

## USO DO ALENDRONATO SÓDICO E DA TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA NO TRATAMENTO DA DOENÇA PERIODONTAL INDUZIDA EM RATOS. ESTUDO RADIOGRÁFICO.

FELIPE MARTINS SILVEIRA<sup>1</sup>, LAUREN FRENZEL SCHUCH<sup>2</sup>, FÁBIO RENATO  
MANZOLLI LEITE<sup>3</sup>, THIAGO MARCHI MARTINS<sup>4</sup>, MELISSA FERES DAMIAN<sup>5</sup>,  
NATÁLIA MARCUMINI POLA<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – fp.martinss@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – laurenfrenzel@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – leite.fabio@gmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – thiagoperio@yahoo.com

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – melissaferesdamian@gmail.com

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – nataliampola@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

A doença periodontal (DP) é uma patologia crônica inflamatória etiológicamente relacionada com o acúmulo de microrganismos na área dentogengival (BUDUNELI et al., 2004). Caracteriza-se pela perda das estruturas de suporte do dente por meio da destruição do osso alveolar e da inserção conjuntiva (OKTAY et al., 2015). A presença microbiana periodontopatogênica e a consequente resposta imunopatológica do hospedeiro, além dos fatores de risco individuais e específicos, são elementos-chave da patogênese da doença (ALMEIDA et al., 2015).

O tratamento convencional da DP é fundamentado na redução da microbiota periodontopatogênica por meio do procedimento de raspagem e alisamento radicular (RAR) (KALDAHL et al., 1993). Entretanto, a terapia mecânica pode ser falha na eliminação de bactérias localizadas em áreas inacessíveis aos instrumentos periodontais, como as áreas de furca e de depressões radiculares (MATIA et al., 1986). Tratamentos alternativos adjuvantes à RAR, representados por antimicrobianos e agentes moduladores do hospedeiro, têm sido propostos com o objetivo de otimizar os resultados no manejo da condição (BUDUNELI et al., 2004). Nesse contexto, alguns estudos recentes têm demonstrado efeitos positivos da aplicação tópica do aminobisfosfonato alendronato sódico (ALN) e do uso da terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) adjuntos à RAR (GARCIA et al., 2013; ALMEIDA et al., 2015). A justificativa para o uso das modalidades terapêuticas alternativas mencionadas está na potente inibição da reabsorção óssea promovida pelo ALN (RUSSEL, 2011) e nas propriedades antimicrobianas da aPDT (ALMEIDA et al., 2008), os quais poderiam auxiliar no controle da doença.

Embora alguns autores apresentem resultados satisfatórios com o uso do ALN e aPDT isoladamente (ALMEIDA et al., 2008; ALMEIDA et al., 2015), nenhum estudo avaliou o desfecho da associação dessas terapias no tratamento da DP. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar radiograficamente a influência do ALN e da aPDT, associados ou não, como adjuvantes à RAR no tratamento da periodontite experimental (PE) induzida em ratos.

### 2. METODOLOGIA

Sessenta e quatro ratos provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas (UFPEl) foram submetidos à indução da PE, através da inserção de uma ligadura de algodão ao redor do primeiro molar inferior esquerdo (1MIE).

Após sete dias, a ligadura foi removida e os animais foram divididos em 4 grupos experimentais, de acordo com o tratamento realizado: (1) raspagem e alisamento radicular (RAR): RAR e irrigação da bolsa periodontal com soro fisiológico; (2) ALN: RAR e irrigação da bolsa periodontal com alendronato sódico ( $10^{-5}$  M); (3) aPDT: RAR, irrigação da bolsa periodontal com azul de metileno (AM) e aplicação do laser em baixa intensidade (LBI); e (4) ALN/aPDT: RAR, irrigação da bolsa periodontal com ALN e aplicação do aPDT. Cada grupo experimental foi subdividido em 2 subgrupos (n=8) para eutanásia aos 7 e aos 30 dias pós-operatórios. As mandíbulas dos animais foram removidas, fixadas em formol tamponado 4%, e submetidas à avaliação radiográfica periapical digital. Para isso, cada peça foi posicionada de forma padronizada com a face vestibular sobre uma placa de fósforo fotoativada de tamanho 3x4cm do sistema digital semi-direto DIGORA® Optime (Soredex, Tuusula, Finlândia). As radiografias digitais foram realizadas mantendo-se os fatores de exposição constantes (70kVp, 7mA, 0,43s, com distância foco-filme de 40 cm) e gravadas em formato *Joint Photographs Experts Groups* (JPEG). A análise das imagens foi realizada por um examinador calibrado e cego aos tratamentos realizados, por meio do software Adobe *Photoshop* CS6 (Adobe Systems, San Jose, California, USA). A perda óssea alveolar (PO) foi avaliada através da medida linear entre a junção amelocementária e a crista óssea alveolar na face distal dos primeiros molares inferiores esquerdos. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk e, uma vez que não obedeceram a distribuição normal, estes foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de comparação múltipla de Dunn ( $p<0,05$ ).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios e os desvios-padrão de PO obtidos das medidas radiográficas dos grupos nos períodos experimentais, bem como as diferenças entre os grupos, estão representados na Tabela 1.

A análise radiográfica demonstrou que a PO foi significativamente menor no grupo ALN/aPDT quando comparado aos grupos C e ALN ( $p<0,05$ ) nos dois períodos experimentais. Além disso, os animais do grupo aPDT apresentaram PO significativamente menor do que os do grupo C aos 7 e aos 30 dias pós-operatórios ( $p<0,05$ ). No entanto, o ALN, quando utilizado isoladamente, não proporcionou melhora da condição periodontal, apresentando maior média de PO aos 7 e 30 dias.

Estudos relatam resultados favoráveis do uso da aPDT no tratamento da DP (BETSY et al., 2014; ALMEIDA et al., 2008). Estudos demonstram que algumas bactérias orais são altamente sensíveis à aPDT, sendo suprimidas quando submetidas a esta abordagem *in vitro* (PFITZNER et al., 2004; WILSON, 2004). Os resultados observados no presente estudo podem sugerir que a melhora da condição periodontal observada no grupo ALN/aPDT foi devido a ação da aPDT nos tecidos periodontais.

Com relação a dose de ALN utilizada no presente estudo, os grupos ALN e ALN/aPDT receberam 1ml de ALN a  $10^{-5}$  M. Esta dose foi estabelecida com base no estudo prévio de Almeida et al. (2015) em que os autores utilizaram metodologia semelhante a do presente estudo, com irrigação de bolsas periodontais experimentalmente induzidas por meio de ligadura. Estes autores observaram que o uso do ALN associado à RAR promoveu redução da inflamação local e melhor reparação dos tecidos periodontais. No entanto, um dos fatores que pode ser mencionado como limitante do presente estudo é a permanência do medicamento

no interior da bolsa periodontal. Apesar de ter sido realizada a irrigação com o ALN no fundo da bolsa, existe a possibilidade deste não ter permanecido em seu interior, na concentração que era esperada a sua ação biológica. Estudos têm demonstrado resultados clínicos e radiográficos favoráveis com o uso do ALN na forma de gel aplicado em defeitos intra-ósseos em indivíduos com periodontite (PRADEEP et al., 2012). Desta forma, a administração do ALN em solução pode ter sido a responsável pelos resultados observados nesse grupo.

É importante enfatizar, também, que apesar de o exame radiográfico apresentar limitações como, por exemplo, o baixo nível de exatidão em relação ao tecido ósseo, esse método apresenta a vantagem de ser uma análise de baixo custo e consumir menos tempo do que o protocolo padrão-ouro da análise histológica (PRYOR et al., 2006). Além disso, ainda é uma técnica muito utilizada na avaliação dos efeitos de vários tratamentos para a formação óssea (BEHNIA et al., 2012).

**TABELA 1**

**Tabela 1.** Médias e desvios-padrão (n=8) da medida linear entre a junção amelocementária e a crista óssea alveolar (mm) na superfície distal dos primeiros molares inferiores esquerdos em cada grupo, aos 7 e 30 dias pós-operatórios.

Grupos (n=8)	7 dias	30 dias
C	8,32 ± 1,80 <sup>a,b</sup>	10,82 ± 2,94 <sup>c,d</sup>
ALN	10,64 ± 3,69 <sup>a,b</sup>	10,35 ± 7,00 <sup>d</sup>
aPDT	6,75 ± 3,70	8,54 ± 1,82 <sup>d</sup>
ALN/aPDT	5,94 ± 1,64	5,80 ± 2,92

**a,** Diferente estatisticamente quando comparado aos grupos aPDT e ALN/aPDT ( $p < 0,05$ ).

**b,** Diferente estatisticamente quando comparado aos grupos aPDT e ALN/aPDT ( $p < 0,01$ ).

**c,** Diferente estatisticamente quando comparado aos grupos ALN e aPDT ( $p < 0,05$ ).

**d,** Diferente estatisticamente quando comparado ao grupo ALN/aPDT ( $p < 0,05$ ).

C = controle; ALN = alendronato; aPDT = terapia fotodinâmica; ALN/aPDT = alendronato associado com a terapia fotodinâmica.

#### 4. CONCLUSÕES

Dentro dos limites do presente estudo, pode-se concluir que o uso da associação ALN/aPDT adjunto a RAR promoveu melhores condições radiográficas periodontais no tratamento da PE induzida em ratos.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, J.M. et al. Adjuvant therapy with sodium alendronate for the treatment of experimental periodontitis in rats. **J Periodontol.**, v. 11, p. 1-18, 2015.

ALMEIDA, J.M. et al. Treatment of experimental periodontal disease by photodynamic therapy in rats with diabetes. **J Periodontol.**, v. 79, p. 2156-2165, 2008.

BEHNIA, H. et al. Repair of alveolar cleft defect with mesenchymal stem cells and platelet derived growth factors: a preliminary report. **J Craniomaxillofac Surg.**, v. 40, p. 325-331, 2012.

BETSY, J. et al. Efficacy of antimicrobial photodynamic therapy in the management of chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial. **J Clin Periodontol.**, v. 41, n. 6, p. 573-81, 2014.

BUDUNELI, E. et al. Effects of combined systemic administration of low-dose doxycycline and alendronate on endotoxin-induced periodontitis in rats. **J Periodontol.**, v. 75, p. 1516-1523, 2004.

GARCIA, V.G. et al. Adjunctive antimicrobial photodynamic treatment of experimentally induced periodontitis in rats with ovariectomy. **J Periodontol.**, v. 84, p. 556-565, 2013.

KALDAHL, W.B. et al. A review of longitudinal studies that compared periodontal therapies. **J Periodontol.**, v. 64, n. 4, p. 243-53, 1993.

MATIA, J.I. et al. Efficiency of scaling of the molar furcation area with and without surgical access. **Int J Periodontics Restorative Dent.**, v. 6, n. 6, p. 24-35, 1986.

OKTAY, S. et al. Periodontitis in rats induces systemic oxidative stress that is controlled by bone-targeted antiresorptives. **J Periodontol.**, v. 86, n. 1, p. 137-45, 2015.

PFITZNER, A. et al. Killing of periodontopathogenic bacteria by photodynamic therapy. **J Periodontol.**, v. 75, n. 10, p. 1343-9, 2004.

PRADEEP, A.R. et al. Local drug delivery of alendronate gel for the treatment of patients with chronic periodontitis with diabetes mellitus: a double-masked controlled clinical trial. **J Periodontol.**, v. 83, p. 1322-1328, 2012.

PRYOR, M. E. et al. Validity of radiographic evaluations of bone formation in a rat calvaria osteotomy defect model. **J Clin Periodontol.**, v. 33, n. 6, p. 455-60, 2006.

RUSSEL, R. G. Bisphosphonates: the first 40 years. **Bone.**, v. 49, n. 1, p. 2-19, 2011.

WILSON, M. Lethal photosensitisation of oral bacteria and its potential application in the photodynamic therapy of oral infections. **Photochem Photobiol Sci.**, v. 3, n. 5, p. 412-8, 2004.