

## **EXTRATO DE *LIMONIUM BRASILIENSE* 1% REDUZ A REABSORÇÃO DO OSSO ALVEOLAR EM RATOS COM DOENÇA PERIODONTAL INDUZIDA**

Driele Fernanda Schneider (PIBIC/CNPq//Uem), Gislaine Stella Alves Amaral, Luzmarina Hernandez (Orientadora), luzhernandes@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas / Maringá, PR.

**Área: Ciências Biológicas**

**Subárea: Morfologia**

**Palavras-chave:** periodonto, fitofármacos, morfologia.

### **Resumo:**

A doença periodontal é uma patologia que leva à perda dental e afeta mais da metade da população mundial e sua prevenção ainda é um grande desafio. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar ação do gel à base de extrato acetato de etila de *L. brasiliense*, uma planta com ação bacteriostática, anti-inflamatória e antioxidante, na inibição da doença periodontal induzida experimentalmente. A doença periodontal foi induzida nos segundos molares superiores, por meio da colocação da ligadura de algodão em ratos Wistar. Os animais foram divididos em sete grupos de acordo com o tratamento: controle negativo, sem indução da doença; doença periodontal sem tratamento; doença tratada com clorexidina 0,12%; doença tratada com gel veículo; doença tratada com gel de *L. brasiliense* 0,5%, 1% e 2%. As aplicações dos géis foram realizadas com *microbrush* durante 1 minuto, 2x/dia durante 11 dias. Após este período os animais foram eutanasiados e as maxilas coletadas, fixadas, processadas para inclusão em parafina e coradas com Hematoxilina e Eosina. A região periodontal foi analisada mediante escores quanto à perda óssea alveolar nas regiões mesial, distal e de furca. Os resultados mostraram que os animais tratados com gel de *L. brasiliense* 1% apresentaram menor destruição do osso alveolar. O gel de 0,5% parece ter um efeito menor que o desejável e, a concentração de 2% parece ultrapassar a ação benéfica e apresentar um efeito negativo. Conclui-se que o gel de *L. brasiliense* 1% apresentou o melhor resultado na evolução da doença periodontal, atenuando os seus efeitos deletérios.

### **Introdução**

A doença periodontal é uma infecção que provoca inflamação dos tecidos de proteção e suporte dentário, sendo a principal causa de perda dentária em adultos (Kinane et al., 2017). O *Limonium brasiliense* é uma planta que possui atividade anti-inflamatória (Moura et al., 1985), antioxidante (Murray et al., 2004) e, mais recentemente, foi demonstrado, em estudo *in vitro*, sua ação inibitória sobre a adesividade de *Porphyromonas gingivalis*, a principal bactéria causadora da doença periodontal, com as células epiteliais humanas da linhagem KB.

### **Materiais e métodos**

## Experimentação animal e estudo histológico

Todos os procedimentos em animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA No 8930141118) da Universidade Estadual de Maringá (UEM) e estão de acordo com o artigo 8 da Lei Federal 11.794/2008. Os animais foram divididos em sete grupos de acordo com o tratamento: controle negativo, sem indução da doença; doença periodontal sem tratamento; doença tratada com clorexidina 0,12%; doença tratada com gel veículo; doença tratada com gel de *L. brasiliense* 0,5%, 1% e 2%.

A doença foi induzida em ratos Wistar adultos por meio da colocação de ligadura de algodão no sulco gengival nos segundos molares superior, a ligadura permaneceu no local durante todo o período experimental. Durante o tratamento a aplicação do gel foi feita, utilizando um aplicador tipo *microbrush* durante um minuto, duas vezes ao dia, até o dia da eutanásia, que ocorreu no décimo primeiro dia.

Após este período os animais foram eutanasiados e as maxilas foram fixadas em paraformaldeído, descalcificadas e processadas para inclusão em parafina. Foram feitos cortes seriados de 7µm de espessura, corados com hematoxilina e eosina, depois analisados. Os escores empregados para avaliação da destruição do osso alveolar foram: 1- ausência de destruição; 2 - destruição até terço médio da raiz; 3 - destruição até terço apical da raiz e 4 - destruição completa

## Resultados e Discussão

Observou-se que a ligadura promoveu em todos os grupos, o desenvolvimento de doença periodontal, caracterizada por inflamação e comprometimento do periodonto de inserção. A perda da inserção ocorreu paralelamente às variações na quantidade de osso alveolar, cuja destruição evoluiu desde a redução parcial na altura das cristas até o desaparecimento completo. Um aumento na atividade osteoclástica também foi observado, ainda, defeitos do tipo cratera nas raízes mesial e distal e, as lesões eram preenchidas por células inflamatórias também estavam presentes.

O gel de clorexidina 0,12% não apresentou resultados satisfatórios em relação à prevenção da destruição da crista óssea alveolar nas faces proximais, entretanto apresentou um escore predominantemente moderado, na resposta inflamatória, nas regiões proximais.

O grupo veículo desenvolveu maior reabsorção óssea e inflamação quando comparado aos outros grupos, o que pode ser atribuído, em parte, à metodologia de aplicação do gel que, foi feito por meio de *microbrush* que devido a sua estrutura, pode ter apresentado efeitos semelhantes ao de uma escovação traumática em humanos, lesionando mecanicamente os tecidos periodontais (Sanz et al., 2015), aumentando a resposta inflamatória.

A concentração na qual se obteve o melhor resultado foi aquela com 1% do extrato. Na concentração de 2% foram encontrados resultados menos satisfatórios, parece ultrapassar a ação benéfica e apresentar um efeito negativo. O gel de *Limonium* 0,5% parece ter um efeito menor do que o desejável na doença. A redução da inflamação reflete uma redução na sinalização para a diferenciação dos monócitos circulantes, em osteoclastos

(Menezes et al., 2005), contribuindo desta forma, para uma menor destruição do osso alveolar.

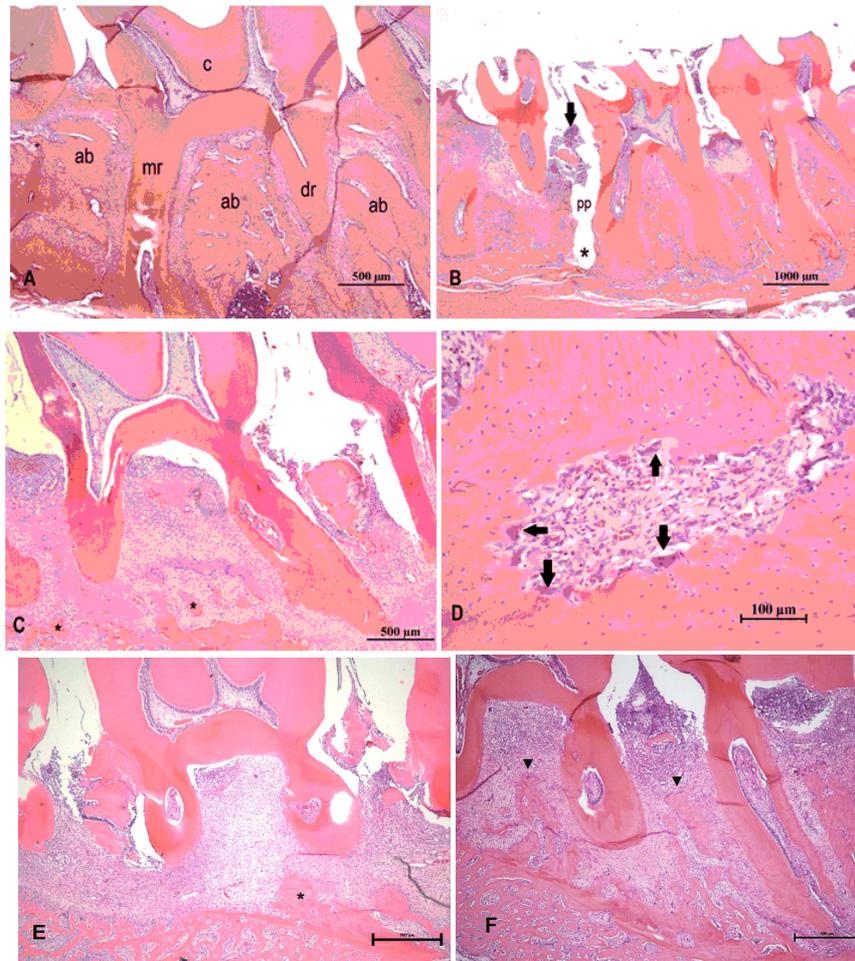


Figura 1. Fotomicrografia da maxila de ratos Wistar. Em (A), o controle negativo, sem ligadura e (B, C, D,E,F) após colocação de ligadura de algodão no segundo molar superior, para indução de doença periodontal. Em (A) observar na região do segundo molar a integridade das cristas alveolares (ab) adjacentes às raízes mesial (mr) e distal (dr). Em (B), no grupo sem tratamento, observar a ulceração na papila interdental (seta), desenvolvimento de bolsa periodontal (pp) e reabsorção da crista alveolar na distal (\*). Em (C), o segundo molar, após tratamento com gel de *Limonium* 0,5%, observar o desaparecimento do periodonto de inserção, com intensa reabsorção do osso alveolar (\*). Em (D), um detalhe do osso alveolar durante a reabsorção, com grande quantidade de osteoclastos (seta). Em (E), o segundo molar, após tratamento com gel de *Limonium* 2%, observar a intensa reabsorção da crista alveolar (\*), com reabsorção completa da crista óssea. Em (F), o segundo molar, após tratamento com gel de *Limonium* 1%, observar a reabsorção do osso até terço médio da raiz (cabeça de seta), sendo assim, menor quando comparado aos outros grupos. Coloração: hematoxilina e eosina.

## Conclusões

Os resultados demonstram um efeito positivo do gel de *Limonium brasiliense* 1% no desenvolvimento da doença, diminuindo a destruição do osso alveolar. Mesmo não inibindo satisfatoriamente o desenvolvimento da doença periodontal. Este estudo mostrou que o gel de *Limonium brasiliense* 1% apresentou melhor resultado quanto à redução da intensidade da destruição do osso alveolar e inflamação, na doença periodontal induzida por ligadura. A clorexidina 0,12% não foi efetiva na prevenção.

## Agradecimentos

Ao programa PIBIC e ao financiador CNPq pela oportunidade de estudo. À minha orientadora Luzmarina Hernandez pelos ensinamentos, paciência e por ser presente sempre. À aluna de mestrado Gislane Alves, a qual acompanhei durante o projeto, pela dedicação, companheirismo, ensinamento.

## Referências

KINANE DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. **Nat Rev Dis Primers**. 2017 Jun; 22;3:17038.

MENEZES, AMA, Rocha FAC, Chaves HV, Carvalho CBM, Ribeiro RA, Brito GAC. Effect of Sodium Alendronate on Alveolar Bone Resorption in Experimental Periodontitis in Rats. **Journal of Periodontology**. 2005 Nov; 76(11), 1901–1909.

MOURA TFAL, Schenkel EP, Schapoval EES, Simões CMO, Santos RI. Estudos farmacológicos preliminares das raízes do *Limonium brasiliense* (Boiss. Kuntze-Plumbaginaceae (Baicuru)). **Caderno de farmácia**. 1985;1(1):45-54

MURRAY AP, Rodriguez S, Frontera MA, Tomas MA, Mulet MC. Antioxidant metabolites from *Limonium brasiliense* (Boiss.) Kuntze. **Z Naturforsch C J Biosci**. 2004;59(7-8):477-480.

SANZ M, Bäumer A, Buduneli N, Dommisch H, Farina R, Kononen E, Linden G, Meyle J, Preshaw M, Quirynen M, Roldan S, Sanchez N, Sculean A, Slot ED, Trobelli L, West N, Winkel, E. Effect of professional mechanical plaque removal on secondary prevention of periodontitis and the complications of gingival and periodontal preventive measures. **J Clin Periodontol**. 2015 Apr; 42 Suppl 16, S214-20