

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

FELIPE MARTINS SILVEIRA¹, LAUREN FRENZEL SCHUCH², FÁBIO RENATO MANZOLLI LEITE³, THIAGO MARCHI MARTINS⁴, MELISSA FERES DAMIAN⁵, NATÁLIA MARCUMINI POLA⁶

¹*Universidade Federal de Pelotas – fp.martinss@gmail.com*

²*Universidade Federal de Pelotas – laurenfrenzel@gmail.com*

³*Universidade Federal de Pelotas – leite.fabio@gmail.com*

⁴*Universidade Federal de Pelotas – thiagoperio@yahoo.com*

⁵*Universidade Federal de Pelotas – melissaferesdamian@gmail.com*

⁶*Universidade Federal de Pelotas – nataliampola@gmail.com*

1. INTRODUÇÃO

A doença periodontal (DP) é uma patologia crônica inflamatória etiologicamente 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 metíleno (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 ^{a,b}	10,82 ± 2,94 ^{c,d}
ALN	10,64 ± 3,69 ^{a,b}	10,35 ± 7,00 ^d
aPDT	6,75 ± 3,70	8,54 ± 1,82 ^d
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 anti-resorptives. **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.