

# EFEITO DA TERAPIA FOTODINÂMICA NO PROCESSO INFLAMATÓRIO APÓS TRATAMENTO DE PERIODONTITE INDUZIDA EM RATOS

Priscila Ferreira Chaves e Martha Simões Ribeiro  
Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN

## INTRODUÇÃO

A periodontite é uma doença inflamatória crônica dos tecidos de sustentação dos dentes, e é causada por microrganismos residentes no biofilme subgengival [1]. Tais microrganismos liberam produtos que desencadeiam a produção de mediadores químicos inflamatórios como a IL-1, TNF $\alpha$ , IL6, PGE2, que terão relação com a destruição progressiva dos tecidos periodontais [2]. O tratamento convencional da doença periodontal é realizado através da raspagem e alisamento coronário radicular (RAR), removendo mecanicamente o biofilme subgengival. A terapia fotodinâmica (PDT) associa uma fonte de luz e um fotossensibilizador e vem sendo utilizada no intuito de promover a redução microbiana em doenças infecciosas [3]. Devido à sua ação antimicrobiana, a PDT vem sendo administrada como coadjuvante ao tratamento convencional da doença periodontal, buscando uma melhora dos resultados terapêuticos [3].

## OBJETIVO

Realizar uma avaliação histológica e imunohistoquímica, no intuito de analisar o efeito da terapia fotodinâmica na inflamação causada pela doença periodontal, mensurando assim sua eficiência como método terapêutico coadjuvante após indução da periodontite.

## METODOLOGIA

Foram utilizados 30 ratos Wistar de 300g. Os mesmos foram anestesiados e submetidos à

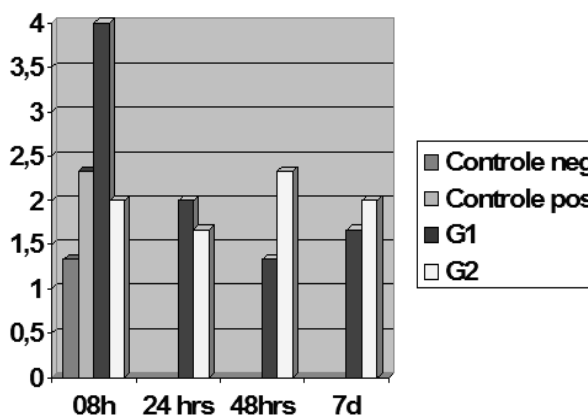
indução da periodontite por ligadura. Adaptou-se um fio de sutura de algodão ao redor do segundo molar superior esquerdo. As ligaduras permaneceram por 7 dias, para então serem removidas. No dia do tratamento os animais foram divididos em quatro grupos: grupo 1 (G1) - os animais foram tratados somente com RAR, grupo 2 (G2) - os animais foram tratados com RAR juntamente com a PDT, grupo controle positivo (sem doença) e grupo controle negativo (com doença, sem tratamento). Para avaliação do processo inflamatório, os ratos dos grupos G1 e G2 foram sacrificados em quatro momentos: 8h, 24h, 48h e 7 dias. Os animais do grupo G1 foram tratados com RAR, utilizando cureta mini-five. Os ratos do grupo G2 foram tratados com RAR e PDT, onde se utilizou o fotossensibilizador Azul de Metileno (MB) a 100 $\mu$ M com laser a 0,1W de potência e fluência de 15J/cm<sup>2</sup>. Os ratos foram sacrificados em uma câmara de CO<sub>2</sub>, suas hemi-maxilas esquerdas foram removidas, fixadas em paraformoldeído a 4% e seguiram procedimento de rotina para a preparação das lâminas histológicas. Realizou-se avaliação através de microscópio de luz com retículo acoplado. Foram analisadas a região interdental, entre o primeiro molar e segundo molar superior, sendo que a mesma foi dividida em três terços. Foram dados escores de 1 a 4 para a avaliação do infiltrado inflamatório. O escore 1 correspondente a 1/3 do tecido com infiltrado inflamatório, o escore 2 corresponde a 2/3 e o escore 3 com 3/3 e escore 4 a necrose do tecido. Foi utilizado o teste estatístico de Kruskal-Wallis com nível de significância de 5% para comparação entre

os grupos. Para a realização da imunohistoquímica, o mesmo padrão de confecção das lâminas foi efetuado, porém, após reidratação, elas foram imersas em solução de etanol 95% e hidróxido de amônio a 10%. As lâminas foram lavadas com TBS-T (Tampão - Tris salina com Tween 20). A recuperação antigênica foi realizada por meio da imersão das lâminas em uma solução de tampão citrato de sódio, seguido por resfriamento a temperatura ambiente. Depois foi realizado o bloqueio da avidina/biotina com uma clara de ovo em 100 ml de TBS + Citrato de Sódio. Em seguida, foram incubadas em solução de leite desnatado a 5% em 100 ml de TBS. Neste ponto, as seções teciduais foram submetidas à incubação do anticorpo primário anti-interleucina 1. Posteriormente foi realizado o bloqueio da peroxidase endógena com peróxido de hidrogênio a 3%. Seguiu-se a incubação com anticorpo biotilado a temperatura ambiente. Então, os cortes foram incubados com anticorpo terciário. A reação das lâminas foi revelada com uso de solução cromógena DAB e contracolorado com hematoxilina de Maye. A desidratação foi realizada com a passagem das lâminas em cadeias crescentes de etanol-água e a diafanização com séries de xilol. A montagem das lâminas foi feita com Permount.

## RESULTADOS

Os resultados apresentados na Figura 1, apresentam no grupo G1, um grande aumento do infiltrado inflamatório no momento de 8h, inclusive se comparado ao grupo controle positivo (com doença periodontal). Não ocorrem diferenças significativas entre os momentos de 24h, 48h e 7 dias. No grupo G2 podem-se visualizar níveis constantes entre os diferentes momentos do experimento, sem nenhuma diferença significativa entre os resultados, apesar do baixo índice de inflamação. Só ocorrem diferenças entre o grupo G1 e G2 nos momentos de 8h e 48h, onde o grupo G2

apresenta menor infiltrado inflamatório em relação ao grupo G1.



**Figura 1** - Média do infiltrado inflamatório nos grupos experimentais. As variâncias são indicadas pelo método de Kruskal – Wallis ( $p < 0,44$ ).

Conclui-se que a terapia fotodinâmica como coadjuvante à terapia periodontal mostrou um menor nível de inflamação, quando comparada ao tratamento convencional.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1]. Wolff, L., G. Dahlen, and D. Aeppli, Bacteria as risk markers for periodontitis. *J Periodontol*, 1994. 65(5 Suppl): p. 498-510.
- [2]. Ulker, A.E., et al., The evaluation of cystatin C, IL-1beta, and TNF-alpha levels in total saliva and gingival crevicular fluid from 11- to 16-year-old children. *J Periodontol*, 2008. 79(5): p. 854-60.
- [3]. de Almeida, J.M., et al., Influence of photodynamic therapy on the development of ligature-induced periodontitis in rats. *J Periodontol*, 2007. 78(3): p. 566-75.

## APOIO FINANCEIRO AO PROJETO

CNPq e FAPESP