



UNIVERSIDADE CHRISTUS

CURSO DE ODONTOLOGIA

LAÍS OLIVEIRA DE CASTRO BARROSO

**INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO COM TOCILIZUMABE NA CICATRIZAÇÃO
DE ÚLCERAS TRAUMÁTICAS ORAIS EM MUCOSA JUGAL DE RATAS**

FORTALEZA

2026

LAÍS OLIVEIRA DE CASTRO BARROSO

INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO COM TOCILIZUMABE NA CICATRIZAÇÃO DE
ÚLCERAS TRAUMÁTICAS ORAIS EM MUCOSA JUGAL DE RATAS

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado ao curso de Odontologia da
Universidade Christus, como requisito
parcial para obtenção do título de bacharel
em Odontologia.

Orientador(a): Prof. Dr. Paulo Goberlânio de
Barros Silva

FORTALEZA
2026

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Centro Universitário Christus - Unichristus
Gerada automaticamente pelo Sistema de Elaboração de Ficha Catalográfica do
Centro Universitário Christus - Unichristus, com dados fornecidos pelo(a) autor(a)

B277i Barroso, Laís Oliveira de Castro.
INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO COM TOCILIZUMABE
NA CICATRIZAÇÃO DE ÚLCERAS TRAUMÁTICAS ORAIS EM
MUCOSA JUGAL DE RATAS / Laís Oliveira de Castro Barroso. -
2026.
42 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Centro
Universitário Christus - Unichristus, Curso de Odontologia,
Fortaleza, 2026.
Orientação: Prof. Dr. Paulo Goberlânio de Barros Silva.

1. Receptores de Interleucina-6. 2. Anticorpos Monoclonais. 3.
Úlceras orais. 4. Interleucina-6. 5. Cicatrização. I. Título.

CDD 617.6

LAÍS OLIVEIRA DE CASTRO BARROSO

INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO COM TOCILIZUMABE NA CICATRIZAÇÃO DE
ÚLCERAS TRAUMÁTICAS ORAIS EM MUCOSA JUGAL DE RATAS

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado ao curso de Odontologia do
Universidade Christus, como requisito parcial para
obtenção do título de bacharel em Odontologia.

Orientador(a): Prof. Dr. Paulo Goberlânio de Barros
Silva

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Paulo Goberlânio de Barros Silva
(Orientador)
Universidade Christus (UNICHRISTUS)

Prof. Dr. Dayrine Silveira de Paula
Universidade Christus (UNICHRISTUS)

Prof. Dr. Antônio Ernando Carlos Ferreira Junior
Universidade Christus (UNICHRISTUS)

À minha filha amada, que, até mesmo nos dias mais tempestuosos, é o sol que ilumina e aquece a minha vida. Você é a força que me impulsiona, nós conseguimos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por ter permanecido ao meu lado nos momentos mais difíceis, nas noites em que o medo e o cansaço pareciam maiores que minhas forças, foi Ele quem me sustentou e me deu coragem para continuar.

Agradeço ao meu maior amor, minha filha Sophia, que, mesmo em sua inocência, me inspira diariamente a ser alguém melhor. Você é muito mais do que eu poderia pedir ou imaginar, é a realização de um sonho lindo. Ser sua mãe é a maior alegria da minha vida, tudo o que faço é por você e para você, minha filha, e cada abraço, palavra e olhar cheio de admiração me enchem de amor e força. Você preenche minha alma com o maior e mais puro amor, eu te amo muito mais do que qualquer palavra, expressão ou gesto podem descrever, meu raio de sol; a mamãe sempre será sua maior fã.

Aos meus pais, Ana e Kennedy, os primeiros professores da minha vida, agradeço por todos os sacrifícios, ensinamentos, incentivos e pela confiança inabalável em mim. Minha mãezinha, meu exemplo de mulher, com seu amor e cuidado, esteve ao meu lado nas madrugadas difíceis, nos momentos de alegria e tristeza, em cada conquista, sempre foi minha plateia mais fiel, vibrando por mim mais do que eu mesma. Meu pai que, com carinho, me ensinou coragem, perseverança e a nunca desistir diante das dificuldades, além de demonstrar seu amor nos gestos mais simples e sinceros. Obrigada também pelas caronas, pelos lanches preparados com carinho e por todo apoio que me permitiu abraçar cada oportunidade da minha trajetória. Amo vocês com todo o meu coração.

Ao meu parceiro de vida, Rafael, a gratidão que tenho por tê-lo em minha vida não pode ser descrita completamente em palavras, você está ao meu lado em todos os momentos, nas gargalhadas de alegria e nos choros de tristeza, tem um dos corações mais puros que tive o prazer de conhecer e faz tudo que pode por mim. Nas horas em que o medo e a insegurança falam mais alto, você é meu porto seguro, meu grande incentivador, quem “segura as pontas” para que eu possa alcançar meus sonhos. Meu amor, obrigada por todo o apoio, por me incentivar e ser meu grande fã, por fazer questão de deixar claro o quanto me ama todos os dias, nos mínimos detalhes, por lembrar de mim em todas as horas e por, junto à mim, cuidar também com tanto amor e zelo do maior presente que poderíamos ganhar, nossa filha.

Às minhas tias Gracinha, Conceição, Osita, Socorro, Teresa e Penha, e à minha avó Eneida, meu mais profundo agradecimento por cuidarem de mim com todo amor, carinho e dedicação. Todo esse afeto se tornou a base sólida que moldou quem sou hoje. Levarei

comigo, para sempre, cada ensinamento, carinho e acolhimento que recebi. Ao meu irmão Gabriel e ao meu primo Pedro Henrique, que tornaram minha infância tão feliz e cheia de memórias inesquecíveis; crescer ao lado de vocês foi um dos maiores presentes que tive na vida, é impossível lembrar da minha história sem que ela seja preenchida pelo carinho, risadas e momentos que compartilhamos juntos.

Aos meus amigos e companheiros de faculdade Erick, Érica, Clarisse, Natasha, Mikaele, Larissa, Raíssa, Sabrina, Yanna, Clarice, Luana e Wesley, obrigada por tornarem essa caminhada mais leve, pelas risadas, pelo apoio nos momentos difíceis e por vibrarem comigo em cada conquista. Conviver com vocês foi um grande presente, e levo comigo muito amor e admiração por cada um.

Aos meus amigos e companheiros do Instituto do Câncer do Ceará, Carlos, Gabriella, Natasha, Mikaele, Clarice, Luana, Nayra, Wesley, Izabel, Cássia Fernandes, Júlia, Luiza, Yohana, Maria Eduarda, Larissa, Gladyson, Gabriel, André, Cecília, Anna Clara, Isaac, Ivyna e Iury, obrigada por compartilharem comigo uma experiência tão transformadora. Em mim, há um pedaço de cada um de vocês.

Às amigas e irmãs que pude escolher, Gabriella, Natasha, Sabrina Veras e Lara, vocês são pessoas ímpares na minha vida, sou grata por cada conselho, cada lágrima minha que enxugaram, por acreditarem em mim e me encorajarem sempre. Eu as amo mais do que consigo expressar.

À minha amiga e professora Cássia Nóbrega, sou imensamente grata por acreditar em mim nos momentos em que eu não consegui enxergar meu próprio potencial e por me acolher nas horas difíceis. Sua presença foi abrigo nos dias difíceis e alegria sincera a cada conquista alcançada. Mais do que odontologia, você me ensinou a cuidar com amor, empatia, compaixão e humanidade. Levo comigo cada conselho, gesto de carinho e ensinamento compartilhado.

Ao meu orientador Paulo Goberlânio, minha eterna gratidão por tudo que fez por mim, por toda confiança, incentivo e por levar meu nome a lugares que jamais imaginei. Com você aprendi que todo estudo, toda pesquisa e todo conhecimento só fazem sentido quando têm como propósito maior o cuidado, a dignidade e o bem-estar do paciente. Sua trajetória sempre será uma grande inspiração para mim, tenho uma grande admiração por você e um orgulho enorme por ter tido a honra de ser sua orientanda. Obrigada pela paciência e bom humor com os quais sempre me socorreu em meio ao desespero com as questões acadêmicas.

Aos membros da banca, Dayrine e Ernando, agradeço por aceitarem fazer parte deste momento tão especial e contribuírem com meu trabalho.

RESUMO

As úlceras orais são lesões caracterizadas pela perda da integridade epitelial e exposição de tecido conjuntivo subjacente e seu processo de cicatrização envolve uma cascata de eventos e etapas bem estruturadas, como a inflamatória. Nesse contexto, a interleucina-6 (IL-6) se destaca como um importante mediador inflamatório e tem sua sinalização inibida com o uso do tocilizumabe (TCZ), um anticorpo monoclonal que realiza o bloqueio dos receptores de IL-6 (IL-6R). O objetivo deste estudo foi avaliar a influência do tratamento com TCZ na cicatrização de úlceras traumáticas orais (UTO) em ratas. Para isso, foram utilizadas 72 ratas Wistar fêmeas, divididas em dois grupos experimentais: um tratado com solução salina (SAL, 0,1ml/kg) e outro com tocilizumabe (TCZ, 8mg/kg) via intraperitoneal, administrado 30 minutos antes da indução das UTO em mucosa jugal esquerda. A eutanásia ocorreu após 3, 7, 14 e 21 dias, as ratas foram submetidas a análise de escalas de Grimace nos primeiros 14 dias e no dia de eutanásia coletou-se sangue para contagem de leucócitos e mucosa jugal esquerda para análise clínica e histológica. A análise estatística utilizou os testes ANOVA 2-way/Bonferroni e Shapiro-Wilk (GraphPad Prism 6.0 para Windows, $p < 0,05$). Os grupos SAL e TCZ iniciaram com a mesma área de úlcera em D3 ($p = 0,777$), com redução significativa em ambos a partir de D7 ($p < 0,001$). Em D7, a área de úlcera foi maior no grupo TCZ ($p = 0,013$). O grupo SAL teve aumento de massa corporal a partir de D14 ($p < 0,001$) e TCZ a partir de D21 ($p = 0,001$). O tratamento com TCZ resultou em uma menor contagem de leucócitos em D7 ($p = 0,010$). O grupo SAL apresentou redução do escore histológico em D7 ($p < 0,001$), e TCZ em D14 ($p < 0,001$) e as escalas de Grimace apresentaram-se significativamente elevadas no grupo TCZ ($p = 0,025$). Os grupos SAL e TCZ apresentaram maior contagem de PMN e MN no grupo SAL em D3 (PMN: $p = 0,008$; MN: $p = 0,044$) e de PMN também em D7 ($p = 0,018$), sem diferenças nos demais períodos. A contagem de fibroblastos foi maior no grupo SAL em D7 ($p = 0,005$), com aumento significativo em ambos (SAL: $p < 0,001$; TCZ: $p = 0,008$). Em D3, observou-se menor expressão de TNF- α no grupo TCZ ($p = 0,029$). Em D7, os animais tratados apresentaram menores níveis de IL-1 β ($p = 0,025$), IL-6 ($p < 0,001$), iNOS ($p = 0,013$), α -AML ($p = 0,014$) e TGF- β ($p = 0,003$). Além disso, o TGF- β permaneceu reduzido em D14 ($p = 0,026$), tornando-se superior ao grupo salina em D21 ($p = 0,017$). Portanto, conclui-se que a inibição do receptor de IL-6 pelo TCZ teve um efeito negativo na cicatrização de UTO em ratas.

Palavras-chave: Receptores de Interleucina-6; Anticorpos Monoclonais; Úlceras orais; Interleucina-6; Cicatrização.

ABSTRACT

Oral ulcers are lesions characterized by the loss of epithelial integrity and exposure of the underlying connective tissue, and their healing process involves a cascade of well-structured events and phases, such as the inflammatory phase. In this context, interleukin-6 (IL-6) stands out as an important inflammatory mediator, and its signaling is inhibited through the use of tocilizumab (TCZ), a monoclonal antibody that blocks IL-6 receptors (IL-6R). The aim of this study was to evaluate the influence of TCZ treatment on the healing of oral traumatic ulcers (OTU) in female rats. For this purpose, 72 female Wistar rats were used and divided into two experimental groups: one treated with saline solution (SAL, 0.1 mL/kg) and the other with tocilizumab (TCZ, 8 mg/kg) via intraperitoneal administration, administered 30 minutes before OTU induction in the left buccal mucosa. Euthanasia was performed after 3, 7, 14, and 21 days. The rats were subjected to Grimace scale analysis during the first 14 days, and on the day of euthanasia, blood was collected for leukocyte counting and the left buccal mucosa for clinical and histological analyses. Statistical analysis was performed using two-way ANOVA/Bonferroni and Shapiro–Wilk tests (GraphPad Prism 6.0 for Windows, $p < 0.05$). The SAL and TCZ groups started with the same ulcer area on D3 ($p = 0.777$), with a significant reduction in both groups from D7 onward ($p < 0.001$). On D7, the ulcer area was larger in the TCZ group ($p = 0.013$). The SAL group showed an increase in body mass from D14 onward ($p < 0.001$), whereas the TCZ group showed this increase only from D21 ($p = 0.001$). TCZ treatment resulted in a lower leukocyte count on D7 ($p = 0.010$). The SAL group showed a reduction in histological score on D7 ($p < 0.001$), whereas the TCZ group showed this reduction on D14 ($p < 0.001$), and Grimace scale scores were significantly higher in the TCZ group ($p = 0.025$). The SAL and TCZ groups showed higher PMN and MN counts in the SAL group on D3 (PMN: $p = 0.008$; MN: $p = 0.044$), and higher PMN counts also on D7 ($p = 0.018$), with no differences during the remaining periods. Fibroblast counts were higher in the SAL group on D7 ($p = 0.005$), with a significant increase in both groups (SAL: $p < 0.001$; TCZ: $p = 0.008$). On D3, lower TNF- α expression was observed in the TCZ group ($p = 0.029$). On D7, treated animals presented lower levels of IL-1 β ($p = 0.025$), IL-6 ($p < 0.001$), iNOS ($p = 0.013$), α -SMA ($p = 0.014$), and TGF- β ($p = 0.003$). Furthermore, TGF- β remained reduced on D14 ($p = 0.026$), becoming higher than the saline group on D21 ($p = 0.017$). Therefore, it was concluded that inhibition of the IL-6 receptor by TCZ had a negative effect on OTU healing in female rats.

Keywords: Interleukin-6 Receptors; Monoclonal Antibodies; Oral Ulcers; Interleukin-6; Wound Healing.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Modelo de análise das escalas de Grimace para avaliação dos níveis de dor/sofrimento em animais em experimentação	22
Figura 2 – Perfil histológico em ratos submetidos a ulceração em mucosa jugal e tratados ou não com tocilizumabe	28
Figura 3 – Perfil de imunexpressão para TNF- α em ratos submetidos a ulceração em mucosa jugal e tratados ou não com tocilizumabe	28
Figura 4 – Perfil de imunexpressão para IL-6 em ratos submetidos a ulceração em mucosa jugal e tratados ou não com tocilizumabe	30
Figura 5 – Perfil de imunexpressão para IL-1 β em ratos submetidos a ulceração em mucosa jugal e tratados ou não com tocilizumabe	30
Figura 6 – Perfil de imunexpressão para iNOS em ratos submetidos a ulceração em mucosa jugal e tratados ou não com tocilizumabe	31
Figura 7 – Perfil de imunexpressão para α -AML em ratos submetidos a ulceração em mucosa jugal e tratados ou não com tocilizumabe	31
Figura 8 – Perfil de imunexpressão para TGF- β em ratos submetidos a ulceração em mucosa jugal e tratados ou não com tocilizumabe	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros clínicos e escores histológicos em ratos submetidos a ulceração em mucosa jugal e tratados ou não com tocilizumabe	26
Tabela 2 – Escores de Grimace em ratos submetidos a ulceração em mucosa jugal e tratados ou não com tocilizumabe	27
Tabela 3 – Parâmetros histológicos em ratos submetidos a ulceração em mucosa jugal e tratados ou não com tocilizumabe	29
Tabela 4 – Parâmetros imuno-histoquímicos em ratos submetidos a ulceração em mucosa jugal e tratados ou não com tocilizumabe	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA – *Analysis of Variance* (Análise de Variância)

COBEA – Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

DAB - 3,3'-diaminobenzidina

IL-1 β – Interleucina um beta

IL-6 – Interleucina seis

IL-6R – Receptor de interleucina seis

iNOS – Óxido nítrico sintase induzida

MN – Mononucleares

PMN – Polimorfonucleares

SAL – Salina

TCZ – Tocilizumabe

TGF- β – Fator de crescimento tecidual beta

TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa

UTO – Úlceras traumáticas orais

α -AML – Alfa-actina de músculo liso

UNICHRISTUS – Universidade Christus

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2 OBJETIVOS.....	16
2.1 Objetivo geral.....	16
2.2 Objetivos específicos.....	16
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
3.1 Inflamação aguda e Interleucina 6 (IL-6).....	17
3.2 Tocilizumabe.....	19
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
4.1 Abordagem ética, cálculo do tamanho da amostra e grupos experimentais.....	21
4.2 Confeção da úlcera traumática oral.....	21
4.3 Análise de escores de sofrimento.....	22
4.4 Processamento histológico e análise histomorfométrica.....	23
4.5 Técnica de micro array de tecidos e ensaio imuno-histoquímico.....	23
4.6 Análise sanguínea.....	24
4.7 Análise estatística.....	24
5 RESULTADOS.....	26
6 DISCUSSÃO.....	34
7 CONCLUSÃO.....	36
REFERÊNCIAS.....	37
ANEXOS.....	41

1. INTRODUÇÃO

As úlceras orais são caracterizadas por injúrias na mucosa oral que envolvem perda de integridade do epitélio e comprometimento dos tecidos subjacentes, e constituem lesões frequentes na prática clínica odontológica. Essas lesões podem resultar de agentes físicos, como traumas mecânicos, e desencadeiam uma resposta inflamatória local com o objetivo de promover a reparação tecidual (Landén; Ståhle, 2016; Etienne *et al.*, 2021).

O processo de cicatrização das úlceras envolve uma sequência organizada de eventos celulares e moleculares, tradicionalmente divididos nas fases inflamatória, proliferativa e de remodelação. A fase inflamatória inicial é essencial para a remoção de debris celulares e controle de agentes agressores, sendo mediada por diversas citocinas pró-inflamatórias, dentre as quais se destaca a interleucina-6 (IL-6), que desempenha papel central na modulação da resposta imune e na ativação de células envolvidas na reparação tecidual (Oliveira *et al.*, 2011; Albiger *et al.*, 2007; Su *et al.*, 2017).

A IL-6 é uma citocina pleiotrópica que atua tanto na amplificação da resposta inflamatória quanto na regulação de processos como hematopoese, ativação leucocitária e indução de proteínas de fase aguda. Além disso, sua participação na migração celular, angiogênese e reepitelização evidencia sua importância no adequado andamento da cicatrização. Dessa forma, alterações na sua sinalização podem impactar diretamente a progressão das fases cicatriciais (Cohen *et al.*, 1996; Hentschke *et al.*, 2014; Schaper; Rose-John, 2015).

Sob essa óptica, o tocilizumabe, que consiste em um anticorpo monoclonal humanizado do subtipo IgG1, derivado do anticorpo murino PM-1, utilizado para o tratamento de artrite reumatoide (AR) e que age inibindo a ligação da IL-6 aos seus receptores, e que atua como antagonista dos receptores de IL-6, tem sido amplamente utilizado no tratamento de doenças inflamatórias crônicas, como a artrite reumatoide. Seu mecanismo de ação baseia-se na inibição da ligação da IL-6 aos seus receptores, bloqueando suas vias de sinalização e, conseqüentemente, modulando a resposta inflamatória sistêmica e local (Nunes; Mesquita, 2015; Buss *et al.*, 2012).

Apesar de seus benefícios terapêuticos em condições inflamatórias, evidências sugerem que a inibição da IL-6 pode interferir negativamente no processo de cicatrização tecidual, visto que compromete eventos fundamentais da fase inflamatória e subsequentes etapas reparativas. Estudos experimentais indicam que o uso de anticorpos monoclonais pode

retardar a migração celular, a formação de tecido de granulação e a deposição de colágeno, fatores essenciais para a reparação adequada de lesões (Freitas *et al.*, 2022; Rodrigues *et al.*, 2020; Landén; Ståhle, 2016).

Dessa forma, sabendo do amplo uso do tocilizumabe no tratamento de doenças imuno-mediadas, além de outros anticorpos monoclonais, bem como dos efeitos adversos gerados por esses medicamentos, como o retardo do processo cicatricial, é relevante investigar os efeitos do bloqueio do receptor de IL-6 sobre a cicatrização de alterações orais em tecidos moles, como úlceras, que são lesões comumente encontradas na rotina odontológica, o que pode fornecer importante suporte para condutas clínicas, tanto profiláticas quanto terapêuticas, em pacientes que fazem uso desse medicamento. Assim, o presente estudo tem como objetivo avaliar a influência do tratamento com tocilizumabe na cicatrização de úlceras traumáticas orais em mucosa jugal de ratas, buscando contribuir para a compreensão dos impactos desse fármaco no reparo tecidual e suas possíveis implicações clínicas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a influência do tratamento com tocilizumabe na cicatrização de úlceras traumáticas orais em mucosa jugal de ratas.

2.2 Objetivos específicos

Avaliar clinicamente a influência do tratamento com tocilizumabe na cicatrização de úlceras traumáticas orais em mucosa jugal de ratas.

Avaliar a influência do tratamento com tocilizumabe no ganho de massa corporal e sinais de sofrimento durante a cicatrização de úlceras traumáticas orais em mucosa jugal de ratas.

Avaliar a influência do tratamento com tocilizumabe no perfil histomorfométrico e imuno-histoquímico, para expressão TNF- α , IL-1 β , IL-6, iNOS, TGF- β e α -AML, de úlceras traumáticas orais em mucosa jugal de ratas.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Inflamação aguda e Interleucina 6 (IL-6)

A inflamação pode ser definida como a resposta de um tecido vivo vascularizado a uma agressão ao organismo para que esta seja combatida, visando ao reparo do tecido atingido. Sendo assim, essa resposta pode ser provocada por agentes físicos, por agentes químicos, reações de hipersensibilidade, pela presença de tecido necrótico e infecções microbianas (Etienne *et al.*, 2021; Lima, *et al.*, 2007). A reação da parede dos vasos e das células do sistema imunológico ao fator agressor caracterizam o processo inflamatório e são responsáveis por produzir fatores que, junto a proteínas circulantes no plasma, medeiam os efeitos da inflamação (Etienne *et al.*, 2021; Williams *et al.*, 1983).

Rapidamente após o estímulo, inicia-se a fase aguda do processo inflamatório, que pode induzir respostas tanto locais como sistêmicas, com a produção e ativação de potentes substâncias, como as proteínas de fase aguda, e na qual há a predominância de atuação das células inflamatórias da imunidade inata, como os leucócitos polimorfonucleares. Ademais, a fase aguda da inflamação está ligada a outros acontecimentos como a dilatação vascular, alterações estruturais na parede dos vasos, permitindo a passagem de proteínas plasmática e leucócitos da circulação para o interstício (Gilroy *et al.*, 2004; Sibille e Reynolds, 1990; Sampson, 2000; Broche e Tellado, 2001; Boyton e Openshaw, 2002).

Dentre as substâncias produzidas durante o processo inflamatório, estão as citocinas, que são proteínas sintetizadas por praticamente todas as células do sistema imunológico, principalmente pelos linfócitos T CD4+. As citocinas influenciam na intensidade, na direção e no resultado de uma série de mecanismos efetores da resposta inflamatória. Outrossim, algumas citocinas possuem funções efetoras diretas e servem como mensageiros químicos no sistema imunológico, além de também se comunicarem com células em outros sistemas como o sistema nervoso. Essas proteínas de baixo peso molecular podem atuar promovendo a inflamação, pró-inflamatórias, ou reduzindo e limitando a inflamação, anti-inflamatórias, (Oliveira *et al.*, 2011; Etienne *et al.*, 2021).

Durante a etapa aguda do processo inflamatório há predominância de diversas citocinas pró-inflamatórias, produzidas em grande parte por fagócitos, em especial o Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α), Interleucina 1 beta (IL-1 β) e a Interleucina-6 (IL-6), sendo estas as principais responsáveis por desencadear a resposta de fase aguda (Oliveira *et al.*, 2011; Albiger *et al.*, 2007; Su *et al.*, 2017).

A IL-6 é uma citocina que tem grande relevância durante a fase aguda

estimulando a inflamação, mas pode também atuar como citocina anti-inflamatória em outros momentos do processo. Dentre suas funções estão promover a indução do fator de crescimento endotelial vascular, aumentando a permeabilidade vascular e a dilatação dos vasos, facilitando a diapedese e passagem de líquido plasmático contendo proteínas, o que pode gerar edema no local da inflamação, a produção de proteínas da fase aguda pelos hepatócitos, como a proteína C reativa, estimular a hematopoese, especialmente a síntese de neutrófilos na inflamação aguda, além de também estimular a ativação desses polimorfonucleares e de possuir papel indireto na migração destes leucócitos para o local da lesão, a diferenciação dos linfócitos B em plasmócitos, a transformação de linfócitos T primitivos em linfócitos T efetores, além disso, à nível sistêmico, é um importante mediador da febre, pois tem capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica e alterar o valor nominal da temperatura corpórea (Oliveira *et al.*, 2011; Cohen *et al.*, 1996; (Takai *et al.*, 1988; Okada *et al.*, 1988; Moura *et al.*, 2001).

Para que suas sinalizações intracelulares sejam realizadas, a IL-6 necessita de diferentes vias: o mIL-6R, receptor que está expresso na membrana plasmática de algumas células específicas (ex.: hepatócitos), e o receptor solúvel IL-6sR, encontrado em fluidos corporais. Este último, ao unir-se a IL-6, forma um complexo que se acopla a gp130, proteína que está presente na membrana plasmática de células e pertence à classe dos receptores de citocinas, que realiza a transdução do sinal para o interior da célula, assim, caracterizando a via de trans-sinalização. No que tange aos diferentes receptores, cerca de 70% da IL-6 circulante está ligada ao receptor solúvel e os outros 30% encontram-se ligados ao receptor de membrana (Hentschke *et al.*, 2014).

Os receptores também se diferem no referente às funções que desempenham: o mIL-6R possui um caráter mais anti-inflamatório, à medida que o IL-6sR tem um caráter pró-inflamatório, além de estar ligado com o crescimento da meia-vida da IL6, pois funciona como um transportador, assim, intensificando a sinalização dessa interleucina e, conseqüentemente, seus efeitos (Hentschke *et al.*, 2014; Schaper e Rose-John, 2015).

Assim como o receptor de IL-6, a gp130 também possui sua forma solúvel, a sgp130, que pode atuar como antagonista dos efeitos da IL-6, pois, ao ligar-se ao complexo solúvel IL-6\IL-6sR, o impede de se acoplar a gp130 na membrana plasmática celular. Dessa maneira, regula negativamente o sinal da ação da IL-6 (Hentschke *et al.*, 2014).

3.2 Tocilizumabe

Os anticorpos monoclonais (mAbs) são imunoglobulinas produzidas contra um antígeno específico e possuem um sítio de ligação para o antígeno e outro para os receptores das células inflamatórias que têm diversas possibilidades de aplicações. Esses anticorpos possuem variadas funções, podendo ser usados tanto em kits de exames de diagnóstico como em funções terapêuticas para tratamento de doenças como osteoporose, leucemia, doenças autoimunes, câncer de mama, entre outros (Santos *et al.*, 2006; Lu *et al.*, 2020; Buss *et al.*, 2012).

No ano de 1975, ocorreu a produção do primeiro anticorpo monoclonal e, desde então, surgiram várias técnicas de produção desses anticorpos para tentar aprimorá-los, como o desenvolvimento dos anticorpos humanizados, anticorpos provenientes de espécies não humanas e que tiveram sequências de proteínas alteradas para aproximar sua semelhança com os anticorpos humanos, e quiméricos e mAbs humanos. Visto que, os anticorpos monoclonais murinos e os anticorpos humanos possuem diferenças, havendo alguns relatos de reações de hipersensibilidade associadas ao seu uso (Buss *et al.*, 2012).

O tocilizumabe é um anticorpo monoclonal humanizado do subtipo IgG1, derivado do anticorpo murino PM-1, utilizado para o tratamento de artrite reumatoide (AR) e que age inibindo a ligação da IL-6 aos seus receptores. Esse medicamento foi desenvolvido por uma parceria entre a companhia farmacêutica japonesa Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., com a Roche, podendo ser administrado via intravenosa ou subcutânea, e teve seu uso aprovado, pela primeira vez, para o tratamento da doença de Castleman, em 2005, no Japão (Nunes e Mesquita, 2015).

Em abril de 2008, outras indicações, como artrite reumatoide, artrite idiopática juvenil, incluindo a forma sistêmica da doença, também foram aprovadas no Japão. Posteriormente, em janeiro de 2009, teve seu uso aprovado na União Europeia para o tratamento de pacientes com artrite reumatoide que apresentavam uma resposta inadequada ou intolerância às terapias prévias com drogas antirreumáticas modificadoras da doença ou inibidores do TNF- α (Nunes e Mesquita, 2015).

Sob essa perspectiva, a supressão da atividade da interleucina-6 no organismo pode acarretar benefícios no tratamento de estados inflamatórios e hiper inflamatórios, como sugere o ensaio RECOVERY, ensaio clínico no qual adultos hospitalizados com infecção grave por COVID-19 no Reino Unido houve redução da mortalidade e da proporção de pacientes que evoluíram para ventilação mecânica (Recovery Collaborative Group, 2021).

Dessarte, com a inibição da ligação da IL-6 com seus receptores, ocorre um bloqueio das funções biológicas dessa citocina no organismo, incluindo as responsáveis por gerar os efeitos característicos da fase aguda da inflamação. Recentemente, Freitas *et al.*, 2022 demonstrou que o bloqueio do TNF- α interfere negativamente na cicatrização tecidual de úlceras orais em ratos, deprimindo a migração de células inflamatórias e da colagênese, resultado semelhante ao descrito por Rodrigues *et al.*, 2020 avaliando ratos submetidos a exodontia e tratados com diferentes doses de tocilizumabe. Dessa forma, visto que o tratamento com tocilizumabe apresenta grande possibilidade de uso no tratamento de doenças autoimunes e sabendo que ele, bem como outros anticorpos monoclonais, retardam a cicatrização óssea e dos tecidos conjuntivos, é objetivo deste estudo avaliar a influência do tratamento com tocilizumabe na cicatrização de úlceras traumáticas orais em mucosa jugal de ratas.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Abordagem ética, cálculo do tamanho da amostra e grupos experimentais

Este estudo foi submetido e aprovado pela Comissão Ética no Uso de Animais da Unichristus, tendo sido iniciado apenas após aprovação. Todos os experimentos foram realizados de acordo com os Princípios Éticos para Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) com protocolo 11/23 (ANEXO).

A fim de estimar a amostra necessária nos baseamos no estudo de Rodrigues *et al.* (2020) que observou que o tratamento com tocilizumabe altera significativamente a osteoclastogênese em ratos submetidos a exodontia em comparação a animais não submetidos ($4,5 \pm 4,8$ vs. $11,0 \pm 4,5$) estima-se necessário avaliar nove ratas por grupo a fim de obter uma amostra que represente com 80% de poder e 95% de confiança a hipótese alternativa deste estudo (teste t de Student).

Assim, ratas Wistar fêmeas foram divididas aleatoriamente em dois grupos experimentais: um grupo tratado com solução salina (0,1 ml / kg) e um grupo tratado com tocilizumabe 8mg/kg (Rodrigues *et al.*, 2020) por via intraperitoneal e os subgrupos experimentais foram distribuídos por dias de eutanásia, perfazendo um total de 72 animais. A administração foi feita 30 minutos antes da confecção da úlcera traumática.

4.2 Confecção da úlcera traumática oral

Trinta minutos após a administração do tocilizumabe ou solução salina foi realizada antisepsia da mucosa oral foi realizada usando pelotas de algodão embebidas em digluconato de clorexidina a 0,12%. A mucosa bucal esquerda foi ulcerada utilizando um punch de 6 mm de diâmetro e 1mm de profundidade e o fragmento de tecido mole foi removido com um bisturi e lâmina no 15 (Rodrigues *et al.*, 2020).

Os animais foram pesados no dia zero (peso inicial) e nos dias de eutanásia (3, 7, 14 e 21 dias) (peso final) da ulceração e após a eutanásia as úlceras foram medidas usando um paquímetro digital de precisão de 0,05 mm ($D =$ maior diâmetro; $d =$ diâmetro menor) e os tamanhos das áreas ulceradas foram expressos usando a seguinte fórmula: $A = \pi \cdot D \cdot d / 4$ (mm²) (Brizeno *et al.*, 2016). A massa corporal foi avaliada de acordo com a seguinte fórmula: peso final / peso inicial * 100 (%).

4.3 Análise de escores de sofrimento

Os animais eutanasiados após 21 dias foram submetidos a análise comportamental. Os animais foram acondicionados individualmente em sala escura com luz vermelha em caixa de polipropileno para armazenamento de camundongos.

Nos mesmos períodos, os animais foram pesados para avaliação da variação de massa corpórea e será aplicada a escala de Grimace para avaliação de dor e sofrimento. A escala de Grimace estabelece níveis de dor e desconforto em animais de experimentação dando escores que variam de 0 (nenhuma dor/sofrimento) a 1 (dor/sofrimento leve) e 2 (dor/sofrimento acentuado) para os seguintes parâmetros:

- Posição dos olhos: classifica como 0 olhos bem abertos, 1 olhos meio fechados e, 2 olhos bastante fechados e lacrimejantes;
- Posição do nariz: classifica como 0 nariz ereto, 1 nariz discretamente arqueado para superfície plana e, 2 nariz bastante arqueado para a superfície plana;
- Posição das bochechas: classifica como 0 bochechas retilíneas sem interferir na órbita, 1 bochechas discretamente edemaciadas influenciando moderadamente na órbita e, 2 bochechas edemaciadas interferindo diretamente na órbita e no fechamento ocular;
- Posição das orelhas: classifica como 0 orelhas eretas, 1 orelhas discretamente arqueadas e, 2 orelhas totalmente arqueadas e em direção caudal;
- Posição das vibrissas: classifica como 0 vibrissas homogêneas, 1 vibrissas discretamente espaçadas e 2 vibrissas bem espaçadas com aumento do edema da bochecha.



Figura 1: Modelo de análise das escalas de Grimace para avaliação dos níveis de dor/sofrimento em animais em experimentação. Fonte: Portal Nacional Centre for the Replacement Refinement & Reduction of Animals in Research. Disponível em: Acesso em: 16 de fevereiro de 2026.

Após avaliação, os escores foram somados para obtenção de média e construção da unidade amostral.

4.4 Processamento histológico e análise histomorfométrica

As amostras de mucosa jugal coletadas após 3, 7, 14 e 21 dias após a ulceração foram fixadas em formalina neutra a 10% por 24 h, desidratadas em séries alcoólicas graduadas, diafanizadas em xilol e impregnadas com parafina. As amostras foram cortadas em lâminas de vidro com 3 µm de espessura para serem coradas com hematoxilina e eosina (HE).

As seções foram analisadas usando um microscópio óptico (BX43, Olympus® com o software Olympus Soft Imaging LCMicro software e exportado para o ImageJ®), e foram descritas as características histológicas das úlceras e as correspondentes fases de cicatrização, pontuados em uma escala de 0 a 4, como segue: (0) ausência de úlcera / tecido conjuntivo remodelado (fibras de colágeno maduras, homogêneas e paralelas); (1) ausência de úlcera / fibrose (deposição notável e difusa das fibras de colágeno), com inflamação crônica leve; (2) úlcera / fibrose, com inflamação crônica moderada; (3) úlcera / inflamação crônica (tecido de granulação); (4) úlcera / processo agudo (vasos dilatados e infiltrado inflamatório misto contendo neutrófilos) (Brizeno *et al.*, 2016).

Para avaliar a infiltração de neutrófilos polimorfonucleares e células mononucleares, cinco campos das áreas ulceradas de cada amostra (coloração HE) foram fotografados com uma câmera (U-TV0.63XC, Olympus®) acoplada ao microscópio, as seções foram analisadas usando um microscópio óptico (BX43, Olympus® com o software Olympus Soft Imaging LCMicro software utilizando ampliação 400 × e exportado para o ImageJ®). Dentro de cada campo, foram escolhidos 5 campos microscópicos para contagens do número de neutrófilos polimorfonucleares (células com núcleo segmentado e multilobular), células mononucleares, fibroblastos e vasos. A soma de células em 5 campos microscópicos será a unidade amostral (Brizeno *et al.*, 2016).

4.5 Técnica de micro array de tecidos e ensaio imuno-histoquímico

Todas as lâminas microscópicas foram analisadas e uma área circunferencial representativa de 2 mm de diâmetro cada (3,14 mm²) de cada amostra e foi demarcada para a técnica Tissue Micro Array. Os blocos de parafina foram perfurados na área demarcada utilizando um Tissue Microarrayer (Quick-Ray UNITMA®) e foram transferidos para um bloco receptor de parafina contendo 70 cavidades circulares do mesmo diâmetro (2mm). Assim, os blocos de receptores de parafina contendo as áreas de interesse das mucosas jugais

foram cortados em seções de 3 µm de espessura para serem colocadas em lâminas silanizadas. As amostras foram desparafinizadas, reidratadas e submetidas a recuperação de antígeno usando um tampão de citrato (pH 6,0). Para inativar a peroxidase endógena, as amostras foram incubadas (30 min) com H₂O₂ a 3% em solução tampão de fosfato (PBS), lavadas em PBS e incubadas durante a noite com anticorpos primários direcionados contra TNF- α (1:150, monoclonal, Abcam®), IL-1 (1:200, monoclonal, Thermofisher®), IL-6 (1:100 Abcam®), iNOS (1:200 Thermofisher®), TGF- β (1:300 ABclonal®) e α -AML (pronto para uso Dako®).

Após incubação com o anticorpo primário por tempo determinado por testes pilotos, as lâminas foram lavadas (PBS) e incubadas com sistema Envision (Dako®) por 30 minutos e, após lavagem, a revelação foi realizada por meio de incubação com 3,3'-Diamino-benzidina (DAB) (Abcam®) e a contracoloração com hematoxilina de Harris 7% por 10 segundos. Após coloração e contracoloração, as lâminas foram lavadas em água corrente, desidratadas, diafanizadas e montadas com Entellam®21. Seções paralelas de controle negativo foram tratadas com diluente de anticorpo em vez de um Ab primário.

Para análise das imunomarcações, as lâminas foram scaneadas por meio de um scanner de lâminas (Motic DSAssistant(Motic VM V1 Viewer 2.0®) e as fotomicrografias foram exportadas para o software QuPath® para contagem do número de células imuno-positivas.

4.6 Análise sanguínea

Após anestesia com xilazina (10mg/kg) e quetamina (90mg/kg), foi coletado 2mL de sangue pelo plexo retro-orbital para análise hematológica e imediatamente armazenado em eppendorfs, contendo 0,2mL de solução 1% de ácido etileno-dimanino tetra-acético (EDTA) dissolvido em solução salina estéril 0,9%. Posteriormente, sobredose de xilazina (30mg/kg) e quetamina (240mg/kg) foi adicionalmente administrada para eutanásia.

Para contagem total de leucócitos foi manipulado individualmente de cada animal, 20µl de sangue juntamente com 380µl da solução de Turk, colocados em eppendorfs e submetidos ao vórtex. Posteriormente, o resultante foi colocado em uma câmara de Neubauer e contabilizado os leucócitos totais presentes nos quadrantes das extremidades da câmara (Goes *et al.*, 2014).

4.7 Análise estatística

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk, expressos em forma de média e erro-padrão da média e comparados por meio dos testes ANOVA-2-way seguido dos pós teste de Bonferroni (GraphPad Prism 6.0 para Windows, $p < 0,05$).

5 RESULTADOS

Os grupos SAL e TCZ iniciaram em D3 com a mesma área de úlcera ($p=0,777$) e mostraram redução significativa a partir de D7 ($p<0,001$). Porém, em D7 a área de úlcera foi significativamente maior no grupo TCZ comparado ao grupo SAL ($p=0,013$). Nos demais dias não houve diferença significativa entre os grupos (Tabela 1).

Tabela 1: Parâmetros clínicos e escores histológicos em ratos submetidos a ulceração em mucosa jugal e tratados ou não com tocilizumabe.

	Tempo (dias)				p-Valor
	3	7	14	21	
Área da úlcera (mm²)					
Salina	16.68±1.19 ^{Aa}	1.43±1.00 ^{Ab}	0.00±0.00 ^{Ac}	0.00±0.00 ^{Ac}	<0.001
TCZ	17.41±2.19 ^{Aa}	6.17±1.27 ^{Bb}	0.09±0.09 ^{Ac}	0.00±0.00 ^{Ac}	<0.001
p-Valor	0.777	0.013	1.000	1.000	
Varição de peso (%)					
Salina	97.36±0.75 ^{Aa}	102.30±0.50 ^{Aa}	103.30±1.19 ^{Ab}	108.10±1.85 ^{Ab}	<0.001
TCZ	98.75±0.40 ^{Aa}	97.22±1.93 ^{Ba}	104.20±0.82 ^{Aa}	109.60±2.96 ^{Ab}	0.001
p-Valor	0.121	0.030	0.518	0.710	
Leucograma (células/ml)					
Salina	4900±917 ^{Aa}	7156±930 ^{Ab}	4193±681 ^{Aa}	3864±657 ^{Aa}	0.025
TCZ	4392±820 ^{Aa}	3290±440 ^{Ba}	3569±895 ^{Aa}	3839±943 ^{Aa}	0.874
p-Valor	0.689	0.010	0.597	0.984	
Escores histológicos (0-4)					
Salina	3.5(3-4) ^{Aa}	2(1-3) ^{Ab}	1(0-1) ^{Ab}	0(0-1) ^{Ab}	<0.001
TCZ	4(3-4) ^{Aa}	3(1-3) ^{Aa}	0.5(0-3) ^{Ab}	0.5(0-3) ^{Ab}	<0.001
p-Valor	0.640	0.142	0.696	0.163	

* $p<0,05$, teste ANOVA-2-way/Bonferroni (média±EPM) ou Kruskal-Wallis/Dunn e Mann-Whitney [Mediana (Mínimo – máximo)]. Letras maiúsculas diferentes = diferença significativa entre os grupos; Letras minúsculas diferentes = diferença significativa entre os períodos de avaliação.

Da mesma forma, a variação de massa corporal iniciou negativa em ambos os grupos sem diferença estatística ($p=0,121$) em D3, mas em D7 o grupo TCZ apresentou menor área de úlcera comparado ao SAL ($p=0,030$). Em D14 ($p=0,518$) e D21 ($p=0,710$) não houve diferença entre os grupos. O grupo salina apresentou aumento da massa corporal a partir de D14 ($p<0,001$) e o grupo TCZ a partir de D21 ($p=0,001$) (Tabela 1).

A contagem total de leucócitos foi semelhante em D3 ($p=0,689$) nos dois grupos de estudo, mas em D7 o grupo TCZ apresentou menor leucograma médio comparado ao SAL

($p=0,010$). Em D14 ($p=0,597$) e D21 ($p=0,984$) não houve diferença entre os grupos. O aumento da contagem de leucócitos ao longo do experimento ocorreu apenas no grupo SAL em D7 retornando aos níveis basais logo em D14 ($p=0,025$). A contagem de leucócitos não variou significativamente no grupo TCZ ($p=0,874$) (Tabela 1).

Não houve diferença significativa nos escores histológicos da úlcera dos animais em nenhum dos quatro dias de experimento. A maior parte dos animais começou o estudo com escore 4, porém enquanto o grupo salina apresentou redução significativa para 2 já a partir de D7 ($p<0,001$) o grupo TCZ apresentou redução significativa apenas em D14 ($p<0,001$) para uma mediana de 0,5 (Tabela 1).

Com relação à análise comportamental, os escores de Grimace foram discretamente maiores no grupo TCZ em D1 mas não diferiram significativamente entre os grupos em nenhum dos dias avaliados. Em ambos os grupos houve redução significativa a partir de D3 ($p<0,001$), mas a área sob a curva média de comportamento de cada animal foi significativamente maior no grupo TCZ ($p=0,025$), indicando um pior padrão comportamental (Tabela 2).

Tabela 2: Escores de Grimace em ratos submetidos a ulceração em mucosa jugal e tratados ou não com tocilizumabe.

	Tempo (Dias)								p	AUC
	1	2	3	4	5	6	7	8-14		
Grimace										
Salina	0.29±0.18 ^{Aa}	0.29±0.18 ^{Aa}	0.14±0.14 ^{Ab}	0.00±0.00 ^{Ab}	0.00±0.00 ^{Ab}	0.00±0.00 ^{Ab}	0.00±0.00 ^{Ab}	0.00±0.00 ^{Ab}	<0.001	0.25±0.25
TCZ	0.75±0.25 ^{Aa}	0.25±0.16 ^{Aa}	0.13±0.13 ^{Ab}	0.00±0.00 ^{Ab}	0.00±0.00 ^{Ab}	0.00±0.00 ^{Ab}	0.25±0.16 ^{Ab}	0.00±0.00 ^{Ab}	<0.001	1.08±0.37
p-Valor	0.170	0.870	0.959	1.000	1.000	1.000	0.972	1.000		0.025

* $p<0,05$, Friedman/Dunn ou Mann-Whitney (média±EPM). Letras maiúsculas diferentes = diferença significativa entre os grupos; Letras minúsculas diferentes = diferença significativa entre os períodos de avaliação.

Quanto aos parâmetros histológicos, a contagem de PMN foi significativamente maior no grupo SAL em D3 ($p=0,008$) e em D7 ($p=0,018$) quando comparado ao grupo TCZ. Em D14 ($p=0,359$) e D21 ($p=0,841$) não houve diferença entre os grupos. O grupo SAL apresentou redução significativa de PMN a partir de D14 ($p<0,001$) ao longo dos dias do estudo, enquanto o grupo TCZ apresentou redução significativa já em D7 ($p=0,003$). A contagem de células mononucleares (MN) foi maior no grupo SAL em D3 ($p=0,044$), sem diferença entre os grupos em D7 ($p=0,741$), D14 ($p=0,698$) e D21 ($p=0,510$). Observou-se

redução significativa ao longo dos dias no grupo SAL ($p=0,002$), enquanto no grupo TCZ não houve variação significativa ($p=0,083$) (Tabela 3).

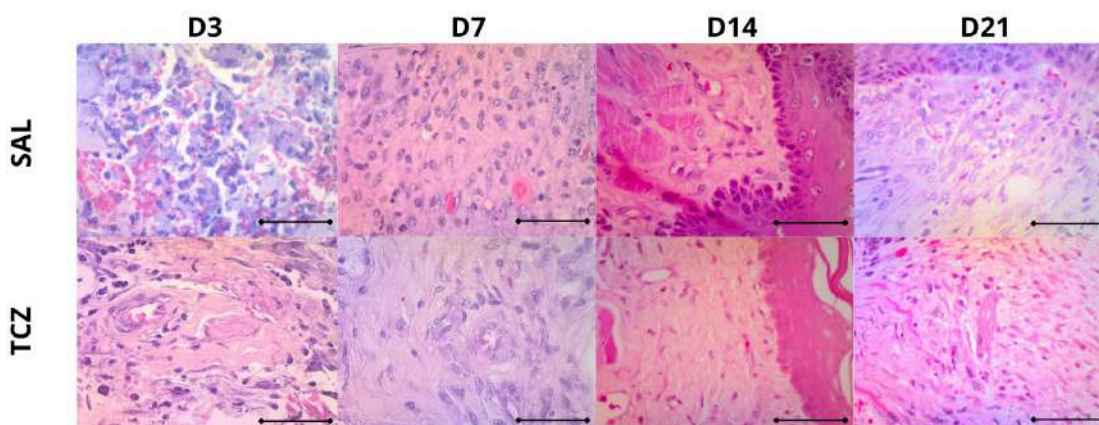


Figura 2: Perfil histológico em ratos submetidos a ulceração em mucosa jugal e tratados ou não com tocilizumabe. Coloração com Hematoxilina-eosina; microscopia óptica; ampliação = 400x; barra preta: 50 μ m.

Com relação aos fibroblastos/miofibroblastos, não houve diferença entre os grupos em D3 ($p=0,1852$), D14 ($p=0,789$) e D21 ($p=0,860$), porém em D7 o grupo SAL apresentou maior contagem celular comparado ao TCZ ($p=0,005$). Ao longo dos períodos experimentais, ambos os grupos apresentaram variação significativa (SAL: $p<0,001$; TCZ: $p=0,008$), com aumento expressivo em D7 no grupo SAL e aumento mais discreto e tardio no grupo TCZ. Em se tratando do número de vasos, não houve diferença significativa entre os grupos em nenhum dos períodos avaliados, nem variação significativa no decorrer dos dias do experimento dentro de cada grupo ($p>0,05$) (Tabela 3).

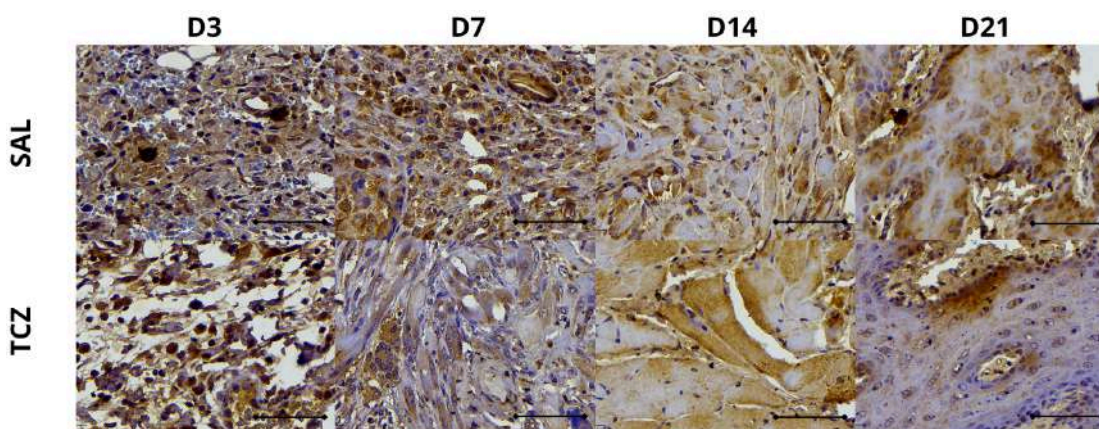


Figura 3: Perfil de imunexpressão para TNF- α em ratos submetidos a ulceração em mucosa jugal e tratados ou não com tocilizumabe. Imuno-histoquímica, microscopia óptica com coloração de DAB-hematoxilina; ampliação = 400x barra preta: 50 μ m.

Tabela 3: Parâmetros histológicos em ratos submetidos a ulceração em mucosa jugal e tratados ou não com tocilizumabe.

	Tempo (dias)				p-Valor
	3	7	14	21	
PMN					
Salina	38.50±8.67 ^{Aa}	20.80±7.61 ^{Aa}	1.14±1.14 ^{Ab}	0.17±0.17 ^{Ab}	< 0.001
TCZ	9.00±3.88 ^{Ba}	0.83±0.54 ^{Bb}	0.13±0.13 ^{Ab}	0.13±0.13 ^{Ab}	0.003
p-Valor	0.008	0.018	0.359	0.841	
MN					
Salina	134.20±33.20 ^{Aa}	48.63±11.82 ^{Ab}	37.71±12.29 ^{Ab}	24.83±9.16 ^{Ab}	0.002
TCZ	46.60±8.33 ^{Ba}	42.83±11.87 ^{Aa}	32.38±6.58 ^{Aa}	18.57±3.42 ^{Aa}	0.083
p-Valor	0.044	0.741	0.698	0.510	
Fibroblastos / Miofibroblastoms					
Salina	84.00±16.56 ^{Aa}	370.10±48.36 ^{Ab}	225.10±25.48 ^{Ab}	219.40±38.88 ^{Ac}	< 0.001
TCZ	111.20±9.50 ^{Aa}	175.70±11.76 ^{Ba}	215.40±24.87 ^{Ab}	228.00±28.86 ^{Ab}	0.008
p-Valor	0.1852	0.005	0.789	0.860	
Vasos					
Salina	3.00±1.58 ^{Aa}	5.50±1.56 ^{Aa}	4.71±0.81 ^{Aa}	3.14±0.94 ^{Aa}	0.448
TCZ	3.00±1.07 ^{Aa}	4.50±0.89 ^{Aa}	6.50±1.46 ^{Aa}	5.00±1.58 ^{Aa}	0.373
p-Valor	1.000	0.621	0.324	0.348	

*p<0,05, teste ANOVA-2-way/Bonferroni (média±EPM). Letras maiúsculas diferentes = diferença significativa entre os grupos; Letras minúsculas diferentes = diferença significativa entre os períodos de avaliação.

Na análise de TNF- α , o grupo salina apresentou redução significativa ao longo do tempo (p<0,001), enquanto o grupo TCZ também demonstrou variação significativa (p=0,017). Em D3, os níveis foram maiores no grupo salina (p=0,029) (Tabela 4).

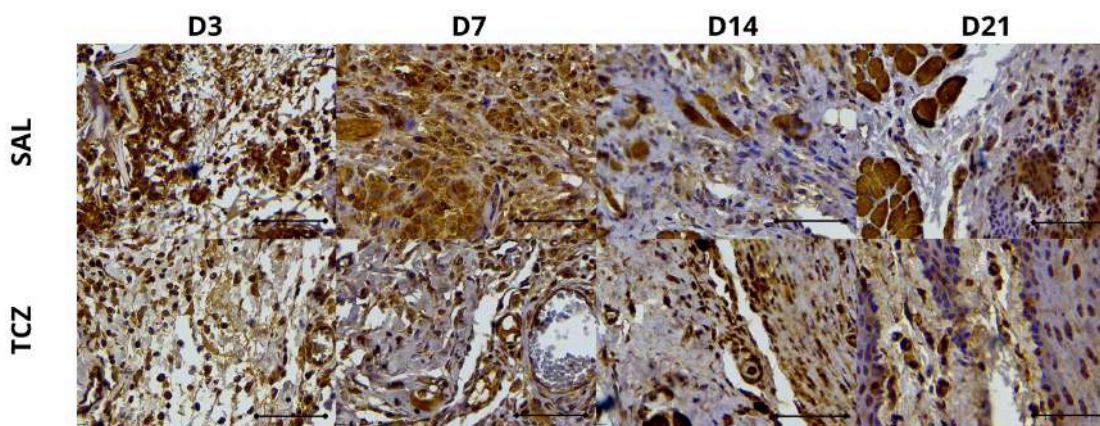


Figura 4: Perfil de imunoexpressão para IL-6 em ratos submetidos a ulceração em mucosa jugal e tratados ou não com tocilizumabe. Imuno-histoquímica, microscopia óptica com coloração de DAB-hematoxilina; ampliação = 400x barra preta: 50 μ m.

Com relação a expressão de IL-1 β o grupo TCZ demonstrou menor expressão em D3 que o grupo salina ($p=0,029$) e, enquanto no grupo salina houve redução já a partir de D14 ($p<0.001$) no grupo TCZ a redução desse marcador só ocorreu em D21 ($p=0.009$).

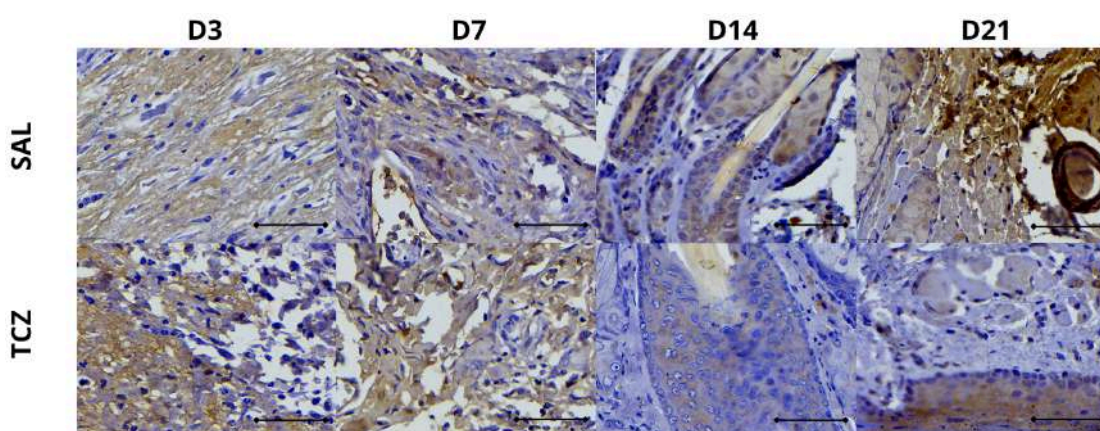


Figura 5: Perfil de imunoexpressão para IL-1 β em ratos submetidos a ulceração em mucosa jugal e tratados ou não com tocilizumabe. Imuno-histoquímica, microscopia óptica com coloração de DAB-hematoxilina; ampliação = 400x barra preta: 50 μ m.

Em relação à IL-6, o grupo salina apresentou aumento significativo em D7 seguido de redução nos períodos subsequentes ($p<0,001$), enquanto o grupo TCZ apresentou menor variação ao longo do tempo ($p=0,018$). Em D7, os níveis de IL-6 foram significativamente maiores no grupo salina ($p<0,001$) (Tabela 4).

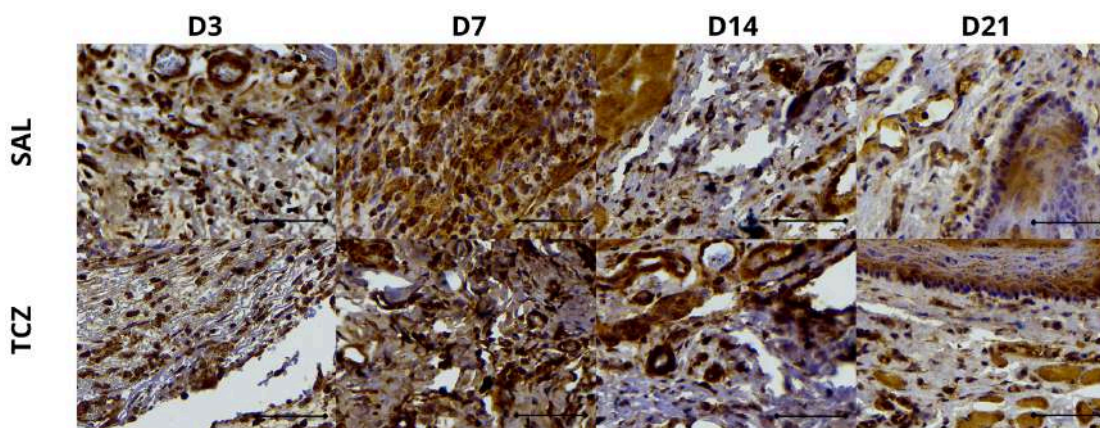


Figura 6: Perfil de imunexpressão para iNOS em ratos submetidos a ulceração em mucosa jugal e tratados ou não com tocilizumabe. Imuno-histoquímica, microscopia óptica com coloração de DAB-hematoxilina; ampliação = 400x barra preta: 50 μ m.

A expressão de iNOS foi significativamente inferior no grupo TCZ em D7 ($p < 0.001$). No grupo salina houve aumento significativo em D7 e retorno aos níveis basais em D14 ($p < 0.001$) enquanto no grupo TCZ só houve redução desse parâmetro, sendo este de forma significativa em D21 ($p = 0.013$).

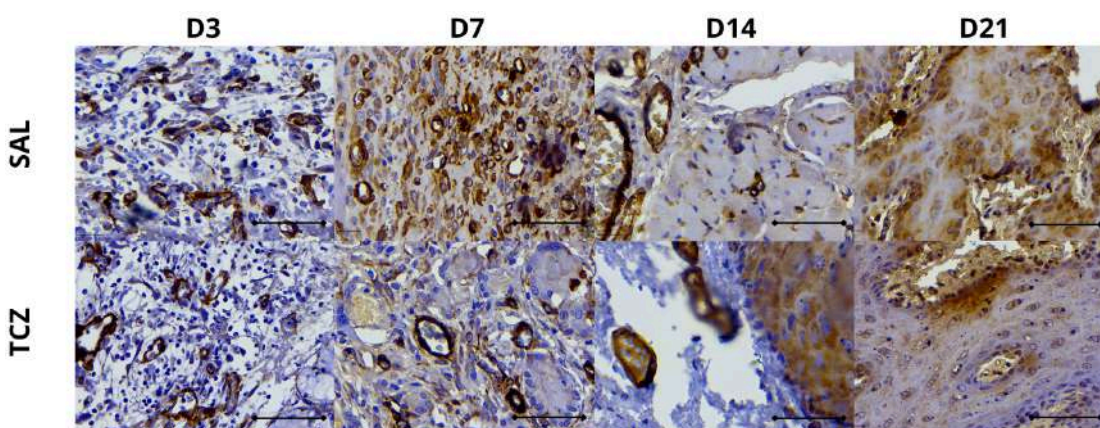


Figura 7: Perfil de imunexpressão para α -AML em ratos submetidos a ulceração em mucosa jugal e tratados ou não com tocilizumabe. Imuno-histoquímica, microscopia óptica com coloração de DAB-hematoxilina; ampliação = 400x barra preta: 50 μ m.

A expressão de α -AML apresentou aumento significativo no grupo salina em D7, seguido de redução ($p < 0,001$), enquanto o grupo TCZ mostrou variação mais discreta ao longo do tempo ($p = 0,013$). Em D7, os valores foram significativamente maiores no grupo salina ($p = 0,014$) (Tabela 4).

Por fim, a imunexpressão de TGF- β foi significativamente menor no grupo TCZ em D7 ($p=0.003$), D14 ($p=0.026$) se tornando superior em D21 ($p=0.017$). No grupo salina houve aumento da imunexpressão de TGF- β em D14 e retorno aos níveis basais em D21 ($p<0.001$), enquanto no grupo TCZ não houve variação significativa na expressão desse marcador ao longo dos 21 dias de experimento ($p=0.413$).

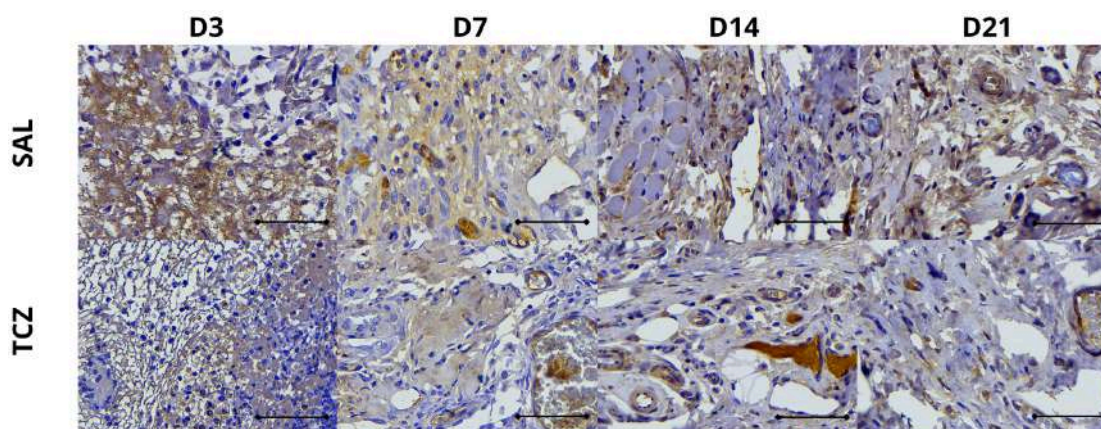


Figura 8: Perfil de imunexpressão para TGF- β em ratos submetidos a ulceração em mucosa jugal e tratados ou não com tocilizumabe. Imuno-histoquímica, microscopia óptica com coloração de DAB-hematoxilina; ampliação = 400x barra preta: 50 μ m.

Tabela 4: Parâmetros imuno-histoquímicos em ratos submetidos a ulceração em mucosa jugal e tratados ou não com tocilizumabe.

	Tempo (dias)				p-Valor
	3	7	14	21	
TNFα					
Salina	1120.00 \pm 121.20 ^{Aa}	860.00 \pm 111.70 ^{Aa}	672.00 \pm 93.55 ^{Ab}	327.00 \pm 75.79 ^{Ab}	<0.001
TCZ	709.30 \pm 41.85 ^{Ba}	722.20 \pm 113.00 ^{Aa}	604.40 \pm 60.12 ^{Aa}	379.90 \pm 64.52 ^{Ab}	0.017
p-Valor	0.029	0.412	0.543	0.605	
IL-1β					
Salina	671.20 \pm 175.10 ^{Aa}	1178.00 \pm 188.60 ^{Ab}	551.70 \pm 142.10 ^{Aa}	200.60 \pm 67.61 ^{Ac}	0.003
TCZ	455.00 \pm 83.87 ^{Aa}	508.20 \pm 141.20 ^{Ba}	509.60 \pm 62.59 ^{Aa}	373.50 \pm 47.75 ^{Aa}	0.589
p-Valor	0.274	0.025	0.781	0.061	
IL6					
Salina	819.60 \pm 57.38 ^{Aa}	1711.00 \pm 111.50 ^{Ab}	587.70 \pm 102.10 ^{Aa}	358.40 \pm 66.65 ^{Ac}	<0.001
TCZ	676.80 \pm 51.58 ^{Aa}	611.20 \pm 65.69 ^{Ba}	592.70 \pm 75.77 ^{Aa}	368.40 \pm 67.95 ^{Ab}	0.018
p-Valor	0.097	<0.001	0.969	0.918	
iNOS					
Salina	955.20 \pm 52.06 ^{Aa}	989.10 \pm 92.34 ^{Aa}	664.50 \pm 103.90 ^{Aa}	423.80 \pm 48.88 ^{Ab}	0,001

TCZ	932.80±172.40 ^{Aa}	620.00±50.24 ^{Aa}	569.10±35.30 ^{Ab}	436.60±52.40 ^{Ab}	0,004
p-Valor	0.342	0.013	0.723	0.500	
α-AML					
Salina	292.00±25.20 ^{Aa}	624.50±79.11 ^{Ab}	331.10±82.56 ^{Aa}	188.30±19.49 ^{Ac}	<0.001
TCZ	335.00±34.93 ^{Aa}	335.20±44.92 ^{Ba}	270.60±27.71 ^{Aa}	205.00±14.82 ^{Ab}	0.013
p-Valor	0.342	0.014	0.500	0.501	
TGF-β					
Salina	205.00±29.41 ^{Aa}	272.50±11.19 ^{Aa}	310.00±27.44 ^{Ab}	164.40±18.98 ^{Aa}	<0.001
TCZ	205.50±17.45 ^{Aa}	201.70±16.51 ^{Ba}	207.40±26.51 ^{Ba}	242.90±21.10 ^{ba}	0.413
p-Valor	0.989	0.003	0.026	0.017	

*p<0,05, teste ANOVA-2-way/Bonferroni (média±EPM). Letras maiúsculas diferentes = diferença significativa entre os grupos; Letras minúsculas diferentes = diferença significativa entre os períodos de avaliação.

6 DISCUSSÃO

O processo de cicatrização tecidual envolve uma cascata estruturada de eventos celulares e bioquímicos que culminam na restituição do tecido lesionado, podendo ser dividido, basicamente, em três fases: inflamatória, proliferativa e de remodelação tecidual (Wang PH *et al.*, 2017). Dentre esses eventos, estão as ações de citocinas, como a Interleucina-6 (IL-6). No presente estudo, animais tratados com tocilizumabe apresentaram um retardo na cicatrização das úlceras orais associado a redução da expressão de citocinas pró-inflamatórias e, por consequência, cicatriciais. O bloqueio de citocinas de fase aguda mostram esse comportamento. Freitas *et al.* (2022) descreveu que o bloqueio do TNF- α retardou a cicatrização em modelo experimental similar.

Nesse sentido, a IL-6 desempenha um papel fundamental no processo de inflamação e na amplificação da resposta inflamatória. A IL-6 influencia na síntese de outras citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α e IL-1 β , por meio de um ciclo de feedback positivo (Hirano, 2021), demonstrando que seu bloqueio levou a redução da expressão desses dois mediadores. A IL-6 também possui íntima ligação com a enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS), que possui grande importância durante o processo de inflamação, induzindo a sua produção (Kim *et al.*, 2025). Assim, com a inibição da sinalização de IL-6, há um prejuízo da fase inflamatória, e, conseqüentemente, a fase proliferativa, que tem início por volta do quarto dia após a injúria tecidual, também é prejudicada, visto que esta etapa depende da ocorrência plena e adequada da fase inflamatória (Wang PH *et al.*, 2017; Rodrigues *et al.*, 2020).

Durante o reparo tecidual, a IL-6 está fortemente associada à expressão de α -SMA, principalmente em fibroblastos que se diferenciam em miofibroblastos em processos de reparo e fibrose. Com a redução dos níveis de IL-6, TNF- α e IL-1 β , houve retardo na expressão de (TGF- β) que forma um circuito de reforço mútuo em diversos contextos inflamatórios e fibróticos, levando a uma redução na expressão de α -SMA e a diferenciação miofibroblástica. Em muitos modelos, IL-6 induz a expressão e potencializa a sinalização de TGF- β . O bloqueio do IL-6R com tocilizumabe, resulta em uma redução da ativação da via de TGF- β e α -SMA, bem como suas conseqüências funcionais relacionadas à cicatrização e reparo tecidual (Lockett-Chastain e Gallucci, 2009; Zhang *et al.*, 2005; Ruscitti *et al.*, 2022; Gallucci *et al.*, 2006; Matz *et al.*, 2022; O'Reilly *et al.*, 2014).

A deficiência de IL-6 está associada a déficit na participação de células, como os leucócitos, para o local do ferimento. Dentre estas células estão os polimorfonucleares e

mononucleares. Sob essa ótica, a IL-6 possui uma relação estreita com a síntese, maturação/diferenciação e migração destes tipos celulares (Turan *et al.*, 2018; McLoughlin *et al.*, 2004; Jones *et al.*, 2006; Gabay, 2006; Aliyu *et al.*, 2022). Desse modo, havendo um bloqueio dos receptores de IL-6, conseqüentemente, há um prejuízo nestes processos, culminando em uma estagnação da contagem destas células no grupo TCZ, enquanto, no grupo salina, foi observado um aumento.

A IL-6 também tem importante papel na migração e ativação de queratinócitos, que irão promover a reepitelização do tecido injuriado (Veeraperumal *et al.*, 2020), portanto, o bloqueio desta via pode interferir em diversas fases do processo levando ao prolongamento da ulceração, o que foi observado nos achados clínicos. Todos esses processos levaram a uma deficiência de reparo, o que culmina com dificuldade de alimentação e mais sinais de sofrimento.

Na análise comportamental, o grupo tratado com TCZ demonstrou escores de grimace maiores e maior perda de peso comparados ao grupo salina. Portanto, o prejuízo gerado na fase inflamatória pelo bloqueio da IL-6, que é necessária para a restituição tecidual eficaz, leva à exposição de um tecido lesionado por tempo prolongado, conseqüentemente, prolongando também sintomatologia dolorosa e refletindo no comportamento dos animais (Veeraperumal *et al.*, 2020; Wang PH *et al.*, 2017).

Semelhante ao encontrado no estudo de Rodrigues *et al.*, 2020, não houve diferença significativa entre os grupos em D3, visto que, após administrações endovenosas de tocilizumabe, alterações significativas no Leucograma foram observadas entre 3 e 5 dias após a dose (Paccaly *et al.*, 2020), tendo o presente estudo utilizado a via intraperitoneal, de absorção mais lenta. Porém, em D7, o grupo salina apresentou um aumento, enquanto o grupo TCZ sustentou estes valores, em face de a IL-6 ser crucial na síntese, maturação e migração de leucócitos, como neutrófilos, monócitos e linfócitos B (Rodrigues *et al.*, 2020; Zhao *et al.*, 2014; Schürch *et al.*, 2014; Oliveira *et al.*, 2011).

7 CONCLUSÃO

A inibição do IL6R através do tocilizumabe interferiu de maneira negativa na cicatrização tecidual de úlceras orais traumáticas, no comportamento dos animais e no ganho de massa corporal, impedindo o aumento da expressão de α -SMA, IL-1 β , IL-6, TNF- α , TGF- β , iNOS, do número de leucócitos, bem como sua migração, e do número de fibroblastos/miofibroblastos no local da lesão.

REFERÊNCIAS

- ALBIGER, B. et al. Role of the innate immune system in host defence against bacterial infections: focus on the Toll-like receptors. **Journal of Internal Medicine**, v. 261, n. 6, p. 511–528, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2007.01821.x>. Acesso em: 12 fev. 2023.
- ALIYU, M. et al. Interleukin-6 cytokine: an overview of the immune regulation, immune dysregulation, and therapeutic approach. **International Immunopharmacology**, v. 111, p. 109130, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2022.109130>. Acesso em: 08 jan. 2025.
- BOYTON, R. J.; OPENSHAW, P. J. Pulmonary defences to acute respiratory infection. **British Medical Bulletin**, v. 61, n. 1, p. 1–12, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/bmb/61.1.1>. Acesso em: 18 mar. 2023.
- BRIZENO, L. A. C. et al. Delayed healing of oral mucosa in a diabetic rat model: implication of TNF- α , IL-1 β and FGF-2. **Life Sciences**, v. 155, p. 36–47, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.04.033>. Acesso em: 03 mar. 2023.
- BROCHE, F.; TELLADO, J. M. Defense mechanisms of the peritoneal cavity. **Current Opinion in Critical Care**, v. 7, n. 2, p. 105–116, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/00075198-200104000-00009>. Acesso em: 25 fev. 2023.
- BUSS, N. A. P. S. et al. Monoclonal antibody therapeutics: history and future. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 12, n. 5, p. 615–622, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.coph.2012.08.001>. Acesso em: 11 mar. 2023.
- COHEN, T. et al. Interleukin 6 induces the expression of vascular endothelial growth factor. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 271, n. 2, p. 736–741, 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1074/jbc.271.2.736>. Acesso em: 07 fev. 2023.
- ETIENNE, R.; VIEGAS, F.; VIEGAS JR., C. Aspectos fisiopatológicos da inflamação e o planejamento de fármacos: uma visão geral atualizada. **Revista Virtual de Química**, v. 13, n. 1, 2021. Disponível em: <https://rvq-sub.sbq.org.br/index.php/rvq/article/view/3920>. Acesso em: 21 jan. 2023.
- FREITAS, M. O. et al. Tumor necrosis factor alpha (TNF- α) blockage reduces acute inflammation and delayed wound healing in oral ulcer of rats. **Inflammopharmacology**, v. 30, n. 5, p. 1781–1798, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10787-022-01046-3>. Acesso em: 05 dez. 2024.
- GABAY, C. Interleukin-6 and chronic inflammation. **Arthritis Research & Therapy**, v. 8, supl. 2, p. S3, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/ar1917>. Acesso em: 16 fev. 2023.
- GALLUCCI, R. M.; LEE, E. G.; TOMASEK, J. J. IL-6 modulates alpha-smooth muscle actin expression in dermal fibroblasts from IL-6-deficient mice. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 126, n. 3, p. 561–568, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/sj.jid.5700109>. Acesso em: 28 fev. 2023.

GILROY, D. W. et al. Inflammatory resolution: new opportunities for drug discovery. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, n. 5, p. 401–416, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrd1383>. Acesso em: 22 mar. 2023.

HENTSCHKE, M. R. et al. Aumento dos níveis do receptor solúvel da interleucina-6 em pacientes com pré-eclâmpsia em relação a gestantes normotensas. **Scientia Medica**, v. 23, n. 4, p. 213–218, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.15448/1980-6108.2013.4.14862>. Acesso em: 10 jan. 2023.

HEINRICH, P. C.; CASTELL, J. V.; ANDUS, T. Interleukin-6 and the acute phase response. **Biochemical Journal**, v. 265, n. 3, p. 621–636, 1990. Disponível em: <https://doi.org/10.1042/bj2650621>. Acesso em: 03 mar. 2023.

HIRANO, T. IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer. **International Immunology**, v. 33, n. 3, p. 127–148, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/intimm/dxaa078>. Acesso em: 14 jan. 2025.

JONES, M. R. et al. Roles of interleukin-6 in activation of STAT proteins and recruitment of neutrophils during *Escherichia coli* pneumonia. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 193, n. 3, p. 360–369, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1086/499312>. Acesso em: 25 fev. 2023.

KIM, M. E.; LEE, J. S. Advances in the Regulation of Inflammatory Mediators in Nitric Oxide Synthase: Implications for Disease Modulation and Therapeutic Approaches. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 26, n. 3, p. 1204, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms26031204>. Acesso em: 18 jan. 2025.

LANDÉN, N. X.; LI, D.; STÅHLE, M. Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 73, p. 3861–3885, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2268-0>. Acesso em: 03 fev. 2025.

LIMA, R. R. et al. Inflamação em doenças neurodegenerativas. **Revista Paraense de Medicina**, v. 21, n. 2, 2007. Disponível em: http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-59072007000200006. Acesso em: 11 dez. 2024.

LU, R.-M. et al. Development of therapeutic antibodies for the treatment of diseases. **Journal of Biomedical Science**, v. 27, n. 1, p. 1, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0592-z>. Acesso em: 08 nov. 2024.

LUCKETT-CHASTAIN, L. R.; GALLUCCI, R. M. Interleukin (IL)-6 modulates transforming growth factor- β expression in skin and dermal fibroblasts from IL-6-deficient mice. **British Journal of Dermatology**, v. 161, n. 2, p. 237–248, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2009.09215.x>. Acesso em: 05 fev. 2025.

MATZ, I. et al. Left ventricle- and skeletal muscle-derived fibroblasts exhibit a differential inflammatory and metabolic responsiveness to interleukin-6. **Frontiers in Immunology**, v. 13, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.947267>. Acesso em: 21 jan. 2025.

MCCLOUGHLIN, R. M. et al. Differential Regulation of Neutrophil-Activating Chemokines by IL-6 and Its Soluble Receptor Isoforms. **The Journal of Immunology**, v. 172, n. 9, p. 5676–5683, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.172.9.5676>. Acesso em: 03 mar. 2025.

MOURA, H. V. de; POMERANTZEFF, P. M. A.; GOMES, W. J. Síndrome da resposta inflamatória sistêmica na circulação extracorpórea: papel das interleucinas. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, v. 16, n. 4, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-76382001000400010>. Acesso em: 08 nov. 2024.

NUNES, A. I. D. A.; MESQUITA, H. L. Tocilizumab: uma nova classe de agentes biológicos eficaz no tratamento da artrite reumatoide. **Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais**, v. 7, n. 1, 2015. Disponível em: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/11/964818/2873-8863-1-sm.pdf>. Acesso em: 12 mar. 2023.

OKADA, M. et al. IL-6/BSF-2 functions as a killer helper factor in the in vitro induction of cytotoxic T cells. **The Journal of Immunology**, v. 141, n. 5, p. 1543–1549, 1988. Disponível em: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.141.5.1543>. Acesso em: 19 mar. 2025.

OLIVEIRA, C. M. B. et al. Citocinas e dor. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 61, n. 2, p. 260–265, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0034-70942011000200014>. Acesso em: 17 jan. 2023.

O'REILLY, S. et al. Interleukin-6 (IL-6) Trans Signaling Drives a STAT3-dependent Pathway That Leads to Hyperactive Transforming Growth Factor- β (TGF- β) Signaling Promoting SMAD3 Activation and Fibrosis via Gremlin Protein. **Journal of Biological Chemistry**, v. 289, n. 14, p. 9952–9960, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1074/jbc.m113.545822>. Acesso em: 02 abr. 2025.

PACCALY, A. J. et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of subcutaneous sarilumab and intravenous tocilizumab following single-dose administration in patients with active rheumatoid arthritis on stable methotrexate. **The Journal of Clinical Pharmacology**, v. 61, n. 1, p. 90–104, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jcph.1703>. Acesso em: 14 abr. 2026.

RECOVERY COLLABORATIVE GROUP. Tocilizumab in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial. **Lancet**, v. 397, n. 10285, p. 1637–1645, 2021. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(21\)00676-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(21)00676-0). Acesso em: 22 fev. 2026.

RODRIGUES, M. et al. Tocilizumab, a potent interleukin-6 receptor inhibitor, decreases bone resorption and increases the rate of bacterial infection after tooth extraction in rats. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 78, n. 12, p. 2138–2146, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joms.2020.08.012>. Acesso em: 10 jan. 2026.

RUSCITTI, P. et al. Tofacitinib May Inhibit Myofibroblast Differentiation from Rheumatoid-Fibroblast-like Synoviocytes Induced by TGF- β and IL-6. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 5, p. 622, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ph15050622>. Acesso em: 14 fev. 2026.

SAMPSON, A. P. The role of eosinophils and neutrophils in inflammation. **Clinical and Experimental Allergy**, v. 30, Suppl 1, p. 22–27, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2222.2000.00092.x>. Acesso em: 10 jan. 2025.

SANTOS, R. V. dos et al. Aplicações terapêuticas dos anticorpos monoclonais. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, v. 29, n. 2, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/00000441-200207000-00004>. Acesso em: 27 mar. 2025.

SCHAPER, F.; ROSE-JOHN, S. Interleukin-6: biology, signaling and strategies of blockade. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v. 26, n. 5, p. 475–487, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2015.07.004>. Acesso em: 04 mar. 2023.

SCHÜRCH, C. M.; RIETHER, C.; OCHSENBEIN, A. F. Cytotoxic CD8+ T cells stimulate hematopoietic progenitors by promoting cytokine release from bone marrow mesenchymal stromal cells. **Cell Stem Cell**, v. 14, n. 4, p. 460–472, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.stem.2014.01.002>. Acesso em: 18 mar. 2023.

SIBILLE, Y.; REYNOLDS, H. Y. Macrophages and polymorphonuclear neutrophils in lung defense and injury. **The American Review of Respiratory Disease**, v. 141, n. 2, p. 471–501, 1990. Disponível em: <https://doi.org/10.1164/ajrccm/141.2.471>. Acesso em: 20 jan. 2023.

SILVA, P. G. B. et al. Tumor necrosis factor alpha mediates orofacial discomfort in an occlusal dental interference model in rats: The role of trigeminal ganglion inflammation. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v. 49, n. 2, p. 169–176, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jop.12984>. Acesso em: 06 abr. 2025.

SU, H.; LEI, C.-T.; ZHANG, C. Interleukin-6 signaling pathway and its role in kidney disease: an update. **Frontiers in Immunology**, v. 8, p. 405, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00405>. Acesso em: 09 fev. 2023.

TAKAI, Y. et al. B-cell stimulatory factor-2 is involved in the differentiation of cytotoxic T-lymphocytes. **Journal of Immunology**, v. 140, p. 508–512, 1988. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3257241/>. Acesso em: 15 jan. 2025.

TURAN, N. et al. IL-6 pathway upregulation in subgroup of severe asthma is associated with neutrophilia and poor lung function. **Clinical & Experimental Allergy**, v. 48, n. 4, p. 475–478, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/cea.13085>. Acesso em: 28 fev. 2026.

VEERAPERUMAL, S. et al. Polysaccharides from *Gracilaria lemaneiformis* promote the HaCaT keratinocytes wound healing by polarised and directional cell migration. **Carbohydrate Polymers**, v. 241, p. 116310, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116310>. Acesso em: 11 dez. 2025.

WANG, P.-H. et al. Wound healing. **Journal of the Chinese Medical Association**, v. 81, n. 2, p. 94–101, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jcma.2017.11.002>. Acesso em: 04 abr. 2026.

WILLIAMS, T. J. Interactions between prostaglandins, leukotrienes and other mediators of inflammation. **British Medical Bulletin**, v. 39, n. 3, p. 239–242, 1983. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a071826>. Acesso em: 14 fev. 2023.

ZHANG, X. L. et al. Interleukin-6 Regulation of Transforming Growth Factor (TGF)- β Receptor Compartmentalization and Turnover Enhances TGF- β 1 Signaling. **Journal of Biological Chemistry**, v. 280, n. 13, p. 12239–12245, abr. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1074/jbc.m413284200>. Acesso em: 06 mar. 2023.

ZHAO, X.-F. et al. Leptin and IL-6 family cytokines synergize to stimulate Müller glia reprogramming and retina regeneration. **Cell Reports**, v. 9, n. 1, p. 272–284, 9 out. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.08.047>. Acesso em: 18 jan. 2025.

ANEXOS

CEUA INSTITUTO PARA DESENVOLVIMENTO DA EDUCAÇÃO LTDA IPADE
CENTRO UNIVERSITÁRIO CHRISTUS



Of. No. 011/23

Protocolo da CEUA: 011/23

Pesquisador Responsável: PAULO GOBERLÂNIO DE BARROS SILVA

Título do Projeto: INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO COM TOCILIZUMABE NA CICATRIZAÇÃO DE ÚLCERAS TRAUMÁTICAS ORAIS EM MUCOSA JUGAL DE RATAS.

Levamos ao conhecimento de V. Sa que a Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto para Desenvolvimento da Educação LTDA – IPADE considerou **APROVADO** o projeto supracitado na reunião do dia 31 (trinta e um) de maio de 2023.

Descrição do animal utilizado:

Espécie:	Ratas (Wistar) Fêmeas	Número Amostral:	72
----------	-----------------------	------------------	----

Relatórios parciais e finais devem ser apresentados ao CEUA/Instituto para Desenvolvimento da Educação LTDA - IPADE ao término do estudo, período máximo 31/05/2024.

Fortaleza, 31 de maio de 2023.

Olga Vale Oliveira Machado
Coordenadora

CEUA/Instituto para Desenvolvimento da Educação LTDA - IPADE