

REPARO ÓSSEO ALVEOLAR APÓS O USO DE ALENDRONARO SÓDICO E TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA EM PERIODONTITE EXPERIMENTAL INDUZIDA

CAROLINE FERNANDES E SILVA¹; FELIPE MARTINS SILVEIRA²; THIAGO MARCHI MARTINS³; CAROLINA DOS SANTOS SANTINONI⁴; CARIL CONSTANCE FERREIRA DO AMARAL⁵; NATÁLIA MARCUMINI POLA⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – caroline.fs@outlook.com

²Universidade Estadual de Campinas – fp.martinss@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – thiagoperio@yahoo.com.br

⁴Universidade do Oeste Paulista - carolsantinoni@msn.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – caril_amaral@yahoo.com.br

⁶Universidade 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 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 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., 2015), nenhum estudo avaliou o desfecho da associação dessas terapias no tratamento da DP. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar histologicamente 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

Quarenta ratos (*Rattus norvegicus*, albinus, Wistar) provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas foram submetidos à indução da periodontite experimental (PE), através da inserção de uma ligadura de algodão ao redor do primeiro molar inferior esquerdo. Após sete dias, a ligadura foi removida e

os animais foram divididos em 4 grupos experimentais, de acordo com os tratamentos realizados: (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. Os animais foram eutanasiados após 7 e 15 dias dos tratamentos. As mandíbulas dos animais foram removidas, fixadas em formol tamponado 4%, desmineralizadas com Solução de Planck-Rychlo, incluídas em parafina e submetidas a cortes histológicos seriados de 5µm. Posteriormente, as amostras foram coradas com Hematoxilina Eosina (H.E.) e avaliadas por um examinador cego aos tratamentos realizados com o auxílio do software LAS Version 4.2.0 (Leica Mycrosistens CMG GmbH). O objetivo foi avaliar histomorfometricamente a perda óssea (PO) na área de furca em cada grupo. Por fim, as médias dos valores obtidos foram calculadas e os dados submetidos à análise estatística (two-way ANOVA; Tukey *post hoc*; $p < 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios e os desvios-padrão de PO obtidos dos grupos nos períodos experimentais, bem como as diferenças entre os grupos estão representados na Figura 1. A análise histomorfométrica demonstrou que a PO foi significativamente menor nos grupos RAR e ALN quando comparado ao grupo aPDT aos 7 e 15 dias após os tratamentos ($p < 0,05$; $p < 0,01$). Além disso, os animais do Grupo ALN/aPDT apresentaram PO significativamente menor do que os do Grupo aPDT aos 15 dias ($p < 0,01$).

A ação biológica da aPDT se justifica pela interação que ocorre entre o agente fotossensibilizante da solução corante e a luz do laser. Esta interação resulta na produção de espécies reativas de oxigênio as quais são letais aos microrganismos patogênicos e seus produtos (SGOLASTRA et al., 2013; AMRI et al., 2016;). Além disso, a aPDT reduz a atividade biológica de lipopolissacarídeos tóxicos produzidos por estes microrganismos (KELLESARIAN et al., 2017).

No presente estudo, a aPDT não apresentou melhor reparo ósseo quando utilizada como terapia adjunta a RAR, e nem mesmo quando associada ao ALN. Uma possível explicação para o resultado encontrado seria o tipo de laser utilizado. Evidências sugerem que o diâmetro do spot do laser quando inadequado a área tratada pode afetar a densidade de energia total liberada durante a aPDT, prejudicando potencialmente a atividade antimicrobiana do laser (RADVAR et al., 1996), bem como os tecidos periodontais. Outra consideração que pode ser feita diante dos resultados encontrados é a susceptibilidade microbiana aos agentes fotossensibilizantes (MALIK et al., 1992;). Fotossensibilizadores aniônicos e neutros são relatados como sendo efetivos contra bactérias gram-positivas. No entanto, muitas vezes são ineficazes contra bactérias gram-negativas, que estão presentes em maior quantidade nos tecidos periodontais.

Uma revisão sistemática recente avaliou a eficácia do uso da aPDT adjunto à RAR na expressão de citocinas pró-inflamatórias no fluido gengival de pacientes com periodontite crônica (KELLESARIAN et al., 2017). Poucos estudos relatam melhora do quadro inflamatório periodontal quando a aPDT foi utilizada. Estes autores concluíram que a ação das terapias com laser adjuntas ao tratamento periodontal convencional ainda é indefinida.

Uma possível explicação para os resultados encontrados no presente estudo referentes ao Grupo ALN seria a dose de ALN utilizada. 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 à 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, no presente estudo o ALN não promoveu melhora do quadro periodontal quando comparado ao tratamento periodontal convencional. 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 intraósseos 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.

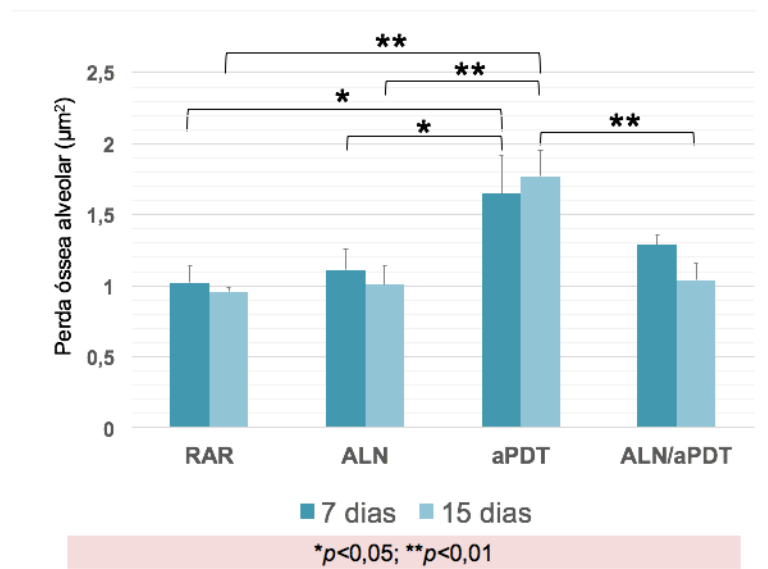


Figura 1. Médias e erro padrão da média (n=10) da perda óssea alveolar (μm^2) nos primeiros molares inferiores esquerdos dos animais, em cada grupo, aos 7 e 15 dias pós-operatórios.

4. CONCLUSÕES

Dentro dos limites deste estudo, pode-se concluir que o ALN e a aPDT como adjuntos a RAR não promoveram melhores condições periodontais no momento inicial de reparo 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.

AMRI, M.D.A. et al. Efficacy of periimplant mechanical debridement with and without adjunct antimicrobial photodynamic therapy in patients with type 2 diabetes mellitus. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy.**, v. 14, p. 166-169, 2016.

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.

KELLESARIAN, S. V. et al. Effect of antimicrobial photodynamic therapy and laser alone as adjunct to mechanical debridement in the management of halitosis: A systematic review. **Quintessence International**, v. 48, n. 7, 2017.

MALIK, Z; et al. Photodynamic inactivation of Gram-negative bacteria: problems and possible solutions. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 14, n. 3, p. 262-266, 1992.

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.

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.

RADVARG, M. et al. An evaluation of the Nd: YAG laser in periodontal pocket therapy. **British dental journal**, v. 180, n. 2, p. 57-62, 1996.

SGOLASTRA, F. et al. Adjunctive photodynamic therapy to non-surgical treatment of chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. **J Periodontol.**, v. 40, p. 514-526, 2013.