das células da granulosa de um padrão pavimentoso para conformação cuboide, aumento da atividade proliferativa, intensificação do metabolismo folicular e recrutamento dos folículos primordiais para o crescimento e progressão inicial da foliculogênese. Nesse contexto, os achados do presente estudo sugerem que o CL-P2 pode favorecer a ativação folicular inicial, contribuindo para a transição morfofuncional dos folículos primordiais e para a saída do estado de quiescência ovariana, sem evidências de comprometimento estrutural do tecido folicular.

Uma vez ativadas, as células da granulosa desencadeiam um eixo de comunicação parácrina, envolvendo a via mTORC1 e a secreção de KITL, que atua sobre o receptor KIT no oócito, ativando a cascata PI3K/Akt (Liu et al., 2006). Consequentemente, a fosforilação do fator FOXO3 promove sua exclusão nuclear, permitindo a ativação metabólica e o crescimento oocitário (Castrillon et al., 2003). No que se refere a ativação folicular, o padrão folicular observado é compatível com a modulação positiva dessa cascata de sinalização, hipótese que poderá ser investigada em futuros ensaios moleculares.

Paralelamente às vias de sinalização intracelular, a integridade do microambiente ovariano apresenta uma atividade importante na foliculogênese. A matriz extracelular e as células estromais atuam como suporte estrutural, e ainda como moduladoras ativas da sinalização celular (Frantz et al., 2010; Shah et al., 2018). A organização das fibras de colágeno influencia a rigidez tecidual e a mecanotransdução, impactando diretamente a ativação folicular (Félix et al., 2025; Sun et al., 2022). Nesse sentido, a preservação da morfologia e da densidade das células estromais observada neste estudo sugere que o CL-P2 10mg contribui para a manutenção da homeostase do

microambiente ovariano quando comparado aos demais grupos, favorecendo condições permissivas ao desenvolvimento folicular.

Em condições de inflamação sistêmica crônica, como na periodontite, há aumento da produção de espécies reativas de oxigênio, levando ao estresse oxidativo e à disfunção mitocondrial (Jiao et al., 2021). Esse processo compromete a viabilidade das células da granulosa e a competência oocitária, podendo resultar em atresia folicular (Sha et al., 2021). Além disso, a disfunção mitocondrial pode ativar vias apoptóticas intrínsecas, com liberação de citocromo c e ativação de caspases (Prasad et al., 2016; Wang et al., 2021). Nesse contexto, os efeitos benéficos observados para o CL-P2 podem ser atribuídos, pelo menos em parte, às suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, que contribuiriam para a redução do estresse oxidativo e a preservação da função mitocondrial (Oliveira et al., 2026; Garcez et al., 2025). Essa proteção pode favorecer o equilíbrio entre proliferação e apoptose, permitindo uma ativação folicular mais organizada mesmo em condições adversas.

Em síntese, os resultados sugerem que o CL-P2 atua de maneira integrada na modulação da foliculogênese, influenciando tanto vias intracelulares de ativação folicular quanto a integridade estrutural e funcional do microambiente ovariano. Essa atuação combinada reforça seu potencial como agente promissor na preservação da função reprodutiva, particularmente em condições associadas ao estresse oxidativo e à inflamação sistêmica, abrindo perspectivas para investigações translacionais e terapêuticas futuras.

CONCLUSÃO

O CL-P2 demonstrou efeito modulador significativo sobre a dinâmica folicular em modelo murino submetido à inflamação sistêmica, promovendo ativação da reserva ovariana sem induzir alterações morfológicas sugestivas de citotoxicidade ou comprometimento estrutural do tecido ovariano. A redução da proporção de folículos primordiais, associada à manutenção da viabilidade folicular e ao aumento de folículos em desenvolvimento, sugere estímulo ao recrutamento folicular inicial de maneira controlada e funcional, preservando a integridade da foliculogênese.

Os achados indicam que esse efeito pode estar relacionado à modulação de vias moleculares centrais envolvidas na ativação folicular e na manutenção da homeostase ovariana, incluindo os eixos mTORC1–KITL/KIT–PI3K/Akt–FOXO3, reconhecidos como fundamentais

para a transição dos folículos primordiais do estado de quiescência para o crescimento ativo. Além disso, os resultados sugerem possível participação do CL-P2 na regulação do equilíbrio redox, da função mitocondrial e de mecanismos associados à sobrevivência celular em condições inflamatórias, contribuindo para a preservação do microambiente ovariano e da competência folicular.

Dessa forma, o CL-P2 destaca-se como um potencial agente bioativo com aplicabilidade na modulação da função ovariana e na preservação da fisiologia reprodutiva feminina em contextos associados à inflamação sistêmica e ao estresse oxidativo. Entretanto, estudos adicionais envolvendo análises moleculares, avaliação hormonal e investigação de vias intracelulares específicas ainda são necessários para elucidar seus mecanismos de ação e ampliar a compreensão de seu potencial translacional na terapêutica reprodutiva.

REFERÊNCIAS

De Souza Santana, P.; Costa, F. C.; Caetano Filho, F. F.; Bezerra, V. S.; Silva, B. R.; De Aguiar Silva, A.; Costa Marcelino, E.; Chaves, S. C.; Rodrigues Aguiar, C. E.; Martins, S. D.; Araújo, V. R.; Gomes, G. A.; Silva, J. R. V. Morphological changes in ovarian follicles, stromal cells, and extracellular matrix in cryopreserved cattle ovarian tissue and the beneficial effects of *Croton argyrophyllus* Kunth essential oil. *Cryobiology*, v. 121, p. 105338, 2025.

Zhang H, Risal S, Gorre N, Busayavalasa K, Li X, Shen Y, Bosbach B, Brännström M, Liu K. Somatic cells initiate primordial follicle activation and govern the development of dormant oocytes in mice. *Curr Biol*. 2014 Nov 3;24(21):2501-8. doi: 10.1016/j.cub.2014.09.023. Epub 2014 Oct 23. PMID: 25438940.

Castrillon DH, Miao L, Kollipara R, Horner JW, DePinho RA. Suppression of ovarian follicle activation by Foxo3. *Science*. 2003;301(5630):215-8.

Hardy K, Mora JM, Dunlop C, Carzaniga R, Franks S, Fenwick MA. Nuclear exclusion of SMAD2/3 in granulosa cells is associated with primordial follicle activation in the mouse ovary. *J Cell Sci*. 2018;131(17):jcs218123.

Liu K, Rajareddy S, Liu L, Jagarlamudi K, Boman K, Selstam G, et al. Control of mammalian oocyte growth and early follicular development by the PI3K pathway: new findings from mouse models. *Hum Reprod Update*. 2006;12(4):349-59.

de Molon RS, Park CH, Jin Q, Sugai J, Cirelli JA. Characterization of ligature-induced experimental periodontitis. *Microsc Res Tech*. 2018 Dec;81(12):1412-1421. doi: 10.1002/jemt.23101. Epub 2018 Oct 23. PMID: 30351474.

Y. Bentov, T. Yavorska, N. Esfandiari, A. Jurisicova, RF Casper, A contribuição da função mitocondrial para o envelhecimento reprodutivo, *J. Assist. Reprod. Genet.* 28 (2011) 773–783, <https://doi.org/10.1007/s10815-011-9588-7>.

Oliveira MM, Souza ORB, Silva RLT, Acha BT, Anjos BSD, Leal PPMS, Viana AFSC, Sousa HG, Alves MMM, Vieira Júnior GM, Oliveira FA, Oliveira AP, Oliveira RCM, Santos RFD. Phytochemical profile, toxicological evaluation, and therapeutic potential of the ethanolic extract of *Combretum leprosum* Mart. stem bark in an ovalbumin-induced asthma model in rats. *J Ethnopharmacol*. 2026 Jan 10;354:120482. doi: 10.1016/j.jep.2025.120482. Epub 2025 Aug 25. PMID: 40865653.

Garcez LR, Goes P, Cavalcante JLT, Costa SAD, Ribeiro WLC, Pereira KMA, Costa FWG, Silva PGB, Carvalho FSR, Silva-Filho CJA, Capistrano ALO, Rauner M, Thiele S, Barbosa FG, Mafezoli J, Chaves HV, Leitão RFC, Vasconcelos RF, Bezerra MM. Antiresorptive effect of a semisynthetic triterpene from *Combretum leprosum* Mart. on dexamethasone-induced osteoporosis in rats. *Braz J Med Biol Res*. 2025 Oct 17;58:e14833. doi: 10.1590/1414-431X2025e14833. PMID: 41124444; PMCID: PMC12534016.

Dos Santos ACPM, Anestino TA, Ferreira LAQ, Santos MRG, Ferreira LMA, de Oliveira PA, Queiroz-Junior CM, Madeira MFM. Murine Models of Experimental Periodontal Disease. *Methods Mol Biol*. 2026;2993:43-65. doi: 10.1007/978-1-0716-5019-6_4. PMID: 41478931.

Félix EDS, Silva JRV. Characteristics of collagen in ovarian extracellular matrix and its relationship with the development of primordial follicles up to ovulation. *Anim Reprod Sci*. 2025 Dec;283:108029. doi: 10.1016/j.anireprosci.2025.108029. Epub 2025 Nov 3. PMID: 41192406.

Sun, C., Yang, X., Wang, T., Cheng, M., Han, Y., 2022. Ovarian biomechanics: from health to disease. *Front. Oncol.* 11, 744257. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.744257>.

Prasad S, Tiwari M, Pandey AN, Shrivastav TG, Chaube SK. Impact of stress on oocyte quality and reproductive outcome. *J Biomed Sci*. 2016 Mar 29;23:36. doi: 10.1186/s12929-016-0253-4. PMID: 27026099; PMCID: PMC4812655.

Wang L, Tang J, Wang L, Tan F, Song H, Zhou J, Li F. Oxidative stress in oocyte aging and female reproduction. *J Cell Physiol.* 2021 Dec;236(12):7966-7983. doi: 10.1002/jcp.30468. Epub 2021 Jun 14. PMID: 34121193.

Jiao X, Liu N, Xu Y, Qiao H. Perfluorononanoic acid impedes mouse oocyte maturation by inducing mitochondrial dysfunction and oxidative stress. *Reprod Toxicol* (2021) 104:58–67. doi: 10.1016/j.reprotox.2021.07.002

Sha C, Chen L, Lin L, Li T, Wei H, Yang M, et al. TRDMT1 participates in the DNA damage repair of granulosa cells in premature ovarian failure. *Aging (Albany NY)* (2021) 13(11):15193. doi: 10.18632/aging.203080

Frantz, C., Stewart, K.M., Weaver, V.M., 2010. The extracellular matrix at a glance. *J. Cell Sci.* 15, 4195–4200. <https://doi.org/10.1242/jcs.023820>.

Shah, J.S., Sabouni, R., Vaught, K.C.C., Owen, C.M., Albertini, D.F., Segars, J.H., 2018. Biomechanics and mechanical signaling in the ovary: a systematic review. *J. Assist. Reprod. Genet* 35, 1135–1148. <https://doi.org/10.1007/s10815-018-1180-y>.

Cavalcante BN, Matos-Brito BG, Paulino LRFM, Silva BR, Aguiar AWM, de Almeida EFM. Effects of melatonin on morphology and development of primordial follicles during in vitro culture of bovine ovarian tissue. *Reprod Domest Anim* 2019; 54: 1567–1573, doi: 10.1111/rda.13565.

Kles P, Ameho S, Wasserzug-Pash P, Saar O, Naamneh R, Jaber Y, Netanel Y, Dahan R, Jaber NS, Jacobs S, Reich E, Klutstein M, Wilensky A. Chronic Oral Inflammation Impairs Female Reproduction in a Murine Model. *J Dent Res.* 2026 Apr 2:220345251412768. doi: 10.1177/00220345251412768. Epub ahead of print. PMID: 41925051.

Wetzel C, Bumm CV, Becker J, Schwendicke F, Folwaczny M, Werner N. Infertility and Periodontitis: Are We Connecting the Right Dots? *J Dent Res.* 2026 Mar 8:220345261416502. doi: 10.1177/00220345261416502. Epub ahead of print. PMID: 41797218.

Roustaei B, Zarezadeh S, Ghotbi-Ravandi AA. A review on epilepsy, current treatments, and potential of medicinal plants as an alternative treatment. *Neurol Sci.* 2023 Dec;44(12):4291-4306. doi: 10.1007/s10072-023-07010-5. Epub 2023 Aug 15. PMID: 37581769.

Nogueira-Júnior V, Sousa FRN, da S M Rebouças C, Braz HLB, Dos S Morais MLG, Goes P, de C Brito GA, Jorge RJB, Barbosa FG, Mafezoli J, Silva-Filho CJA, de O Capistrano AL, Bezerra

MM, de C Leitão RF. Exploring the osteogenic potential of semisynthetic triterpenes from *Combretum leprosum*: An in vitro and in silico study. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 2024 Sep;60(8):853-867. doi: 10.1007/s11626-024-00928-w. Epub 2024 Jul 11. PMID: 38992216

Guerreiro DD, Carvalho AA, Lima LF, Rodrigues GQ, Figueiredo JD, Rodrigues APR. Impacto dos genes antineoplásicos sobre os folículos ovariano e importância das biotécnicas reprodutivas na preservação da fertilidade humana. *Reprod Climaterio.* 2015;30(2):90-99.

8 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nesta investigação corroboram com evidências científicas contemporâneas que reconhecem a periodontite como uma condição inflamatória crônica de repercussão sistêmica, capaz de comprometer a homeostase reprodutiva feminina por meio da modulação de mecanismos inflamatórios, oxidativos e celulares associados à função ovariana. A análise dos dados desta dissertação demonstrou que a inflamação periodontal exerce impacto direto sobre o microambiente ovariano, interferindo na dinâmica folicular por meio da densidade do estroma e reforçando a estreita relação entre doenças inflamatórias sistêmicas e alterações da fisiologia reprodutiva.

Nesse contexto, o composto semissintético CL-P2, derivado da espécie *Combretum leprosum*, demonstrou potencial bioativo relevante sobre a fisiologia ovariana. Os achados morfológicos e histológicos evidenciaram que a intervenção com o composto contribuiu para a preservação da integridade estrutural do tecido ovariano, manutenção da viabilidade folicular e modulação da dinâmica da foliculogênese, sem indução de alterações citotóxicas aparentes. Além disso, os resultados sugerem possível participação do CL-P2 na regulação de mecanismos associados à homeostase redox, sobrevivência celular e manutenção do equilíbrio funcional do estroma ovariano em condições inflamatórias.

Dessa forma, esta dissertação contribui significativamente para o avanço do conhecimento na interface entre Fisiologia Reprodutiva e Biotecnologia, ao demonstrar que a periodontite experimental pode repercutir negativamente sobre a função ovariana e que compostos bioativos derivados de produtos naturais apresentam potencial terapêutico na modulação desses efeitos. Ademais, os dados obtidos ampliam a compreensão dos mecanismos envolvidos na manutenção da foliculogênese em condições de inflamação sistêmica, destacando o CL-P2 como um candidato promissor para futuras abordagens translacionais voltadas à preservação da fertilidade feminina.

9 PERSPECTIVAS

Como perspectivas futuras, propõe-se a realização de estudos adicionais voltados à avaliação da toxicidade aguda e crônica do CL-P2, bem como à comparação de sua atividade biológica com outros compostos bioativos e fármacos convencionalmente utilizados, visando ampliar a compreensão de sua segurança pré-clínica e potencial translacional. Além disso, recomenda-se a ampliação dos protocolos experimentais por meio da investigação de diferentes dosagens, tempos de exposição e modelos biológicos que possibilitem maior aproximação com estudos clínicos em humanos. Também se faz necessária a investigação aprofundada das vias de sinalização intracelular envolvidas na resposta ao CL-P2, especialmente aquelas relacionadas à modulação de citocinas pró-inflamatórias, estresse oxidativo, apoptose e regulação da foliculogênese, incluindo análises de expressão gênica e proteica de mediadores associados à manutenção do microambiente reprodutivo. Adicionalmente, os achados deste estudo abrem perspectivas para o desenvolvimento de protocolos terapêuticos inovadores que integrem estratégias voltadas ao controle da inflamação periodontal e à preservação da função ovariana, ampliando as possibilidades de aplicação do CL-P2 em abordagens translacionais relacionadas à saúde reprodutiva feminina.

REFERÊNCIAS

- Adhikari N, Neupane S, Aryal YP, Choi M, Sohn WJ, Lee Y, et al. Effects of oleanolic acid acetate on bone formation in an experimental periodontitis model in mice. *J Periodontal Res*. 2019 Oct;54(5):533-545. doi: 10.1111/jre.12657.
- Ameho S, Klutstein M. The effect of chronic inflammation on female fertility. *Reproduction*. 2025 Mar 3;169(4):e240197. doi: 10.1530/REP-24-0197.
- Atwood CS, Vadakkadath Meethal S. The spatiotemporal hormonal orchestration of human folliculogenesis, early embryogenesis and blastocyst implantation. *Mol Cell Endocrinol*. 2016 Jul 15;430:33-48. doi: 10.1016/j.mce.2016.03.039.
- Bellavia D, Caradonna F, Dimarco E, Costa V, Carina V, et al. Terpenoid treatment in osteoporosis: this is where we have come in research. *Trends Endocrinol Metab*. 2021 Nov;32(11):846-861. doi: 10.1016/j.tem.2021.07.011.
- Bernabé BP, Woodruff T, Broadbelt LJ, Shea LD. Ligands, Receptors, and Transcription Factors that Mediate Inter-Cellular and Intra-Cellular Communication during Ovarian Follicle Development. *Reprod Sci*. 2020 Feb;27(2):690-703. doi: 10.1007/s43032-019-00075-8.
- Binelli M, Murphy BD. Coordinated regulation of follicle development by germ and somatic cells. *Reprod Fertil Dev*. 2010;22(1):1-12. doi: 10.1071/RD09218.
- Biswas S, Maitra S. Altered redox homeostasis in steroid-depleted follicles attenuates hCG regulation of follicular events: Cross-talk between endocrine and IGF axis in maturing oocytes. *Free Radic Biol Med*. 2021 Aug 20;172:675-687. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.07.023.
- Byers SL, Wiles MV, Dunn SL, Taft RA. Mouse estrous cycle identification tool and images. *PLoS One*. 2012;7(4):e35538. doi: 10.1371/journal.pone.0035538.
- Call JA, Eckhardt SG, Camidge DR. Targeted manipulation of apoptosis in cancer treatment. *Lancet Oncol*. 2008 Oct;9(10):1002-11. doi: 10.1016/S1470-2045(08)70209-2.
- Campo H, López-Martínez S, Cervelló I. Decellularization Methods of Ovary in Tissue Engineering. *Adv Exp Med Biol*. 2021;1345:129-139. doi: 10.1007/978-3-030-82735-9_11.
- Cao Y, Shen M, Jiang Y, Sun SC, Liu H. Melatonin reduces oxidative damage in mouse granulosa

cells via restraining JNK-dependent autophagy. *Reproduction*. 2018; 155:307–19. doi: 10.1530/REP-18-0002.

Catunda, M.B.A. ; Costa, F.D.C. ; Bezerra, V.S. ; Caetano Filho, F.F ; Ribeiro, R.P. ; Silva, A.A et al. Effects of Resveratrol-Loaded Nanoparticles on Follicular Survival, Stromal Integrity and Activity of Endogenous Free-Radical Scavengers in Bovine Ovarian Cortical Slices Cultured In Vitro. *REPRODUCTION IN DOMESTIC ANIMALS*, v. 61, p. e70158, 2026.

Cavalcanti PMS, Martins MDCC, Nunes PHM, Alves Filho FC, Silva JDP, et al. Antidiarrheal effect of extract from the bark of *Combretum leprosum* in mice. *An Acad Bras Cienc*. 2019;91(1):e20170932. doi: 10.1590/0001-3765201820170932.

Dal-Fabbro R, Daghrery A, Anselmi C, Soares IPM, Reis-Prado AHD, et al. Recent Advances in Injectable Hydrogel Biotherapeutics for Regenerative Dental Medicine. *Macromol Biosci*. 2025 Oct;25(10):e00096. doi: 10.1002/mabi.202500096.

De Felici M, Klinger FG, Farini D, Scaldaferrri ML, Iona S, et al. Establishment of oocyte population in the fetal ovary: primordial germ cell proliferation and oocyte programmed cell death. *Reprod Biomed Online*. 2005 Feb;10(2):182-91. doi: 10.1016/s1472-6483(10)60939-x.

do Nascimento-Neto LG, Evaristo FF, Alves MF, Albuquerque MR, dos Santos HS, et al. Effect of the triterpene 3 β , 6 β , 16 β -trihydroxylup-20(29)-ene isolated from the leaves of *Combretum leprosum* Mart. on cutaneous wounds in mice. *J Ethnopharmacol*. 2015 Aug 2;171:116-20. doi: 10.1016/j.jep.2015.05.037.

Dos Santos ACPM, Anestino TA, Ferreira LAQ, Santos MRG, Ferreira LMA, et al. Murine Models of Experimental Periodontal Disease. *Methods Mol Biol*. 2026;2993:43-65. doi: 10.1007/978-1-0716-5019-6_4.

FÉLIX, Emanuel da S.; SILVA, José R. V. Characteristics of collagen in ovarian extracellular matrix and its relationship with the development of primordial follicles up to ovulation. *Animal Reproduction Science*, v. 283, 2025, 108029. ISSN 0378-4320. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2025.108029.

França ALQ, Chaves HV, Freire JMO, Sousa LHT, Pimenta ATA, Lima MAS, et al. Molecular docking study and antireabsorptive activity of a semi-synthetic coumarin derivative from *Platymiscium floribundum* in the ligature-induced periodontitis in rats: the involvement of heme

oxygenase-1. Clin Oral Investig. 2024;28(1):154. doi: 10.1007/s00784-023-05445-4.

Garcez LR, Goes P, Cavalcante JLT, Costa SAD, Ribeiro WLC, et al. Antiresorptive effect of a semisynthetic triterpene from *Combretum leprosum* Mart. on dexamethasone-induced osteoporosis in rats. Braz J Med Biol Res. 2025 Oct 17;58:e14833. doi: 10.1590/1414-431X2025e14833.

GBD 2021 Oral Disorders Collaborators. Trends in the global, regional, and national burden of oral conditions from 1990 to 2021: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. Lancet. 2025 Mar 15;405(10482):897-910. doi: 10.1016/S0140-6736(24)02811-3.

Geraghty AC, Kaufer D. Glucocorticoid Regulation of Reproduction. Adv Exp Med Biol. 2015;872:253-78. doi: 10.1007/978-1-4939-2895-8_11.

Goswami AK, Giduturi VK, Yerramilli SN, Chauhan VS, Yadav N. Tissue engineering: Hydrogel scaffolds and mechanical properties as key design parameters. Adv Colloid Interface Sci. 2026 Jan;347:103691. doi: 10.1016/j.cis.2025.103691.

Hampton MB, Fadeel B, Orrenius S. Redox regulation of the caspases during apoptosis. Ann N Y Acad Sci. 1998 Nov 20;854:328-35. doi: 10.1111/j.1749-6632.1998.tb09913.x.

Harrath, A. H. Mechanistic insights into aging and longevity: implications for ovarian function and health. Tissue and Cell, v. 101, 2026, 103473. ISSN 0040-8166. Doi: 10.1016/j.tice.2026.103473.

He M, Zhang T, Yang Y, Wang C. Mechanisms of Oocyte Maturation and Related Epigenetic Regulation. Front Cell Dev Biol. 2021 Mar 19;9:654028. doi: 10.3389/fcell.2021.654028.

Herbert M, Surani A. Oocytes from stem cells. N Engl J Med. 2022 Jan 12;386(2):188-190. doi: 10.1056/NEJMcibr2112049.

Hirano M, Onodera T, Takasaki K, Takahashi Y, Ichinose T, et al. Ovarian aging: pathophysiology and recent developments in maintaining ovarian reserve. Front Endocrinol (Lausanne). 2025 Oct 2;16:1619516. doi: 10.3389/fendo.2025.1619516.

Horinouchi CD, Mendes DA, Nolte S, Brito PS, Soley BD, et al. Anti-proliferative and anti-inflammatory effects of 3 β ,6 β ,16 β -Trihydroxylup-20(29)-ene on cutaneous inflammation. J Ethnopharmacol. 2017 Jan 4;195:298-308. doi: 10.1016/j.jep.2016.11.035.

Horinouchi CD, Mendes DA, Soley Bda S, Pietrovski EF, Facundo VA, et al. Combretum leprosum Mart. (Combretaceae): potential as an antiproliferative and anti-inflammatory agent. J Ethnopharmacol. 2013 Jan 9;145(1):311-9. doi: 10.1016/j.jep.2012.10.064.

Hotchkiss RS, Strasser A, McDunn JE, Swanson PE. Cell Death. N Engl J Med. 2009 Oct 15;361(16):1570-83. doi: 10.1056/NEJMra0903523.

Hougardy BM, Maduro JH, van der Zee AG, Willemse PH, de Jong S, et al. Clinical potential of inhibitors of survival pathways and activators of apoptotic pathways in treatment of cervical cancer: changing the apoptotic balance. Lancet Oncol. 2005 Aug;6(8):589-98. doi: 10.1016/S1470-2045(05)70281-3.

Hsueh AJ, Kawamura K, Cheng Y, Fauser BC. Intraovarian control of early folliculogenesis. Endocr Rev. 2015 Feb;36(1):1-24. doi: 10.1210/er.2014-1020.

Kim EN, Jeong GS. Inhibitory Effect of Periodontitis through C/EBP and 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 Regulation of Betulin Isolated from the Bark of Betula platyphylla. Pharmaceutics. 2022 Sep 5;14(9):1868. doi: 10.3390/pharmaceutics14091868.

Kim H, Kim C, Kim DU, Chung HC, Hwang JK. Inhibitory Effects of Boesenbergia pandurata on Age-Related Periodontal Inflammation and Alveolar Bone Loss in Fischer 344 Rats. J Microbiol Biotechnol. 2018 Mar 28;28(3):357-366. doi: 10.4014/jmb.1711.11034.

Kles P, Ameho S, Wasserzug-Pash P, Saar O, Naamneh R, et al. Chronic Oral Inflammation Impairs Female Reproduction in a Murine Model. J Dent Res. 2026 Apr 2;220345251412768. doi: 10.1177/00220345251412768.

Korkmaz O, Karabulut S, Macit P, Çakıcı Ç. Follicular Fluid Oxidative Stress and Antioxidant Defense in Relation to Maternal Age, Ovarian Reserve, and In Vitro Fertilization Outcomes. Free Radic Res. 2026 Feb 7:1-15. doi: 10.1080/10715762.2026.2629303.

Li J, Mooney DJ. Designing hydrogels for controlled drug delivery. Nat Rev Mater. 2016 Dec;1(12):16071. doi: 10.1038/natrevmats.2016.71.

Li L, Shi X, Shi Y, Wang Z. The Signaling Pathways Involved in Ovarian Follicle Development. Front Physiol. 2021 Sep 20;12:730196. doi: 10.3389/fphys.2021.730196.

Li X, Xu M, Geng Z, Liu Y. Functional hydrogels for the repair and regeneration of tissue defects.

Front Bioeng Biotechnol. 2023 May 16;11:1190171. doi: 10.3389/fbioe.2023.1190171.

Lin R, Lin Y, Jin G, Sun Q, Hu Z. Global, regional, and national prevalence and years lived with disability due to infertility, 1990-2021: Results from the Global Burden of Disease Study 2021. Chin Med J (Engl). 2025 Dec 5;138(23):3115-3123. doi: 10.1097/CM9.0000000000003838.

Lira SRD, Almeida RN, Almeida FRD, Oliveira FD, Duarte JC. Preliminary studies on the analgesic properties of the ethanol extract of Combretum leprosum. Pharm Biol. 2002;40(3):171–175. doi: 10.1076/phbi.40.3.171.8415.

Liu YX, Zhang Y, Li YY, Liu XM, Wang XX, et al. Regulation of follicular development and differentiation by intra-ovarian factors and endocrine hormones. Front Biosci (Landmark Ed). 2019 Mar 1;24(5):983-993. doi: 10.2741/4763.

Longhi-Balbinot DT, Lanznaster D, Baggio CH, Silva MD, Cabrera CH, et al. Anti-inflammatory effect of triterpene 3 β , 6 β , 16 β -trihydroxylup-20(29)-ene obtained from Combretum leprosum Mart & Eich in mice. J Ethnopharmacol. 2012 Jun 26;142(1):59-64. doi: 10.1016/j.jep.2012.04.013.

Madesh M, Hajnóczky G. VDAC-dependent permeabilization of the outer mitochondrial membrane by superoxide induces rapid and massive cytochrome c release. J Cell Biol. 2001 Dec 10;155(6):1003-15. doi: 10.1083/jcb.200105057.

Malda J, Visser J, Melchels FP, Jüngst T, Hennink WE, et al. 25th anniversary article: Engineering hydrogels for biofabrication. Adv Mater. 2013 Sep 25;25(36):5011-28. doi: 10.1002/adma.201302042.

Miranda RS, de Jesus BDSM, da Silva Luiz SR, Viana CB, Adão Malafaia CR, et al. Antiinflammatory activity of natural triterpene-An overview from 2006 to 2021. Phytother Res. 2022 Apr;36(4):1459-1506. doi: 10.1002/ptr.7359.

Murphy E, Ardehali H, Balaban RS, DiLisa F, Dorn GW 2nd, et al. Mitochondrial Function, Biology, and Role in Disease: A Scientific Statement From the American Heart Association. Circ Res. 2016 Jun 10;118(12):1960-91. doi: 10.1161/RES.0000000000000104.

Neurath N, Kesting M. Cytokines in gingivitis and periodontitis: from pathogenesis to therapeutic targets. Front Immunol. 2024 Aug 26;15:1435054. doi: 10.3389/fimmu.2024.1435054.

Nishimura H, L'Hernault SW. Spermatogenesis. *Curr Biol*. 2017 Sep 25;27(18):R988-R994. doi: 10.1016/j.cub.2017.07.067.

Nogueira-Júnior V, Sousa FRN, da S M Rebouças C, Braz HLB, Dos S Morais MLG, et al. Exploring the osteogenic potential of semisynthetic triterpenes from *Combretum leprosum*: An in vitro and in silico study. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 2024 Sep;60(8):853-867. doi: 10.1007/s11626-024-00928-w.

Nunes PH, Cavalcanti PM, Galvão SM, Martins MC. Antiulcerogenic activity of *Combretum leprosum*. *Pharmazie*. 2009 Jan;64(1):58-62. PMID: 19216233.

Oliveira MM, Souza ORB, Silva RLT, Acha BT, Anjos BSD, et al. Phytochemical profile, toxicological evaluation, and therapeutic potential of the ethanolic extract of *Combretum leprosum* Mart. stem bark in an ovalbumin-induced asthma model in rats. *J Ethnopharmacol*. 2026 Jan 10;354:120482. doi: 10.1016/j.jep.2025.120482.

Ott M, Gogvadze V, Orrenius S, Zhivotovsky B. Mitochondria, oxidative stress and cell death. Apoptosis. 2007 May;12(5):913-22. doi: 10.1007/s10495-007-0756-2.

Palma GA, Argañaraz ME, Barrera AD, Rodler D, Mutto AÁ, et al. Biology and biotechnology of follicle development. *ScientificWorldJournal*. 2012;2012:938138. doi: 10.1100/2012/938138.

Park KR, Kim S, Cho M, Yun HM. Limonoid Triterpene, Obacunone Increases Runt-Related Transcription Factor 2 to Promote Osteoblast Differentiation and Function. *Int J Mol Sci*. 2021 Mar 2;22(5):2483. doi: 10.3390/ijms22052483.

Pei Z, Deng K, Xu C, Zhang S. The molecular regulatory mechanisms of meiotic arrest and resumption in Oocyte development and maturation. *Reprod Biol Endocrinol*. 2023 Oct 2;21(1):90. doi: 10.1186/s12958-023-01143-0.

Petrosillo G, Ruggiero FM, Paradies G. Role of reactive oxygen species and cardiolipin in the release of cytochrome c from mitochondria. *FASEB J*. 2003 Dec;17(15):2202-8. doi: 10.1096/fj.03-0012com.

Petrovski EF, Rosa KA, Facundo VA, Rios K, Marques MC, et al. Antinociceptive properties of the ethanolic extract and of the triterpene 3 β ,6 β ,16 β -trihidroxiup-20(29)-ene obtained from the flowers of *Combretum leprosum* in mice. *Pharmacol Biochem Behav*. 2006;83(1):90–99.

doi: 10.1016/j.pbb.2005.12.010.

Prasad S, Tiwari M, Pandey AN, Shrivastav TG, Chaube SK. Impact of stress on oocyte quality and reproductive outcome. *J Biomed Sci*. 2016 Mar 29;23:36. doi: 10.1186/s12929-016-0253-4.

Renda G, Gökkaya İ, Şöhretoğlu D. Immunomodulatory properties of triterpenes. *Phytochem Rev*. 2022;21(2):537-563. doi: 10.1007/s11101-021-09785-x.

Rizzo F, Kehr NS. Recent Advances in Injectable Hydrogel for Controlled and Local Drug Delivery. *Adv Healthc Mater*. 2021 Jan;10(1):e2001341. doi: 10.1002/adhm.202001341.

Roustaei B, Zarezadeh S, Ghotbi-Ravandi AA. A review on epilepsy, current treatments, and potential of medicinal plants as an alternative treatment. *Neurol Sci*. 2023 Dec;44(12):4291-4306. doi: 10.1007/s10072-023-07010-5.

Sá AF, Gomes DF, Araújo IML, Lima RBA, Vasconcelos ALC, Monteiro JC, et al. The Effects of Dexamethasone on Periodontitis and the Influence of this Disease in Development and Survival of Mice Ovarian Follicles. *Arch Curr Res Int*. 2025;25:273-286.

Sedghi LM, Bacino M, Kapila YL. Periodontal Disease: The Good, The Bad, and The Unknown. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021 Dec 7;11:766944. doi: 10.3389/fcimb.2021.766944.

Seli E, Wang T, Horvath TL. Mitochondrial unfolded protein response: a stress response with implications for fertility and reproductive aging. *Fertil Steril*. 2019 Feb;111(2):197-204. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.11.048.

Sforza C, Vizzotto L, Ferrario VF, Forabosco A. Position of follicles in normal human ovary during definitive histogenesis. *Early Hum Dev*. 2003 Oct;74(1):27-35. doi: 10.1016/s0378-3782(03)00081-1.

Sha C, Chen L, Lin L, Li T, Wei H, et al. TRDMT1 participates in the DNA damage repair of granulosa cells in premature ovarian failure. *Aging (Albany NY)*. 2021;13(11):15193-15206. doi: 10.18632/aging.203080.

Shirafuji A, Orisaka M, Shimizu-Mizuno N, Uesaka M, Fujita Y, et al. Pro-inflammatory cytokines disrupt in vitro preantral follicle development by targeting granulosa and theca cell functions. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2026 Jan 16;16:1667019. doi: 10.3389/fendo.2025.1667019.

Simpson TC, Clarkson JE, Worthington HV, MacDonald L, Weldon JC, et al. Treatment of periodontitis for glycaemic control in people with diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst Rev*. 2022 Apr 14;4(4):CD004714. doi: 10.1002/14651858.CD004714.pub4.

Ubuka T, Inoue K, Fukuda Y, et al. Identification, expression, and physiological functions of Siberian hamster gonadotropin-inhibitory hormone. *Endocrinology*. 2012;153(1):373–85. doi: 10.1210/en.2011-1564.

Wagner M, Yoshihara M, Douagi I, Damdimopoulos A, Panula S, et al. Single-cell analysis of human ovarian cortex identifies distinct cell populations but no oogonial stem cells. *Nat Commun*. 2020 Mar 2;11(1):1147. doi: 10.1038/s41467-020-14936-3.

Wang B, Ge F, Wang W, Wang B, Xian CJ, et al. Hydrogel-Based Therapeutic Strategies for Periodontal Tissue Regeneration: Advances, Challenges, and Future Perspectives. *Pharmaceutics*. 2025 Oct 24;17(11):1382. doi: 10.3390/pharmaceutics17111382.

Wang L, Tang J, Wang L, Tan F, Song H, et al. Oxidative stress in oocyte aging and female reproduction. *J Cell Physiol*. 2021 Dec;236(12):7966-7983. doi: 10.1002/jcp.30468.

Wang X, Pepling ME. Regulation of Meiotic Prophase One in Mammalian Oocytes. *Front Cell Dev Biol*. 2021 May 20;9:667306. doi: 10.3389/fcell.2021.667306.

Wang X, Yu Y, Li X, Liu C, Lu Z, et al. Ginseng-Derived Exosomes-Loaded Thermosensitive Hydrogel for the Treatment of Periodontitis. *Mol Pharm*. 2026 Mar 2;23(3):1681-1695. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.5c01404.

Wetzel C, Bumm CV, Becker J, Schwendicke F, Folwaczny M, et al. Infertility and Periodontitis: Are We Connecting the Right Dots? *J Dent Res*. 2026 Mar 8;220345261416502. doi: 10.1177/00220345261416502.

WHO. Infertility [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2023 [citado em 14 Mai 2026]. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/infertility>.

Wu CC, Bratton SB. Regulation of the intrinsic apoptosis pathway by reactive oxygen species. *Antioxid Redox Signal*. 2013 Aug 20;19(6):546-58. doi: 10.1089/ars.2012.4905.

Wu Z, Zhang Y, Wang L, Yi Y, Dai B, et al. Periodontitis and systemic diseases: insights into the correlation, mechanisms, and clinical implications. *Front Immunol*. 2026 Mar 11;17:1777955. doi:

10.3389/fimmu.2026.1777955.

Xie T, Ye W, Liu J, Zhou L, Song Y. The emerging key role of Klotho in the hypothalamus–pituitary–ovarian axis. *Reprod Sci*. 2021 Feb;28(2):322–31. doi: 10.1007/s43032-020-00277-5.

Yin Q, Spradling AC. Distinct waves of ovarian follicles contribute to mouse oocyte production. *Elife*. 2025 Oct 7;14:RP107352. doi: 10.7554/eLife.107352.

Zegers-Hochschild F, Dickens BM, Dughman-Manzur S. Human rights to in vitro fertilization. *Int J Gynaecol Obstet*. 2013;123(1):86-89. doi: 10.1016/j.ijgo.2013.06.012.

Zheng H, Feng H, Zhang W, Han Y, Zhao W. Targeting autophagy by natural product Ursolic acid for prevention and treatment of osteoporosis. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2020 Dec 15;409:115271. doi: 10.1016/j.taap.2020.115271.