



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ – *CAMPUS SOBRAL*

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

REBECCA BEATRIZ ALVES LIMA

**INFLUÊNCIA DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS CONTENDO
RESVERATROL NA PERIODONTITE INDUZIDA E NO DESENVOLVIMENTO E
MORFOLOGIA DE FOLÍCULOS OVARIANOS EM CAMUNDONGOS SWISS**

SOBRAL-CE

2025

REBECCA BEATRIZ ALVES LIMA

**INFLUÊNCIA DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS CONTENDO
RESVERATROL NA PERIODONTITE INDUZIDA E NO DESENVOLVIMENTO E
MORFOLOGIA DE FOLÍCULOS OVARIANOS EM CAMUNDONGOS SWISS**

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. José Roberto Viana Silva

Coorientadora: Prof. Dra. Iracema Matos de Melo

SOBRAL-CE

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

L71i LIMA, Rebecca Beatriz Alves.

Influência de Nanopartículas Poliméricas Contendo Resveratrol na Periodontite Induzida e no Desenvolvimento e Morfologia de Folículos Ovarianos Em Camundongos Swiss / Rebecca Beatriz Alves Lima. – Sobral - 2025.

104 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Campus de Sobral, Programa de Pós- Graduação em Biotecnologia, Sobral, 2025.

Orientação: Prof. Dr. José Roberto Viana Silva.

Coorientação: Prof. Dr. Iracema Matos de Melo.

1. Resveratrol. 2. Nanopartículas. 3. Periodontite. 4. Folículos ovarianos. 5. Perda óssea alveolar.

I. Título.

CDD 660.6

REBECCA BEATRIZ ALVES LIMA

**INFLUÊNCIA DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS CONTENDO
RESVERATROL NA PERIODONTITE INDUZIDA E NO DESENVOLVIMENTO E
MORFOLOGIA DE FOLÍCULOS OVARIANOS EM CAMUNDONGOS SWISS**

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: ____ / ____ / ____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Roberto Viana Silva (Orientador)

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Francisco César Barroso Barbosa (Examinador)

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof.^a Dra. Gisvani Lopes de Vasconcelos (Examinadora)

Centro Universitário INTA (UNINTA)

Dedico este trabalho a todos aqueles que contribuíram para que eu chegasse até a sua concretização. Essa dissertação é fruto de dois anos de resiliência, esforço e, sobretudo, do apoio incondicional daqueles que acreditaram em mim, mesmo quando eu mesma duvidava.

A todos vocês, minha eterna gratidão.

AGRADECIMENTOS

A Deus, agradeço pela vida e por me proporcionar as condições físicas, mentais e espirituais de realizar mais esse sonho e por todo amor e proteção que recebi em forma de acolhimento de meus colegas e familiares, de palavras ternas, de motivação diária e de esperança em um futuro na carreira docente.

Ao meu orientador, Dr. José Roberto Viana Silva, por ter me aceitado como orientanda e confiado a mim a responsabilidade de conduzir esse projeto de mestrado. Meu muito obrigada por todos os ensinamentos, pela troca de experiência, pelo investimento, pelas correções, pela paciência, pelos dois anos de trabalho e muito aprendizado. Em suas palavras e ações, reconheci a essência do verdadeiro mestre, aquele que, como nos lembra Carl Jung, “não é aquele que ensina algo, mas o que inspira o aluno a dar o melhor de si para descobrir o que já sabe”. Foram dois anos de intenso aprendizado, e levarei comigo não apenas os conhecimentos adquiridos, mas o exemplo de ética, dedicação e respeito que o senhor me ofereceu. Muito obrigada por tudo.

À minha coorientadora, Prof.^a Dra. Iracema Matos de Melo, expresso minha mais profunda e afetuosa gratidão. Sua generosidade em compartilhar conhecimento, sua escuta atenta e sua disponibilidade foram fundamentais para que este trabalho se concretizasse. Mesmo diante dos inúmeros compromissos e da dedicação à sua família, nunca deixou de oferecer apoio, orientações e uma presença acolhedora ao longo de toda essa trajetória.

Aos professores Dr. Anderson Weiny Barbalho Silva, Dra. Alana Nogueira Godinho e Dra. Jordânia Marques de Oliveira Freire, expresso minha mais profunda gratidão por terem me acolhido sempre que necessário. Suas orientações generosas e comprometidas foram um farol constante ao longo dessa jornada. Agradeço por cada ensinamento transmitido, pelas valiosas trocas de experiências, pela dedicação e disponibilidade incansáveis, pelo olhar atento e, sobretudo, pela paciência nos momentos em que os caminhos pareceram nebulosos. Como disse Paulo Freire, “ensinar não é transferir conhecimento, mas criar as possibilidades para a sua própria produção ou a sua construção” — e foi exatamente isso que vivenciei sob suas mentorias: um espaço fértil para o crescimento intelectual e pessoal.

Minha gratidão mais sincera à comunidade do Laboratório de Biotecnologia e Fisiologia da Reprodução (LABIREP), a cada pessoa que fez parte dessa trajetória — aos que já passaram e aos que ainda permanecem, construindo esse espaço com dedicação e afeto. Foi nesse ambiente que encontrei mais do que colaboração científica: encontrei apoio humano, amizade, incentivo constante e companheirismo genuíno. Agradeço imensamente pela ajuda

incansável nos experimentos, pelas conversas que tanto enriqueceram meus dias — fossem elas sobre ciência ou sobre a vida —, pelos ouvidos atentos, pelos abraços acolhedores e por cada gesto que suavizou os momentos de tensão e tornou essa caminhada possível. Em cada troca, em cada riso, em cada silêncio partilhado, pude crescer um pouco mais. Não teria conseguido chegar até aqui sem esse coletivo tão essencial.

Aos demais estudantes, bolsistas, estagiários, técnicos e pesquisadores da Universidade Federal do Ceará — *Campus* Sobral, minha sincera gratidão por compartilharem comigo esta jornada que se tornou, ao longo dos anos, muito mais do que um percurso acadêmico — tornou-se uma vivência afetiva, transformadora e profundamente marcante. Este *campus* foi minha segunda casa, um lugar onde cresci, aprendi e construí memórias que levarei para sempre. Agradeço também, de forma especial, a todos que, muitas vezes de forma silenciosa, tornam possível o funcionamento da nossa Universidade: ao pessoal que cuida do ambiente, dos materiais, do prédio, da limpeza, da segurança e da burocracia, e a todos os funcionários da UFC pelo cuidado, pela dedicação e pelo acolhimento constante.

À Universidade Federal do Ceará (UFC) e ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, deixo meu sincero agradecimento pela oportunidade de fazer parte desta instituição que tanto contribui para o desenvolvimento da ciência e da formação acadêmica no país. Ao Laboratório de Biotecnologia Reprodutiva (LABIREP), ao Núcleo de Pesquisa em Experimentação Animal (NUPEX) e ao Núcleo de Biotecnologia de Sobral (NUBIS), sou grata pelo espaço cedido, pelas estruturas de apoio e pelas experiências enriquecedoras que vivenciei ao longo dessa trajetória.

À minha mãe, Noraney Alves Lima, meu amor eterno e minha mais profunda admiração. Mamãe, você é o verdadeiro exemplo de grandeza que pode existir, e é por você, por tudo o que vivemos e construímos juntos, que sigo com fé. Sinto-me imensamente privilegiada por ter familiares tão especiais, cito meus tios Franciso Hélio Alves Lima e Noroelia Alves Lima, que tantas vezes colocaram os meus sonhos acima dos próprios, renunciando silenciosamente aos seus para que eu pudesse seguir em frente. Ao meu noivo, Hildson Sá, minha gratidão mais profunda. Você foi, sem dúvida, a pessoa que mais segurou minha mão em cada passo desta caminhada, mesmo nos momentos em que eu mesma hesitava, duvidava ou me sentia cansada. E estendo minha gratidão a toda a minha família, pelo apoio, pelo carinho e pela presença constante, mesmo à distância, sempre torcendo e vibrando por cada conquista minha.

RESUMO

A periodontite é uma doença inflamatória crônica de alta prevalência que afeta os tecidos de sustentação dentária e pode desencadear repercussões sistêmicas, incluindo efeitos negativos sobre a saúde reprodutiva feminina. A liberação de citocinas pró-inflamatórias a partir dos tecidos periodontais inflamados pode afetar o desenvolvimento e a morfologia dos folículos ovarianos, comprometendo potencialmente a fertilidade. O resveratrol (RSV), um polifenol natural com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, tem demonstrado efeitos benéficos em diversas condições inflamatórias. Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do RSV nanoencapsulado em nanopartículas poliméricas de poli(ϵ -caprolactona) sobre a periodontite experimental e a foliculogênese ovariana em camundongos fêmeas da linhagem Swiss. Sessenta animais foram distribuídos aleatoriamente em cinco grupos experimentais ($n=12$): grupo Naïve (sem manipulação), grupo PBS (animais saudáveis tratados com solução salina tamponada com fosfato), grupo RSV (animais saudáveis tratados com RSV), grupo Perio + PBS (animais com periodontite induzida tratados com PBS) e grupo Perio + RSV (animais com periodontite induzida tratados com RSV). A periodontite foi induzida por ligadura durante 14 dias, período em que os animais receberam injeções intraperitoneais diárias de PBS ou RSV. Após a eutanásia, as mandíbulas foram coletadas para análise histológica e morfométrica da perda óssea alveolar e da integridade periodontal. Os ovários foram processados para classificação e avaliação do desenvolvimento folicular e da integridade morfológica. Os dados foram analisados por ANOVA seguida do teste de Bonferroni ($p<0,05$). Os achados sugerem que, nas condições deste estudo, foi observada uma intensificação da gravidade da periodontite e do dano tecidual no grupo tratado com RSV, sugerindo um possível efeito agravante do RSV. No entanto, o grupo de animais com periodontite tratado com RSV apresentou maior proporção de folículos normais e em desenvolvimento, indicando um efeito protetor sistêmico sobre os ovários. Esses resultados reforçam o potencial do RSV nanoencapsulado na preservação da função ovariana em contextos inflamatórios crônicos, ressaltando a necessidade de estudos adicionais sobre seus mecanismos de ação e otimização da formulação.

Palavras chaves: Periodontite; Foliculogênese; Resveratrol; Camundongas; Perda Óssea Alveolar.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema de corte longitudinal parcial de um dente evidenciando as estruturas anatômicas que constituem os tecidos periodontais.....	22
Figura 2 - Imagem esquemática dos processos envolvidos na inflamação periodontal.....	23
Figura 3 – Nova classificação da periodontite em função do estadio/severidade 2018.....	24
Figura 4 - Representação esquemática da formação de biofilme.....	25
Figura 5 - Esquema sequencial de eventos da resposta inflamatória periodontal.....	26
Figura 6 - Os macrófagos (células de defesa - Mφ) produzem citocinas (tais como IL-1), que induzem os fibroblastos e os osteoclastos a produzir proteases. Essas, por sua vez, levam ao processo de destruição tecidual e óssea.....	27
Figura 7 - RANKL presente na membrana de osteoblastos e células do estroma é responsável pela sinalização da reabsorção óssea e pela diferenciação de pré- osteoclastos em osteoclastos. O mesmo poderia ainda ser encontrado como uma proteína solúvel, produzida por osteoblastos quando estimulados por fatores osteotrópicos como TNF- α e prostaglandinas (PGE).....	28
Figura 8 - Via Keap1-Nrf2: Em condições normais, Keap1 se liga ao Nrf2, promovendo sua ubiquitinação e degradação pelo proteassoma. Sob estresse oxidativo, Keap1 sofre modificações em cisteínas sensíveis às EROs, o que permite a estabilização e translocação nuclear do Nrf2. No núcleo, Nrf2 se associa a sMaf e ativa genes antioxidantes ao se ligar ao ARE.....	30
Figura 9 - Esquema ilustrativo do ovário mamífero e do processo de foliculogênese	31
Figura 10 - Representação esquemática da foliculogênese, desde os folículos primordiais contendo oócitos imaturos envoltos por células da granulosa pavimentosa até o folículo pré-ovulatório, com liberação do oóbito durante a ovulação. As fases são moduladas principalmente pelos hormônios FSH e LH, com diferenciação das células da teca, granulosa mural e cumulus.....	33
Figura 11 - Influência do FSH, LH estradiol e IGF-I nas células da granulosa na promoção da proliferação e produção de enzimas envolvidas na esteroidogênese.....	34

Figura 12 – Imagem das fontes de resveratrol (RSV) em (A) uvas roxas e (B) amendoins.....	41
Figura 13 - Estrutura química do resveratrol (RSV).....	41
Figura 14 – Vias de sinalização do NF-κB. Em A via clássica (via canônica) e em B via alternativa (não-canônica). A via clássica é dependente de NEMO, enquanto que, na via alternativa a subunidade p100 é degradada pelo proteassoma para dar origem a p52.....	46
Figura 15 - Mecanismo de modulação das espécies reativas de oxigênio (EROs) pela via das sirtuínas e sua relação com o envelhecimento e a restrição calórica. A ativação das sirtuínas (SIRT1 e SIRT3), em resposta à restrição calórica e ao acúmulo de EROs, promove uma resposta antioxidante protetora por meio da regulação de diversos fatores celulares e mitocondriais. A SIRT1, de localização citoplasmática e nuclear, atua sobre PGC-1 α , NF-κB e FOXO3, enquanto a SIRT3, de localização mitocondrial, regula HIF1- α , SOD2 e IDH2.....	51
Figura 16 - Modelo esquemático para a fosforilação e ativação de Sirt1 mediada por LKB1 estimulada por resveratrol na biogênese e respiração mitocondrial. O RSV promove a ligação entre LKB1 e Sirt1, o que leva LKB1 a fosforilar diretamente Sirt1 em três resíduos diferentes no domínio C-terminal. A fosforilação dependente de LKB1 promove a interação intramolecular de Sirt1 e ativa sua atividade desacetilásica. Funcionalmente, a ativação de Sirt1 aumenta a biogênese e a respiração mitocondrial por meio da desacetilação e ativação de PGC-1 α , um regulador mestre da função mitocondrial	51

LISTA DE FIGURAS CAPÍTULO 21

Figure 1 - Schematic representation of the protocol used for evaluating the estrous cycle in the animals.....	77
Figure 2 - Representation of the sequence of periodontitis induction in mice's lower first molars.....	78
Figure 3 – Representation of the sequence of RSV administration via intraperitoneal injection in mice.....	79
Figure 4 – Schematic representation of the sequence of ovarian analyses.....	81
Table 2 – Morphological classification criteria for cumulus-oocyte complexes (COCs).....	83
Figure 5 – Level of mandibular bone resorption in animals from the naive group (A), treated only with PBS (B), treated only with RSV (C), with periodontitis and treated with PBS, with periodontitis and treated with RSV (E). Marked lines indicating area of bone resorption.....	84
Figure 6 - Resorption in mm ² of alveolar bone in animals from the naïve group, treated with PBS, periodontitis with PBS treatment and with periodontitis with RSV treatment. Indicated the alveolar bone resorption evaluated on the area limited between the cement-enamel junction and alveolar bone crest on the buccal face of hemimaxillae. Data are presented as mean ± SEM and were analyzed by ANOVA Tukey test (N = 12 mice per treatment). a, b: different letters indicate statistically significant differences (P < 0.05)	85
Figure 7 – Histological sections illustrating alveolar bone loss (POA) in the 1st molars of mice from the naive group (A), treated only with PBS (B), treated only with RSV (C), with periodontitis and treated with PBS (D), with periodontitis and treated with RSV (E). Scale bar = 100µm (40x)	86
Figure 8 – Loss of attachment of the 1st molars in animals from the naïve group, without periodontitis treated with PBS (PBS), without periodontitis treated with RSV (RSV), with periodontitis treated with PBS (Perio and PBS), and with periodontitis and treated with RSV group (Perio and RSV). Data are presented as mean ± SEM and were analyzed by ANOVA Tukey test (N = 12 mice per treatment). a, b, c: different letters indicate statistically significant differences (P < 0.05).....	87

Figure 9 - The image shows the morphology (A-H) of the follicles in different groups. The histology images illustrate the ovarian follicles evaluated as normal or degenerated: primordial (A-E), primary (B-F), secondary (C-G) and tertiary (D-H) 89

Figure 11 - The percentages (mean \pm SE) of primordial follicles and developing follicles in mice ovaries from the naive group, treated only with PBS, treated only with RSV, with periodontitis and treated with PBS, with periodontitis and treated with RSV. The percentage of primordial and developing follicles was compared by chi-square test and no significant differences were observed between treatments ($p > 0.05$). Numbers of follicles evaluated are shown within each column.....90

Figure 12 - (A-E) Representative images of collagen fibers labeled by Picosirius red: (A) naive; (B) treated only with PBS; (C) treated only with RSV; (D) with periodontitis and treated with PBS; (E) with periodontitis and treated with RSV. Scale bar: 100 μm (400 \times)91

Figure 13 - The levels of collagen fibers (mean \pm SD) in the mouse ovaries from the naive group, treated only with PBS, treated only with RSV, with periodontitis and treated with PBS, with periodontitis and treated with RSV. Collagen fiber distribution was analyzed by the Kruskal-Wallis test, followed by Dunn's comparison. a, b and c different lowercase letters indicate statistically significant differences between treatments ($p < 0.05$) 91

Figura 14 - Morphology of stromal cells in (A) naive; (B) treated only with PBS; (C) treated only with RSV; (D) with periodontitis and treated with PBS; (E) with periodontitis and treated with RSV. Scale bar: 100 μm (400 \times)92

Figure 15 - Stromal cell density (%) in ovaries from the naive group, treated only with PBS, treated only with RSV, with periodontitis and treated with PBS, with periodontitis and treated with RSV. Stromal density was analyzed using the Kruskal-Wallis test, followed by Dunn's comparison. a, b and c different lowercase letters indicate statistically significant differences between treatments ($p < 0.05$) 93

Figure 16 – Statistical graph of fluorescence intensity. Data: mean \pm SEM, ($P < 0.05$). * Represents differences between calcein and ethidium fluorescence within each group; Different capital letters indicate difference in calcein fluorescence intensity between

different groups; Different lowercase letters indicate difference in ethidium fluorescence intensity between different groups.....94

Figure 17 - In green colored representation of viable mice follicles in different follicular categories treatment groups represented in (A) naive; (C) treated only with PBS; (E) treated only with RSV; (G) with periodontitis and treated with PBS; (I) with periodontitis and treated with RSV. In red colored, representation of non-viable follicles in in (B) naive; (D) treated only with PBS; (F) treated only with RSV; (H) with periodontitis and treated with PBS; (J) with periodontitis and treated with RSV. Scale bars = 50 μ m..... 95

LISTA DE TABELAS CAPÍTULO 1

Tabela 1: Summary of the nine key studies on resveratrol and periodontitis: experimental models, key outcomes, and conclusions.....	62
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

LISTA DE TABELAS CAPÍTULO 2

Table 1 - Experimental group distribution.....	71
Table 2 – Morphological classification criteria for cumulus-oocyte complexes (COCs).....	78
Table 3 - Representation of cumulus oocyte complex classified in degree I, II, III and IV.....	90

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA – Análise de variância

CAT – Catalase

CEUA – Comissão/Comitê de Ética no Uso de Animais

cm – Centímetro

COC – Complexo cumulus-oócito

CONCEA – Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

EDTA – Ácido etilenodiaminotetracético

ERO / EROs – Espécie(s) Reativa(s) de Oxigênio

FSH – Hormônio folículo-estimulante

g – Grama

H&E – Hematoxilina e Eosina

h – Hora

H_2O_2 – Peróxido de hidrogênio

IL-1 / IL-1 β / IL-2 / IL-4 / IL-5 / IL-6 / IL-8 / IL-10 / IL-17 / IL-23 – Interleucinas

kg – Quilograma

LH – Hormônio luteinizante

LPS – Lipopolissacarídeo

m – Metro

mL – Mililitro

MMPs – Metaloproteinases

NPs – Nanopartículas

O_2 – Oxigênio

O_2^- – Ânion superóxido

OH – Radical hidroxila

PAS – Periodic acid-Schiff

PBS – Solução salina tamponada com Fosfato

pH – Potencial hidrogeniônico

PGE2 – Prostaglandina E2

RANK-L – Receptor ativador do fator nuclear kappa-ligante

ROS – Reactive Oxygen Species

RSV – Resveratrol

SOD – Superóxido dismutase

TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa

μ m – Micrômetro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
2	REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1	Periodontite: Particularidades e Considerações Clínicas	22
2.1.1	<i>Definição e Classificação</i>	22
2.1.2	<i>Fisiopatologia e Considerações Clínicas</i>	24
2.1.3	<i>Periodontite, Espécies Reativas de Oxigênio e o Estresse Oxidativo</i>	28
2.2	Impacto da periodontite na função ovariana e na fertilidade feminina	30
2.2.1	<i>Estrutura ovariana e dinâmica da foliculogênese</i>	30
2.2.2	<i>Processos de Formação e Maturação dos Folículos</i>	31
2.2.3	<i>Periodontite e alterações na função ovariana e na fertilidade feminina</i>	33
2.2.4	<i>Impacto inflamatório da periodontite na atresia folicular</i>	34
2.2.5	<i>Função ovariana e Espécies Reativas de Oxigênio (EROs)</i>	36
2.3	Antioxidantes naturais e fitoterápicos como alternativa terapêutica frente ao desafio inflamatório periodontal	37
2.4	Resveratrol: caracterização e particularidades	38
2.4.1	<i>Formas de apresentação e principais vias de administração</i>	42
2.4.2	<i>Potencial anti-inflamatório do RSV</i>	46
2.4.3	<i>Resveratrol e estresse oxidativo</i>	48
2.4.4	<i>Nanotecnologia como alternativa de melhoramento do RSV</i>	51
2.5	Murinos como modelo na experimentação animal	53
3	JUSTIFICATIVA	53
4	HIPÓTESES	55
5	OBJETIVOS	56
5.1	Objetivo Geral	56

5.2 Objetivos Específicos	56
6 Capítulo 1: Resveratrol and periodontitis: a comprehensive review of recent advances and systemic health implications	57
7 Capítulo 2: Influence of polymeric nanoparticles containing resveratrol on induced periodontitis and development and morphology of ovarian follicles in Swiss mice	67
CONCLUSÃO.....	95
9 PESPECTIVAS	96
REFERÊNCIAS	97
ANEXO A - APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA	104

INTRODUÇÃO

A periodontite é uma doença inflamatória crônica e multifatorial de alta prevalência, caracterizada pela destruição progressiva dos tecidos de suporte dos dentes, resultado de uma resposta imune exacerbada frente à disbiose da microbiota oral (PITONES-RUBIO *et al.*, 2022). Essa resposta envolve ativação leucocitária, liberação de citocinas pró-inflamatórias como interleucina-1β (IL-1β) e fator de necrose tumoral alfa (TNF-α), e aumento sistêmico de mediadores do estresse, como o cortisol (CHEN *et al.*, 2022). Embora tradicionalmente considerada uma condição local, evidências crescentes indicam que a inflamação periodontal pode ter efeitos sistêmicos amplos, inclusive sobre a função reprodutiva feminina (XU *et al.*, 2021).

O estresse oxidativo gerado pelas espécies reativas de oxigênio (EROs) não controladas desempenha um papel central tanto na destruição tecidual periodontal quanto na disfunção ovariana. No ovário, o acúmulo de EROS afeta a qualidade dos folículos e compromete a maturação oocitária, além de alterar o microambiente necessário para o desenvolvimento folicular saudável (ZHOU *et al.*, 2021). Adicionalmente, o aumento do cortisol, típico de inflamações crônicas, pode inibir a liberação de gonadotrofinas hipofisárias e suprimir a produção local de esteroides ovarianos, como o estradiol, agravando os efeitos deletérios sobre a fertilidade (DENG *et al.*, 2024).

Nesse contexto, cresce o interesse por investigações científicas que busquem identificar terapias adjuvantes capazes de atuar tanto na modulação da inflamação quanto na preservação da função ovariana frente ao desafio imunológico promovido pela periodontite. Compostos naturais com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias têm se destacado, especialmente os polifenóis, como o resveratrol (RSV) (DIKMETAS *et al.*, 2024). Encontrado em uvas vermelhas e amendoins, o RSV tem demonstrado efeito protetor em diversas condições inflamatórias crônicas, incluindo a periodontite, por sua capacidade de inibir vias pró-inflamatórias como NF-κB e MAPK (ZHANG *et al.*, 2022), e grande potencial na mitigação do estresse oxidativo, atuando como um agente neutralizador de radicais livres e restaurando o equilíbrio redox celular (LIN *et al.*, 2021).

Apesar de suas promissoras propriedades terapêuticas, a aplicação clínica do RSV ainda enfrenta limitações significativas devido à sua baixa solubilidade em água, instabilidade frente a fatores ambientais como luz e oxigênio, e rápida metabolização hepática, que resultam em uma biodisponibilidade reduzida após sua administração (ANDRADE *et al.*,

2019). Para superar essas limitações, estratégias baseadas em sistemas de liberação controlada têm sido amplamente exploradas, com destaque para o uso de nanopartículas poliméricas biodegradáveis. Entre esses sistemas, as nanopartículas de policaprolactona (PCL) têm se mostrado particularmente eficazes.

A PCL é um polímero biocompatível, biodegradável e aprovado por agências regulatórias, capaz de encapsular compostos hidrofóbicos como o RSV, promovendo sua proteção contra degradação precoce e permitindo uma liberação controlada e sustentada ao longo do tempo (ÜSTÜNDAG *et al.*, 2023). Esse perfil farmacocinético aprimorado favorece o acúmulo do composto no local-alvo e reduz a necessidade de doses elevadas, minimizando potenciais efeitos adversos. Além disso, a encapsulação do RSV em nanopartículas de PCL pode aumentar sua estabilidade no meio biológico e potencializar seus efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios, tornando essa estratégia uma abordagem promissora no contexto de doenças inflamatórias crônicas, como a periodontite (CORRÊA *et al.*, 2019).

Considerando os efeitos sistêmicos da inflamação periodontal e do estresse oxidativo sobre a função ovariana, a investigação do uso de RSV nanoencapsulado representa uma abordagem terapêutica inovadora. Modelos murinos têm sido amplamente utilizados para compreender as interações entre a saúde oral e a função reprodutiva (DUAN *et al.*, 2015). Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do resveratrol nanoencapsulado na progressão da periodontite e sua possível ação protetora sobre a morfologia e o desenvolvimento de folículos ovarianos em camundongos fêmeas.

1 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Periodontite: Particularidades e Considerações Clínicas

2.1.1 Definição e Classificação

A periodontite é uma doença inflamatória crônica multifatorial que afeta os tecidos de suporte dos dentes, incluindo gengiva, ligamento periodontal e osso alveolar (Figura 1). Essa condição é caracterizada pela destruição progressiva desses tecidos, podendo levar à perda dentária se não tratada adequadamente (PAPAPANOU *et al.*, 2018).

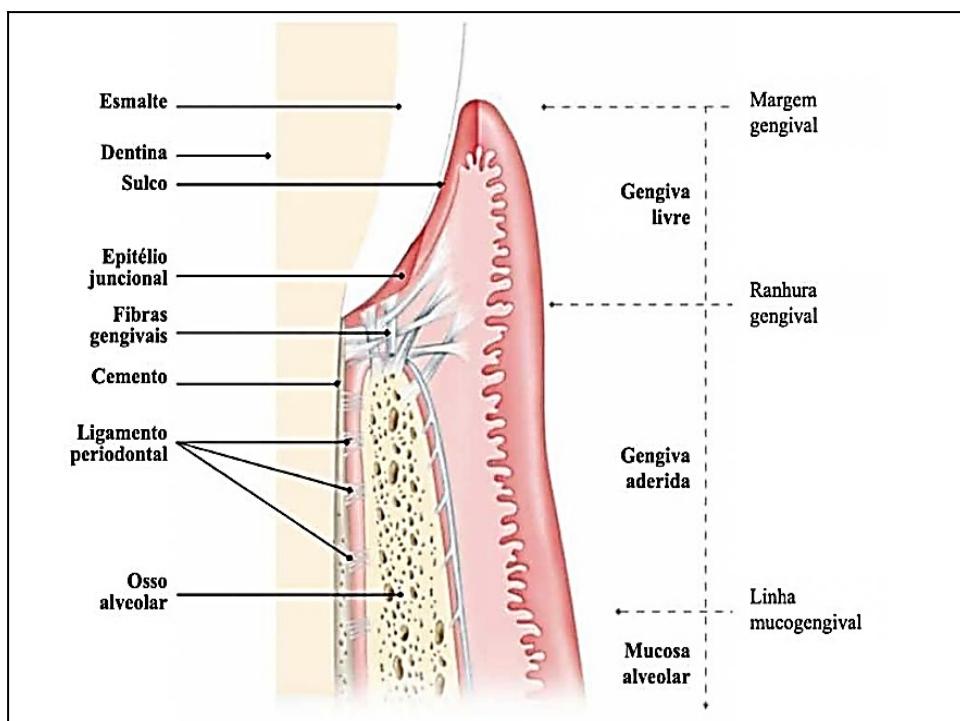


Figura 1 - Esquema de corte longitudinal parcial de um dente evidenciando as estruturas anatômicas que constituem os tecidos periodontais.

Fonte: Adaptado de MACHADO *et al.*, 2021.

O desequilíbrio na microbiota oral (Figura 2) desencadeia no hospedeiro uma resposta imune que libera citocinas inflamatórias, o que acarreta uma progressão na inflamação, culminando na desintegração dos tecidos de suporte do dente e consequente reabsorção óssea. (CEKICI *et al.*, 2014).

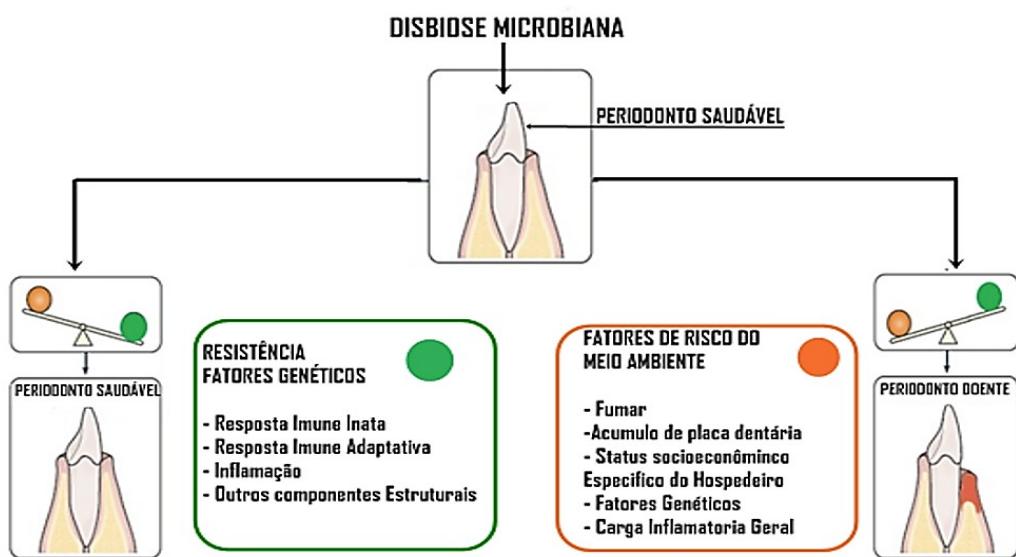


Figura 2 - Imagem esquemática dos processos envolvidos na inflamação periodontal.

Fonte: Adaptado de KOMINE-AIZAWA et al., 2018.

Sua etiopatogenia envolve a interação complexa entre o biofilme bacteriano subgengival e a resposta imunoinflamatória do hospedeiro (PAPAPANOU, 2018). A principal causa é a disbiose da microbiota oral, caracterizada pelo aumento de microrganismos patogênicos e redução das espécies benéficas (HAJISHENGALLIS *et al.*, 2012).

Entre os microrganismos mais associados à periodontite estão as bactérias gram-negativas anaeróbias do chamado "complexo vermelho", como *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola* (CHAPPLE *et al.*, 2015). Essas bactérias possuem mecanismos de evasão do sistema imune, além de produzirem fatores de virulência, como proteases, lipopolissacarídeos (LPS) e fimbrinas, que estimulam a resposta inflamatória exacerbada (HAJISHENGALLIS *et al.*, 2012). Outras espécies relevantes incluem *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, associada principalmente à periodontite agressiva, e *Fusobacterium nucleatum*, que atua como organismo ponte na formação do biofilme (ZHENG, 2021).

A resposta imunológica do hospedeiro, ao tentar controlar a infecção, pode levar à liberação de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β , IL-6 e TNF- α , além de metaloproteinases e espécies reativas de oxigênio (EROs), contribuindo para a destruição tecidual (GRAVES *et al.*, 2019). Fatores genéticos, sistêmicos (como diabetes), ambientais (tabagismo) e comportamentais também influenciam na progressão da doença (CHAPPLE *et al.*, 2015).

A classificação mais recente da periodontite, desenvolvida pela Federação Europeia de Periodontologia e pela Academia Americana de Periodontologia, introduz o conceito de "periodonto reduzido", referindo-se a indivíduos com histórico de periodontite que se encontram atualmente em estabilidade clínica. Essa classificação (Figura 3) também considera a gravidade, a extensão e a taxa de progressão da doença, além de fatores de risco sistêmicos e locais (CATON *et al.*, 2018).

		Estadio			
		I	II	III	IV
Severidade	Perda de inserção proximal (CAL)	1 a 2mm	3 a 4mm	≥ 5mm	≥ 5mm
	Perda Óssea Radiográfica (RBL)	1/3 coronal (< 15%)	1/3 coronal (15-30%)	até 1/2 ou até 1/3 da raiz	até 1/2 ou até 1/3 da raiz
	Perda dentária	Não existe perda dentária devido à periodontite		≤ 4 dentes perdidos devido à periodontite	≥ 5 dentes perdidos devido à periodontite
Complexidade Local	Local	• PS ≤ 4mm • sem dentes perdidos por periodontite • perda óssea predominantemente horizontal	• PS ≤ 5mm • sem dentes perdidos por periodontite • perda óssea predominantemente horizontal	• PS ≥ 6mm • perda óssea vertical ≥ 3mm • defeitos de furca II ou III • defeitos de crista moderados	• disfunção mastigatória • trauma oclusal secundário • mobilidade II ou III • defeitos de crista severos • colapso de mordida; má posição dentária; migração patológica • < 20 dentes remanescentes
Extensão e distribuição		localizada (até 30% dos dentes envolvidos), generalizada (≥ 30% dos dentes envolvidos) ou padrão molar/incisivos			

Figura 3 – Nova classificação da periodontite em função do estadio/severidade 2018.

Fonte: Adaptado de CATON *et al.*, 2018

2.1.2 Fisiopatologia e Considerações Clínicas

A periodontite inicia-se com o acúmulo de biofilme bacteriano na superfície dental (Figura 4), o que desencadeia uma resposta inflamatória do hospedeiro. Esta resposta envolve a liberação de mediadores inflamatórios como interleucinas (IL-1 β , IL-6), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e espécies reativas de oxigênio (EROs), que contribuem para a degradação do ligamento periodontal e reabsorção óssea (KINANE *et al.*, 2017). Clinicamente, a doença manifesta-se por sangramento gengival, formação de bolsas periodontais, mobilidade dentária e perda de inserção. Histologicamente, observa-se

destruição das fibras colágenas, inflamação crônica e reabsorção do osso alveolar (CHAPPLE *et al.*, 2015).

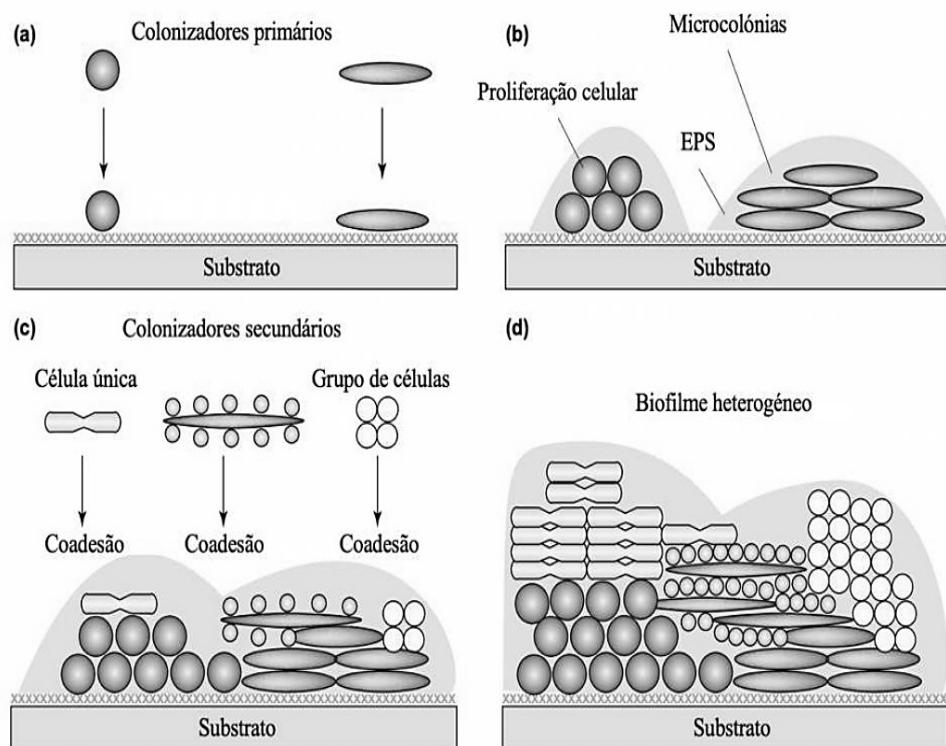


Figura 4 - Representação esquemática da formação de biofilme.

Fonte: Adaptado de RICKARD *et al.*, 2003.

Legenda: a) colonização primária; b) produção de exopolissacarídeos e proliferação celular; c) coagregação e coadesão celular; d) colonização heterogénea estabelecida.

Na periodontite, a inflamação está relacionada à velocidade da reabsorção óssea alveolar, o que culmina numa relação entre o sistema imune e ósseo. Os mediadores inflamatórios ativados na doença periodontal têm sido associados a atividades osteoclastogênicas (CEKICI *et al.*, 2014). Estes mediadores, uma vez liberados por leucócitos residentes, como macrófagos, após reconhecerem bactérias presentes no biofilme, são responsáveis pelas primeiras alterações vasculares e subsequente migração leucocitária (ABDULKAREEM *et al.*, 2023). Após 2 a 4 dias de acúmulo de biofilme dental, a doença gengival se apresenta em sua forma inicial, o que só é visualizado microscopicamente. Já a fase precoce da lesão, apresenta sinais clínicos leves, enquanto quando estabelecida, dependendo das condições do hospedeiro, visando fatores locais e sistêmicos, mostram sinais mais severos (PREETHANATH *et al.*, 2020).

Dessa forma, a patogenicidade da microbiota local é elevada (Figura 5), os produtos bacterianos, representados pelo lipopolissacarídeo (LPS), ativam exacerbadamente o sistema imunológico do hospedeiro, liberando as primeiras ondas da secreção de citocinas e então a resposta de destruição do tecido é iniciada. A importância dessas moléculas advém do fato de que elas participam principalmente da amplificação da cascata de citocinas pró-inflamatórias e do recrutamento, ativação e diferenciação de células imunes específicas (GRAVES *et al.*, 2019).

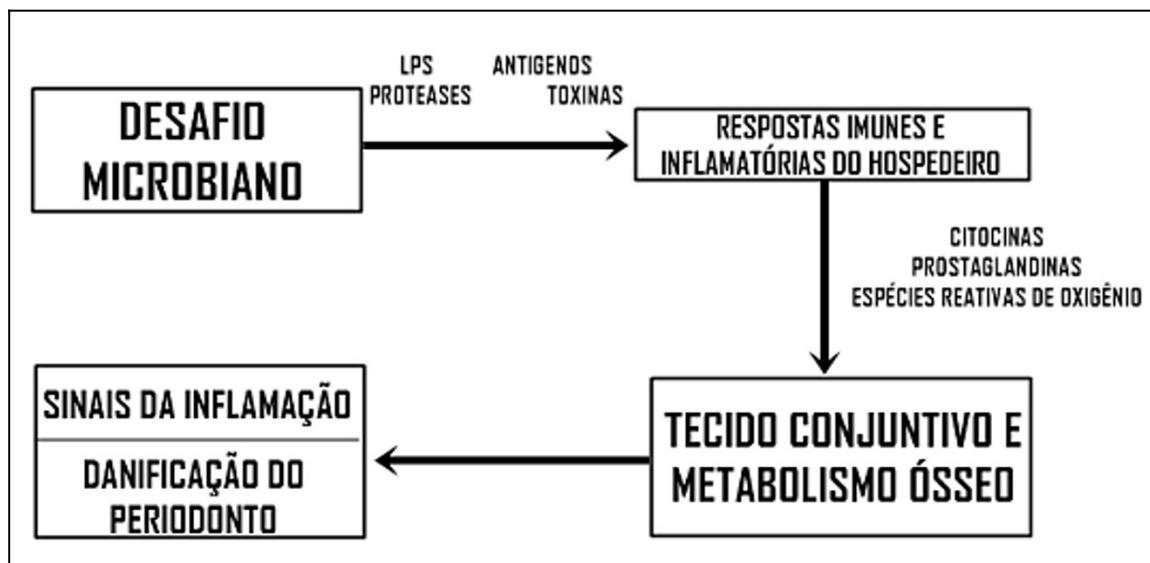


Figura 5 - Esquema sequencial de eventos da resposta inflamatória periodontal.
Fonte: Adaptado de KOMINE-AIZAWA *et al.*, 2018.

A progressão da periodontite envolve a ativação de osteoclastos, células responsáveis pela reabsorção óssea, por meio da via de sinalização RANK/RANKL/OPG, como ilustrado na Figura 6, sob influência de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α e IL-1 β . Estudos recentes demonstram que esse processo é intensificado em ambientes de estresse oxidativo, onde a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs) contribui para o aumento da expressão de RANKL e a supressão de OPG, favorecendo a osteoclastogênese (DUAN *et al.*, 2015).

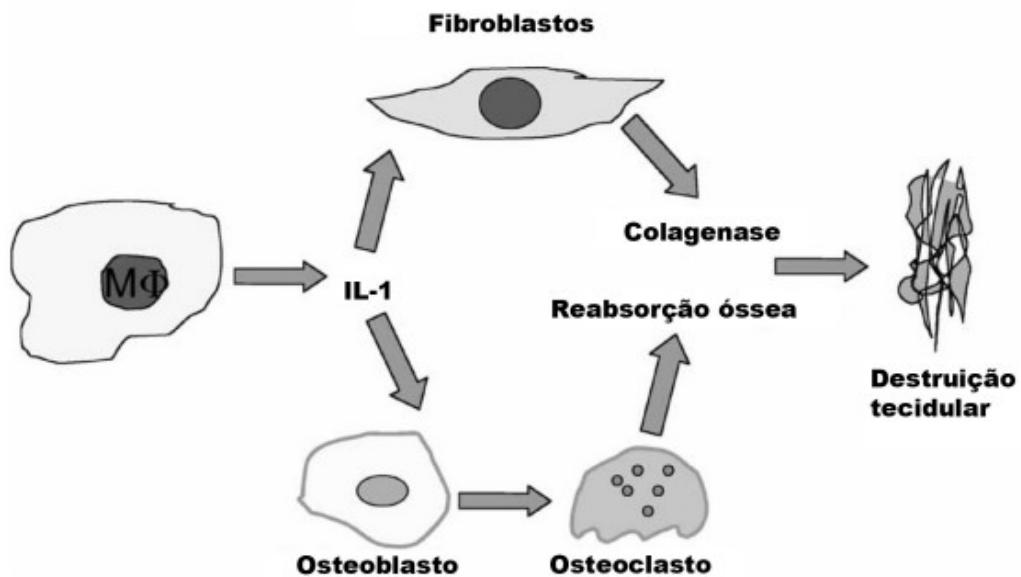


Figura 6 - Os macrófagos (células de defesa - Mφ) produzem citocinas (tais como IL-1), que induzem os fibroblastos e os osteoclastos a produzir proteases. Essas, por sua vez, levam ao processo de destruição tecidual e óssea.

Fonte: Adaptado de KIKANE *et al.*, 2020.

A inflamação estabelecida afeta o equilíbrio homeostático da remodelação óssea, acentuando a atividade de osteoclastogênese e reabsorção óssea (EBERSOLE *et al.*, 2017). De fato, os osteoclastos são os tipos celulares que respondem pela sequela clínica mais comum da periodontite: a perda óssea alveolar, já que são observados em número excessivo e com atividade exacerbada em sítios com inflamação induzida e, contrariamente, mediante bloqueio de seu desenvolvimento e atividade, a perda óssea é também inibida (TSENG *et al.*, 2011). Os mecanismos pelos quais os osteoclastos se diferenciam e são ativados para exercerem reabsorção óssea dependem do estímulo de componentes bacterianos, sobretudo LPS, que podem induzir a linhagem de linfócitos T Th1, monócitos, macrófagos e fibroblastos a aumentarem a expressão de citocinas pró-inflamatórias, nomeadamente IL-1, IL-6, TNF- α , osteoprotegerina (OPG), RANKL e prostaglandina E2, desencadeando uma cascata (Figura 7) que resultará em danos irreversíveis ao suporte alveolar (IVANOVSKI *et al.*, 2015).

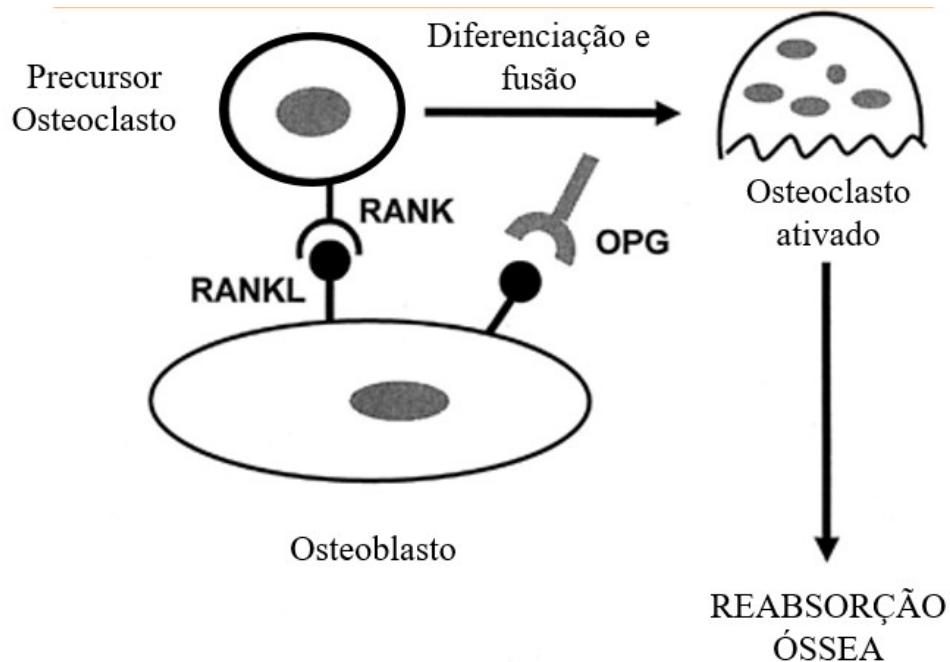


Figura 7 - RANKL presente na membrana de osteoblastos e células do estroma é responsável pela sinalização da reabsorção óssea e pela diferenciação de pré-osteoclastos em osteoclastos. O mesmo poderia ainda ser encontrado como uma proteína solúvel, produzida por osteoblastos quando estimulados por fatores osteotrópicos como TNF- α e prostaglandinas (PGE).

Fonte: Adaptado de COETZEE & KRUGER, 2004.

2.1.3 Periodontite, Espécies Reativas de Oxigênio e o Estresse Oxidativo

A periodontite, por sua natureza inflamatória e sistêmica, não se limita aos tecidos bucais. A progressão dessa condição resulta em um aumento significativo de mediadores inflamatórios e EROs, que ultrapassam a barreira local e interferem em diferentes sistemas orgânicos (POULIOU *et al.*, 2024). Dessa forma, o estresse oxidativo tem papel central na fisiopatologia da periodontite. Trata-se de um desequilíbrio entre a produção de EROs e a capacidade antioxidante do organismo. Essas espécies reativas, como ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila ($\bullet OH$), danificam proteínas, lipídios e DNA, intensificando a destruição dos tecidos periodontais (POULIOU *et al.*, 2024).

O corpo possui mecanismos antioxidantes endógenos, incluindo enzimas como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutationa peroxidase (GPx), que atuam na neutralização das EROs. Em condições de inflamação crônica, esses sistemas tornam-se insuficientes, favorecendo a progressão da destruição tecidual (LIU *et al.*, 2025). Um dos principais reguladores da resposta antioxidante é o fator de transcrição Nrf2 (nuclear factor

erythroid 2-related factor 2), que ao ser ativado transloca-se para o núcleo e induz a expressão de genes antioxidantes, como a heme oxigenase-1 (HO-1), NAD(P)H, quinona oxidoreductase 1 (NQO1) e glutationa-S-transferase (GST) (TEZAL *et al.*, 2000). A disfunção dessa via está relacionada à maior susceptibilidade ao dano tecidual na periodontite.

Nesse contexto, a via de sinalização do Nrf2 (Figura 8) é a responsável por regular a codificação de enzimas antioxidantes como HO-1 para atuar no mecanismo de proteção contra o estresse celular no organismo. A ativação do Nrf2 acontece a partir da exposição do Keap1 aos indutores do estresse oxidativo (TOMOFUJI *et. al.*, 2009). Após esse processo de indução, há a modificação do Keap1 e liberação do Nrf2, que se dirige para o núcleo celular e liga-se a um elemento que atua como antioxidante. A partir de então, há a codificação da enzima para posterior resposta antioxidant e redução do estresse oxidativo (LOBODA *et. al.*, 2016).

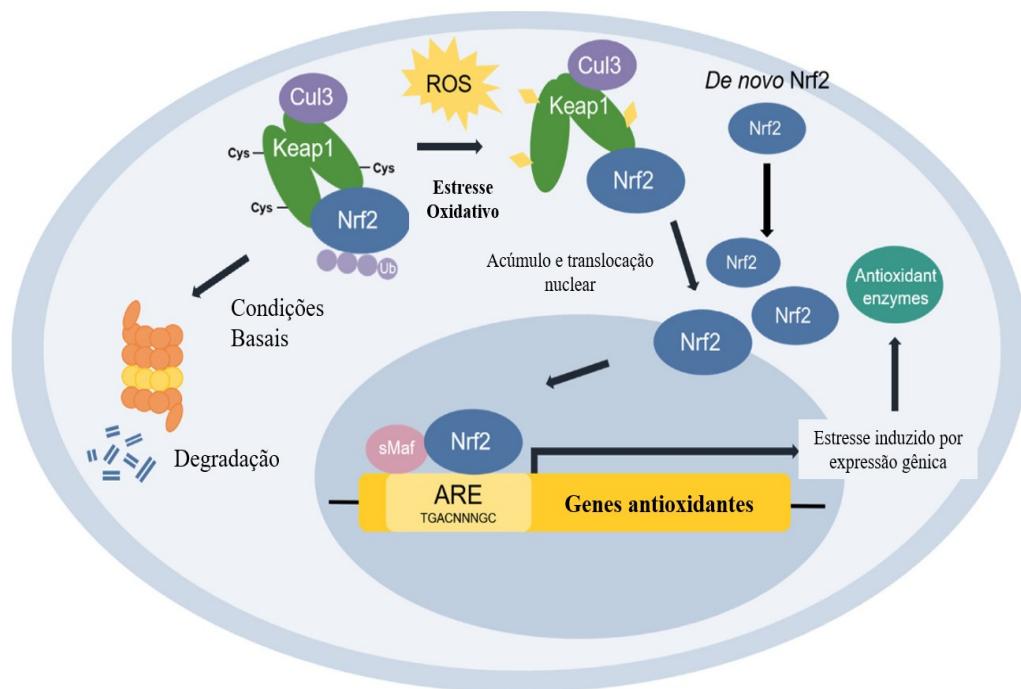


Figura 8 - Via Keap1-Nrf2: Em condições normais, Keap1 se liga ao Nrf2, promovendo sua ubiquitinação e degradação pelo proteassoma. Sob estresse oxidativo, Keap1 sofre modificações em cisteínas sensíveis às EROs, o que permite a estabilização e translocação nuclear do Nrf2. No núcleo, Nrf2 se associa a sMaf e ativa genes antioxidantes ao se ligar ao ARE.

Fonte: Adaptado de HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. (2015)

Esse ambiente oxidativo sistêmico tem sido associado a desregulações no eixo reprodutivo feminino, especialmente no microambiente ovariano. Evidências sugerem que o excesso de EROs pode comprometer o desenvolvimento folicular, a função hormonal e a qualidade oocitária, uma vez que estruturas ovarianas são altamente sensíveis ao equilíbrio redox (JAMES *et. al.*, 2023). Além disso, citocinas produzidas em resposta à periodontite, como IL-1 β e TNF- α , também atuam em tecidos extra orais, interferindo em mecanismos fisiológicos ovarianos fundamentais, incluindo a esteroidogênese e a maturação folicular (DUAN *et. al.*, 2015).

2.2 Impacto da periodontite na função ovariana e na fertilidade feminina

2.2.1 Estrutura ovariana e dinâmica da foliculogênese

O sistema reprodutivo feminino dos mamíferos é responsável pela produção de óvulos, regulação hormonal e suporte ao desenvolvimento embrionário (RIBAS *et. al.*, 2022). Os ovários, estruturas essenciais para a reprodução, promovem a gametogênese e a secreção hormonal, sendo compostos por epitélio germinativo, túnica albugínea, córtex e medula. No córtex localizam-se os folículos ovarianos, que se desenvolvem ou sofrem atresia ao longo da vida reprodutiva. Esse processo, chamado foliculogênese (Figura 9), ocorre da fase fetal até a senescência e depende de sinais endócrinos, parácrinos e autócrinos (ORISAKA *et. al.*, 2023).

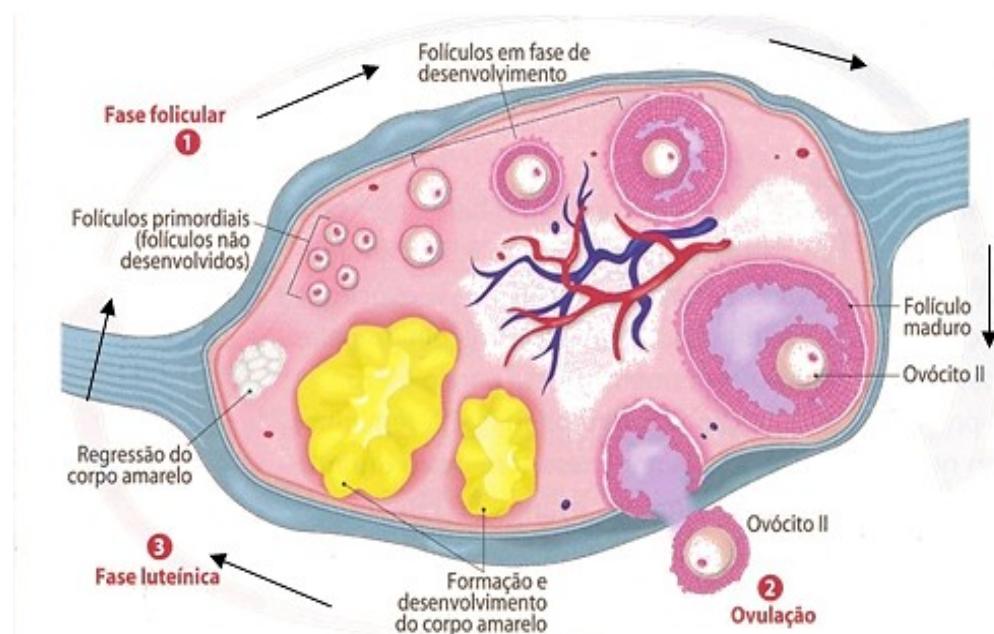


Figura 9 - Esquema ilustrativo do ovário mamífero e do processo de foliculogênese.

Fonte: MANUAL MERCK, 2013. Disponível em: <https://www.msdmanuals.com>.

A ativação folicular corresponde à transição dos folículos primordiais para estágios de crescimento, evoluindo por fases pré-antrais e antrais até a seleção de um folículo dominante para ovulação. Esse processo é influenciado por fatores como integridade vascular, presença de antioxidantes e equilíbrio das EROs no microambiente ovariano. Durante os anos reprodutivos, a liberação cíclica dos óvulos torna possível a fertilização e o desenvolvimento embrionário (OVERLAND *et al.*, 2023).

2.2.2 Processos de Formação e Maturação dos Folículos

A foliculogênese é o processo que envolve o crescimento e a maturação dos folículos ovarianos, incluindo a transformação dos folículos primordiais em folículos maduros capazes de realizar a ovulação (HANLEY *et al.*, 2000). O desenvolvimento dos oócitos e a formação de estruturas ovarianas funcionais são processos altamente regulados por hormônios como o FSH e o LH, que induzem as células da granulosa a proliferarem e a secreção de estrogênio, essencial para o desenvolvimento do folículo (POLJIČANIN *et al.*, 2013).

Os folículos ovarianos (Figura 10) se desenvolvem a partir de estruturas primordiais, compostas por um oóbito primário envolto por uma única camada de células epiteliais pavimentosas. Esses folículos permanecem em estado de dormência até serem recrutados para o crescimento, tornando-se folículos primários, nos quais as células da granulosa assumem morfologia cúbica e iniciam intensa atividade mitótica. A progressão para o estágio secundário é caracterizada pela proliferação das células da granulosa em múltiplas camadas e pela diferenciação da teca folicular em interna e externa, sendo a teca interna altamente vascularizada e hormonalmente responsiva (WANG *et al.*, 2019).

O folículo terciário ou antral é identificado pela formação da cavidade antral e pelo acúmulo de fluido folicular, resultando no aumento do volume folicular e no avanço da maturação do oóbito (TITUS *et al.*, 2021). No estágio pré-ovulatório (ou folículo de Graaf), observa-se o deslocamento excêntrico do oóbito, circundado pelas células do *cumulus oophorus*, além da preparação para a ovulação promovida pelo pico do hormônio luteinizante (LH), que induz a retomada da meiose e a liberação do oóbito em direção à tuba uterina (ZHANG *et al.*, 2023). A ativação dos folículos primordiais é o primeiro passo crítico na foliculogênese. Durante esse processo, o FSH e o IGF-1 desempenham papéis cruciais, estimulando as células da granulosa a proliferarem e a se diferenciarem. Essa ativação é

fundamental para a formação do folículo primário e subsequente desenvolvimento para estágios mais avançados, como o folículo secundário e terciário (MORAES *et al.*, 2022). As células da granulosa produzem estrogênio, que promove o crescimento do folículo e prepara o oócito para a ovulação (SHAYAN *et al.*, 2022). Cada oócito é envolto por células foliculares, formando o folículo primordial (ZHANG *et al.*, 2023).

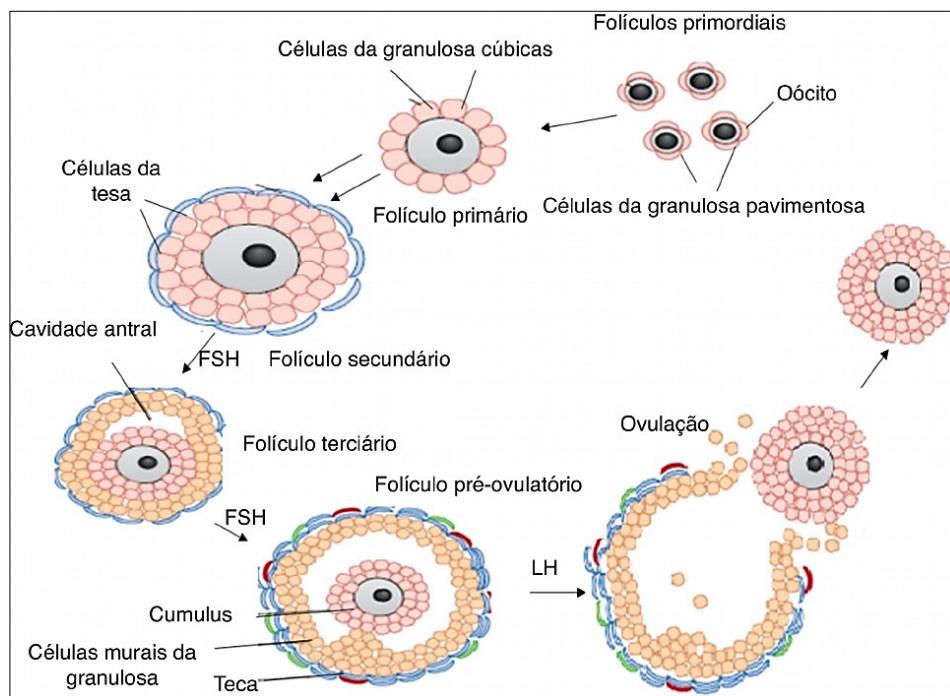


Figura 10 - Representação esquemática da foliculogênese, desde os folículos primordiais contendo oócitos imaturos envoltos por células da granulosa pavimentosa até o folículo pré-ovulatório, com liberação do oócito durante a ovulação. As fases são moduladas principalmente pelos hormônios FSH e LH, com diferenciação das células da teca, granulosa mural e cumulus.

Fonte: Adaptada de GEORGES *et al.*, 2014.

A proliferação celular e a produção hormonal durante os estágios iniciais da foliculogênese são fortemente influenciadas por sinais moleculares como os fatores de transcrição Wnt e BMP, que modulam a expressão de genes essenciais para o crescimento e a diferenciação folicular. Esses fatores promovem a transição entre os diferentes estágios de desenvolvimento dos folículos (SHAW *et al.*, 2023). Esse processo é extremamente controlado, já que qualquer disfunção nas vias de sinalização pode resultar em distúrbios reprodutivos, como a anovulação (HERNÁNDEZ *et al.*, 2023). A qualidade do oócito é crucial para o sucesso reprodutivo. Fatores como o estresse oxidativo

podem comprometer essa qualidade, afetando a competência oocitária e a viabilidade embrionária. O estresse oxidativo resulta do desequilíbrio entre a produção de EROS e a capacidade antioxidante celular, levando a danos no DNA, lipídios e proteínas (ZHANG *et al.*, 2021). As mitocôndrias desempenham papel central nesse processo, sendo fontes primárias de EROS durante a fosforilação oxidativa. O acúmulo excessivo de EROS pode desencadear a via intrínseca da apoptose, envolvendo a liberação de citocromo c, formação do apoptossomo e ativação de caspases, como ilustrado na Figura 11, resultando na morte celular programada (BONNET *et al.*, 2013).

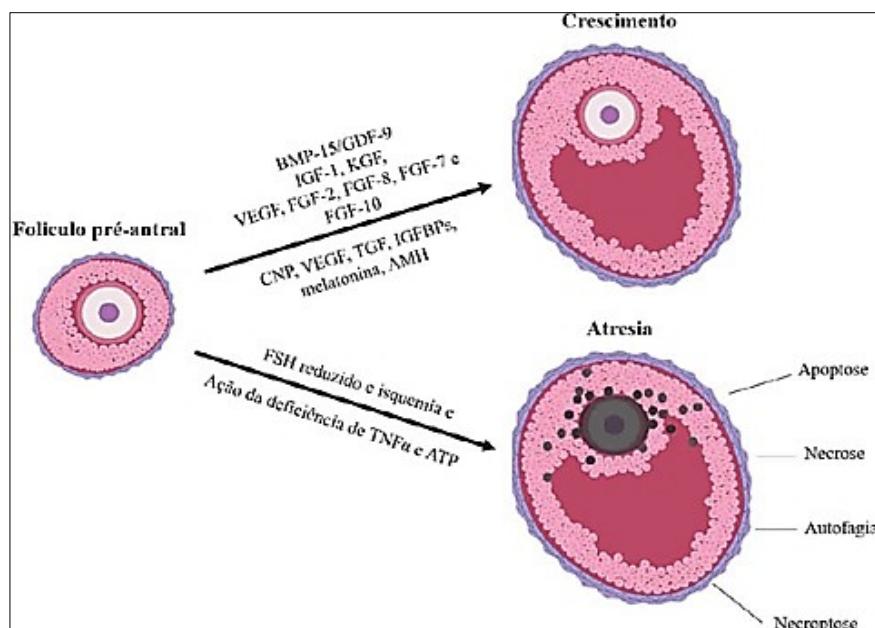


Figura 11 - Influência do FSH, LH estradiol e IGF-I nas células da granulosa na promoção da proliferação e produção de enzimas envolvidas na esteroidogênese.

Fonte: Adaptado de MANUAL MERCK, 2013.

2.2.3 Periodontite e alterações na função ovariana e na fertilidade feminina

A periodontite tem sido associada a alterações na função ovariana e na fertilidade feminina. A inflamação causada pela periodontite leva à liberação de citocinas pró-inflamatórias que podem interferir na comunicação entre as células da granulosa e o óvulo, prejudicando o desenvolvimento folicular e a qualidade do gameta (HART *et al.*, 2012). Essas citocinas afetam negativamente a produção hormonal, resultando em um desequilíbrio que pode levar à falha na ovulação.

Tabela 1 - Achados sobre a relação entre periodontite, função ovariana e fertilidade feminina (2012-2025).

Autor(es)	Ano	Achados principais
Sá et al.	202 5	A periodontite induziu degeneração significativa de folículos secundários e terciários, sem afetar os estágios primordiais e primários. O efeito é atribuído à inflamação sistêmica e possível aumento de EROs.
Paju et al.	201 7	Associaram a presença de <i>Porphyromonas gingivalis</i> em mulheres à maior dificuldade para engravidar, indicando impacto da infecção periodontal na fertilidade feminina.
Nwhator et al.	201 4	Mulheres com periodontite apresentaram maior tempo até a concepção, sugerindo que a doença periodontal é um fator modificável que afeta a fertilidade.
Hart et al.	201 2	Doença periodontal associada a aumento do tempo para concepção, apontando a periodontite como fator de risco modificável para infertilidade feminina.

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Além disso, o estresse oxidativo gerado pela inflamação crônica na periodontite também afeta o ambiente ovariano, alterando a qualidade do óvulo e comprometendo o processo de ovulação. As EROs são altamente prejudiciais às células ovarianas, exacerbando o dano celular e levando a uma diminuição na fertilidade (ZHU *et al.*, 2022). A disfunção ovariana induzida pela periodontite pode, assim, representar um risco significativo para a fertilidade, especialmente em mulheres com doença periodontal grave ou crônica (NIKNIAZ *et al.*, 2023).

2.2.4 Impacto inflamatório da periodontite na atresia folicular

A atresia folicular é um processo fisiológico caracterizado pela degeneração progressiva dos folículos ovarianos que não atingem a maturação, ocorrendo ao longo de toda a vida reprodutiva da fêmea. Estima-se que mais de 99% dos folículos submetem-se à atresia antes de alcançar a ovulação (SPEARS *et al.*, 2019). Esse processo é majoritariamente mediado pelo processo de apoptose, uma forma programada de morte celular que afeta,

principalmente, as células da granulosa, embora também possa comprometer o oócito em estágios avançados (MCCULLY *et al.*, 2004).

A ativação do processo apoptótico nos folículos está intrinsecamente associada ao desequilíbrio entre os fatores pró e antiapoptóticos. Proteínas da família Bcl-2 (B-cell lymphoma 2) atuam na regulação mitocondrial do processo de apoptose, enquanto caspases executoras, como a caspase-3, são responsáveis pela degradação das proteínas intracelulares e fragmentação do DNA (BORGES *et al.*, 2022). Além dos sinais endógenos, agentes externos como citocinas inflamatórias e espécies reativas de oxigênio (EROs) podem atuar como desencadeadores desse processo, comprometendo a viabilidade do oócito e a integridade das células da granulosa (ZHU *et al.*, 2023).

Em condições fisiológicas, pequenas quantidades de EROS são produzidas durante a ovulogênese e possuem papel sinalizador benéfico. Contudo, a exposição excessiva a EROS pode promover estresse oxidativo, caracterizado por um desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes, culminando na disfunção mitocondrial e ativação das vias apoptóticas (FINDLAY *et al.*, 2019). A inflamação sistêmica, especialmente aquela proveniente de doenças crônicas como a periodontite, pode amplificar esse desequilíbrio.

Estudos recentes apontam que a infiltração sistêmica de citocinas inflamatórias provenientes de focos da inflamação periodontal pode alterar o microambiente ovariano, prejudicando a angiogênese folicular, a integridade mitocondrial e a produção hormonal local, especialmente de estradiol, fundamental para a sobrevivência folicular (DENG *et al.*, 2024). Além disso, há evidências de que a presença contínua de inflamação contribui para a modulação negativa de fatores de crescimento, como o IGF-1, que atuam na proteção contra a apoptose (XU *et al.*, 2021). Em modelos animais, foi demonstrado que camundongos com periodontite induzida apresentaram maior taxa de folículos atrésicos e expressões aumentadas de marcadores apoptóticos nos ovários em comparação aos grupos controles (ZHU *et al.*, 2022). Tais achados corroboram a hipótese de que a inflamação periodontal crônica pode representar um fator sistêmico comprometedor da fertilidade feminina, ao promover alterações estruturais e funcionais no eixo hipotálamo-hipófise-ovário e acelerar a perda folicular por atresia.

O estudo de Sá *et al.* (2025) demonstrou que a periodontite experimental induzida em camundongos fêmeas teve um impacto negativo significativo sobre a foliculogênese, especialmente nos estágios mais avançados de desenvolvimento folicular. Embora o trabalho não tenha medido diretamente os níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs), os autores

destacam o papel central das citocinas inflamatórias sistêmicas, como TNF- α e IL-1 β , amplamente associadas ao estresse oxidativo, como mediadoras da degeneração folicular. Esses achados indicam que a inflamação sistêmica crônica provocada pela periodontite compromete diretamente a foliculogênese, especialmente nos estágios secundário e terciário, por mecanismos possivelmente mediados por EROs e citocinas inflamatórias.

Portanto, é plausível sugerir que a atuação sinérgica entre inflamação e estresse oxidativo sistêmico pode ser um elo fisiopatológico entre a saúde periodontal e a função ovariana, destacando a importância de abordagens interdisciplinares para o diagnóstico precoce e tratamento de condições inflamatórias que possam repercutir na saúde reprodutiva da mulher.

2.2.5 Função ovariana e Espécies Reativas de Oxigênio (EROs)

As espécies reativas de oxigênio (EROs) desempenham papéis cruciais na fisiologia ovariana, participando de processos como crescimento folicular, maturação oocitária, ovulação e regressão do corpo lúteo (RIBAS *et al.*, 2022). Durante o crescimento folicular, a produção aumentada de esteroides leva à expressão de citocromo P450, resultando na formação de EROs. Simultaneamente, a secreção aumentada de estradiol em folículos em crescimento desencadeia a expressão de peroxidase catalase, resultando em um equilíbrio dinâmico entre EROs e antioxidantes (VAN DE LOO *et al.*, 2019). A regulação precisa da parada meiótica e da recuperação dos oócitos é essencial para o desenvolvimento reprodutivo feminino. A estimulação por EROs regula o progresso da meiose I; em contraste, a progressão da meiose II é controlada principalmente por antioxidantes no ovário. Isso demonstra a relação complexa entre radicais livres e antioxidantes dentro do processo de maturação meiótica dos oócitos (MORGAN *et al.*, 2012). Durante a maturação dos oócitos, a oxidação do piruvato para geração de ATP é acompanhada pela captação de O₂ e, consequentemente, pela produção de EROs. Em concentrações elevadas, essas EROs desencadeiam a desestabilização do fator promotor da fase M (MPF) e a redução dos fatores promotores de sobrevivência, resultando no apoptose mediado pela mitocôndria (VAN DE LOO *et al.*, 2019).

O aumento de hormônio luteinizante (LH) antes da ovulação aumenta os níveis de precursores inflamatórios no ovário, levando à produção excessiva de EROs. O aumento das EROs induz a apoptose nas células da granulosa, o que leva à ruptura da parede folicular e à ovulação; portanto, isso é considerado um importante sinal de ovulação (FORD *et al.*, 2020).

Da mesma forma, a regressão do corpo lúteo também é mediada pela apoptose induzida por estresse oxidativo das células da granulosa luteinizadas (AGARWAL *et al.*, 2021). O equilíbrio das EROs também é crítico no ambiente *in vitro* e pode influenciar a maturação do oócito, fertilização e subsequente implantação e desenvolvimento embrionário (URUNO *et al.*, 2020). A concentração apropriada de EROs no fluido folicular não é apenas um indicador de boa atividade metabólica folicular, mas também pode ser usada como um marcador potencial para prever o resultado da fertilização *in vitro* (TOSSETA *et al.*, 2022).

Além disso, a inflamação crônica tem sido associada à disfunção ovariana. Estudos recentes indicam que a inflamação é um marcador chave do envelhecimento do estroma ovariano e é considerada um novo mecanismo da insuficiência ovariana primária (FORD *et al.*, 2020). A inflamação crônica, como a observada na obesidade, pode prejudicar a meiose dos oócitos e a qualidade dos oócitos (AZAM *et al.*, 2017). Estudos em modelos animais demonstraram que a inflamação também desempenha um papel importante (ZHOU *et al.*, 2020). Intervenções antioxidantes têm sido exploradas como estratégias para mitigar os efeitos negativos do estresse oxidativo e da inflamação crônica na função ovariana. Compostos como melatonina, resveratrol e queracetina demonstraram potencial em melhorar a qualidade oocitária e os resultados reprodutivos (ZHANG *et al.*, 2023).

2.3 Antioxidantes naturais e fitoterápicos como alternativa terapêutica frente ao desafio inflamatório periodontal

Os antioxidantes naturais têm ganhado destaque como alternativas terapêuticas no manejo de diversas condições inflamatórias crônicas, incluindo a periodontite e os distúrbios relacionados à fisiologia ovariana. Compostos como vitaminas (C e E), polifenóis e flavonoides atuam na neutralização de espécies reativas de oxigênio (EROs), que estão diretamente envolvidas na degradação do colágeno, na disfunção tecidual e na desregulação hormonal (CARNEIRO *et al.*, 2017).

Dentre esses antioxidantes, os polifenóis — especialmente os flavonoides e o ácido ferúlico — têm sido amplamente estudados. Os flavonoides, presentes em alimentos como chá verde, uvas e cacau, apresentam propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, imunomoduladoras e cicatrizantes (TALIB *et al.*, 2020). Já o ácido ferúlico atua na proteção celular contra danos oxidativos e potencializa a ação de outros antioxidantes fisiológicos.

Um dos compostos naturais mais promissores dessa classe é o resveratrol (3,4,5-trihidroxiestilbeno), um polifenol do tipo estilbeno encontrado na casca de uvas vermelhas, vinho tinto e amendoins. O resveratrol (RSV) é conhecido por suas propriedades anti-inflamatórias, anticarcinogênicas, cardioprotetoras, neuroprotetoras e antimicrobianas. Em modelos experimentais, demonstrou capacidade de modular positivamente respostas inflamatórias locais, como nas doenças periodontais, embora sem diferença estatística significativa quanto à perda óssea alveolar em alguns estudos (CORRÊA *et al.*, 2018).

Além disso, há crescente evidência de que compostos antioxidantes, como o RSV, exercem efeitos relevantes sobre a função ovariana. O excesso de espécies reativas de oxigênio (EROs) pode interferir na maturação folicular, na esteroidogênese e na viabilidade dos óocitos, impactando negativamente a fertilidade feminina (SILVA *et al.*, 2024). Nesse contexto, tem se investigado a capacidade do RSV em preservar a integridade folicular e de reduzir a degeneração de folículos em estágios iniciais e intermediários, atuando como um agente protetor do microambiente ovariano frente a agressões inflamatórias sistêmicas, como as desencadeadas pela periodontite induzida (CARNEIRO *et al.*, 2017).

A associação entre a periodontite — uma condição inflamatória crônica — e disfunções reprodutivas reforça a necessidade de abordagens terapêuticas integradas. Estudos demonstram que citocinas inflamatórias como TNF- α e IL-1 β , produzidas em resposta à periodontite, podem induzir apoptose de células da granulosa e interferir na maturação oocitária, além de alterar a expressão hormonal ovariana (SÁ *et al.*, 2025).

Os antioxidantes naturais e fitoterápicos, sobretudo quando utilizados com tecnologias que potencializam sua biodisponibilidade, como a nanoencapsulação, podem representar estratégias adjuvantes na proteção tecidual sistêmica, incluindo o eixo reprodutivo (AZAM *et al.*, 2017). Dessa forma, o uso de compostos como o RSV pode contribuir não apenas no controle da inflamação periodontal, mas também na preservação da morfologia e função ovariana, revelando um potencial terapêutico multifocal que merece ser mais explorado em estudos futuros.

2.4 Resveratrol: caracterização e particularidades

O RSV é um polifenol presente em várias substâncias, como casca de uva (Figura 12A) e amendoim (Figura 12B), traz a hipótese de sua ação antienvelhecimento, cardioprotetora e, principalmente, anti-inflamatória (XU *et al.*, 2021). Tais características

| podem culminar no potencial adjuvante do RSV na terapia da periodontite (CEKICI *et al.*, 2014).



Figura 12 – Imagem das fontes de resveratrol (RSV) em (A) uvas roxas e (B) amendoins.

Fonte: Adaptado de Neves *et al.*, 2012.

2.4.1 Formas de apresentação e principais vias de administração

O composto foi isolado pela primeira vez em 1940 a partir de raízes do lírio heléboro-branco (*Veratum grandiflorum*) (TAKAOKA, 1940) e diversos estudos foram realizados até que Jang *et al.* (1997) concluíram que o RSV possuía propriedades quimiopreventivas, inibindo a iniciação, promoção e progressão da carcinogênese.

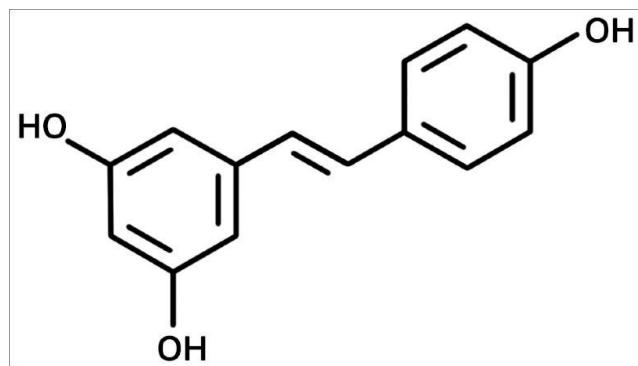


Figura 13 - Estrutura química do resveratrol (RSV).

Fonte: PubChem (2025)

As formas mais comuns de comercialização do RSV incluem cápsulas e comprimidos, geralmente voltados para uso oral como suplemento dietético ou nutracêutico. Tais formulações, embora amplamente difundidas, apresentam absorção limitada, com biodisponibilidade inferior a 1%, devido à rápida conversão em metabólitos inativos após ingestão (WANG *et al.*, 2023). Por isso, diversos fabricantes têm incorporado tecnologias inovadoras para melhorar sua eficácia. Um exemplo são os comprimidos com revestimento

entérico, que visam proteger o composto da degradação gástrica, promovendo liberação no intestino delgado, onde há maior absorção (CORRÊA *et al.*, 2018).

A administração oral é a forma mais comum de uso do RSV, sendo favorecida pela praticidade e adesão do paciente. Contudo, após ingestão, o composto sofre intensa metabolização de primeira passagem, sendo rapidamente convertido em metabólitos inativos, o que reduz drasticamente sua concentração plasmática e, portanto, sua eficácia terapêutica (LIU *et al.*, 2025). Para contornar esse problema, estudos recentes têm empregado sistemas nanoestruturados que possibilitam maior proteção do composto e liberação controlada. Entre eles, destacam-se as nanopartículas poliméricas, como as de policaprolactona (PCL), que demonstraram aumentar significativamente a estabilidade do RSV e sua absorção sistêmica.

Outros sistemas promissores incluem nanoemulsões, que facilitam a dispersão do RSV em meio aquoso e aumentam sua solubilidade, além de nanocristais, que ampliam a área de contato com as mucosas gastrointestinais, promovendo maior permeação (YANG *et al.*, 2024).

Uma das vias de administração explorada com sucesso é a transdérmica, a qual evita o metabolismo hepático de primeira passagem e permite liberação sustentada do fármaco. Entretanto, a permeação cutânea natural do RSV é limitada. Para resolver essa limitação, formulações com lipossomas deformáveis, ethosomas e transferossomas têm se mostrado eficazes. HUANG *et al.*, (2020) relataram que o uso de ethosomas aumentou em até 3 vezes a penetração cutânea do RSV, evidenciando seu potencial para aplicação localizada e também sistêmica. De forma semelhante, MA *et al.* (2022) conduziram um ensaio clínico randomizado com formulação tópica contendo RSV nanoencapsulado, observando melhora significativa na firmeza e textura da pele de mulheres com sinais de envelhecimento após 8 semanas de uso contínuo.

A administração intravenosa também representa uma estratégia eficiente para aumentar a biodisponibilidade do RSV, sendo particularmente útil em contextos clínicos de alta gravidade. Nessa via, o fármaco atinge diretamente a circulação sistêmica, evitando as perdas por metabolismo intestinal e hepático. Em modelos animais, a administração intravenosa de nanopartículas de resveratrol apresentou resposta anti-inflamatória superior à do composto livre, com melhor distribuição tecidual e menor toxicidade hepática, conforme relatado por WU *et al.* (2022).

Vias alternativas, como a inalatória e a nasal, também têm ganhado destaque, sobretudo em condições respiratórias e neurológicas. A administração pulmonar, utilizando

n nanopartículas lipídicas sólidas, foi capaz de reduzir citocinas inflamatórias em modelos experimentais de asma e doença pulmonar obstrutiva crônica, conforme demonstrado por ZHANG *et al.*, (2023). Além disso, a via nasal tem se mostrado promissora para atingir o sistema nervoso central, ultrapassando a barreira hematoencefálica e promovendo efeitos neuroprotetores, como evidenciado por WANG *et al.* (2023).

Outra via que vem sendo investigada é a bucal, incluindo sublingual e gengival, com o uso de formulações mucoadesivas como géis, biofilmes e pastilhas orodispersíveis. Essas formulações oferecem liberação controlada do composto, prolongando seu tempo de ação e facilitando a absorção direta pela mucosa oral. GHOSH *et al.*, (2020) descreveram que o uso de biofilmes contendo resveratrol resultou em melhora significativa de parâmetros inflamatórios em modelos de gengivite, com aumento da viabilidade celular e redução da apoptose.

Apesar dos avanços consideráveis, cada sistema apresenta suas limitações. As nanopartículas, por exemplo, embora aumentem a eficácia terapêutica, demandam processos complexos de produção e validação de segurança em longo prazo (RAJASEKAR *et al.*, 2022). As formulações lipossomais podem apresentar instabilidade física (PATTNI; CHHATBAR, 2021), enquanto as nanoemulsões, apesar da boa absorção, podem causar irritação gastrointestinal (KHALID *et al.*, 2021). As formas transdérmicas enfrentam restrições relacionadas à permeabilidade cutânea (KHAN *et al.*, 2020), e as vias nasal e pulmonar requerem dispositivos específicos para administração adequada (MAHMOOD *et al.*, 2022). Portanto, a escolha da forma de apresentação deve considerar a condição clínica, o alvo terapêutico e as características farmacocinéticas desejadas.

Nos modelos experimentais *in vivo*, especialmente em estudos com roedores, a aplicação do resveratrol ocorre predominantemente pelas vias oral e intraperitoneal, sendo essas escolhidas por aspectos farmacocinéticos e pela praticidade na administração repetida. A forma livre (RSV puro diluído em solventes como etanol, DMSO ou PBS) ainda é bastante utilizada, sobretudo em protocolos de curta duração e baixa complexidade. No entanto, estudos recentes vêm priorizando o uso de formulações avançadas para contornar as limitações biofarmacêuticas do composto, como sua baixa solubilidade aquosa e rápida metabolização hepática (KASSAEE *et al.*, 2022).

A forma mais comum nos estudos *in vivo* é o RSV nanoencapsulado, principalmente em nanopartículas poliméricas, lipídicas ou lipossomais. As nanopartículas de PCL são amplamente utilizadas por oferecerem alta biocompatibilidade, liberação controlada e

proteção do composto contra a degradação oxidativa. Outra estratégia amplamente empregada são os lipossomas, vesículas fosfolipídicas que encapsulam o RSV e favorecem sua absorção por células-alvo (SINGH *et al.*, 2017). Esses sistemas foram utilizados, por exemplo, em um estudo com modelo de isquemia cerebral em ratos, no qual se observou maior proteção neuronal e menor estresse oxidativo nos animais que receberam RSV lipossomal (ALKILANI *et al.*, 2022). Ainda nesse contexto, nanoemulsões e nanocristais também têm sido utilizadas com sucesso, principalmente pela via oral, em estudos sobre síndrome metabólica e doenças ovarianas, promovendo absorção intestinal superior e resposta antioxidante mais duradoura (KHAN *et al.*, 2015).

A via intraperitoneal é recorrente em protocolos *in vivo* com camundongos, sendo utilizada tanto para RSV livre quanto nanoencapsulado. Essa via garante rápida absorção sistêmica e reduz interferências do metabolismo hepático de primeira passagem. Em experimentos com inflamação crônica e modelos de periodontite, a administração diária de RSV intraperitoneal resultou em redução significativa de citocinas inflamatórias e preservação da morfologia tecidual, conforme relatado por LI *et al.*, (2013).

Além dessas, formas mucoadesivas, como biofilmes orais ou géis gengivais contendo resveratrol, têm sido aplicadas localmente em modelos de periodontite e lesões orais, com resultados promissores na redução do infiltrado inflamatório e na regeneração epitelial (ZHOU *et al.*, 2021). Embora menos comuns, também há registro de utilização de géis intravaginais contendo RSV em modelos murinos para o estudo da função reprodutiva, demonstrando boa retenção local e efeitos antioxidantes relevantes sobre o epitélio vaginal e o útero (ZHANG *et al.*, 2023).

2.4.2 Potencial anti-inflamatório do RSV

A eficácia terapêutica e anti-inflamatória do RSV está intrinsecamente ligada à sua forma de apresentação e via de administração. As abordagens nanotecnológicas têm se mostrado promissoras para superar as limitações biofarmacêuticas desse composto, promovendo liberação controlada, maior absorção e direcionamento específico aos tecidos-alvo (LIU *et al.*, 2025). Contudo, a tradução desses avanços para o uso clínico ainda depende de ensaios clínicos robustos e de longo prazo que validem sua segurança e eficácia em humanos.

Considerando o cenário complexo conduzido por numerosos mediadores pró e anti-inflamatórios com propriedades diferentes, tem-se investigado estratégias para modular a

resposta imune-inflamatória do hospedeiro à doença periodontal. O estudo de Casati et al. (2013) relatou que tanto os anti-inflamatórios não esteroidais convencionais (AINEs) como os inibidores seletivos da ciclooxygenase-2 (COX-2) podem modular a reação inflamatória de um hospedeiro. Entretanto, o uso sistêmico desses fármacos está frequentemente relacionado a efeitos colaterais graves (PATRONO *et al.*, 2001).

O RSV possui atividade inibidora em vias importantes na inflamação como a do NF- κ B, através da modulação negativa da atividade das IKK, da JAK/STAT, das vias de sinalização PI3K/Akt e da via das MAPKs. Além destes, são descritos efeitos na sinalização de alvo de rapamicina em mamíferos (mTOR), modulação de miRNA, proteína cinase ativada por AMP (AMPK), inibição do citocromo P450 e de moléculas de adesão (VCAM-1 e ICAM-1) (BRITTON *et al.*, 2015).

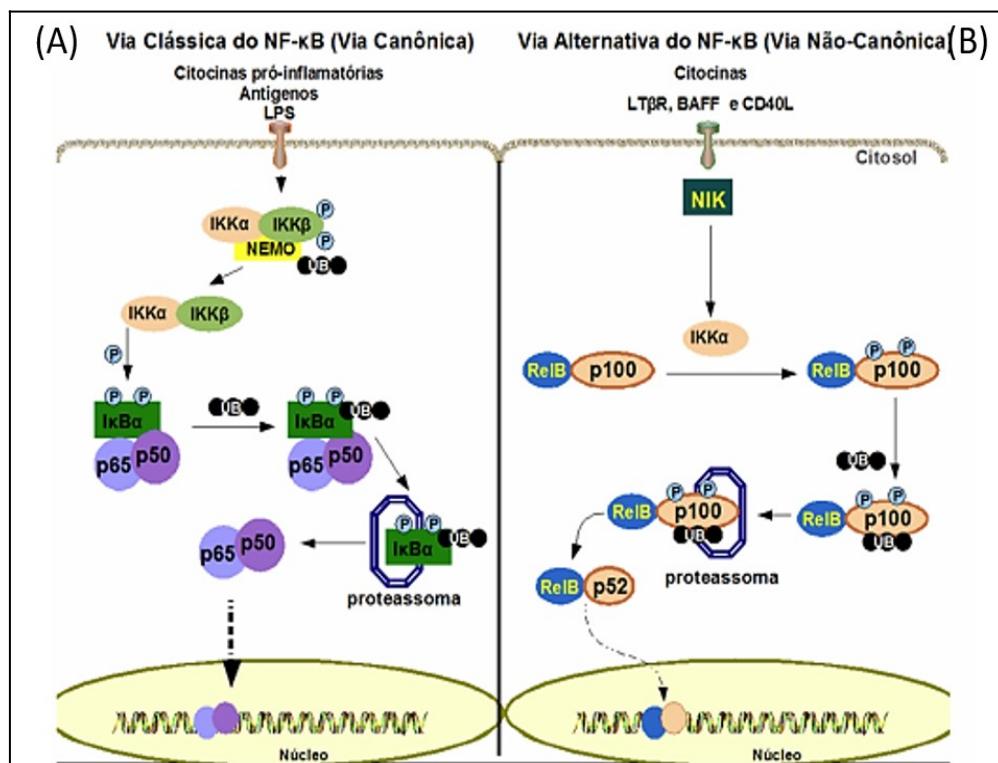


Figura 14 – Vias de sinalização do NF-κB. Em A via clássica (via canônica) e em B via alternativa (não-canônica). A via clássica é dependente de NEMO, enquanto que, na via alternativa a subunidade p100 é degradada pelo proteassoma para dar origem a p52.

Fonte: Adaptado de Xiao *et al.*, 2004.

Paralelamente a esse fato, a busca por biotécnicas alternativas que possibilitem à mulher manter sua fertilidade diante de adversidades, como os efeitos da doença periodontal,

são crescentes diante da necessidade de entendimento dos processos terapêuticos ao se lançar mão de recursos e produtos de origem natural (SOORY, 2000).

Tseng *et al.*, (2011), comprovaram em estudo que o RSV demonstrou retardar efetivamente a osteoblastogênese e subsidiar nova formação óssea; tais propriedades são essenciais para o tratamento da periodontite. Um estudo conduzido por Casati *et al.*, (2013) usando 10 mg/kg de RSV por dia durante 19 dias de pré-tratamento indicou maiores valores de perda óssea em molares ligados e dentes não ligados na grupo-controle do que no grupo alimentado com resveratrol ($P < 0,05$). Nesse mesmo estudo-clínico, o RSV adicionado à água potável “demonstrou levar a liberação de alvéolos associados à colocação de ligaduras reabsorção óssea alveolar”.

A administração de RSV demonstrou inibir a perda de osso alveolar e reduzir os níveis de interleucina (IL)-17 no tecido gengival. O composto também ativou a via do fator 2 (Nrf2) relacionada ao fator nuclear 2 e diminuição do estresse e produção de citocinas pró-inflamatórias em um modelo de periodontite em ratos. Além disso, o RSV suprimiu a resposta inflamatória da gengiva humana células epiteliais através da inibição da sinalização do fator nuclear (NF)-jB (ROBINSON *et al.*, 1991). Demonstrou-se também que o resveratrol pode interferir positivamente na osteogênese, contribuindo para a neoformação óssea (TSENG *et al.*, 2011).

No entanto, investiga-se se o RSV pode promover efeitos imunomoduladores na resposta do hospedeiro na presença de doença periodontal. Evidências têm apoiado cada vez mais teorias de que a resposta imuno-inflamatória influencia a composição do biofilme e que o controle da inflamação pode inibir o surgimento de um biofilme patogênico, além de melhorar a cicatrização periodontal. Assim, novos dados sobre a ação imuno-inflamatória do RSV podem sugerir-lo como uma nova terapêutica para pacientes com periodontite (CHAPPLE *et al.*, 2015; CASATI *et al.*, 2013).

De acordo com as propriedades estudadas, o RSV atua não só como antioxidante, mas também como sequestrador de radicais livres, impedindo que seja gerado um estado de stress oxidativo. A sua capacidade antioxidante depende da propriedade redox dos grupos fenólicos e do potencial de deslocamento de elétrons ao longo da estrutura química (CASATI *et al.*, 2013). Para avaliar os efeitos do RSV *in vivo*, Simsek *et al.*, (2012) administraram diferentes doses (10 e 100 mg/Kg) de RSV em ratas e, após 24 h, submeteram os animais à radiação. Os autores observaram que as ratas tratadas com resveratrol apresentavam significativamente mais folículos ovarianos, além de maior expressão da enzima glutationa peroxidase do que os

animais do grupo controle (sem RSV). Dessa forma, eles sugeriram que o resveratrol é eficiente em reduzir a perda folicular induzida pela radiação.

Outro experimento *in vivo* demonstrou que a administração de RSV inibe a ativação folicular (transição de folículos primordiais para primários) em ratas, o que evitaria a falha ovariana prematura, além de reduzir as taxas de apoptose (KONG *et al.*, 2011). Resultados similares foram observados por Chen *et al.*, (2010), em que o resveratrol aumentou a reserva de folículos ovarianos de ratas e promoveu uma redução na atresia. Liu *et al.*, (2013) demonstraram que o RSV possui um efeito protetor sobre a fertilidade de camundongos fêmeas com idade avançada, aumentando o número de folículos viáveis, bem como a quantidade e qualidade dos oócitos.

Um estudo recente demonstrou que, após cultivo de células da granulosa de ratas, baixas concentrações de RSV estimularam a incorporação de timidina triciada, o que é indicativo de proliferação celular, e altas concentrações inibiram esta incorporação (ORTEGA *et al.*, 2012). Este mesmo estudo mostrou ainda que o resveratrol reduziu a apoptose, através da redução da expressão da caspase-3 e possibilitou a manutenção da morfologia celular. Contudo, efeitos contrários foram encontrados quando células da teca de ratas foram cultivadas *in vitro* (WONG *et al.*, 2010). Neste estudo, o RSV exerceu um efeito antiproliferativo e pró apoptótico através da ativação das caspases-3 e 7, além de provocar mudanças na morfologia dessas células.

Estudos com oócitos suínos demonstraram que a presença de diferentes concentrações de resveratrol (0,5; 2,0 e 10,0 μM) na maturação *in vitro* (MIV) promoveram uma redução significativa nos níveis de EROs utilizando-se 2,0 μM de resveratrol, comparado aos demais tratamentos (KWAK *et al.*, 2012). Estes autores também relataram maior formação de blastocistos e menor expressão de genes relacionados com apoptose (caspase-3 e bax), comparados ao controle.

Um estudo realizado com amostras de ovários de roedores demonstrou que, após cultivo de células da granulosa de ratas, baixas concentrações de RSV estimularam a incorporação de timidina triciada, o que é indicativo de proliferação celular, e altas concentrações inibiram esta incorporação (ORTEGA *et al.*, 2012). Este mesmo estudo mostrou ainda que o RSV reduziu a apoptose, através da redução da expressão da caspase-3 e possibilitou a manutenção da morfologia celular. O RSV, nas concentrações de 0,1 mM e 1,0 mM, aumentou a produção de progesterona pelas células do cumulus, bem como a taxa de

formação do primeiro corpúsculo polar e reduziu as EROs após MIV de oócitos bovinos (WANG *et al.*, 2014).

2.4.3 Resveratrol e estresse oxidativo

O RSV tem demonstrado grande potencial na mitigação do estresse oxidativo, atuando como um agente antioxidante que neutraliza os radicais livres e promove a recuperação do equilíbrio redox celular (DIKMETAS *et al.*, 2024). Uma das formas que esse composto exerce seu efeito benéfico é por meio da ativação da SIRT1, uma proteína desacetilase dependente de NAD⁺ (nicotinamida adenina dinucleotídeo), que desempenha um papel fundamental na regulação de processos celulares como a resposta ao estresse e à inflamação (WANG *et al.*, 2018).

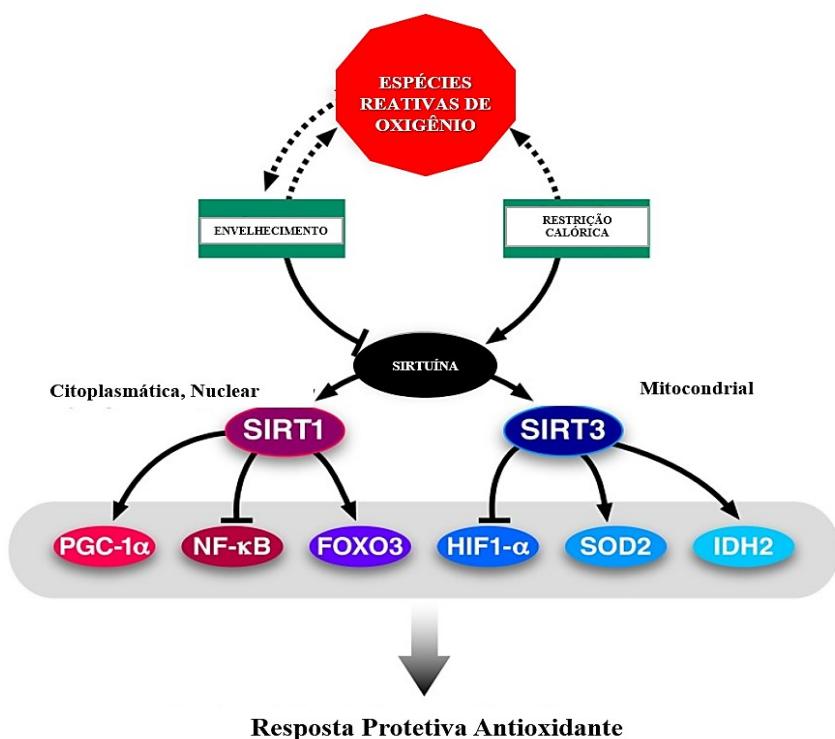


Figura 15 - Mecanismo de modulação das espécies reativas de oxigênio (EROs) pela via das sirtuínas e sua relação com o envelhecimento e a restrição calórica. A ativação das sirtuínas (SIRT1 e SIRT3), em resposta à restrição calórica e ao acúmulo de EROs, promove uma resposta antioxidante protetora por meio da regulação de diversos fatores celulares e mitocondriais. A SIRT1, de localização citoplasmática e nuclear, atua sobre PGC-1 α , NF- κ B e FOXO3, enquanto a SIRT3, de localização mitocondrial, regula HIF1- α , SOD2 e IDH2.

Fonte: Adaptado de WANG *et al.*, 2023.

A SIRT1 é uma proteína crucial na adaptação celular ao estresse, uma vez que sua ativação pode promover a desacetilação de várias proteínas envolvidas na resposta a danos celulares, no metabolismo e na inflamação. A ativação da SIRT1 (Figura 15) tem sido associada a uma série de efeitos benéficos, incluindo a proteção contra o estresse oxidativo, a modulação da inflamação e a melhoria da função mitocondrial. Além disso, a SIRT1 regula proteínas como p53, NF-κB e FOXO1, que estão envolvidas na resposta ao estresse e na regulação da inflamação (CHENG *et al.*, 2022).

Estudos recentes têm demonstrado que o RSV pode aumentar os níveis de NAD⁺, promovendo a ativação da SIRT1. Isso ocorre porque o resveratrol pode atuar como um modulador da via de síntese de NAD⁺, aumentando a disponibilidade deste cofator essencial para a atividade da SIRT1 (ZHANG *et al.*, 2021). A ativação da SIRT1 pelo resveratrol tem implicações importantes na redução da resposta inflamatória particularmente em modelos de inflamação crônica, como os observados na periodontite.

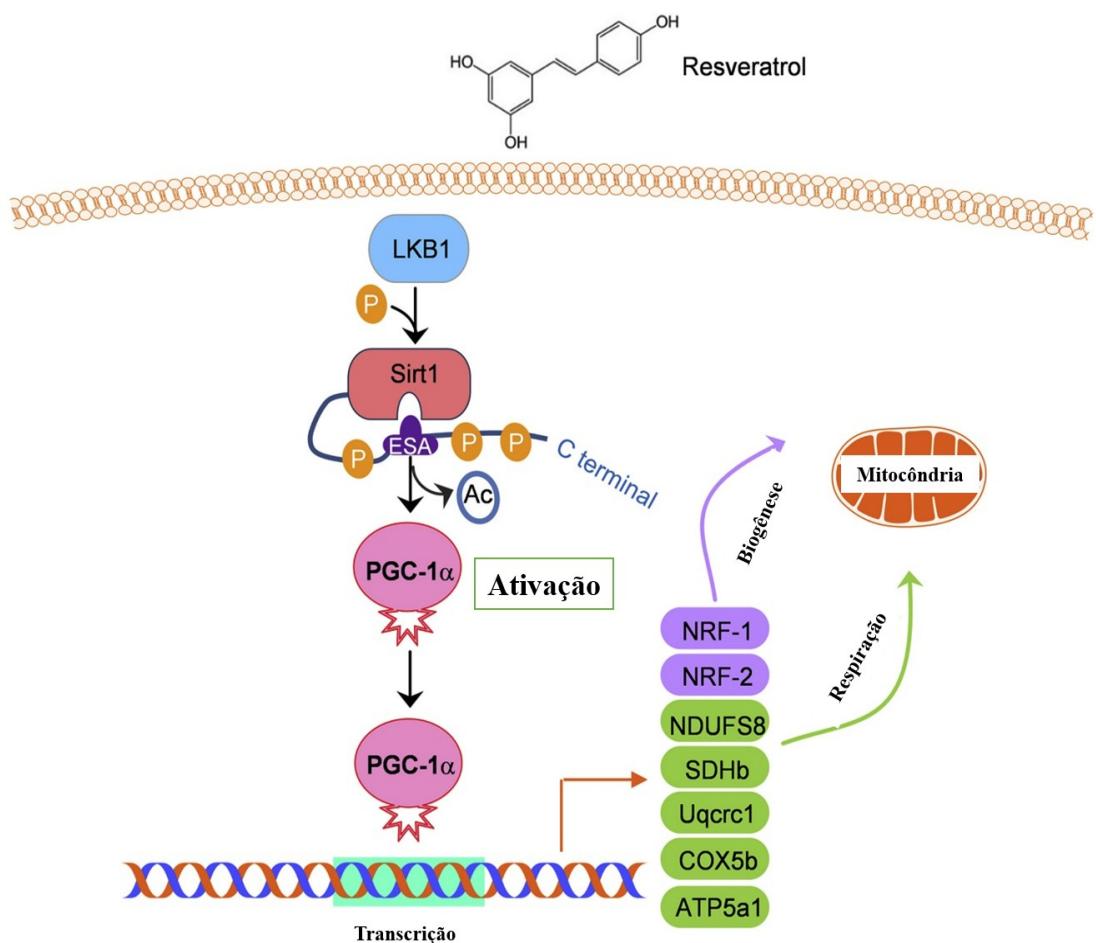


Figura 16 - Modelo esquemático para a fosforilação e ativação de Sirt1 mediada por LKB1 estimulada por resveratrol na biogênese e respiração mitocondrial. O RSV promove a ligação entre LKB1 e Sirt1, o que leva LKB1 a fosforilar diretamente Sirt1 em três resíduos diferentes no domínio C-terminal. A fosforilação dependente de LKB1 promove a interação intramolecular de Sirt1 e ativa sua atividade desacetilásica. Funcionalmente, a ativação de Sirt1 aumenta a biogênese e a respiração mitocondrial por meio da desacetilação e ativação de PGC-1 α , um regulador mestre da função mitocondrial.

Fonte: Adaptado de ZHANG *et al.*, 2021.

O mecanismo pelo qual o RSV ativa a SIRT1 (Figura 16) envolve a inibição de fosfatases que desativariam a proteína, bem como o aumento da concentração de NAD $^{+}$ nas células, que é um cofator essencial para a atividade da SIRT1. Ao aumentar a disponibilidade de NAD $^{+}$, o resveratrol facilita a ativação de SIRT1, promovendo a desacetilação de proteínas chave, como o NF- κ B, um fator de transcrição envolvi do na resposta inflamatória. Essa ativação reduz a expressão de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β e TNF- α , que são comumente elevadas em estados inflamatórios, como a periodontite (LIU *et al.*, 2021).

2.4.4 Nanotecnologia como alternativa de melhoramento do RSV

O RSV é um polifenol natural que vem sendo amplamente estudado por seu potencial terapêutico, especialmente devido à sua potente ação antioxidante, anti-inflamatória e neuroprotetora. No entanto, sua baixa biodisponibilidade, associada à instabilidade frente a fatores como luz, pH e temperatura, além de sua reduzida solubilidade em água, limitam sua eficácia clínica (WONG *et al.*, 2020).

Um dos principais desafios está relacionado à sua baixa biodisponibilidade oral, que é inferior a 1% após administração em humanos, conforme demonstrado em estudos farmacocinéticos. Isso se deve, em parte, à sua rápida metabolização hepática e intestinal, resultando na formação de metabólitos sulfatados e glicuronidos com menor atividade biológica (PULINGAM *et al.*, 2022). Além disso, o RSV apresenta instabilidade em condições ambientais comuns, sendo sensível à luz, variações de pH e temperatura, o que compromete sua integridade química durante o armazenamento e após a administração. Outro fator limitante é a baixa solubilidade do RSV em meio aquoso, o que dificulta sua absorção sistêmica e reduz seu tempo de meia-vida plasmática. Essas características comprometem sua

eficácia terapêutica, especialmente quando se busca um efeito sistêmico prolongado, como no caso de doenças inflamatórias crônicas, neurodegenerativas ou na regulação da fisiologia reprodutiva, onde a manutenção de concentrações plasmáticas estáveis é essencial.

Visando solucionar esses problemas, uma estratégia bastante eficaz vem sendo adotada: a nanoencapsulação, que consiste em envolver o RSV em nanopartículas. Entre os sistemas mais utilizados, destacam-se as nanopartículas poliméricas, que apresentam alta biocompatibilidade, são biodegradáveis e oferecem vantagens como proteção do composto ativo, liberação controlada e possibilidade de funcionalização para liberação direcionada (CARLETTTO *et al.*, 2016). A nanoencapsulação ajuda a proteger o RSV da degradação e melhora sua solubilidade, permitindo que ele seja mais facilmente absorvido pelo corpo. Além disso, ela possibilita que o RSV seja liberado de forma controlada, ou seja, ele age de maneira mais eficaz e por mais tempo no organismo. Assim, a nanoencapsulação é uma técnica bastante promissora para tornar o RSV mais eficiente no tratamento de várias doenças (RIBEIRO *et al.*, 2017).

Um dos polímeros mais utilizados para realizar essa nanoencapsulação é a poli- ϵ -caprolactona (PCL). A PCL (Figura 17) é um material biocompatível e biodegradável, o que significa que ela é segura para ser utilizada no corpo humano e, após cumprir seu papel, é naturalmente eliminada. Esse polímero é amplamente utilizado em sistemas de liberação controlada de medicamentos, porque é capaz de formar uma estrutura que protege o resveratrol e garante sua liberação de maneira lenta e prolongada. Em outras palavras, a PCL funciona como uma "capinha" que envolve o RSV, permitindo que ele seja transportado até o local desejado no corpo e liberado gradualmente, potencializando seus efeitos terapêuticos (CORRÊA *et al.*, 2018).

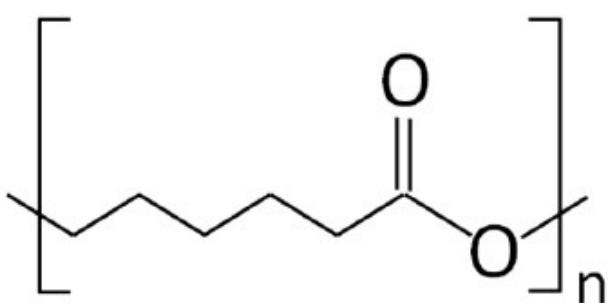


Figura 17 - Estrutura química da unidade monomérica da poli ϵ -caprolactona.

Fonte: PubChem (2025).

Para produzir as nanopartículas que contêm o RSV e PCL, é utilizado um método chamado nanoprecipitação. A nanoprecipitação é um processo simples, mas eficaz, no qual uma solução que contém o resveratrol e o PCL dissolvidos em um solvente orgânico é misturada rapidamente com uma solução aquosa. A mistura provoca a precipitação do RSV e de PCL, formando nanopartículas muito pequenas que são encapsuladas na matriz polimérica. Essas nanopartículas são então separadas e purificadas para garantir que a quantidade de RSV esteja corretamente distribuída nas partículas, resultando em um nanossistema estável e eficaz para a liberação do composto (ALMEIDA *et al.*, 2019).

Esse processo de nanoencapsulação (Figura 18) oferece uma série de benefícios, como a proteção do resveratrol contra a degradação, a melhoria na solubilidade, a liberação controlada do composto e, consequentemente, o aumento da eficácia terapêutica. Com o uso de PCL como material de encapsulamento e a técnica de nanoprecipitação, o RSV pode ser mais eficaz no tratamento de diversas condições de saúde, oferecendo uma nova abordagem para a utilização desse composto natural.

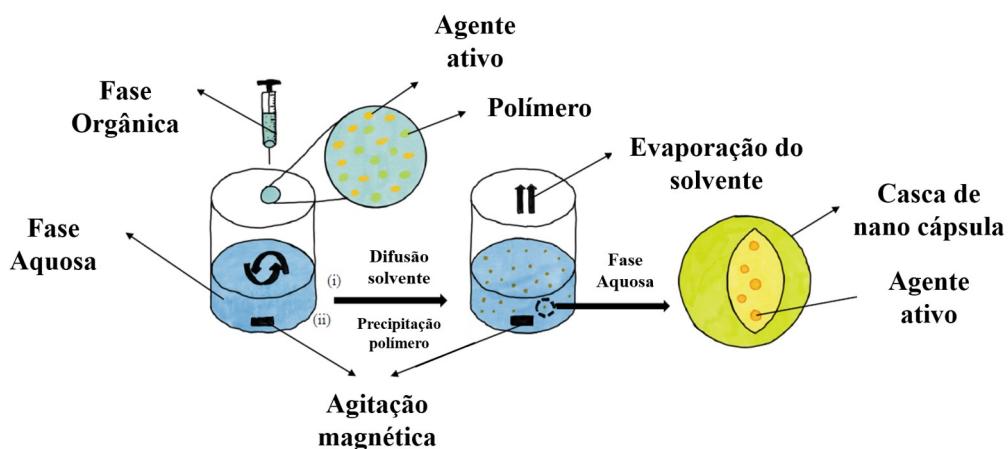


Figura 18 - Ilustração esquemática das fases do processo de formação de nanopartículas pelo método de nanoprecipitação.

Fonte: Adaptado de MORA-HUERTAS *et al.*, (2010).

Estudos recentes demonstram que a administração intraperitoneal de nanopartículas de PCL carregadas com RSV é eficaz e segura em modelos animais. Mussi *et al.*, (2021)

desenvolveram nanopartículas de PCL contendo RSV, com administração intraperitoneal em camundongos na dose de 10 mg/kg a cada dois dias, observando aumento da biodisponibilidade e efeitos terapêuticos significativos, especialmente em modelos de câncer de mama. Nesses estudos, a escolha da via intraperitoneal é justificada por permitir uma absorção mais rápida e eficiente do composto, evitando a primeira passagem hepática e maximizando sua disponibilidade sistêmica.

Além disso, Cavalcante *et al.*, (2018) descreveram a formulação de nanopartículas de PCL funcionalizadas com TPGS, com alta eficiência de encapsulação (98%) e perfil adequado de liberação controlada, reforçando a viabilidade do sistema para aplicações terapêuticas em condições inflamatórias crônicas como a periodontite. Assim, a administração intraperitoneal de nanopartículas de PCL contendo RSV, na dose de 10 mg/kg, apresenta-se como uma abordagem promissora para garantir a estabilidade do composto e sua eficácia terapêutica em estudos pré-clínicos *in vivo*.

Essa tecnologia ainda permite uma liberação sustentada do bioativo, o que reduz a frequência de administração e melhora a adesão ao tratamento (YANG *et al.*, 2018). Além disso, o uso de nanocarreadores pode melhorar significativamente a penetração celular e a absorção tecidual do RSV, ampliando seu espectro de ação terapêutica e permitindo aplicações em áreas como oncologia, doenças neurodegenerativas, distúrbios metabólicos e quadros de inflamações crônicas (ABOUREHAB *et al.*, 2022).

2.5 Murinos como modelo na experimentação animal

A utilização de animais em pesquisas científicas continua sendo um instrumento essencial para o avanço do conhecimento em diversas áreas da biomedicina, permitindo o desenvolvimento de terapias, vacinas e novas abordagens diagnósticas. Entre as espécies utilizadas, os murinos (ratos e camundongos) se destacam por suas características biológicas, reprodutivas e genéticas que os tornam ideais para modelos experimentais (MARCONDES *et al.*, 2002).

Camundongos, em particular, são amplamente empregados na pesquisa biomédica devido à sua alta taxa reprodutiva, rápido ciclo de vida, facilidade de manejo e baixo custo de manutenção. Além disso, compartilham uma significativa homologia genética com os humanos, o que permite a extração de resultados com maior precisão (STUMP *et al.*, 2013).

Esses animais têm sido utilizados extensivamente em estudos de toxicidade reprodutiva, desenvolvimento embrionário e mecanismos de doenças humanas, inclusive na área da reprodução e regeneração tecidual (CHORILLI *et al.*, 2007). O uso de modelos murinos permite, por exemplo, avaliar os efeitos de substâncias sobre a fertilidade, morfologia folicular e padrão de ciclicidade reprodutiva, fornecendo subsídios para a análise de riscos e potenciais efeitos terapêuticos de fármacos ou compostos bioativos (RIBEIRO *et al.*, 2021).

A escolha do modelo animal adequado leva em consideração critérios como idade, peso, status reprodutivo, susceptibilidade genética, presença de anomalias e reprodutibilidade dos resultados (FERREIRA *et al.*, 2023). Nesse contexto, os camundongos oferecem uma base robusta para investigações em fases pré-clínicas, sendo especialmente relevantes para estudos que envolvem mecanismos celulares e moleculares, como apoptose, estresse oxidativo e diferenciação celular (OLIVEIRA *et al.*, 2022).

A linhagem *Swiss*, amplamente utilizada em estudos reprodutivos, apresenta um ciclo estral bem caracterizado e semelhante ao de outras linhagens de camundongos. O ciclo estral dessas fêmeas dura aproximadamente 4 a 5 dias e é dividido em quatro fases principais: proestro, estro, metaestro (ou diestro I) e diestro (ou diestro II), sendo possível identificá-las por meio da análise citológica de lavados vaginais (MARCONDES *et al.*, 2002).

Durante o proestro, há proliferação das células do epitélio vaginal, aumento do número de células nucleadas e o crescimento folicular estimulado por FSH. O estro é caracterizado pela ovulação e predomínio de células epiteliais anucleadas cornificadas, com o pico de LH promovendo a liberação do óvulo. No metaestro, observa-se a presença de leucócitos misturados a células epiteliais, marcando o início da formação do corpo lúteo. Já o diestro é caracterizado pelo predomínio de leucócitos, período em que os níveis hormonais estão mais baixos e há manutenção do corpo lúteo (SANTOS *et al.*, 2021).

A compreensão do ciclo estral é fundamental para a correta condução de experimentos envolvendo camundongos fêmeas, especialmente em pesquisas sobre fertilidade, ação hormonal, toxicidade reprodutiva e terapias que influenciam a função ovariana (SOUZA *et al.*, 2023).

3 JUSTIFICATIVA

Com os avanços nas tecnologias biomédicas e farmacêuticas, cresce o interesse por terapias naturais como alternativas eficazes e menos invasivas no tratamento de doenças inflamatórias crônicas, como a periodontite. Dentre os compostos naturais com potencial terapêutico, destaca-se o resveratrol (RSV), uma fitoalexina com reconhecida atividade anti-inflamatória, antioxidante e imunomoduladora (ANNAJI *et al.*, 2021). Considerando os desafios no manejo clínico da periodontite, principalmente nos casos refratários à terapêutica convencional, a investigação de novas abordagens adjuvantes, como o uso de compostos naturais, se mostra cada vez mais necessária.

Modelos experimentais em animais, especialmente camundongos, têm sido amplamente utilizados para estudar a patogênese da periodontite, por apresentarem similaridades importantes com a forma clínica da doença em humanos, como a suscetibilidade à indução da periodontite e o padrão de perda óssea alveolar (BHATTARAI *et al.*, 2016). Além disso, o baixo custo, fácil manejo e manipulação genética tornam os camundongos ideais para estudos mecanísticos sobre inflamação periodontal (IKEDA *et al.*, 2022).

Este estudo apresenta caráter inédito ao investigar a influência da periodontite induzida experimentalmente sobre a qualidade dos folículos ovarianos e a possível ação protetora do RSV nesse contexto. A relação entre doenças periodontais e alterações sistêmicas já é reconhecida, mas há lacunas quanto à compreensão da interface entre a inflamação periodontal e a função ovariana. Evidências recentes apontam que citocinas pró-inflamatórias liberadas durante processos periodontais podem interferir na dinâmica folicular e comprometer a fertilidade (SANTOS *et al.*, 2019).

Nesse cenário, a aplicação da nanotecnologia na área biomédica, por meio da nanoencapsulação de compostos bioativos como o RSV, desponta como uma promissora estratégia biotecnológica para melhorar a estabilidade, biodisponibilidade e eficácia terapêutica dessas moléculas. O uso de nanopartículas poliméricas biodegradáveis, como a poli- ϵ -caprolactona (PCL), representa um avanço relevante na entrega direcionada e controlada de fármacos, favorecendo a liberação sustentada do agente ativo e a redução de efeitos colaterais sistêmicos, o que reforça o potencial clínico e translacional da proposta.

Além disso, a presente investigação encontra respaldo nas diretrizes da Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável, especialmente nos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS). Contribui diretamente com o ODS 3 (Saúde e bem-estar), ao propor

estratégias inovadoras para a prevenção e o tratamento de doenças crônicas; com o ODS 5 (Igualdade de gênero), ao focar na preservação da saúde reprodutiva feminina; e com o ODS 9 (Indústria, inovação e infraestrutura), ao aplicar soluções tecnológicas avançadas, como a nanotecnologia, no desenvolvimento de alternativas terapêuticas mais sustentáveis e eficazes.

Dessa forma, compreender os impactos da periodontite sobre os ovários e avaliar o papel do RSV como modulador desses efeitos pode contribuir não apenas para o desenvolvimento de terapias mais integrativas, mas também para a preservação da saúde reprodutiva feminina. Ao investigar os efeitos do RSV na morfologia e no desenvolvimento dos folículos ovarianos em um modelo de periodontite, o presente trabalho visa preencher uma importante lacuna na literatura e propor um possível agente terapêutico adjuvante, com benefícios tanto periodontais quanto sistêmicos.

Portanto, o presente estudo se justifica pela necessidade de aprofundar a compreensão das interações entre inflamação periodontal e o sistema reprodutor feminino, bem como pela relevância de identificar estratégias terapêuticas mais eficazes e seguras, a partir do uso de compostos naturais como o RSV, fortalecendo o compromisso com a ciência translacional, a sustentabilidade e a inovação em saúde.

4 HIPÓTESES

4.1 Hipótese Nula

O tratamento com RSV não influencia na iniciação promoção ou progressão da periodontite induzida e nem como fator protetivo no desenvolvimento de folículos ovarianos em camundongos fêmeas.

4.2 Hipótese Alternativa

Os grupos tratados com RSV apresentam diferença expressiva no progresso da periodontite e no processo de desenvolvimento e morfologia de folículos ovarianos de camundongos fêmeas.

5 OBJETIVOS

Objetivo geral

- Avaliar os efeitos do RSV na perda óssea alveolar e no processo inflamatório em camundongos fêmeas submetidas à indução da periodontite e no desenvolvimento e morfologia de folículos ovarianos desses animais.

Objetivos específicos

- Avaliar, por meio de análise histométrica da região interproximal, o nível de perda óssea alveolar em decorrência da periodontite induzida e os efeitos do RSV.
- Analisar quantitativamente a perda óssea alveolar por meio de análises morfométrica e histométrica.
- Avaliar, através de análise histológica, os efeitos da periodontite e do RSV no número de folículos ovarianos normais e degenerados em ovários de camundongos fêmeas.
- Avaliar, por meio de análises morfométrica e histológica, os efeitos da periodontite e do RSV no número de folículos em desenvolvimento em ovários de camundongos fêmeas.
- Avaliar, por meio de análise histológica, a ação do RSV na configuração da matriz extracelular (MEC) e na densidade das células do estroma ovariano de camundongos fêmeas.
- Avaliar os efeitos da periodontite e do resveratrol na viabilidade de complexos cumulus-oócito em ovários de camundongos fêmeas.

CAPÍTULO 1

Resveratrol and periodontitis: a comprehensive review of recent advances and systemic health implications.

(Artigo a ser submetido)

Resveratrol and periodontitis: a comprehensive review of recent advances and systemic health implications.

Lima, R.B.A.^{1,2}; Costa, F.C.^{1,2}; Assis, E.I.T.^{1,2}; Nascimento, D.R.^{1,2}; Barbalho, E.C.^{1,2}, Da Silva, F.F.^{1,2}; De Sá, A.F.^{1,2}; Alana N. Godinho²; Jordânia M. O. Freire²; Anderson W. B. Silva^{1,2}; Melo, I.M³; Silva, J.R.V.^{1,2*}

¹Laboratory of Biotechnology and Physiology of Reproduction -LABIREP - Biotechnology Nucleus of Sobral – NUBIS, Federal University of Ceara, Sobral, CE, Brazil. ²Nucleus of Research in Animal Experimentation – NUPEX, Federal University of Ceara, Sobral, CE, Brazil. ³Professor of Dentistry at the Federal University of Ceara - Sobral

*Corresponding author: José Roberto V. Silva, Av. Comandante Maurocélia Rocha Ponte, 100, CEP 62042-280, Sobral, CE, Brazil. Phone/Fax: +558836118000.

[jrvsilva@ufc.br]

Abstract

Resveratrol (RSV), a polyphenolic compound found in grapes and other plants, has demonstrated promising therapeutic effects on periodontitis and associated systemic conditions. This narrative review compiled and analyzed nine original studies, including in vitro assays, animal models, and a clinical trial, published between 2015 and 2025. The findings consistently showed that RSV reduces periodontal inflammation, preserves alveolar bone, and downregulates pro-inflammatory cytokines such as IL-1 β , IL-6, and TNF- α . In clinical settings, RSV supplementation improved plaque control, bleeding indices, and probing depth in periodontitis patients. Experimental models also revealed systemic benefits, including improved insulin sensitivity in diabetic conditions, anti-proliferative and anti-angiogenic effects in cancer, and protection of ovarian follicles against chemotherapy-induced toxicity. Notably, nanoencapsulated forms of RSV, such as lipid nanoparticles and nanocapsules, demonstrated superior bioavailability and therapeutic outcomes compared to

free RSV. These results suggest that RSV, particularly when delivered through nanotechnology-based systems, is a promising adjuvant for controlling periodontal inflammation and mitigating its systemic repercussions. Further randomized clinical trials are needed to confirm its safety, dosage, and long-term efficacy in human populations.

Keywords: Resveratrol; periodontitis; nanoparticles; inflammation and systemic health.

Introduction

Periodontitis is a multifactorial chronic inflammatory disease characterized by the progressive destruction of tooth-supporting structures, including the periodontal ligament, cementum, and alveolar bone. Its etiology is closely linked to a dysbiotic microbial biofilm that triggers an exacerbated host immune-inflammatory response. However, genetic, environmental, and systemic factors significantly influence the severity and progression of the disease (NALLASAMY *et al.*, 2021). Among the systemic conditions most frequently associated with periodontitis are diabetes mellitus and cardiovascular diseases, in which the chronic inflammatory state plays a central role in the bidirectional relationship between these disorders (BHATTARAI *et al.*, 2016). In recent years, periodontitis has increasingly been recognized as a condition with systemic repercussions. Local release of inflammatory mediators such as proinflammatory cytokines (IL-1 β , IL-6, TNF- α) and reactive oxygen species (ROS) can reach the systemic circulation and affect distant organs, contributing to metabolic dysfunction and chronic inflammation (NIKNIAZ *et al.*, 2023). As a result, therapeutic strategies capable of modulating inflammation and oxidative stress have become a relevant area of interest.

In this context, natural compounds with bioactive properties have been extensively investigated as adjuncts in periodontal therapy. Among them, RSV—a natural polyphenol found in grapes, peanuts, and berries—stands out for its antioxidant, anti-inflammatory, immunomodulatory, and anti-aging properties (ZHEN *et al.*, 2015). Studies have shown that RSV can inhibit activation of the NF- κ B transcription factor, reduce the production of proinflammatory cytokines, and modulate redox-sensitive signaling pathways involved in inflammation (IKEDA *et al.*, 2022). Additionally, RSV has been associated with improved glycemic control, cardiovascular protection, and regulation of reproductive function,

demonstrating potential for systemic health support (BHATTARAI *et al.*, 2016). Particularly in female reproductive health, RSV has shown beneficial effects in modulating ovarian function, preventing premature follicular aging, and preserving fertility, especially under inflammatory and oxidative conditions that impair oocyte quality and endocrine homeostasis (CORRÊA *et al.*, 2019). The intersection between periodontal inflammation and reproductive dysfunction has also gained growing attention, as systemic inflammation originating from periodontitis may negatively affect ovarian function and fertility, especially in women of reproductive age. Given this scenario, understanding the molecular and physiological mechanisms by which RSV and its nanoformulations exert therapeutic effects both locally in the oral cavity and systemically represents a promising approach in integrative medicine. In this regard, nanotechnology has enabled significant advancements by enhancing the bioavailability, stability, and efficacy of natural compounds such as RSV, optimizing their pharmacological action and broadening their therapeutic potential (ZHEN *et al.*, 2015).

This review aimed to compile and discuss current scientific evidence regarding the use of resveratrol as an adjunct agent in the treatment of periodontitis, with emphasis on its systemic effects, particularly in glycemic control, cardiovascular protection, and fertility preservation. Specifically, it seeks to answer the following research question: What is the impact of resveratrol on periodontitis and its systemic effects related to diabetes, cardiovascular diseases, and fertility preservation?

Methods

A literature review was conducted using PubMed, Medline, and Embase to find peer-reviewed studies from 2015 to 2025 on the effects of free or nanoformulated RSV on periodontitis and systemic health. Included were clinical trials and in vitro/in vivo studies assessing periodontal parameters, systemic inflammation, metabolic regulation, cancer, and fertility. Inclusion criteria were full-text articles in English, Portuguese, or Spanish explicitly evaluating RSV's effects. Excluded were editorials, letters, non-peer-reviewed papers, and studies lacking clear methods or outcomes.

Results and discussion

Following the application of inclusion and exclusion criteria, 8 studies published between 2015 and 2025 were selected for this review. The included publications comprise

clinical trials and in vivo and in vitro animal studies addressing various aspects of RSV's effects on both periodontal and systemic health.

Most studies evaluated the role of RSV in reducing periodontal inflammation, inhibiting alveolar bone loss, and modulating proinflammatory cytokines, particularly IL-1 β , IL-6, and TNF- α . Additionally, several reports highlighted positive systemic outcomes, including improved insulin sensitivity, reduced peripheral insulin resistance, regulation of lipid metabolism, inhibition of cancer cell proliferation, and preservation of ovarian and follicular function. Table 1 shows a synthesis of key experimental and clinical studies that evaluated the effects of resveratrol on periodontal and systemic health outcomes.

The selected studies include in vitro experiments using human periodontal ligament cells, various in vivo animal models—such as mice with periodontitis—and a clinical trial involving patients with periodontitis. Collectively, the findings indicate that RSV consistently reduces inflammatory markers, such as IL-6, IL-8, IL-1 β , and TNF- α , and contributes to the preservation of alveolar bone and periodontal tissues.

Table 1 – Summary of the nine key studies on resveratrol and periodontitis: experimental models, key outcomes, and conclusions.

Author / Year	Experimental Model	Key Outcomes	Conclusion
Silva et al., 2024	In vitro – preantral follicles (mouse)	Mitochondrial activity; follicular integrity	RSV attenuates doxorubicin-induced toxicity in ovarian follicles
Nikniaz et al., 2023	Clinical trial – patients with periodontitis	Improved periodontal parameters (plaque, bleeding, PPD)	RSV showed anti-inflammatory effect and clinical improvement
Pandini et al., 2021	In vivo – rats with periodontitis	Decreased alveolar bone loss; regulation of IL-17	RSV protects bone and regulates immune response during periodontitis
Ibrahim et al., 2021	In vivo – cisplatin-treated rats	Reduced oxidative stress, inflammation, and apoptosis in ovarian and uterine tissue	RSV protects against chemotherapy-induced reproductive toxicity
Corrêa et al., 2019	In vivo – rats exposed to smoke + periodontitis	Decreased oxidative stress markers	RSV mitigates periodontitis progression under oxidative stress conditions
Corrêa et	In vivo – rats with	Reduced inflammatory	Systemic RSV reduces

al., 2018	periodontitis and arthritis	cytokines; joint and periodontal improvement	progression of periodontitis and arthritis
Cirano et al., 2016	In vivo – rats with periodontitis	Reduction in periodontopathogens	RSV shows antimicrobial effect during experimental periodontitis
Bhattarai et al., 2016	In vivo – rats with periodontitis	Reduced bone loss; decreased inflammatory mediators	RSV prevents alveolar bone loss and inflammation in periodontitis model
Zhen et al., 2015	In vivo – diabetic mice with periodontitis	Downregulation of TLR4 pathway	RSV ameliorates periodontitis in diabetic conditions via TLR4 suppression

Notably, RSV nanoformulations demonstrated superior bioavailability and enhanced therapeutic outcomes compared to the free form (IBRAHIM *et al.*, 2021). Systemic benefits were also observed in models of diabetes and cancer, where resveratrol improved metabolic markers (ZHEN *et al.*, 2015). These results reinforce the compound's multifaceted therapeutic potential and support further clinical investigation into its application in both localized periodontal therapy and broader systemic interventions.

The collective findings from the last five years reveal a growing and consistent body of evidence supporting RSV as a promising adjunctive agent in the periodontitis treatment and in the modulation of systemic inflammatory processes. RSV's efficacy stems primarily from its anti-inflammatory, antioxidant, and immunomodulatory properties, which have shown relevance not only in the context of periodontal health but also in metabolic, oncologic, and reproductive conditions (IKEDA *et al.*, 2022).

In preclinical models, RSV has demonstrated the capacity to inhibit pro-inflammatory cytokines such as TNF- α and IL-1 β , while enhancing antioxidant defenses (e.g., SOD and catalase), ultimately contributing to the preservation of alveolar bone and periodontal tissue (DHAKAR *et al.*, 2019). Furthermore, studies involving diabetic models showed that RSV improves glycemic control and reduces alveolar bone loss (IBRAHIM *et al.*, 2021), reinforcing the hypothesis that it could be particularly beneficial in systemically compromised patients, such as those with diabetes mellitus.

Clinical evidence, although still limited, has begun to emerge. NIKNIAZ *et al.*, (2023) reported significant improvements in clinical periodontal parameters, such as probing depth

and bleeding on probing, in patients receiving RSV, aligning with preclinical findings and indicating translational potential.

Effects of Resveratrol on Periodontitis

Multiple pre-clinical studies demonstrate that RSV supplementation reduces alveolar bone loss and periodontal inflammation. In rat models, RSV administration significantly inhibited inflammatory cytokines, reduced oxidative stress, and preserved alveolar bone via activation of the Sirt1/AMPK and Nrf2/antioxidant defense pathways (BHATTARAI *et al.*, 2016). In diabetic patients with chronic periodontitis, RSV supplementation alongside non-surgical periodontal therapy led to significant reductions in insulin resistance, fasting insulin, and periodontal pocket depth, though effects on fasting glucose and triglycerides were not significant (NALLASAMY *et al.*, 2021). Additionally, RSV reduced serum interleukin-6 (IL-6) levels, indicating an anti-inflammatory effect, although changes in TNF- α , total antioxidant capacity, and clinical attachment loss were not statistically significant.

Effects of Resveratrol Systemic Health

RSV's systemic benefits extend beyond oral health to systemic conditions. Corrêa *et al.* (2018) investigated the systemic effects of RSV treatment on the progression of experimental periodontitis and arthritis in rats. Their findings demonstrated that systemic administration of RSV significantly reduced inflammatory markers and tissue destruction in both periodontal and arthritic lesions. The treatment effectively attenuated alveolar bone loss and joint inflammation, suggesting a potent anti-inflammatory and protective role of RSV in chronic inflammatory conditions. These results highlight RSV's potential as a therapeutic agent that modulates systemic inflammation, improving outcomes in diseases characterized by persistent inflammatory responses.

Effects of Resveratrol on Female Fertility

RSV's systemic benefits also extend to reproductive health. Studies indicate that RSV may improve ovarian function and reproductive outcomes in women, with potential therapeutic effects in both natural and assisted fertility settings (SILVA *et al.*, 2024). Its phytoestrogenic properties and influence on embryogenesis and pregnancy-related complications are under investigation, with current evidence supporting a positive, though not yet fully defined, role in female fertility. The RSV's anti-inflammatory effects are believed to

benefit reproductive health by reducing the systemic inflammation that can impair fertility and increase complications during pregnancy (NALLASAMY *et al.*, 2021).

In a recent study, Silva *et al.*, (2024) investigated the effects of RSV on ovarian follicles in experimental mouse models, focusing on protection against damage induced by doxorubicin, a chemotherapeutic agent used to treat various types of cancer. The research demonstrated that adding RSV to the culture medium of isolated ovarian follicles resulted in significant protection against the toxic effects of doxorubicin, promoting cell survival and preserving the morphological structure of the follicles. Additionally, a decrease in DNA fragmentation and an improvement in mitochondrial activity of the RSV-treated follicles were observed. These results suggest that RSV can effectively protect ovarian follicles from chemotherapeutic toxicity, which may be crucial for fertility preservation in patients undergoing aggressive oncological treatments (SILVA *et al.*, 2024).

Nanoformulations containing resveratrol

Emerging research suggests that nanoformulations of RSV may enhance its bioavailability and therapeutic efficacy, particularly in targeting inflammatory bone diseases such as periodontitis and osteoporosis (IKEDA *et al.*, 2022). These formulations could facilitate the use of resveratrol as a bioactive material for implant coatings, further supporting bone regeneration and anti-inflammatory responses (CORRÊA *et al.*, 2018). The potential of nanoformulated RSV to overcome bioavailability challenges represents a promising avenue for future research and clinical application in periodontitis and other chronic diseases.

A major barrier to the clinical application of RSV has been its low bioavailability. However, recent innovations in nanotechnology-based delivery systems have sought to overcome this limitation (CORRÊA *et al.*, 2019). Nonetheless, there remain important limitations and gaps. While animal models provide valuable mechanistic insight, larger-scale clinical trials are needed to confirm safety, optimal dosage, and long-term efficacy in humans. Moreover, standardization of nanoformulations, as well as pharmacokinetic and pharmacodynamic profiles, must be addressed before RSV can be widely adopted in periodontal therapy.

Final Considerations

In summary, RSV demonstrates multifunctional therapeutic potential by reducing periodontal inflammation and positively influencing systemic conditions. The link between

local periodontal effects and systemic benefits highlights the importance of integrated treatment approaches. Advanced delivery systems, such as nanoformulations, appear promising for enhancing RSV's clinical effectiveness.

Furthermore, RSV shows potential as an adjunct in periodontitis management, offering additional benefits related to metabolic regulation, disease prevention, and female fertility improvement. However, further clinical studies are needed to establish optimal dosing, evaluate long-term safety, and confirm the efficacy of these new delivery methods. Incorporating RSV into periodontal and systemic health protocols could represent a significant advancement in comprehensive patient care.

References

1. BHATTARAI, G.; POUDEL, S. B.; KOOK, S. H.; LEE, J. C. **Resveratrol prevents alveolar bone loss in an experimental rat model of periodontitis.** *Acta Biomaterialia*, v. 29, p. 398-408, 2016. DOI: 10.1016/j.actbio.2015.10.031.
2. CIRANO, F. R.; CASARIN, R. C. V.; RIBEIRO, F. V.; CASATI, M. Z.; PIMENTEL, S. P.; TAIETE, T.; BERNARDI, M. M. **Effect of resveratrol on periodontal pathogens during experimental periodontitis in rats.** *Brazilian Oral Research*, v. 30, n. 1, e128, 2016. DOI: 10.1590/1807-3107BOR-2016.vol30.0128.
3. CORRÊA, M. G. et al. **Resveratrol attenuates oxidative stress during experimental periodontitis in rats exposed to cigarette smoke inhalation.** *Journal of Periodontal Research*, v. 54, n. 3, p. 225-232, 2019. DOI: 10.1111/jre.12622.
4. CORRÊA, M. G. et al. **Systemic treatment with resveratrol reduces the progression of experimental periodontitis and arthritis in rats.** *PLoS ONE*, v. 13, n. 10, e0204414, 2018. DOI: 10.1371/journal.pone.0204414.
5. IBRAHIM, M. A. et al. **Resveratrol protects against cisplatin-induced ovarian and uterine toxicity in female rats by attenuating oxidative stress, inflammation and apoptosis.** *Chemico-Biological Interactions*, v. 338, art. 109402, 2021. DOI: 10.1016/j.cbi.2021.109402.
6. NIKNIAZ, S.; VAZIRI, F.; MANSOURI, R. **Impact of resveratrol supplementation on clinical parameters and inflammatory markers in patients with chronic periodontitis: a randomized clinical trial.** *BMC Oral Health*, v. 23, n. 1, art. 177, 2023. DOI: 10.1186/s12903-023-02877-4.
7. PANDINI, J. H. et al. **Protective effect of resveratrol against the alveolar bone loss in rats with experimental periodontitis and acts positively on the IL-17.** *Journal of*

Advances in Medicine and Medical Research, v. 33, n. 22, p. 162-173, 2021. DOI: 10.9734/jammr/2021/v33i2231168.

8. SILVA, G. A. L. et al. **Resveratrol attenuates doxorubicin-induced toxicity during in vitro culture of mouse-isolated preantral follicles.** *Zygote*, v. 32, n. 4, p. 294–302, 2024. DOI: 10.1017/S0967199424000315.

9. ZHEN, L. et al. **Resveratrol ameliorates experimental periodontitis in diabetic mice through negative regulation of TLR4 signaling.** *Acta Pharmacologica Sinica*, v. 36, p. 221–228, 2015. DOI: 10.1038/aps.2014.131.

CAPÍTULO 2

Influence of polymeric nanoparticles containing resveratrol on induced periodontitis and development and morphology of ovarian follicles in Swiss mice

Periódico: *Journal of Periodontal Research*

(ISSN: 1600-0765)

(Artigo a ser submetido)

Influence of polymeric nanoparticles containing resveratrol on induced periodontitis and development and morphology of ovarian follicles in Swiss mice

Lima, R.B.A.^{1,2}; Costa, F.C.^{1,2}; Assis, E.I.T.^{1,2}; De Lima Neto,
M.F.^{1,2}; Nascimento, D.R.^{1,2}; Barbalho, E.C.^{1,2}; Brandão, J.M.S^{1,2};
De Sá, A.F.^{1,2}; Araújo, I.M.L^{1,2}; Melo, I.M³; Reis, A.V.F.⁴; Eloy,
J.O.⁴; Silva, J.R.V.^{1,2*}

¹Laboratory of Biotechnology and Physiology of Reproduction -
LABIREP - Biotechnology Nucleus of Sobral – NUBIS, Federal
University of Ceará, Sobral, CE, Brazil.

²Nucleus of Research in Animal Experimentation – NUPEX,
Federal University of Ceará, Sobral, CE, Brazil.

³Professor of dentistry at the Federal University of Ceará -
Sobral.

⁴ Faculty of Pharmacy, Dentistry and Nursing, Department of
Pharmacy, Federal University of Ceará, Fortaleza, Brazil.
Laboratory of Biotechnology and Physiology of Reproduction
(LABIREP), Federal University of Ceará, Av. Comandante
Maurocélia Rocha Ponte 100, CEP 62041-040, Sobral, CE,
Brazil.

*Corresponding author: José Roberto V. Silva, Av. Comandante
Maurocélia Rocha Ponte, 100, CEP 62042-280, Sobral, CE,
Brazil. Phone/Fax: +558836118000

[roberto_viana@yahoo.com]

ABSTRACT

Periodontitis is a highly prevalent chronic inflammatory disease that affects the supporting tissues of the teeth and may trigger systemic repercussions, including negative effects on female reproductive health. The release of pro-inflammatory cytokines from inflamed periodontal tissues can affect the development and morphology of ovarian follicles, potentially impairing fertility. Resveratrol (RSV), a natural polyphenol with antioxidant and anti-inflammatory properties, has demonstrated beneficial effects in various inflammatory conditions. This study aimed to evaluate the effects of nanoencapsulated RSV in poly(ϵ -caprolactone) polymeric nanoparticles on experimental periodontitis and ovarian folliculogenesis in female Swiss mice. Sixty animals were randomly distributed into five experimental groups ($n=12$): Naïve group (no manipulation), PBS group (healthy animals treated with phosphate-buffered saline), RSV group (healthy animals treated with RSV), Perio + PBS group (animals with induced periodontitis treated with PBS), and Perio + RSV group ((animals with induced periodontitis treated with RSV). Periodontitis was induced by ligature for 14 days, during which the animals received daily intraperitoneal injections of PBS or RSV. After euthanasia, the mandibles were collected for histological and morphometric analysis of alveolar bone loss and periodontal integrity. The ovaries were processed for classification and evaluation of follicular development and morphological integrity. Data were analyzed using ANOVA followed by Bonferroni's test ($p<0.05$). The findings suggest that, under the conditions of this study, an increase in periodontal disease severity and tissue damage was observed in the RSV-treated group, suggesting a potential exacerbating effect of RSV. However, the group of animals with periodontitis treated with RSV showed a higher proportion of normal and developing follicles, indicating a systemic protective effect on the ovaries. These results reinforce the potential of nanoencapsulated RSV in preserving ovarian function in chronic inflammatory contexts, highlighting the need for further studies on its mechanisms of action and formulation optimization.

Keywords: Periodontitis; ovarian follicles; resveratrol; mice; alveolar bone loss.

INTRODUCTION

Periodontitis is a common chronic inflammatory disease characterized by alterations in the oral microbiota that trigger an exaggerated immune response, leading to progressive damage to periodontal tissues (MARTELLACCI et al., 2019). Clinically, it is recognized by the loss of periodontal support, which is observed through clinical attachment loss, alveolar bone resorption, periodontal pocket formation, and gingival bleeding (PAPAPANOU et al., 2018). Chronic systemic inflammation can impair endocrine function, particularly through the sustained elevation of cortisol, a glucocorticoid hormone released in response to physiological stress. Synthesized in the zona fasciculata of the adrenal cortex, cortisol plays a critical role in various physiological systems, including immune, metabolic, and reproductive axes (RAJAGOPAL et al., 2023). When chronic inflammation becomes dysregulated, cortisol secretion may suppress the release of gonadotropins, hindering the secretion of FSH and LH, which affects ovarian follicular development and female fertility (YANG et al., 2023).

Advances in biotechnology and pharmacology have promoted the use of natural therapies as an alternative in treatment, with a particular focus on bioactive compounds such as resveratrol (RSV). This polyphenol is widely recognized for its antioxidant and anti-inflammatory properties, making it an interesting option for modulating chronic inflammation (DUARTE et al., 2025). However, the efficacy of resveratrol is limited by its low bioavailability. To overcome this limitation, nanotechnological approaches have been employed to improve its stability and therapeutic action. Recent studies indicate that RSV nanoparticles enhance its effectiveness, promoting modulation of the ovarian microenvironment (ZHANG et al., 2021). These formulations, such as liposomes and self-aggregated nanoparticles, have been shown to reduce inflammatory cytokines and oxidative stress, as well as protect ovarian follicles by preserving their morphology and functionality, thereby contributing to fertility maintenance (SHI et al., 2024).

Given these perspectives, there is an increasing need for more specific and in-depth investigations into the anti-inflammatory potential of resveratrol and its possible influence on ovarian follicular development in the context of periodontal inflammation, considering the interconnected nature of inflammatory and reproductive pathways. Therefore, this study aims to explore the relationship between chronic periodontal inflammation and female reproductive dysfunction, highlighting the potential role of RSV as an adjunct in modulating systemic inflammatory responses and preserving gametogenic function.

2 MATERIALS AND METHODS

2.1 Animals

Sixty female Swiss mice were obtained from the Animal Facility of the Federal University of Ceará. They were housed in polyethylene cages containing six animals each (two cages per treatment group), lined with wood shavings, and provided with ad libitum access to filtered water and standard chow (Nuvilab). Environmental temperature was kept at a constant average of 22.0 °C. It is important to note that the animal housing room was equipped with an exhaust ventilation system to ensure air quality. The animals were maintained under 12-hour light/dark cycles and randomly allocated into five experimental groups ($n = 12$), as described on Table 1.

Table 1 - Experimental group distribution.

Naive	Naive animals (no experimental manipulation)
PBS	Healthy animals (no periodontitis) + placebo treatment (PBS)
RSV	Healthy animals (no periodontitis) + RSV treatment
PERIO + PBS	Periodontitis-induced animals + placebo treatment (PBS)
PERIO + RSV	Periodontitis-induced animals + RSV treatment

Source: The author

2.2 Assessment of the Estrous Cycle

The estrous cycle of the animals was evaluated once daily for 15 consecutive days, between 4:00 and 5:00 p.m., by a single evaluator, following the protocol established by Marcondes (2002), as illustrated in figure 1. Based on the cell types observed, each female was classified as being in proestrus, estrus, metestrus, or diestrus. Only females displaying a regular cycle, with a duration of 4 to 5 days, were included in the experiments. During the experimental period, mice 'estrus' cycle was evaluated in periods on day 0 and 14.

Additionally, body weight measurements were recorded on those days to assess potential changes across the different treatment groups.

2.3 Experimental model for inducing periodontitis and RSV administration

After group allocation, one hour prior to the induction of experimental periodontitis, the animals were anesthetized with intraperitoneal injections of ketamine hydrochloride (80 mg/kg) and xylazine (10 mg/kg). All mice had their lower first molars ligated using 4-0 cotton suture thread. Once positioned, the ligature was secured with a knot on the buccal surface, leaving the thread in a supragingival position on the buccal side and subgingival on the palatal side, as illustrated in figure 1.

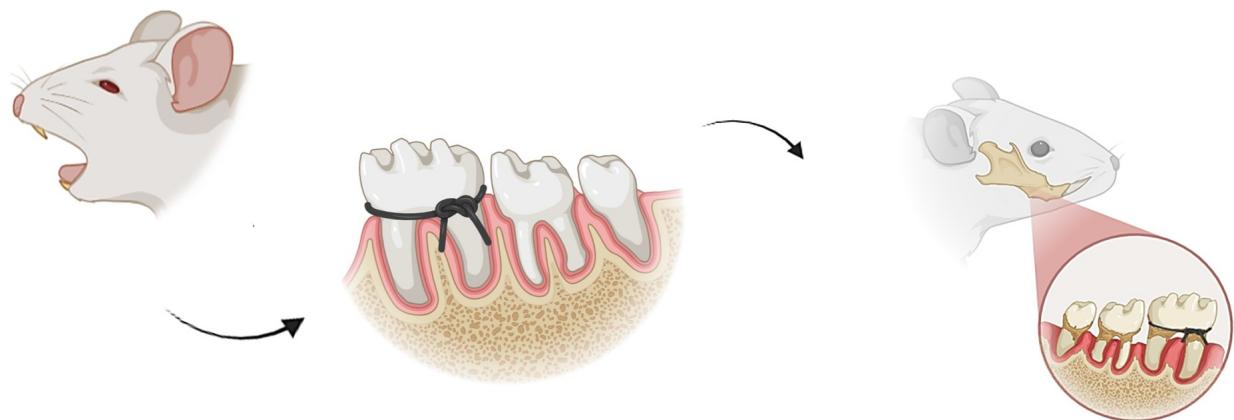


Figure 1 - Representation of the sequence of periodontitis induction in mice's lower first molars.

Source: The author (2025).

As periodontitis subsequently had been induced, the animals were treated with RSV following the established protocol during 14 days. In this study, an antisolvent nanoprecipitation strategy combined with rapid precipitation was employed for the production of RSV nanoparticles. The solution containing the nanoencapsulated particles was provided by the Federal University of Ceará, where it was produced in the laboratory of the Faculty of Pharmacy, Dentistry and Nursing. RSV was supplied by Suzhou Vitajoy (China), and poly- ϵ -caprolactone (PCL) was purchased from Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA). This method uses a mixer capable of achieving rapid mixing within milliseconds, resulting in the

formation of synergistically entrapped nanoparticles. RSV was daily administered at a dose of 10 mg/kg of body weight and via intraperitoneal injection. The intraperitoneal route was selected as it enables faster and more efficient absorption of the compound, bypassing first-pass hepatic metabolism and enhancing systemic bioavailability (CORREA *et al.*, 2018).

After the treatment period, the animals were euthanized under anesthesia. Anesthetic overdose was administered using three times the standard anesthetic dose, corresponding to 240 mg/kg of ketamine and 30 mg/kg of xylazine. At this stage, both the ovaries and the mandibles were collected for morphometric and histological analyses at the respective experimental time points.

2.4 Measurement of alveolar bone loss

After the animals were euthanized, the mandibles were removed and sectioned in the midline, with the right hemimandibles designated for morphometric analysis. The samples were fixed in 10% buffered formalin for 24 hours, followed by immersion in 70% ethanol for 4 hours. Subsequently, the hemimandibles were dissected and stained with 1% aqueous methylene blue to enhance the contrast between dental and bone tissues. The specimens were then photographed under standardized conditions, and the images were analyzed using the ImageJ software (ImageJ 1.44p, National Institutes of Health, USA). The extent of alveolar bone loss was determined by measuring the linear distance from the cementoenamel junction (CEJ) to the alveolar bone crest in the region between the first and second lower molars, where the ligature had been placed to induce periodontitis. This measurement was used as an indicator of alveolar bone resorption and was compared across experimental groups. A calibrated reference area of $5 \times 5 \text{ mm}^2$ was used for standardization, as described by Kurh *et al.* (2004).

2.5 Histopathological Analysis of the Mandibles

The left hemi mandibles previously fixed in buffered formalin (10%) were demineralized using EDTA solution for 40 days. After this process they were dehydrated in increasing concentrations of ethanol cleared with xylene and included in paraffin. Serial sections (7 μm thickness) were stained with hematoxylin and eosin as described (SANTOS *et al.*, 2021). For quantitative analysis, the Image J software was used on the mesial portion of the second molar to measure the attachment levels from the enamel-cementum junction to

the base of the gingival sulcus or periodontal pocket (SIMA *et al.*, 2016), to assess attachment loss.

2.6 Histological and viability assessment of ovarian follicles and oocytes

Following euthanasia, the ovaries of all animals from each group were collected and processed for both histological and viability analyses. Initially, ovaries were fixed, dehydrated in a graded ethanol series, cleared in xylene, and embedded in paraffin wax. Sections of 7 µm thickness were mounted on glass slides and stained using the periodic acid–Schiff (PAS)-hematoxylin method. Histological evaluations were conducted using a Nikon microscope at magnifications of 100× and 400×.

To assess follicular development ovarian follicles were classified into the following categories: primordial (oocyte surrounded by a single layer of flattened granulosa cells), primary (oocyte surrounded by a single layer of cuboidal granulosa cells), secondary (oocyte surrounded by multiple layers of cuboidal granulosa cells), and tertiary (oocyte surrounded by multiple layers of cumulus cells with a well-developed antral cavity). Follicles were further categorized as histologically normal when they contained an intact oocyte surrounded by well-organized granulosa cells with no pyknotic nuclei. In contrast, degenerated follicles were identified by the presence of a retracted oocyte, pyknotic nuclei, and/or disorganized granulosa cells detached from the basement membrane.

For the evaluation of oocyte viability post-ovarian culture, the slicing technique was applied to isolate cumulus-oocyte complexes (COCs). Following selection, denuded oocytes were transferred to 100 µL drops of DMEM+ medium on glass slides supplemented with 4 mM calcein-AM and 2 mM ethidium homodimer-1 (Molecular Probes, Invitrogen, Karlsruhe, Germany). After incubation at 37°C for 15 minutes, the samples were examined under a fluorescence microscope.

Fluorescence was detected at wavelengths of 488 nm (calcein-AM) and 568 nm (ethidium homodimer-1). Calcein-AM marked viable oocytes through esterase activity in the cytoplasm, emitting green fluorescence, while ethidium homodimer-1 penetrated only non-viable cells, binding to nucleic acids and emitting red fluorescence. Oocytes were deemed viable when green fluorescence was observed in the cytoplasm with no red staining in the chromatin. Conversely, red nuclear fluorescence indicated non-viable oocytes (SILVA *et al.*, 2024).

2.7 Analysis of the extracellular matrix and evaluation of density of ovarian stroma

To evaluate the distribution and density of collagen fibers within the extracellular matrix of the ovarian cortex, histological staining with Picosirius Red (Abcam Kit) was conducted based on the protocol adapted from Vanié (2017). Ovarian tissue sections (7 µm thick) were initially dewaxed in xylene and then incubated with 0.1% Sirius Red solution for 1 hour at room temperature. Following staining, excess dye was removed using 0.5% acetic acid, after which the samples were dehydrated, mounted on slides, and examined using an optical microscope at 400x magnification (Nikon Eclipse TS 100).

For each experimental group, collagen fiber density was assessed in ten randomly selected fields. The images were captured using a DS-Ri1 cooled digital camera (Nikon, Eclipse TS 100, Japan) and analyzed with ImageJ software (version 1.51p, 2017). Quantification was based on the percentage of the area occupied by collagen fibers, which appeared red under polarized light, while ovarian follicles remained unstained. The software automatically excluded non-stained follicular areas from the total collagen-positive area to ensure accuracy. Collagen intensity was measured by calculating the mean pixel intensity within the selected area after background subtraction.

2.8 Evaluation of Cumulus-Oocyte Complex (COC) Quality

Following ovariectomy, the ovaries were immediately transferred to TCM-199 medium, and the cumulus-oocyte complexes (COCs) were retrieved via mechanical extrusion of follicles using 26G needles. For each experimental group, pools consisting of 112–115 COCs were collected and subjected to morphological classification based on cumulus investment and cytoplasmic appearance.

Table 2 – Morphological classification criteria for cumulus-oocyte complexes (COCs).

Grade	Morphological Criteria
I	Homogeneous cytoplasm; surrounded by three or more compact layers of cumulus cells.
II	Homogeneous cytoplasm; surrounded by at least two layers of cumulus cells.
III	Homogeneous or slightly heterogeneous cytoplasm; partial or discontinuous

	cumulus layer.
IV	Heterogeneous or degenerated cytoplasm; absence of cumulus cells.

Source: Adapted from Zarcula et al. (2014); Stringfellow and Givens (2010); De Loos et al. (1991).

2.9 Photomicrography and images analysis

Using the DM2500 microscope (Leica, Wetzlar, Germany) and a 6.1-megapixel digital camera (Canon® 60D), all histology and immunohistochemistry-stained slides were photographed. The ImageJ® software was used to quantify all morphological data (KUHR *et al.*, 2004). At least three different images from three distinct samples were used for statistical analysis.

2.10 Statistical analysis

The statistical analysis was performed using the computer program GraphPad Prism (5.0). Data that did not show normal distribution, selected by the Shapiro-Wilk test, underwent logarithmic transformation. The parametric variables of the average percentage of normal follicles and follicular activation in each treatment were evaluated by Fisher's exact test and the comparison between treatments using Kruskal-Wallis. For the analysis of collagen fibers, the data were analyzed by the Kruskal-Wallis test, followed by the Dunn comparison. The results were expressed as mean and standard error (mean ± S.E.M). Differences were considered significant when $p < 0.05$.

3 RESULTS

3.1 Alveolar bone loss

Mice with induced periodontitis, whether with PBS treatment or associated with RSV treatment had a significant increase in alveolar bone loss when compared with those from naïve group ($P < 0.0001$) (Figure 2). Although only the RSV treatment did not protect from alveolar bone loss in healthy mice ($P > 0.05$). The jaws of animals in which periodontitis was not induced had preserved alveolar bone, while those with induced periodontitis had significant alveolar bone loss and root exposure injury (Figure 3).

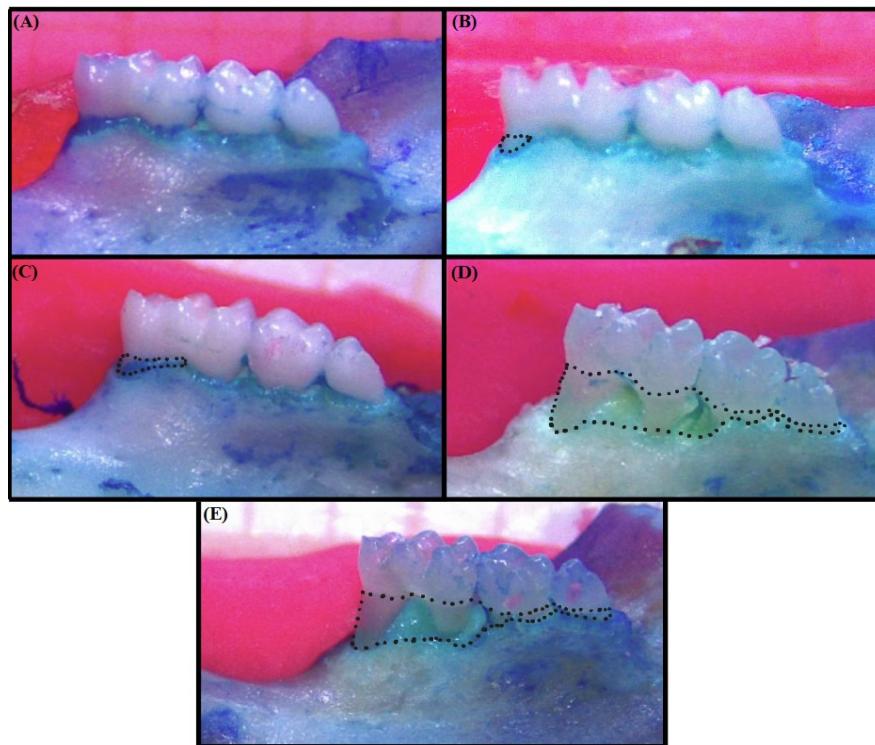


Figure 2 – Level of mandibular bone resorption in animals from the naïve group (A), treated only with PBS (B), treated only with RSV (C), with periodontitis and treated with PBS (D), with periodontitis and treated with RSV (E). Marked lines indicating area of bone resorption.

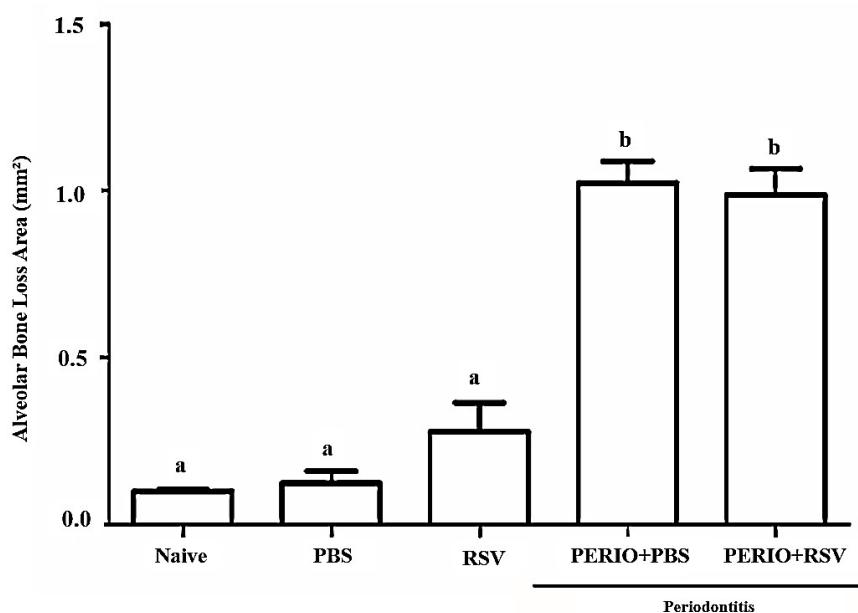


Figure 3 - Resorption in mm^2 of alveolar bone in animals from the naïve group, treated with PBS, periodontitis with PBS treatment and with periodontitis with RSV treatment. Indicated the alveolar bone resorption evaluated on the area limited between the cement-enamel

junction and alveolar bone crest on the buccal face of hemimaxillae. Data are presented as mean \pm SEM and were analyzed by ANOVA Tukey test ($N = 12$ mice per treatment). a, b: different letters indicate statistically significant differences ($P < 0.05$).

3.2 Histology of the jaws

Mice with induced periodontitis, with PBS treatment or associated with RSV treatment, had a significant increase in the levels of insertion of the first molars when compared with those without periodontitis treated with only PBS or RSV and control group (Naïve) ($P < 0.0001$) (Figures 4 and 5). Healthy mice treated with RSV had no significant changes in insertion levels ($P > 0.05$). Mice with induced periodontitis that received RSV treatment had not reduced insertion levels. When compared to those with periodontitis, but treated with PBS ($P < 0.0001$).

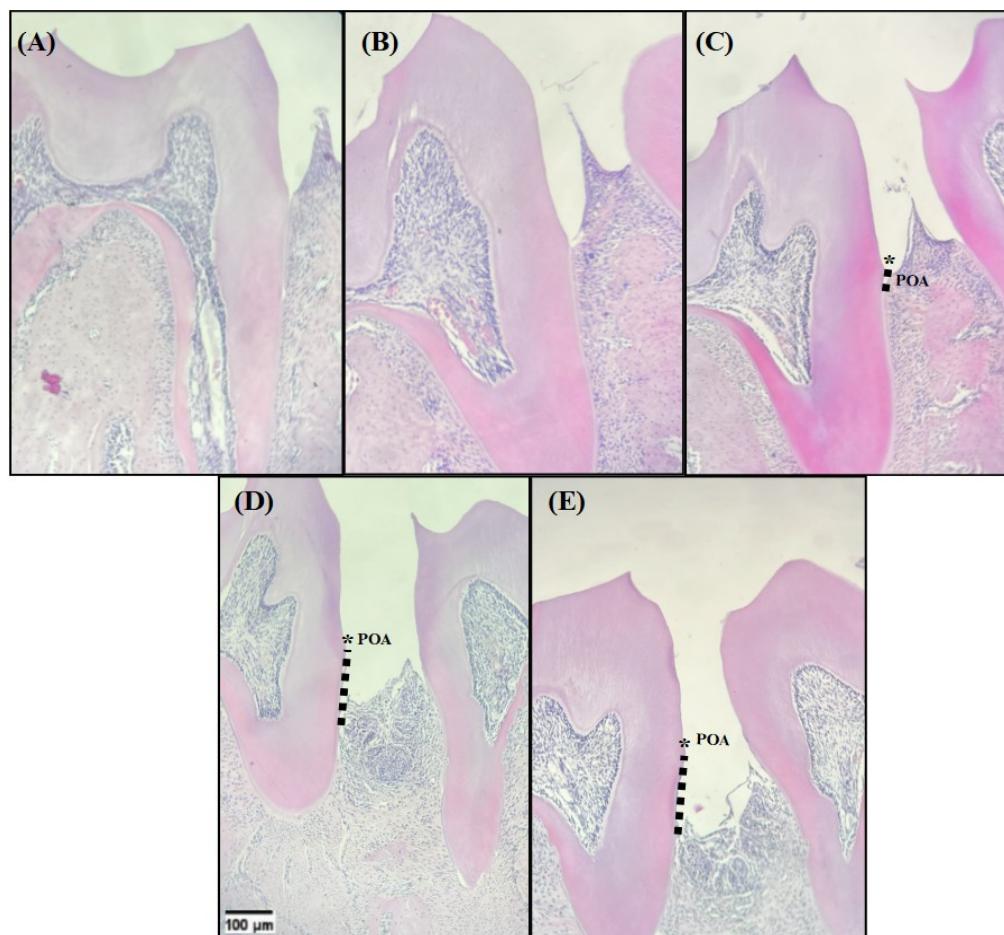


Figure 4 – Histological sections illustrating alveolar bone loss (POA) in the 1st molars of mice from the naïve group (A), treated only with PBS (B), treated only with RSV (C), with

periodontitis and treated with PBS (D), with periodontitis and treated with RSV (E). Scale bar = 100 μ m (40x).

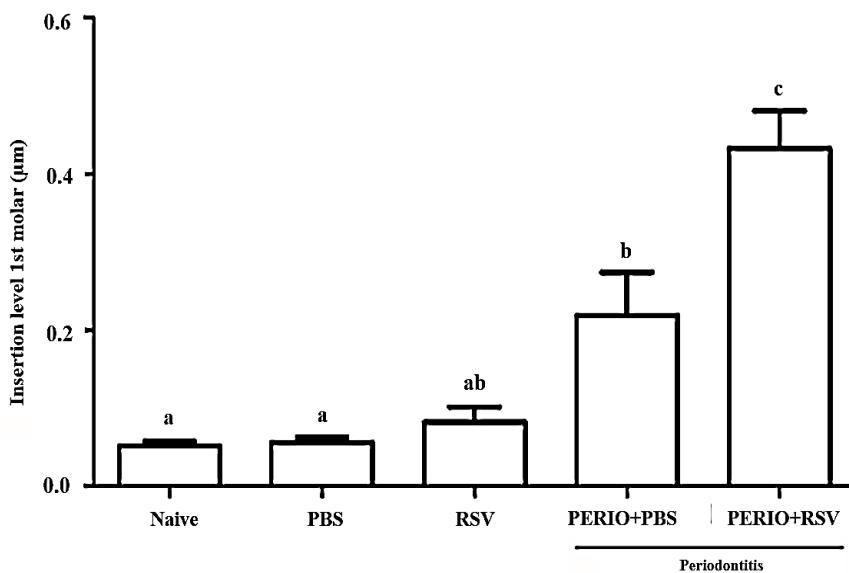


Figure 5 – Loss of attachment of the 1st molars in animals from the naïve group, without periodontitis treated with PBS (PBS), without periodontitis treated with RSV (RSV), with periodontitis treated with PBS (Perio and PBS), and with periodontitis and treated with RSV group (Perio and RSV). Data are presented as mean \pm SEM and were analyzed by ANOVA Tukey test (N = 12 mice per treatment). a,b, c: different letters indicate statistically significant differences ($P < 0.05$)

3.3 Effect of RSV on follicular morphology and development of female mice induced to periodontitis

3.3.1 Ovarian Histology

Representative histological sections (Figure 6) illustrate the classification of ovarian follicles into normal (primordial, primary, secondary, and antral) and degenerated types. The analysis aimed to assess follicular integrity and development across experimental groups, highlighting potential protective or deleterious effects of treatments on ovarian morphology. As shown in figure 7, the analysis of ovarian follicular morphology (%) in the different experimental groups demonstrated that the Naïve, PBS, and RSV groups exhibited a higher percentage of morphologically normal follicles, with no statistical difference among them ($p > 0.05$), as indicated by the letter a. In the group with periodontitis and treated with PBS, a significant reduction in the proportion of normal follicles and an increase in degenerated

follicles were observed compared to the control groups ($p < 0.05$), represented by the letter b. Treatment with RSV in the group with periodontitis and treated with RSV resulted in an intermediate proportion of normal follicles, significantly higher than the in the group with periodontitis and treated with PBS, but lower than the non-periodontitis groups, indicated by the letter c. These findings suggest that periodontitis induces adverse changes in follicular morphology, which may be partially attenuated by treatment with RSV.

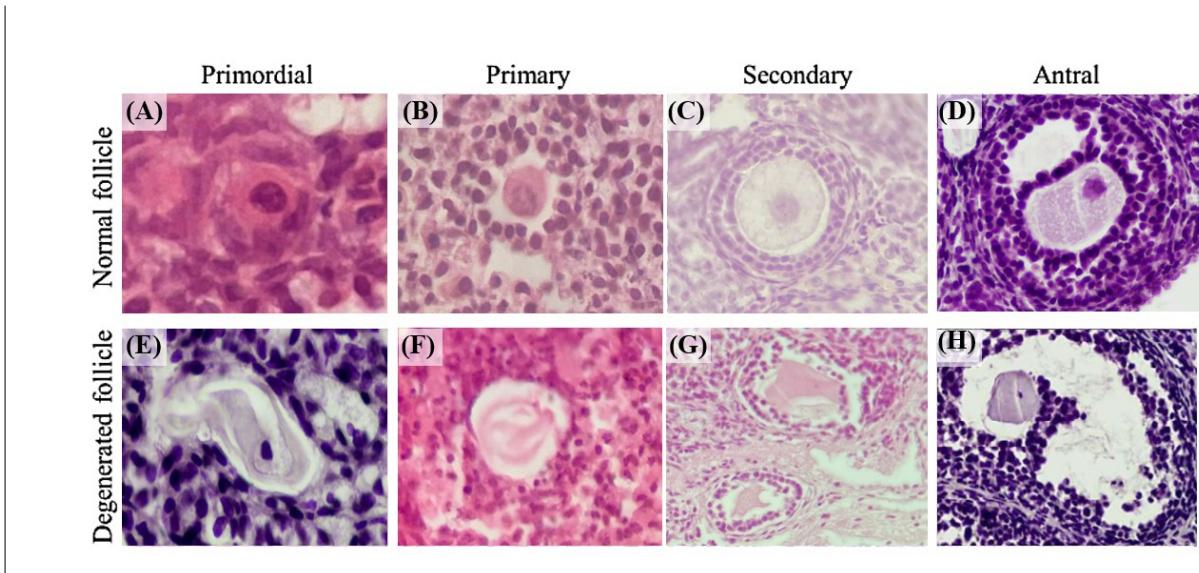


Figure 6 - The image shows the morphology (A-H) of the follicles in different groups. The histology images illustrate the ovarian follicles evaluated as normal or degenerated: primordial (A-E), primary (B-F), secondary (C-G) and tertiary (D-H).

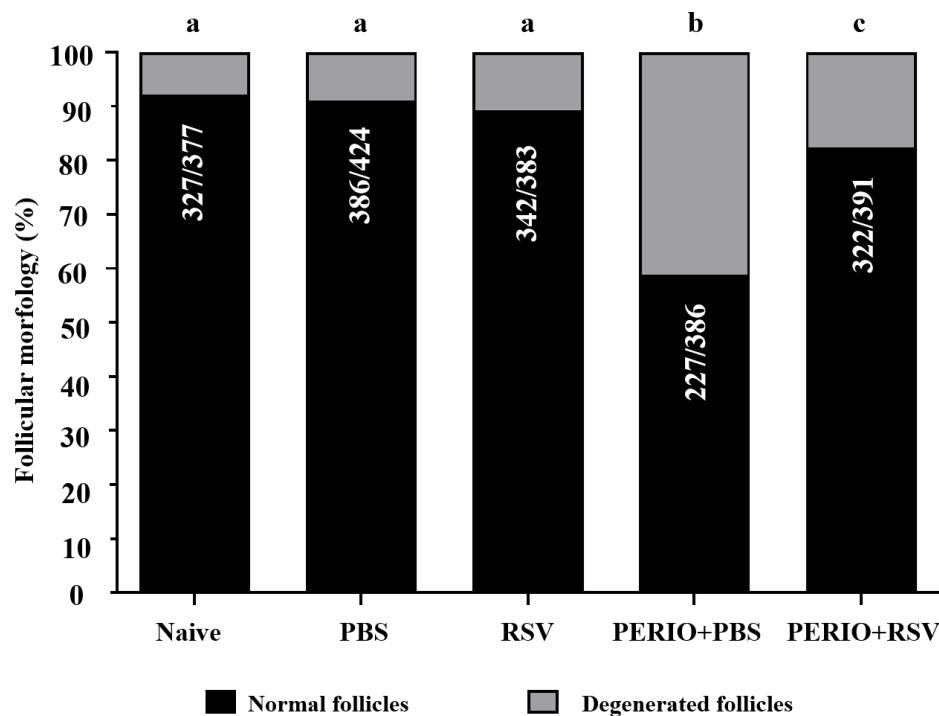


Figure 7 – The percentages (mean \pm SE) of normal and degenerated follicles in ovaries mice from the naive group, treated only with PBS, treated only with RSV, with periodontitis and treated with PBS, with periodontitis and treated with RSV. The percentages of normal and degenerated follicles was calculated as the fraction of normal follicles number/total follicles number in each treatment ($\times 100$). Data were compared using chi-square test and expressed as percentages. Different lowercase letters a, b and c indicate statistically significant differences between treatments ($p < 0.05$).

The bar graph in figure 8 illustrates the percentage distribution of primordial and developing ovarian follicles (primary, secondary, and antral) among the experimental groups. Treatment with nanoencapsulated RSV was associated with a higher proportion of developing follicles, suggesting a potential protective effect on folliculogenesis despite the inflammatory context.

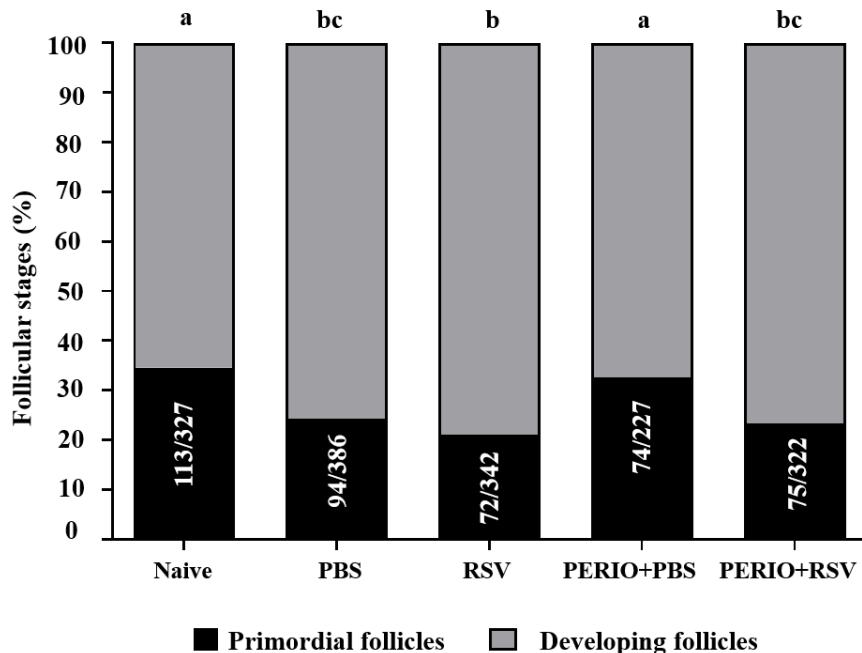


Figure 8 - The percentages (mean \pm SE) of primordial follicles and developing follicles in mice ovaries mice from the naive group treated only with PBS treated only with RSV with periodontitis and treated with PBS, with periodontitis and treated with RSV. The percentage of primordial and developing follicles was compared by chi-square test and no significant differences were observed between treatments ($p > 0.05$). Numbers of follicles evaluated are shown within each column.

3.3.2 Extracellular matrix analysis

Histological evaluation of ovarian tissue (Figure 10) revealed distinct alterations in the extracellular matrix (ECM) organization among the experimental groups. Inflammatory conditions were associated with ECM disorganization, including reduced collagen density and altered stromal architecture. Treatment with RSV appeared to mitigate some of these changes, preserving ECM integrity and suggesting a potential modulatory effect on ovarian microenvironmental homeostasis.

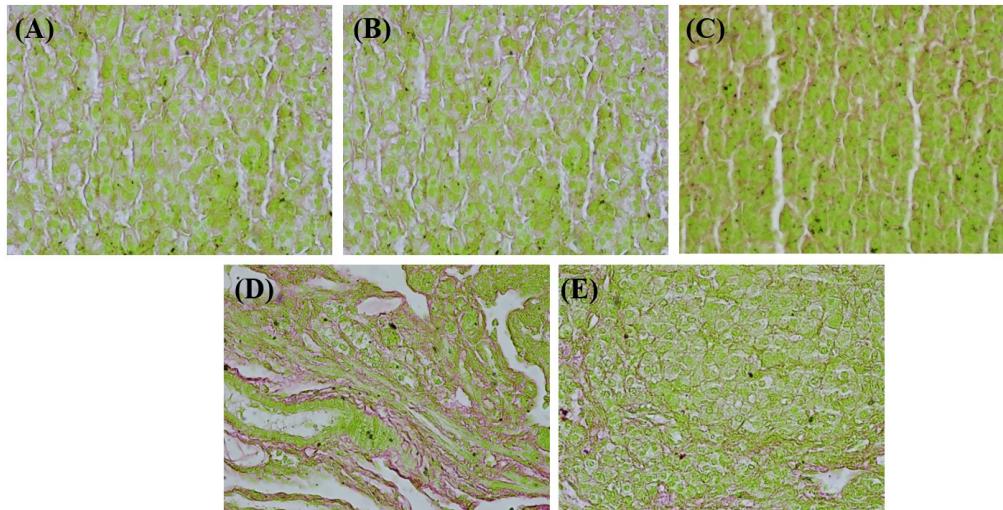


Figure 9 - (A-E) Representative images of collagen fibers labeled by Picosirius red: (A) naive; (B) treated only with PBS; (C) treated only with RSV; (D) with periodontitis and treated with PBS; (E) with periodontitis and treated with RSV. Scale bar: 100 μ m (400 \times).

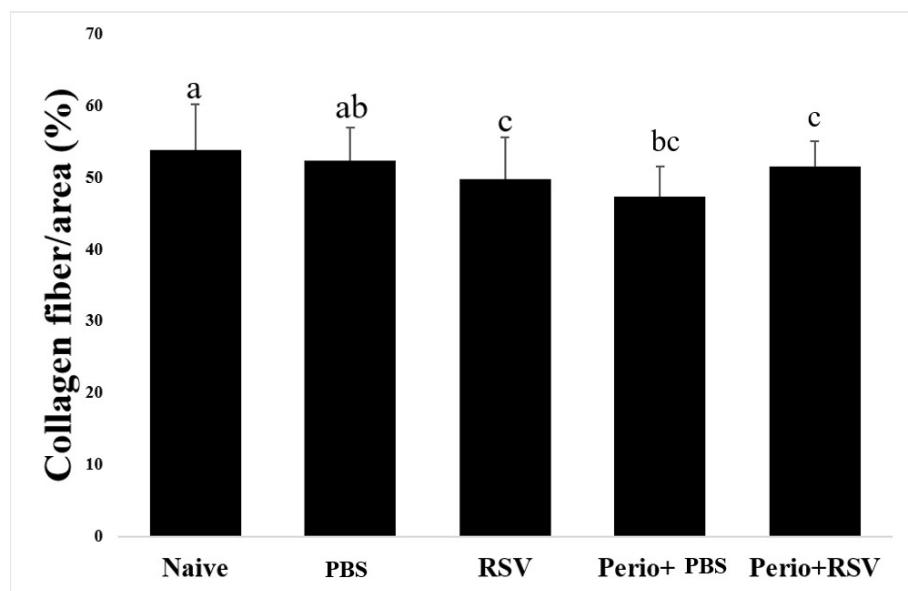


Figure 10 - The levels of collagen fibers (mean \pm SD) in the mouse ovaries from the naive group, treated only with PBS, treated only with RSV, with periodontitis and treated with PBS, with periodontitis and treated with RSV. Collagen fiber distribution was analyzed by the Kruskal-Wallis test, followed by Dunn's comparison. a, b and c different lowercase letters indicate statistically significant differences between treatments ($p < 0.05$).

3.3.3 Evaluation of Stromal Cells Density in mice ovary

Figures 11 and 12 present the analysis of stromal cell density (cells/100 μ m) in the different experimental groups. No statistically significant differences were observed among

the groups ($p > 0.05$). Although a slight reduction in stromal cell density was noted in the treated PBS and with periodontitis group compared to the other groups, this change did not reach statistical significance. Treatment with resveratrol in the induced periodontitis and treated with RSV group resulted in a stromal cell density similar to that observed in the control groups, suggesting a possible tendency toward normalization; however, this effect was not statistically confirmed. These findings indicate that experimental periodontitis and resveratrol treatment did not significantly affect stromal cell density in the ovarian tissue under the conditions evaluated.

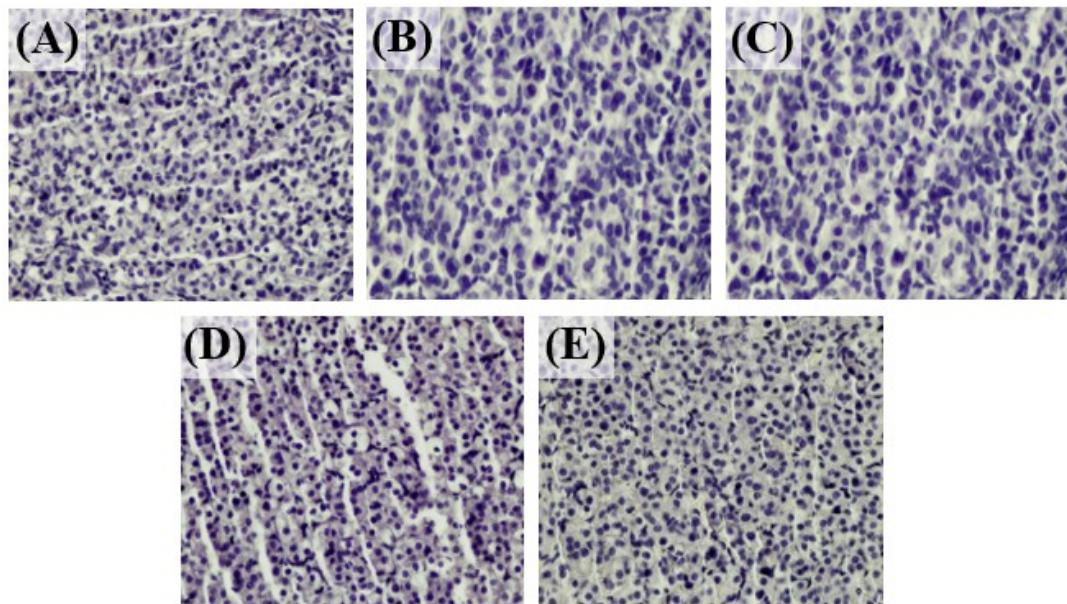


Figura 11 - Morphology of stromal cells in (A) naive; (B) treated only with PBS; (C) treated only with RSV; (D) with periodontitis and treated with PBS; (E) with periodontitis and treated with RSV. Scale bar: 100 μm (400 \times).

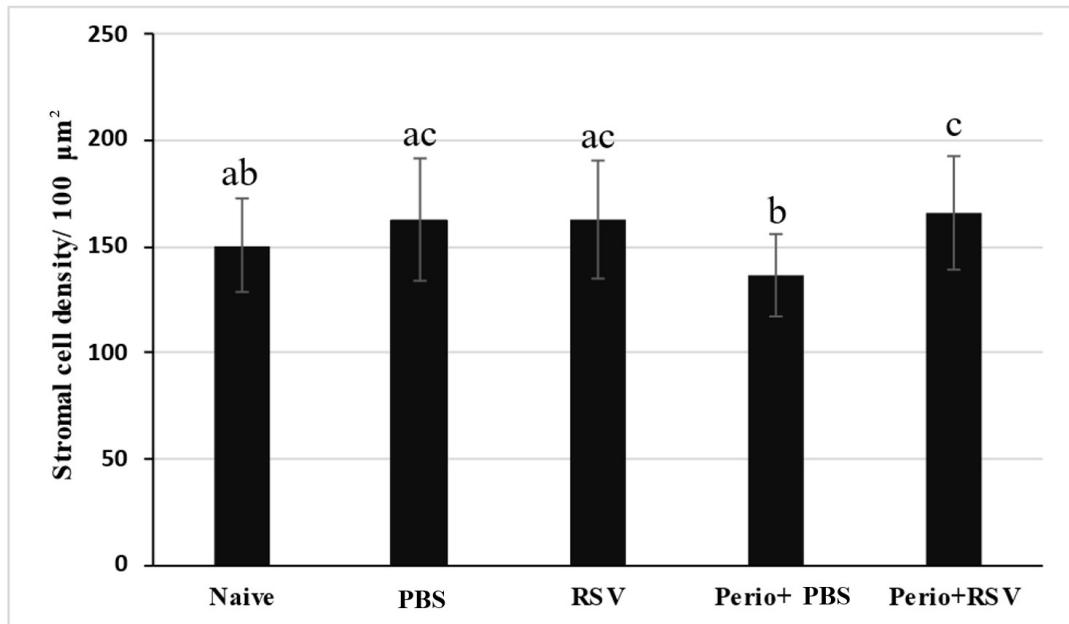


Figure 12 – Stromal cell density (%) in ovaries from the naive group, treated only with PBS, treated only with RSV, with periodontitis and treated with PBS, with periodontitis and treated with RSV. Stromal density was analyzed using the Kruskal-Wallis test, followed by Dunn's comparison. a, b and c different lowercase letters indicate statistically significant differences between treatments ($p < 0.05$).

3.3.4 Analysis of oocytes viability after ovarian culture by fluorescence microscopy

The fluorescence-based viability assay demonstrated a significant reduction in Calcein-AM labeling and a concomitant increase in Ethidium homodimer-1 uptake in the periodontitis-induced and treated PBS group, indicating increased cell death ($p < 0.05$) (Figure 13). Treatment with nanoencapsulated resveratrol in the groups significantly restored cell viability, as evidenced by higher Calcein-AM fluorescence and reduced Ethidium homodimer-1 signal compared to the untreated periodontitis group ($p < 0.05$) (Figure 14). No significant differences were observed among the control groups, which maintained high viability levels. The microscopic fluorescence analysis using calcein-AM and homodimer ethidium-1 showed that the follicles in the RVS treated group were viable, as they stained positively in the calcein - AM, as well as observed in the control group (Figure 18).

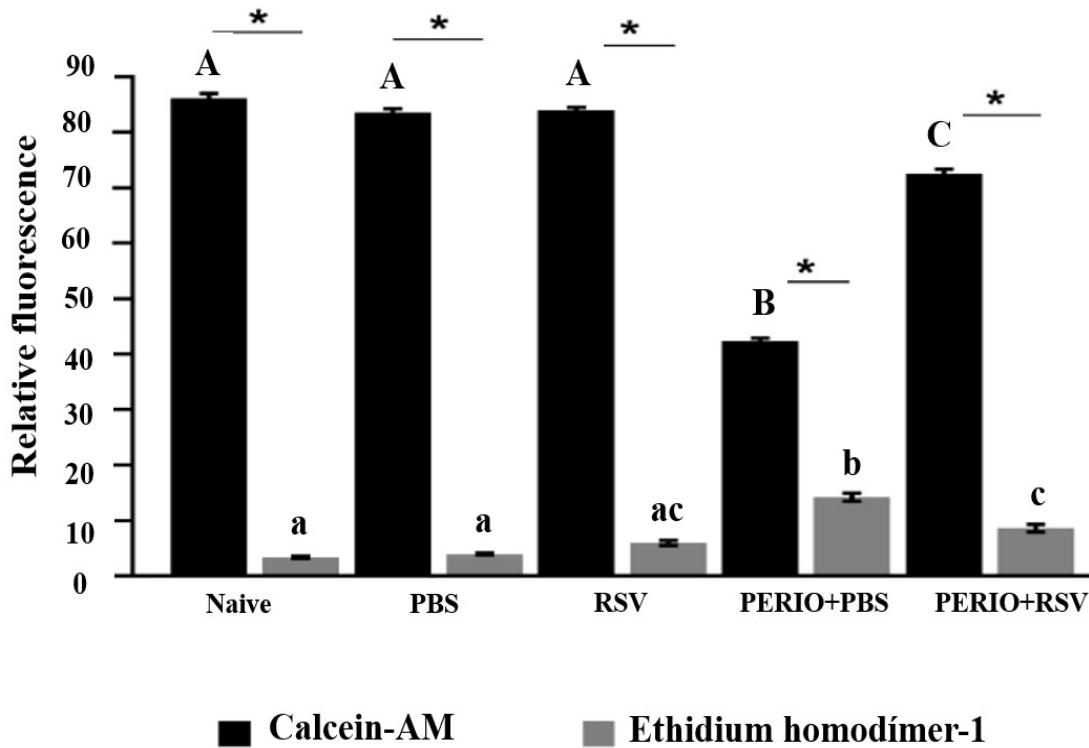


Figure 13 – Statistical graph of fluorescence intensity. Data: mean \pm SEM, ($P<0.05$). * Represents differences between calcein and ethidium fluorescence within each group; Different capital letters indicate difference in calcein fluorescence intensity between different groups; Different lowercase letters indicate difference in ethidium fluorescence intensity between different groups.

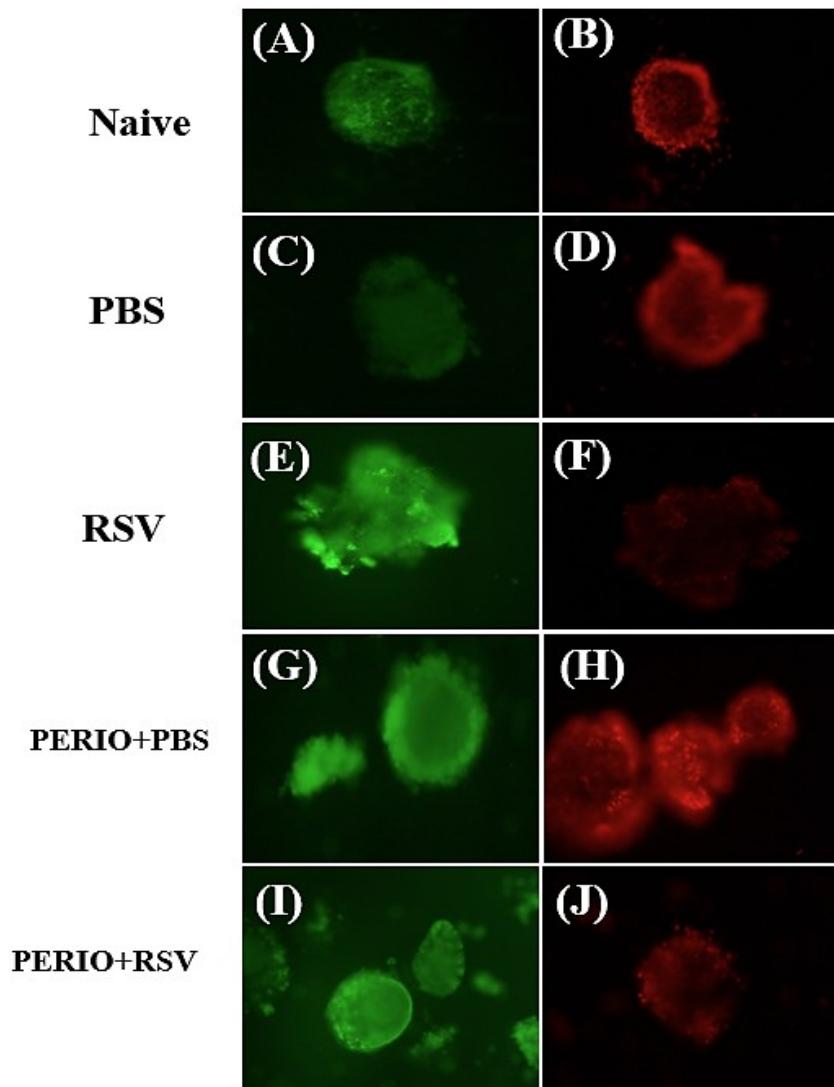


Figure 14 - In green colored, representation of viable mice follicles in different follicular categories treatment groups represented in (A) naive; (C) treated only with PBS; (E) treated only with RSV; (G) with periodontitis and treated with PBS; (I) with periodontitis and treated with RSV. In red colored, representation of non-viable follicles in in (B) naive; (D) treated only with PBS; (F) treated only with RSV; (H) with periodontitis and treated with PBS; (J) with periodontitis and treated with RSV. Scale bars = 50 μ m.

3.3.4 Assessment of the quality of the cumulus oocyte complex

The analysis of follicular development (Table 3) revealed significant differences in the distribution of follicle classifications among the experimental groups. Variations were observed primarily in the proportions of Grade I and Grade IV follicles, with some groups exhibiting a higher percentage of early-stage follicles and others demonstrating greater follicular degeneration. The presence of statistically significant differences both between

treatments and among follicular grades within the same treatment highlights the impact of systemic conditions and therapeutic interventions on ovarian morphology and folliculogenesis ($P < 0.05$).

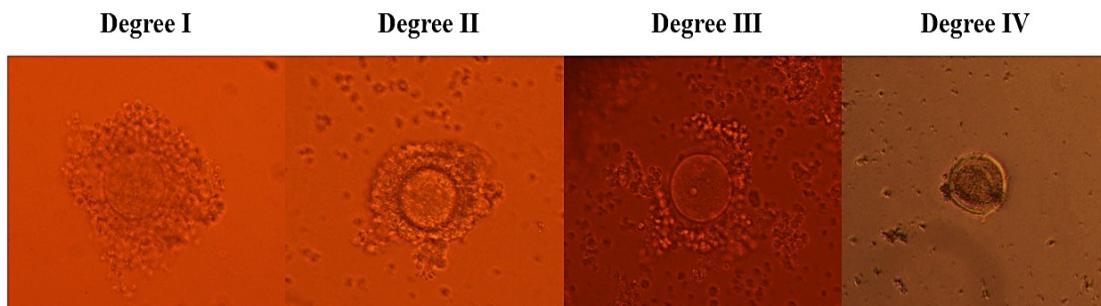


Figure 15 - Representation of cumulus oocyte complex classified in degree I, II, III and IV.
Scale bar: 100 μm (400 \times).

Table 3 -Representation of cumulus oocyte complex classified in degree I, II, III and IV.

Treatments	Degree I	Degree II	Degree III	Degree IV
Naive	28.12% (9/32) ^{Aa}	15.62% (5/32) ^{Aa}	31.25% (10/32) ^{Aa}	25.0% (8/32) ^{ABa}
PBS	34.21% (13/38) ^{ABa}	15.78% (6/38) ^{Aa}	26.31% (10/38) ^{Aa}	23.68% (9/38) ^{ABa}
RSV	27.90% (12/43) ^{Aa}	18.60% (8/43) ^{Aa}	20.93% (9/43) ^{Aa}	32.55% (14/43) ^{Aa}
PERIO + PBS	57.14% (20/35) ^{Ba}	11.42% (4/35) ^{Ab}	20.0% (7/35) ^{Ab}	11.42% (4/35) ^{Bb}
PERIO + RSV	41.93% (26/62) ^{Ab}	20.96% (13/62) ^{Ab}	24.19% (15/62) ^{Aab}	12.90% (8/62) ^{Bb}

ABC: Significant differences between treatments ($P < 0.05$). abc: Significant difference between grade I, II, III and IV classifications, in the same treatment ($P < 0.05$).

4 DISCUSSION

Macroscopic analysis of alveolar bone resorption revealed significant differences among the experimental groups. The highest levels of bone resorption were identified in the treated PBS and with periodontitis group and treated with RSV and with periodontitis group. The treated PBS and with periodontitis group confirmed the effectiveness of the experimental inflammation model, showing significant bone loss consistent with the progression of periodontal disease in the established time testing (XU *et al.*, 2021).

The histological microscopic analysis showed an increase in periodontal tissue damage in the RSV-treated with periodontitis group, suggesting a potential exacerbating effect of RSV. Notably, the treated with RSV and with periodontitis group, despite receiving treatment

with RSV nanoparticles, did not demonstrate a meaningful reduction in bone loss compared to the untreated inflammatory group, suggesting that under this dosage and protocol, RSV was not effective in preventing periodontal destruction. Factors such as treatment duration, local bioavailability, and the intensity of the inflammatory process may have influenced these outcomes (SZYMKOWIAK *et al.*, 2025).

Moreover, previous research has shown that a complex interaction between the exacerbated inflammatory microenvironment and the immunomodulatory effects of RSV, which, under certain conditions, may exhibit pro-oxidant behavior (MARTINS *et al.*, 2014). The current data suggest that nanoencapsulated RSV may require further optimization in terms of dosage, administration route, and exposure time to be effective against periodontitis-associated bone loss. Thus, the findings underscore the need for additional studies on the therapeutic potential of RSV nanoparticles in inflammatory periodontal conditions, particularly focusing on enhancing their bioavailability and targeting efficacy.

Therefore, while RSV nanoparticles at a dose of 10 mg/kg show therapeutic potential in other inflammatory contexts, such as the ovarian microenvironment (ZHOU *et al.*, 2021), their effectiveness in controlling periodontal bone loss requires further investigation. These results confirm the successful induction of periodontitis and underscore the inflammatory burden associated with untreated disease, corroborating prior animal models of periodontal pathology (MOLEZ *et al.*, 2020).

The evaluation of follicular stages revealed significant variations in the proportion of primordial and developing follicles across the experimental groups. The naive and the treated with PBS without periodontitis groups showed a higher percentage of primordial follicles, indicating lower follicular activation. In contrast, the RSV-treated groups, both in healthy animals and in animals with periodontitis, showed a significant reduction in the proportion of primordial follicles, with a relative increase in developing follicles. These data indicate that nanoencapsulated RSV promotes follicular activation, favoring the transition of primordial follicles to more advanced stages of maturation.

Recent studies report that resveratrol regulates pathways such as PI3K/Akt/mTOR, which are essential for follicular activation and maintenance of ovarian reserve (ZHANG *et al.*, 2022). Macedo *et al.*, (2017) demonstrated that the nanoencapsulated formulation of RSV reduces oxidative stress and improves mitochondrial function in ovaries, strengthening the viability of growing follicles and preserving reproductive function.

These data also indicate that nanoencapsulated RSV promotes follicular activation, favoring the transition of primordial follicles to more advanced stages of maturation. Nanoencapsulation improves the bioavailability and stability of the compound, enhancing its action in ovarian tissue (YANG *et al.*, 2023; ZHANG *et al.*, 2022). Zhou *et al.* (2021) demonstrated that the nanoencapsulated formulation of resveratrol reduces oxidative stress and improves mitochondrial function in the ovaries, strengthening the viability of growing follicles and preserving reproductive function. As periodontal inflammation is known to elevate systemic cytokines and oxidative stress — factors capable of impairing ovarian folliculogenesis — the reduction of inflammatory in groups treated with RVS may contribute to the preservation of ovarian function (SHI *et al.*, 2024; TEZAL *et al.*, 2000).

The analysis revealed significant differences in the quantity and developmental stage of ovarian follicles, with an emphasis on the effect of RSV treatment in the groups with induced periodontitis. These data suggest that RSV may positively influence follicular activation, especially under inflammatory conditions. Data extracted from histological observations conducted at the end of the experimental period. The RSV administration in the healthy animals group did not drastically alter the severity pattern compared to healthy animals treated with placebo (PBS), suggesting that in the absence of an inflammatory trigger, RSV may not significantly modulate local immune responses. This aligns with previous evidence that the bioactivity of resveratrol is more evident under oxidative or inflammatory stress conditions (CORRÊA *et al.*, 2018). These findings support the anti-inflammatory potential of RSV in active disease states, likely due to its effects on NF-κB signaling and cytokine modulation (CHENG *et al.*, 2023).

The analysis of follicular morphology revealed significant differences between the groups: the treatment with RSV in the periodontitis group resulted in a significant improvement in follicular morphology, mitigating the detrimental effects of chronic inflammation. This protective effect of resveratrol is enhanced by nanoencapsulation, which promotes its antioxidant, anti-inflammatory, and anti-apoptotic actions. Studies suggest that nanoencapsulated RSV improves follicular structural integrity and activates SIRT1, positively impacting ovarian homeostasis (XU *et al.*, 2021; IZAWA, *et al.*, 2014). These results reinforce the potential of RSV as an adjunctive therapeutic strategy in the prevention of ovarian alterations associated with systemic inflammation.

About ovarian follicles viability, both control groups without induced periodontitis — whether treated with PBS or RSV — exhibited similarly elevated Calcein-AM levels and

minimal Ethidium fluorescence, suggesting RSV does not alter viability under non-inflammatory conditions. This observation supports the notion that RSV demonstrates biocompatibility and lacks cytotoxicity in physiological environments (MOLEZ *et al.*, 2019). In contrast, the group subjected to periodontitis and placebo treatment displayed significantly reduced Calcein-AM fluorescence and elevated Ethidium signal, indicative of compromised cell health.

These findings align with the established link between periodontitis and increased oxidative stress, apoptosis, and tissue breakdown (LI *et al.*, 2021). The group with periodontitis receiving resveratrol treatment showed a marked improvement in cell viability, evidenced by higher Calcein-AM fluorescence and reduced Ethidium signal, compared to the untreated periodontitis group. This suggests that RSV effectively mitigated inflammatory damage and enhanced cellular resilience. Its therapeutic action has been attributed to antioxidant effects, inhibition of NF-κB pathways, and activation of Nrf2-mediated cellular defense mechanisms (CHENG *et al.*, 2023).

Recent studies reinforce these findings by highlighting the modulatory capacity of RSV on immune and redox pathways. For instance, CHENG *et al.*, (2022) observed that RSV supplementation reduced inflammatory cytokine production and oxidative biomarkers in models of chronic inflammation. Moreover, Zhang *et al.*, (2022) demonstrated the effectiveness of polymeric nanoparticles containing RSV in enhancing its bioavailability and tissue-specific delivery, particularly in inflamed environments. These advances suggest that the observed improvement in cell viability in the periodontitis and treated with RSV group may be potentiated by nanoencapsulation, a formulation approach also adopted in the present study.

In summary, the data confirm that periodontitis substantially impairs cellular viability, while RSV administration promotes recovery of cell health in inflamed tissues. However, its efficacy appears limited to pathological contexts, reinforcing its potential role as a targeted adjunctive therapy rather than a preventive agent (CORRÊA *et al.*, 2018). This effect is likely due to its ability to reduce oxidative stress. Together, these results indicate that RSV has no significant effect on ECM under healthy conditions, but exerts therapeutic benefits in pathological states, offering protection against collagen loss associated with periodontal inflammation.

The morphological analysis of cumulus-oocyte complexes suggests that periodontal inflammation negatively affects oocyte quality, likely due to increased systemic levels of

inflammatory cytokines and oxidative stress—factors known to impair the follicular microenvironment. Treatment with RSV in an inflammatory context demonstrated a modulatory effect, partially mitigating the damage induced by chronic inflammation. These findings reinforce the cytoprotective and antioxidant potential of nanoencapsulated resveratrol, promoting better cellular organization and structural integrity of oocyte complexes.

RSV administration in healthy animals appears to interfere with follicular dynamics, potentially indicating a non-physiological activation of oocyte maturation. This behavior suggests that the effects of resveratrol may be context-dependent, being more beneficial under pathological conditions than in basal physiological states. The selective modulation observed may be related to its action on redox and inflammatory signaling pathways such as NF- κ B and PI3K/Akt, as well as the activation of SIRT1 (ZHANG *et al.*, 2022), which are particularly relevant under cellular stress. These results highlight the importance of considering the systemic inflammatory status when evaluating the therapeutic use of resveratrol on reproductive function.

5 CONCLUSION

The findings of this study demonstrate that, despite the recognized antioxidant and anti-inflammatory properties of RSV, the results indicated an aggravation of the periodontal bone damage in animals with periodontitis treated with the nanoencapsulated compound. This finding, although unexpected, may reflect a complex interaction between the exacerbated inflammatory microenvironment and the immune modulation promoted by RSV, which, under certain conditions, may act as a pro-oxidant agent. This paradoxical response highlights the importance of considering factors such as dosage, exposure time, pharmaceutical form, and pathophysiological context when evaluating bioactive compounds. In contrast, beneficial effects of RSV were observed in ovarian morphology and follicular development, indicating its systemic influence, particularly in mitigating the adverse impacts of chronic inflammation on female reproductive tissues. These findings reinforce the hypothesis that periodontitis can exert systemic effects and that bioactive compounds such as resveratrol may play a protective role beyond the oral environment.

6 ETHICAL APPROVAL

The experiments were started only after approval by the Ethics Committee on the Use of Animals (CEUA) of the Federal University of Ceará (Approval number: 07/23).

7 FINANCIAL SUPPORT

This research was supported by grants from the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq, Brazil, Grant N° 435524/2018-6).

8 DATA AVAILABILITY STATEMENT

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

9 CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest that would prejudice the impartiality of this scientific work.

10 DATA AVAILABILITY STATEMENT

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

REFERENCES

- CEKICI, A., et al. **Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease.** *Periodontology 2000*, v. 64, n. 1, p. 57–80, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1111/prd.12002>.
- CHAPPLE, I. L. C. et al. **Primary prevention of periodontitis: managing gingivitis.** *Journal of Clinical Periodontology*, v. 42, supl. 16, p. S71–S76, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1111/jcpe.12366>.
- CHENG, L. et al. **Resveratrol modulates the inflammatory response in hPDLSCs via the NRF2/HO-1 and NF-κB pathways and promotes osteogenic differentiation.** *Journal of Periodontal Research*, [S.l.], v. 58, n. 4, p. 793–804, 2023. DOI: 10.1111/jre.13200.
- CHENG, Z. et al. **Resveratrol reduces oxidative stress and inflammation in chronic inflammation models.** *Inflammation Research*, v. 71, n. 9, p. 835 843, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00011-022-01561-3>.
- CIRANO, F. R. et al. **Effect of resveratrol on periodontal pathogens during experimental periodontitis in rats.** *Brazilian Oral Research*, v. 30, n. 1, p. e128, 2016. DOI: 10.1590/1807-3107BOR-2016.vol30.0128.
- CORRÊA, M. G. et al. **Systemic effects of resveratrol in periodontitis: a preclinical study in rats.** *Journal of Periodontology*, v. 89, n. 5, p. 586 595, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1002/JPER.17-0483>.

DUARTE, N. D. et al. **Resveratrol as adjuvant of non-surgical periodontitis treatment: a systematic review and meta-analysis.** *Brazilian Dental Science*, v. 28, n. 1, p. e4582, 2025. DOI: 10.4322/bds.2025.e4582.

LI, L. et al. **Resveratrol prevents inflammation and oxidative stress response in LPS-induced human gingival fibroblasts by targeting the PI3K/AKT and Wnt/β-catenin signaling pathways.** *Genetics and Molecular Biology*, v. 44, e20200349, 2021. DOI: 10.1590/1678-4685-GMB-2020-0349.

MARTINS, L. A. et al. **Resveratrol induces pro-oxidant effects and time-dependent resistance to cytotoxicity in activated hepatic stellate cells.** *Cell Biochemistry and Biophysics*, v. 68, n. 2, p. 247–257, mar. 2014.

MACEDO, T. J. S. et al. **Resveratrol has dose-dependent effects on DNA fragmentation and mitochondrial activity of ovine secondary follicles cultured in vitro.** *Zygote*, v. 25, n. 4, p. 434–442, ago. 2017.

MOLEZ, A. M. et al. **Effect of resveratrol on the progression of experimental periodontitis in an ovariectomized rat model of osteoporosis: morphometric, immune-enzymatic, and gene expression analysis.** *Journal of Periodontal Research*, v. 55, n. 6, p. 840-849, dez. 2020. DOI: 10.1111/jre.12775.

PAPAPANOU, P. N. et al. **Periodontitis: consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions.** *Journal of Periodontology*, [S. l.], v. 89, n. S1, p. S173–S182, 2018.

SHI, M. et al. **Polycystic Ovary Syndrome and the Potential for Nanomaterial-Based Drug Delivery in Therapy of This Disease.** *Pharmaceutics*, v. 16, n. 12, p. 1556, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16121556>

TEZAL, M. et al. **The relationship between bone mineral density and periodontitis in postmenopausal women.** *Journal of Periodontology*, v. 71, n. 10, p. 1492–1498, 2000. DOI: 10.1902/jop.2000.71.10.1492.

YANG, Q. et al. **Advances in the role of resveratrol and its mechanism of action in common gynecological tumors.** *Frontiers in Pharmacology*, v. 15, p. 1417532, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1417532>.

ZHANG, S. et al. **Advances in biomaterials and regenerative medicine for primary ovarian insufficiency therapy.** *Bioactive Materials*, v. 6, n. 7, p. 1957–1972, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.12.008>.

ZHOU, Y. et al. **Effect of resveratrol on mouse ovarian vitrification and transplantation.** *Cryobiology*, v. 99, p. 1–8, 2021.

8 CONCLUSÃO

Os dados obtidos ao longo deste estudo indicam que, embora o tratamento com RSV nano encapsulado não tenha promovido alterações significativas no quadro de perda óssea alveolar em animais com periodontite experimental, foi possível observar efeitos positivos relevantes sobre o sistema reprodutor feminino, especialmente na manutenção da morfologia e da dinâmica folicular ovariana. Este achado sugere que o RSV pode exercer ação protetora sobre tecidos reprodutivos, mesmo sob condições inflamatórias sistêmicas.

A ausência de resposta anti-inflamatória na estrutura periodontal pode estar relacionada a diversos fatores experimentais, como a concentração da substância, o tempo de exposição, a biodisponibilidade no local da inflamação ou características da formulação polimérica utilizada. Em contrapartida, os efeitos benéficos evidenciados nos ovários reforçam a hipótese de que o RSV, por sua capacidade antioxidante, possuindo potencial terapêutico relevante em condições que comprometem a homeostase do eixo reprodutivo feminino. Os achados apresentados corroboram com a crescente literatura que associa doenças inflamatórias crônicas, como a periodontite, à alteração de funções sistêmicas, como a fertilidade. Além disso, reforçam o papel de compostos bioativos como adjuvantes promissores na prevenção de tais impactos.

O presente trabalho contribui de maneira significativa para o avanço do conhecimento nas áreas de histologia, fisiopatologia reprodutiva e estratégias terapêuticas experimentais. Recomenda-se, para pesquisas futuras, a ampliação dos modelos estudados, com a inclusão de análises moleculares, avaliação de biomarcadores inflamatórios e reprodutivos, bem como ajustes nas variáveis farmacológicas, a fim de melhor elucidar os mecanismos envolvidos e otimizar os possíveis efeitos benéficos do RSV em diferentes tecidos-alvo.

9 PERSPECTIVAS

- A investigação dos efeitos a longo prazo das terapias baseadas em nanopartículas na fisiologia reprodutiva, especialmente no contexto de condições inflamatórias crônicas.
- A expansão do modelo experimental para incluir diferentes dosagens, durações de tratamento e comparação com outros compostos bioativos, a fim de compreender melhor os mecanismos envolvidos na reparação tecidual e na regulação hormonal.
- A aplicação dos resultados à pesquisa translacional, permitindo o design de ensaios clínicos que avaliem a eficácia e segurança de formulações de RSV carregadas em nanopartículas em populações humanas afetadas por periodontite e alterações reprodutivas, como a menopausa ou tratamentos quimioterápicos.

REFERÊNCIAS

- ABDULKAREEM, A. A. et al., **Current concepts in the pathogenesis of periodontitis: from symbiosis to dysbiosis.** *Journal of Oral Microbiology*, v. 15, n. 1, p. 2197779, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1080/20002297.2023.2197779>.
- ALKILANI, A. Z., et al., **Beneath the Skin: A Review of Current Trends and Future Prospects of Transdermal Drug Delivery Systems.** *Pharmaceutics*, v. 14, n. 6, p. 1152, 2022. DOI: [10.3390/pharmaceutics14061152](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14061152).
- ALI, M. et al. **Recent developments in nanoparticle formulations for resveratrol encapsulation as an anticancer agent.** *Pharmaceuticals (Basel)*, v. 17, n. 1, p. 126, 18 jan. 2024. DOI: [10.3390/ph17010126](https://doi.org/10.3390/ph17010126).
- ANDRADE, E. F. et al. **Can resveratrol treatment control the progression of induced periodontal disease? A systematic review and meta-analysis of preclinical studies.** *Nutrients*, v. 11, n. 5, p. 953, 2019. DOI: [10.3390/nu11050953](https://doi.org/10.3390/nu11050953).
- BHATTARAI, G. **Resveratrol prevents alveolar bone loss in an experimental rat model of periodontitis.** *Acta Biomaterialia*, v. 29, p. 398-408, jan. 2016. DOI: [10.1016/j.actbio.2015.10.031](https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.10.031).
- CATON, J. G. et al. **A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions.** *Journal of Clinical Periodontology*, v. 45, supl. 20, p. S1–S8, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/jcpe.12946>.
- CEKICI, A., et al. **Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease.** *Periodontology 2000*, v. 64, n. 1, p. 57–80, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1111/prd.12002>.
- CHAPPLE, I. L. C. et al. **Primary prevention of periodontitis: managing gingivitis.** *Journal of Clinical Periodontology*, v. 42, supl. 16, p. S71–S76, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1111/jcpe.12366>.
- CHENG, Y. et al. **Resveratrol attenuates inflammation and oxidative stress in chronic inflammatory models.** *International Journal of Molecular Sciences*, v. 23, n.4, p. 2105, 2022.
- CHENG, L. et al. **Resveratrol modulates the inflammatory response in hPDLSCs via the NRF2/HO-1 and NF-κB pathways and promotes osteogenic differentiation.** *Journal of Periodontal Research*, [S.l.], v. 58, n. 4, p. 793–804, 2023. DOI: [10.1111/jre.13200](https://doi.org/10.1111/jre.13200).
- CHENG, Z. et al. **Resveratrol reduces oxidative stress and inflammation in chronic inflammation models.** *Inflammation Research*, v. 71, n. 9, p. 835 843, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00011-022-01561-3>.

CORRÊA, M. G. et al. **Systemic effects of resveratrol in periodontitis: a preclinical study in rats.** *Journal of Periodontology*, v. 89, n. 5, p. 586–595, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1002/JPER.17-0483>.

CORREÂA, M. G. et al. **Systemic treatment with resveratrol reduces the progression of experimental periodontitis and arthritis in rats.** *PLoS One*, v. 13, n. 10, p. e0204414, 2018. DOI: 10.1371/journal.pone.0204414.

DENG, H. et al. **Systematic low-grade chronic inflammation and intrinsic mechanisms in polycystic ovary syndrome.** *Frontiers in Immunology*, v. 15, p. 1470283, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1470283>.

DE SÁ COUTINHO, D. et al. **Anti-inflammatory effects of resveratrol: mechanistic insights.** *International Journal of Molecular Sciences*, v. 19, n. 6, p. 1812, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms19061812>.

DIKMETAS, D. N. et al. **Recent advances in encapsulation of resveratrol for enhanced delivery.** *Food Chemistry*, v. 460, pt. 1, p. 140475, 1 dez. 2024. DOI: 10.1016/j.foodchem.2024.140475. Epub 16 jul. 2024. PMID: 39047495.

DUAN, Y. et al. **Sex dimorphism in periodontitis in animal models.** *Journal of Periodontal Research*, v. 50, n. 3, p. 378–385, 2015. DOI: [10.1111/jre.12298](https://doi.org/10.1111/jre.12298).

EBERSOLE, J. L. et al. **The periodontal war: microbes and immunity.** *Periodontology 2000*, v. 75, n. 1, p. 52–115, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/prd.12222>.

GOWD, V. et al. **Resveratrol and resveratrol nano-delivery systems in the treatment of inflammatory bowel disease.** *Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 109, p. 109101, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2022.109101>.

HANLEY, N. A.; IKEDA, Y.; LUO, X.; PARKER, K. L. **Steroidogenic factor 1 (SF-1) is essential for ovarian development and function.** *Molecular and Cellular Endocrinology*, v. 163, n. 1-2, p. 27–32, 25 maio 2000. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0303-7207\(99\)00237](https://doi.org/10.1016/S0303-7207(99)00237)

HART, R.; DOHERTY, D.A.; PENNELL, C.E. et al. **Periodontal disease: a potential modifiable risk factor limiting conception.** *Human Reproduction*, v. 27, p. 1332–1342, 2012. DOI: 10.1093/humrep/des034.

HIENZ, S. A.; PALIWAL, S.; IVANOVSKI, S. **Mechanisms of bone resorption in periodontitis.** *Journal of Immunology Research*, v. 2015, Artigo ID 615486, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/615486>.

JAMES, K. A. et al. **Understanding the relationships between physiological and psychosocial stress, cortisol and cognition.** *Frontiers in Endocrinology*, [S. l.], v. 14, p. 1085950, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1085950>

JAVID, A. Z. et al. **Impact of resveratrol supplementation on clinical parameters and inflammatory markers in patients with chronic periodontitis: a randomized clinical trial.** *BMC Oral Health*, v. 23, n. 1, p. 1–9, 2023. DOI: 10.1186/s12903-023-02877-4.

JIN, C.; YANG, L.; ZHAO, X., et al. **Tumor microenvironment in ovarian cancer: biological functions and therapeutic targets.** *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, v. 8, 758, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00758>.

KHAN, N. R., et al. **Nanocarriers and their Actions to Improve Skin Permeability and Transdermal Drug Delivery.** *Current Pharmaceutical Design*, v. 21, n. 20, p. 2713–2729, 2015. DOI: [10.2174/1381612821666150428145216](https://doi.org/10.2174/1381612821666150428145216).

KINANE, D. F.; STATHOPOULOU, P. G.; PAPAPANOU, P. N. **Periodontal diseases.** *Nature Reviews Disease Primers*, v. 3, p. 17038, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.38>

KOBAYASHI, H. et al. **Ovarian cancer stroma: pathophysiology and the roles in cancer development.** *Cancers*, v. 4, n. 3, p. 701–724, 2012. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers4030701>.

IKEDA, E. et al. **Healing effects of monomer and dimer resveratrol in a mouse periodontitis model.** *BMC Oral Health*, v. 22, n. 1, p. 460, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12903-022-02499-2>.

LIN, P. et al. **Application of Ligature-Induced Periodontitis in Mice to Explore the Molecular Mechanism of Periodontal Disease.** *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 16, p. 8900, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22168900>.

LIU, X. et al. **Recent advances in resveratrol derivatives: structural modifications and biological activities.** *Molecules*, v. 30, n. 4, p. 958, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules30040958>.

LIU, W.i; GUO, D. **Oxidative stress in periodontitis and the application of antioxidants in treatment: a narrative review.** *Frontiers in Physiology*, v. 16, p. 1485367, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2025.1485367>.

LOBODA, A.; DAMULEWICZ, M.; PYZA, E.; et al. **Role of Nrf2/HO-1 system in development, oxidative stress response and diseases: an evolutionarily conserved mechanism.** *Cellular and Molecular Life Sciences*, v. 73, n. 17, p. 3221–3247, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2223-0>.

LOOS B.G., et al. **The role of inflammation and genetics in periodontal disease.** *Periodontol 2000*. (2020) 83:26–39. Doi: 10.1111/prd.12297

MARTELLACCI, L. et al. **A literature review of metagenomics and culturomics of the peri-implant microbiome: current evidence and future perspectives.** *Materials (Basel)*, v. 12, n. 18, 2019. DOI: 10.3390/ma12182883.

MARCONDES, F. K. et al. **Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations.** *Brazilian Journal of Biology*, v. 62, n. 4A, p. 609 614, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1519-69842002000400008>.

MENG, T. et al. **Anti-Inflammatory Action and Mechanisms of Resveratrol.** *Molecules*, v. 26, n. 1, p. 229, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26010229>

MOLEZ, A. M. et al. **Effect of resveratrol on the progression of experimental periodontitis in an ovariectomized rat model of osteoporosis: morphometric, immune-enzymatic, and gene expression analysis.** *Journal of Periodontal Research*, v. 55, n. 6, p. 840-849, dez. 2020. DOI: 10.1111/jre.12775.

MORGAN S, et al. **How do chemotherapeutic agents damage the ovary?** *Hum Reprod Update*, Sep-Oct;18(5):525-35, 2012.

NWHATOR, S. et al. **Could periodontitis affect time to conception?** *Annals of Medical and Health Sciences Research*, v. 4, p. 817, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.4103/2141-9248.141567>

ORISAKA, Makoto et al. **Chronic low-grade inflammation and ovarian dysfunction in women with polycystic ovary syndrome, endometriosis, and aging.** *Frontiers in Endocrinology*, v. 14, p. 1324429, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1324429>.

OVERLAND, M. R. et al. **Development of the human ovary: Fetal through pubertal ovarian morphology, folliculogenesis and expression of cellular differentiation markers.** *Differentiation*, v. 129, p. 37–59, jan./fev. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.diff.2022.10.005>.

PAJU, S.; OITTINEN, J.; HAAPALA, H. et al. **Porphyromonas gingivalis may interfere with conception in women.** *Journal of Oral Microbiology*, v. 9, p. 1330644, 2017. DOI: 10.1080/20002297.2017.1330644.

PAN, W.; WANG, Q.; CHEN, Q. **The cytokine network involved in the host immune response to periodontitis.** *International Journal of Oral Science*, v. 11, n. 30, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41368-019-0064-z>.

PAGNUSSAT, A.S. et al., **Resveratrol treatment has neuroprotective effects and prevents cognitive impairment after chronic cerebral hypoperfusion.** *Neurological Research*, v. 36, n. 7, p. 627–633, jul. 2014. DOI: 10.1179/1743132813Y.0000000293.

PELEGRI, Á. F. et al. **Testosterone replacement relieves ligature-induced periodontitis by mitigating inflammation, increasing pro-resolving markers and promoting angiogenesis in rats: A preclinical study.** *Archives of Oral Biology*, v. 146, p. 105605, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2022.105605>.

PITONES-RUBIO, V. et al. **Is periodontal disease a risk factor for severe COVID-19 illness?** *Medical Hypotheses*, v. 144, p. 109969, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2020.109969>.

POLJIČANIN, A. et al. **The expression patterns of pro-apoptotic and anti-apoptotic factors in human fetal and adult ovary.** *Acta Histochemica*, v. 115, n. 6, p. 533–540, jul. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2012.11.009>.

POULIOU, C.; PIPERI, C. **Advances of Oxidative Stress Impact in Periodontitis: Biomarkers and Effective Targeting Options.** *Current Medicinal Chemistry*, v. 31, n. 38, p. 6187–6203, 2024. DOI: <https://doi.org/10.2174/0109298673297545240507091410>.

PREETHANATH, R. S.; IBRAHEEM, W. I.; ANIL, A. Patogênese da gengivite. In: *Doenças Orais*. IntechOpen, 2020. DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.91614>.

RAMESH, A. et al. **Herbs as an antioxidant arsenal for periodontal diseases.** *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, v. 5, p. 92–96, 2016.

RIBAS, D. N. et al. **Morphological classification of cumulus-oocyte complexes and in vitro embryo production outcomes.** *Animal Reproduction*, v. 19, n. 2, e22096, 2022. DOI: 10.1590/1984-3143-AR2022-0074.

SANTOS, N.C.C., **Efeitos clínicos e imunológicos de ácidos graxos poli-insaturados de ômega-3 e aspirina em baixa dosagem como adjuvantes ao debridamento periodontal em pacientes com diabetes tipo 2: estudo clínico randomizado.** 2019. Tese (Doutorado em Biopatologia Bucal) – Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), São José dos Campos, 2019. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/182331>.

SCHAUER, I.; SOOD, A., et al. **Cancer-associated fibroblasts and their putative role in potentiating the initiation and development of epithelial ovarian cancer.** *Neoplasia*, v. 13, n. 5, p. 393–405, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1593/neo.101760>.

SILVA, J. R. V. et al. **Interleukin-1 β and TNF- α systems in ovarian follicles and their roles during follicular development, oocyte maturation and ovulation.** *Zygote*, v. 28, n. 4, p. 270–277, ago. 2020. DOI: 10.1017/S0967199420000222.

SHI, M. et al. **Polycystic Ovary Syndrome and the Potential for Nanomaterial-Based Drug Delivery in Therapy of This Disease.** *Pharmaceutics*, v. 16, n. 12, p. 1556, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16121556>.

SPEARS N, et al. **Ovarian damage from chemotherapy and current approaches to its protection.** *Hum Reprod Update*, Nov 5;25(6):673-693, 2019.

TEZAL, M. et al. **The relationship between bone mineral density and periodontitis in postmenopausal women.** *Journal of Periodontology*, v. 71, n. 10, p. 1492–1498, 2000. DOI: 10.1902/jop.2000.71.10.1492.

SZYMKOWIAK, I. et al. **Resveratrol bioavailability after oral administration: a meta-analysis of clinical trial data.** *Phytotherapy Research*, v. 39, n. 1, p. 453–464, jan. 2025. DOI: [10.1002/ptr.8379](https://doi.org/10.1002/ptr.8379).

TING, Y. K. et al. **Transcriptional activation of the anchoring protein SAP97 by heat shock factor (HSF)-1 stabilizes K(v) 1.5 channels in HL-1 cells.** *British Journal of Pharmacology*, v. 162, n. 8, p. 1832-1842, abr. 2011. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2011.01204.x. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3081125/>.

TOMOFUJI, T. et al., **Periodontitis and increase in circulating oxidative stress.** *Japanese Dental Science Review*, v. 45, n. 1, p. 46–51, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2008.12.002>.

TOUFEXIS, D. J. et al. **Stress and the reproductive axis.** *Journal of Neuroendocrinology*, [S. l.], v. 26, n. 9, p. 573–586, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1111/jne.12179>.

TSENG, P. C. et al. **Resveratrol promotes osteogenesis of human mesenchymal stem cells by upregulating RUNX2 gene expression via the SIRT1/FOXO3A axis.** *Journal of Bone and Mineral Research*, v. 26, n. 11, p. 2552–2563, 2011. DOI: 10.1002/jbm.478.

VAN DEN HURK, R.; ZHAO, J. Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation and maturation within ovarian follicles. *Theriogenology*, v. 63, n. 6, p. 1717-1751, 2005.

UDENIGWE, C. C. et al., **Potential of resveratrol in anticancer and anti-inflammatory therapy.** *Nutrition Reviews*, v. 66, n. 9, p. 445–454, 2008. DOI: 10.1111/j.1753-4887.2008.00057.x.

ÜSTÜNDAĞ, H. et al. **Enhanced efficacy of resveratrol-loaded silver nanoparticle in attenuating sepsis-induced acute liver injury: modulation of inflammation, oxidative stress, and SIRT1 activation.** *Shock*, v. 60, n. 5, p. 688-697, nov. 2023. DOI: 10.1097/SHK.0000000000002218. Epub 5 set. 2023. PMID: 37695728.

WANG, Q. et al. **Resveratrol attenuates inflammation and oxidative stress in epididymal white adipose tissue: implications for its involvement in improving steroidogenesis in diet-induced obese mice.** *Molecular Reproduction and Development*, v. 82, n. 4, p. 321-328, abr. 2015. DOI: 10.1002/mrd.22478.

XU, Xue-Ling; DENG, Shou-Long; LIAN, Zheng-Xing; YU, Kun. **Resveratrol targets a variety of oncogenic and oncosuppressive signaling for ovarian cancer prevention and treatment.** *Antioxidants*, Basel, v. 10, n. 11, p. 1718, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox10111718>.

YANG, Q. et al. **Advances in the role of resveratrol and its mechanism of action in common gynecological tumors.** *Frontiers in Pharmacology*, v. 15, p. 1417532, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1417532>.

ZHANG, L. et al. **SIRT1 attenuates endoplasmic reticulum stress and apoptosis in rat models of COPD.** *Growth Factors*, v. 38, n. 2, p. 94–104, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/08977194.2020.1810029>.

ZHANG, Q. et al. **Resveratrol decreases local inflammatory markers and systemic endotoxin in patients with aggressive periodontitis.** *Medicine (Baltimore)*, v. 101, n. 25, e29393, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000029393>

ZHANG, S. et al. **Advances in biomaterials and regenerative medicine for primary ovarian insufficiency therapy.** *Bioactive Materials*, v. 6, n. 7, p. 1957–1972, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.12.008>

ZHOU, Y. et al. **Effect of resveratrol on mouse ovarian vitrification and transplantation.** *Cryobiology*, v. 99, p. 1–8, 2021.

ZHU, L. et al. **Osteoporosis and alveolar bone health in periodontitis niche: a predisposing factors-centered review.** *Cells*, v. 11, n. 21, p. 3380, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells11213380>

ZHU, X. et al. **Activation of Sirt1 by resveratrol inhibits TNF- α induced inflammation in fibroblasts.** *PLoS One*, v. 6, n. 11, e27081, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027081>

ANEXO A - APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
Campus de Sobral – Faculdade de Medicina
 Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado: “*Influência do resveratrol na periodontite e no desenvolvimento e morfologia de folículos ovarianos de camundongos fêmeas*”, registrado como Protocolo CEUA UFC Sobral nº 07/23, sob a responsabilidade do Prof. Dr. José Roberto Viana Silva, envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica. O projeto encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009 e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), sendo aprovado *ad referendum* pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) do Campus da UFC em Sobral, em cumprimento à deliberação registrada na primeira reunião ordinária do ano corrente, de 02/04/2024.

Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	02/04/2024 até 01/12/2024
Espécie/linhagem/raça	<i>Mus musculus</i> / Swiss / Camundongos heterogênicos
Nº de animais	66 (sessenta e seis)
Peso/Idade	18 g / 2 meses
Sexo	Fêmeas (♀)
Origem	Biotério Central em Fortaleza (BIOCEN-UFC)

Sobral, 02 de abril de 2024.

Documento assinado digitalmente
gov.br IGOR IUCO CASTRO DA SILVA
 Data: 02/04/2024 18:10:15-0300
 Verifique em <https://validar.itd.gov.br>

Prof. Dr. Igor Iuco Castro da Silva
 Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA