



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE ODONTOLOGIA

LUCAS DAYLOR AGUIAR DA SILVA

**INFLUÊNCIA DO CINAMALDEÍDO SOBRE A REABSORÇÃO ÓSSEA
ALVEOLAR E A PRODUÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO SALIVAR EM RATOS
COM PERIODONTITE INDUZIDA POR LIGADURA**

São Luís

2021

LUCAS DAYLOR AGUIAR DA SILVA

**INFLUÊNCIA DO CINAMALDEÍDO SOBRE A REABSORÇÃO ÓSSEA ALVEOLAR E A
PRODUÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO SALIVAR EM RATOS COM PERIODONTITE
INDUZIDA POR LIGADURA**

Trabalho de conclusão de curso, apresentado ao Curso de Odontologia da Universidade Federal do Maranhão como pré-requisito para obtenção do grau de Cirurgião-Dentista.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Luciana Salles Branco de Almeida.

SÃO LUÍS
2021

Silva, Lucas Daylor Aguiar da.

Influência do cinamaldeído sobre a reabsorção óssea alveolar e a produção de óxido nítrico salivar em ratos com periodontite induzida por ligadura / Lucas Daylor Aguiar da Silva. – 2021.

53 f.

Orientador(a): Luciana Salles Branco de Almeida.

Curso de Odontologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2021.

1. Cinamaldeído. 2. Inflamação. 3. Óxido Nítrico. 4. Periodontite. 5. Saliva. I. Almeida, Luciana Salles Branco de. II. Título.

Da Silva, LDA. **Influência do Cinamaldeído sobre a Reabsorção Óssea Alveolar e a Produção de Óxido Nítrico Salivar em Ratos Com Periodontite Induzida por Ligadura.** Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado ao Curso de Odontologia da Universidade Federal do Maranhão como pré-requisito parcial para obtenção do grau de Cirurgião-Dentista.

Monografia apresentada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Luciana Salles Branco de Almeida
(Orientadora)

Profa. Dra. Liana Linhares Lima
(Titular)

Profa. Dra. Adriana de Fátima Vasconcelos Pereira
(Titular)

Prof. Dr. Bruno Braga Benatti
(Suplente)

Dedico este Trabalho de Conclusão de Curso aos meus queridos avós Josefa Chaves Aguiar (*in memoriam*) e Antonio Carlos Aguiar (*in memoriam*), meus maiores incentivadores desde o início.

AGRADECIMENTO

Agradeço a Deus, primeiramente, que me deu força para concluir mais esta etapa de minha vida e esteve comigo em todos os momentos.

Aos meus pais Luis Augusto da Silva e Marinalva Chaves Aguiar que sempre estiveram ao meu lado me apoiando ao longo de toda a minha trajetória, principalmente financeiramente.

Aos meus irmãos Guto e Skarlett pela amizade e atenção dedicadas quando sempre precisei.

À minha tia, Neusa Maria, por demonstrar muita preocupação comigo e por todos os carinhos recebidos.

Às amigas que o IFMA me deu, Ana Beatriz Melo, Jessica Pereira, Larissa Mendes (futura colega de profissão), Maqcielle Lopes e Mirela Passos, por me proporcionarem nesses oito anos de amizade, as melhores gargalhadas e por sempre encherem meu coração de felicidade.

Aos meus amigos de curso, Jessilene Ribeiro, Rosane Lago, Gleiciane Araujo, Gabriel Cutrim, Alan Araujo, Kaytlhen Menezes e Luís Gustavo, por fazerem dos cinco anos de graduação um período mais leve e agradável, vocês se tornaram parte essencial dessa jornada e são exemplos de dedicação e companheirismo.

À minha amiga, Monaliza Ávila, que de uma amizade virtual se tornou real. Agradeço pelo afeto, sinceridade e compreensão. Tu és exemplo de perseverança e de pessoa.

À minha amiga “topa-tudo”, Mirla Brasil, por proporcionar a melhor companhia de viagem na graduação e os melhores passeios de recarregar as energias. Sinônimo de companheirismo e esforço, deixo aqui registrado a minha eterna gratidão a você e a sua família.

À minha amiga, dupla e companheira de faculdade, Cibelly de Fátima Vieira Ferreira, por estar comigo em cada passo na minha formação como Cirurgião-dentista, por vibrarmos juntos cada vitória, por chorar comigo em cada derrota e por sempre está de braços abertos para ajudar-me a levantar. Apesar das grandes diferenças, conseguimos chegar ao equilíbrio e construir mais que uma relação de colegas de faculdade, construímos um vínculo de amizade forte e sólido. Deixo aqui registrado a minha gratidão.

À minha Psicóloga, Dra. Raissa Moreira Cunha, que no momento mais difícil da minha vida me deu a mão, sem querer nada em troca, e ajudou a cuidar da minha saúde mental. Sinônimo de profissionalismo e empatia.

A todos os meus professores desta Universidade pelo carinho e ensinamento que foram imprescindíveis para o meu crescimento profissional e pessoal.

À minha Orientadora, Profa. Dra. Luciana Salles Branco de Almeida, por sempre estar presente ao longo desses cinco anos de graduação e por ser dona dos melhores conselhos. Obrigado por receber-me de braços abertos e por ter apresentado-me o mundo da periodontia. Agradeço por ter acolhido-me assim como se acolhe um filho.

Aos membros da banca, Profa. Dra. Liana Linhares Lima, Profa. Dra. Adriana de Fátima Vasconcelos Pereira e Prof. Dr. Bruno Braga Benatti, por sua disponibilidade e sugestões para construção e aperfeiçoamento deste trabalho.

A todo o grupo de pesquisa pela sincronia, dedicação e paixão pela arte de pesquisar.

À minha escola do ensino fundamental, Unidade Integrada Pedro Álvares Cabral, por me ensinar desde cedo que a educação abre portas e que esta deixaria meus sonhos mais próximos de serem concretizados.

À minha escola do ensino médio, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão, por proporcionar-me a primeira experiência como pesquisador.

À Universidade CEUMA pela parceria e por disponibilizar a sua infraestrutura para realização desta pesquisa.

Ao Programa FOCO pela concessão de bolsa pelo Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC-UFMA).

À Universidade Federal do Maranhão por proporcionar-me uma formação de qualidade, em especial à Pró-reitoria de Assistência Estudantil por garantir a minha permanência na universidade ao longo desses cinco anos.

“Você não pode parar as ondas, mas pode aprender a surfar” (Jon Kabat-Zinn)

SUMÁRIO

1. REFERENCIAL TEÓRICO.....	9
2. ARTIGO CIENTÍFICO	13
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	39
REFERÊNCIAS	40
ANEXO	45
ANEXO A – NORMAS DA REVISTA SOBRAPE	45
ANEXO B – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA E USO DE ANIMAIS	51
ANEXO C – TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO NA BIBLIOTECA	53

1. REFERENCIAL TEÓRICO

A doença periodontal representa um grande problema de saúde pública (KNIGHT; MURRAY THOMSON, 2018). Proporciona um impacto negativo na qualidade de vida relacionada à saúde bucal, por causar prejuízo na função do sistema estomatognático e na estética do indivíduo (PAPAPANOU; SUSIN, 2017; PAPAPANOU et al., 2018). Atualmente, pode ser considerada a principal causa da perda dentária no mundo (CAFIERO et al., 2021), aumentando coletivamente os custos com cuidados de saúde (CHAPPLE; GENCO, 2013; TONETTI; VAN DYKE, 2013).

A periodontite é uma doença inflamatória crônica, multifatorial (PAPAPANOU et al., 2018) e de alta prevalência (SANZ et al., 2018), induzida por um biofilme subgengival disbiótico que leva à destruição das estruturas de suporte dos dentes (DARVEAU, 2010; HAJISHENGALLIS, 2014), podendo causar perda dental (PAPAPANOU et al., 2018). É considerada um fator modificador da saúde sistêmica (HOLMER et al., 2018; SHEARER et al., 2018). A sua progressão depende das reações imunes e inflamatórias do hospedeiro frente ao desafio microbiano do biofilme dental (PAGE, 1991; PAGE; KORNMAN, 1997; SOCRANSKY et al., 2000; LAMONT; KOO; HAJISHENGALLIS, 2018).

A periodontite apresenta característica complexa que envolve várias vias biológicas (YOSHIE et al., 2007). Sendo assim, a disbiose da microbiota periodontal provocada por uma alteração na abundância relativa de componentes individuais da comunidade bacteriana, em comparação com sua abundância na saúde, leva à mudança no *crosstalk* microbiano do hospedeiro, suficiente para mediar a resposta imunoinflamatória (ABUSLEME et al., 2013). O hospedeiro reage aos patógenos bacterianos liberando grupo de citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas (RAMADAN et al., 2020) e óxido nítrico (NO) (DI BENEDETTO et al., 2013; WANG; HUANG; HE, 2019).

Em reação às células ativadas, macrófagos e linfócitos produzem metaloproteinases de matriz e fatores inflamatórios, como a interleucina-1 e o fator de necrose tumoral, que participam da destruição do tecido periodontal (PAGE, 1991; NĘDZI-GÓRA; GÓRSKA; GÓRSKI, 2020). O óxido nítrico medeia os efeitos patológicos dos lipopolissacarídeos, da interleucina-1, do fator de necrose tumoral e de outras citocinas (DO et al., 2013). Dada a associação entre estas citocinas pró-inflamatórias no desenvolvimento da periodontite, o NO está envolvido na progressão da periodontite pela modulação da ação dessas e de outras citocinas (DO et al., 2013). Portanto, muitos mediadores inflamatórios são considerados cruciais no desenvolvimento da doença periodontal, sendo o NO um fator inflamatório relevante dessa doença (PACHER; BECKMAN; LIAUDET, 2007).

O NO é um radical livre gasoso sintetizado a partir da L-arginina por meio da ação de isoenzimas, globalmente denominadas NO sintases (NOS) (UĞAR-ÇANKAL; OZMERIC, 2006). Este radical medeia a ação citotóxica contra patógenos microbianos (ABUSLEME et al., 2013) e está intimamente relacionada às características fisiopatológicas de doenças inflamatórias, como a periodontite (UĞAR-ÇANKAL; OZMERIC, 2006). Por outro lado, em quantidades elevadas localmente, o NO excede a ação citotóxica contra patógenos microbianos e induz a liberação de moléculas pró-inflamatórias, desregulando o equilíbrio da resposta imune e levando à destruição do tecido periodontal (KENDALL; MARSHALL; BARTOLD, 2001; BATISTA et al., 2002; OZER et al., 2011; SCAREL-CAMINAGA et al., 2017). Hodiernamente, sabe-se que o NO tem uma participação importante na regulação do metabolismo ósseo, atuando diretamente sobre células osteoclásticas (CHAE et al., 1997; AMBE et al., 2016).

Alguns mediadores inflamatórios associados à doença periodontal têm sido investigados como biomarcadores em tecidos e fluidos biológicos, como a saliva (KINNEY; RAMSEIER; GIANNOBILE, 2007; ZHANG et al., 2016; CHEN et al., 2019). A saliva é um biofluido facilmente acessível que contém uma série de proteínas importantes que são produzidas localmente ou derivadas dos leitos vasculares nos tecidos gengivais (MILLER et al., 2010), originadas do hospedeiro e de bactérias (CUEVAS-CÓRDOBA; SANTIAGO-GARCÍA, 2014). Desse modo, a saliva tornou-se uma ferramenta emergente para a avaliação diagnóstica de várias doenças bucais e sistêmicas, principalmente a doença periodontal (KINNEY; RAMSEIER; GIANNOBILE, 2007; GIANNOBILE et al., 2009). Ademais, uma série de biomarcadores promissores já foram identificados na saliva que se correlacionam com os parâmetros clínicos da periodontite (MILLER et al., 2010).

Biomarcadores são substâncias usadas como indicadores de processos biológicos normais, processos patogênicos ou respostas farmacológicas a uma intervenção terapêutica (BIOMARKERS DEFINITIONS WORKING GROUP., 2001; LEE et al., 2012). Os biomarcadores salivares podem ser potencialmente úteis em combinação e de forma singular para o diagnóstico de doença periodontal (KC; WANG; GALLAGHER, 2020). Os biomarcadores ideais de periodontite devem ser capazes de diagnosticar a presença da doença, refletir a gravidade da mesma, monitorar a resposta da doença ao tratamento e prever o prognóstico/progressão da doença (JI; CHOI, 2015). Uma série de biomarcadores que satisfazem pelo menos um dos quatro requisitos foram identificados na saliva, incluindo o NO (REHER et al., 2007; KHORSAVI SAMANI et al., 2012; SUNDAR et al., 2013; SUKUROGLU et al., 2015). Neste contexto, a análise de NO salivar pode servir para

monitorar a eficácia de uma terapia periodontal (PARWANI; CHITNIS; PARWANI, 2012). O NO tem sido considerado como um importante marcador biológico da doença periodontal (TOCZEWSKA et al, 2020), uma vez que seu nível aumenta na saliva com a progressão da periodontite (WANG; HUANG; HE, 2019).

Modelos animais e culturas de células contribuem com os conhecimentos na periodontia (SFAKIANAKIS; BARR; KREUTZER, 2001; OZ; PULEO, 2011). Embora as células em cultura possam ser utilizadas para estudar processos fisiológicos que ocorrem durante a patogênese da periodontite, a complexa resposta do hospedeiro responsável por essa doença não pode ser reproduzida *in vitro* (OZ; PULEO, 2011). Modelos de periodontite induzida por ligadura em ratos têm sido comumente usados para investigar os mecanismos da doença periodontal e testar o potencial de compostos farmacológicos (LI; AMAR, 2007; OZ; PULEO, 2011; ABE et al., 2012). Com este modelo, é possível iniciar a doença em um momento conhecido com uma sequência previsível de eventos culminando em perda óssea alveolar em poucos dias (LI; AMAR, 2007; GRAVES et al., 2008; ABE et al., 2012).

As alterações histopatológicas da periodontite humana podem ser replicadas adequadamente em um modelo animal usando estímulos periodontais locais (ACHONG et al., 2003). Este modelo, estimula um grande acúmulo de biofilme, com composição microbiana variada e capaz de estimular várias cascatas da resposta imunoinflamatória (incluindo a produção de NO), resultando em sintomas de doença semelhantes aos observados em um quadro clínico de periodontite humana, como migração epitelial apical e perda óssea (KLAUSEN, 1991; DE MOLON et al., 2016).

O tratamento convencional da doença periodontal, não-cirúrgico ou cirúrgico, geralmente apresenta bons resultados em relação aos parâmetros clínicos e ao controle da reabsorção óssea alveolar, contudo, a manutenção de tais resultados depende, substancialmente, do nível de higiene bucal do paciente (TEUGHELS et al., 2014; KINANE; STATHOPOULOU; PAPAPANOU, 2017). No entanto, alguns pacientes não respondem de forma adequada às terapias convencionais, mesmo com bons hábitos de higiene bucal, sugerindo que uma modulação da resposta imunoinflamatória local com utilização de fármacos seja necessária (BARTOLD; VAN DYKE, 2017).

A doxiciclina em dose subantimicrobiana tem sido sugerida como moduladora da resposta do hospedeiro, entretanto, há um nível insuficiente de evidência para indicar antimicrobianos como moduladores da resposta do hospedeiro na periodontite (MANRESA et al., 2011), seja pela resistência bacteriana aos antibióticos, seja pela sua eficácia parcial (KIM; SOH; HEO, 2021). Ademais, os antibióticos podem desencadear infecções

oportunistas por fungos e complicações gastrointestinais (GUENTSCH, 2021). Dessa forma, considerando o crescente problema da resistência bacteriana aos antibióticos, a busca por outras alternativas de fármacos que possam ser utilizados como terapia adjuvante tem sido incentivada (KANWAR; SAH; SURESH, 2017).

Nesse sentido, produtos naturais têm sido extensivamente investigados em busca de uma potencial ação anti-inflamatória e imunomoduladora sobre a reabsorção óssea alveolar que ocorre na periodontite, alguns dos quais vêm demonstrando efeitos promissores em modelos *in vivo* de doença e em estudos clínicos (FREIRES et al., 2018). Sendo assim, os produtos naturais ainda apresentam as melhores opções para encontrar novos agentes/modelos ativos e, quando trabalhados em conjunto com químicos sintéticos e biológicos, oferecem o potencial para descobrir novas estruturas que podem levar a agentes eficazes em uma variedade de doenças humanas (NEWMAN; CRAGG, 2020).

Assim, o cinamaldeído, um óleo essencial extraído de plantas do gênero *Cinnamomum*, Ordem *Magnoliales*, Família *Lauraceae* (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002), vem sendo investigado como terapia antimicrobiana e aplicações médicas em produtos para a saúde (VASCONCELOS; CRODA; SIMIONATTO, 2018). Este fármaco apresenta propriedades anti-inflamatórias e imuno-reguladoras *in vitro* e em modelos animais, incluindo modulação da produção de NO (KOH et al., 1998; LIAO et al., 2012; MENDES et al., 2016; CHUNG et al., 2018). Em estudos animais, um estudo sugeriu que o cinamaldeído não apresentou nenhuma toxicidade aguda ou crônica, mutagenicidade, genotoxicidade ou carcinogenicidade (VASCONCELOS; CRODA; SIMIONATTO, 2018).

O efeito *in vivo* do cinamaldeído na reabsorção óssea alveolar em modelo de ligadura em ratos e seu efeito nos mediadores locais da periodontite ainda são desconhecidos. Dessa forma, objetivou-se investigar os efeitos do cinamaldeído no contexto da doença periodontal sobre a reabsorção óssea alveolar inflamatória e o seu impacto sobre o biomarcador NO salivar.

2. ARTIGO CIENTÍFICO

INFLUÊNCIA DO CINAMALDEÍDO SOBRE A REABSORÇÃO ÓSSEA ALVEOLAR E A PRODUÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO SALIVAR EM RATOS COM PERIODONTITE INDUZIDA POR LIGADURA

**Influence of cinamaldehyde on alveolar bone reabsorption and salivary nitric
oxide in rats with ligature-induced periodontitis**

Lucas Daylor Aguiar da Siva¹, Luciana Salles Branco de Almeida^{2*}

¹Acadêmico de Odontologia, Universidade Federal do Maranhão – UFMA.

² Doutora em Odontologia e Professora adjunta do Departamento de Odontologia II da Universidade Federal do Maranhão-UFMA.

Autor para Correspondência

Profa. Dra. Luciana Salles Branco de Almeida

Curso de Odontologia

Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Av. dos Portugueses s/n, Campus Universitário do Bacanga, São Luís – Maranhão,

Brasil. CEP: 65085-580

Tel: (98) 3015-4669

Email: luciana.salles@ufma.br

RESUMO

Objetivo: Avaliar os efeitos do tratamento com cinamaldeído sobre a reabsorção óssea alveolar e a produção de óxido nítrico(NO) salivar em modelo de periodontite induzida por ligadura em ratos. **Material e Métodos:** Ratos Wistar foram submetidos à indução de periodontite pela inserção de uma ligadura em torno do primeiro molar inferior direito. Os animais foram divididos em três grupos experimentais(n=6/grupo): 1-grupo controle(GC): animais sem ligadura tratados com veículo(dimetilsulfóxido 2%); 2-grupo ligadura(GL): animais com ligadura tratados com veículo; 3-grupo ligadura+cinamaldeído(GLC): animais com ligadura tratados com cinamaldeído(50 mg/kg/dia). Os tratamentos ocorreram por gavagem diária por 14 dias. Utilizou-se o método de Griess para avaliar a produção de NO. A análise da reabsorção óssea foi realizada por meio do método morfométrico, levando-se em consideração a distância entre junção cimento-esmalte e a crista óssea alveolar, utilizando-se inclinação radicular por lingual. Para análise estatística, utilizou-se teste ANOVA e de Tukey, considerando-se nível de significância de 5%. **Resultados:** Observou-se redução da produção do NO salivar no GLC quando comparado ao GL, tendo no GC menores concentrações de NO em relação a GL/GLC($P<0,05$). O GLC apresentou perda óssea alveolar reduzida quando comparado com o GL($P<0,05$) e similar ao GC($P>0,05$). O GL apresentou maior perda óssea em relação ao GC($P<0,05$). **Conclusão:** O tratamento com cinamaldeído reduziu a reabsorção óssea alveolar em ratos com periodontite induzida por ligadura e levou à redução da produção de NO salivar, sugerindo uma ação promissora do cinamaldeído sobre o NO, bem como um papel do NO como biomarcador nesse modelo experimental.

Palavras-chave: Periodontite. Inflamação. Óxido Nítrico. Saliva. Perda do Osso Alveolar. Cinamaldeído.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the effects of cinnamaldehyde treatment on alveolar bone resorption and salivary nitric oxide (NO) production in a model of ligature-induced periodontitis in rats. **Material and Methods:** Wistar rats underwent induction of periodontitis by insertion of a ligature around the lower right first molar. The animals were divided into three experimental groups (n = 6 / group): 1) control group (CG): animals without ligature treated with vehicle (dimethyl sulfoxide 2%); 2) ligation group (GL): animals with ligature treated with vehicle; 3) ligature + cinnamaldehyde group (GLC): animals with ligature treated with cinnamaldehyde (50 mg / kg / day). The treatments took place by daily oral gavage for 14 days. The Griess method was used to evaluate the production of NO. The analysis of bone resorption was performed using the morphometric method, taking into account the distance between the cemento-enamel junction and the alveolar bone crest, by the lingual aspect. For static analysis, use the ANOVA and Tukey test, considering the significance level of 5% **Results:** There was a reduction in the production of salivary NO in the GLC when compared to the GL, with no lower GC of NO in relation to the GL / GLC ($P < 0.05$). GLC shows reduced alveolar bone loss when compared to GL ($P < 0.05$) and similar to GC ($P > 0.05$). The GL showed greater bone loss compared to the CG ($P < 0.05$). **Conclusion:** Cinnamaldehyde treatment reduced alveolar bone resorption in rats with ligature-induced periodontitis and led to reduced salivary NO production, suggesting a promising action of cinnamaldehyde on NO, as well as a role for NO as a biomarker in this experimental model.

Keywords: Periodontitis. Inflammation. Nitric Oxide. Saliva. Alveolar Bone Loss. Cinnamaldehyde.

1. INTRODUÇÃO

A periodontite consiste em uma doença inflamatória crônica multifatorial ligada a um biofilme disbiótico que leva à destruição progressiva das estruturas de suporte dos dentes, podendo ocasionar perda dental⁽¹⁾ e estar associada a complicações sistêmicas⁽²⁾. A natureza destrutiva da doença está relacionada às reações imunes e inflamatórias que o indivíduo suscetível apresenta frente aos estímulos nocivos do biofilme bacteriano^(3,4). A resposta imune do hospedeiro reage aos patógenos bacterianos liberando grupo de citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas⁽⁵⁾ e óxido nítrico (NO)⁽⁶⁾. Juntos, tais mediadores desempenham papéis essenciais na destruição do tecido periodontal e, em quantidades excessivas, podem influenciar o processo de reabsorção óssea alveolar⁽⁶⁾.

Alguns mediadores inflamatórios associados à doença periodontal têm sido investigados como biomarcadores em tecidos e fluidos biológicos, incluindo a saliva^(7,8). Biomarcadores são substâncias usadas como indicadores de processos fisiológicos, patológicos ou susceptibilidade a determinado tratamento⁽⁹⁾. Moléculas detectadas em biofluido salivar são consideradas como potenciais biomarcadores de diagnóstico ou prognóstico para uma variedade de condições, incluindo a doença periodontal⁽⁸⁾. A saliva contém biomarcadores específicos para os aspectos fisiológicos únicos da periodontite^(10,11) que incluem mediadores inflamatórios⁽⁷⁾, como o óxido nítrico^(12,13). Neste contexto, a análise de NO salivar pode ser importante para monitorar a eficácia de uma terapia periodontal⁽¹⁴⁾.

O NO é um radical livre produzido a partir da L-arginina por meio da ação de isoenzimas, globalmente denominadas NO sintases (NOS)^(15,16). O NO tem sido considerado como um importante marcador biológico da periodontite⁽¹⁷⁾, uma vez que seu nível aumenta na saliva com a progressão da doença⁽¹³⁾. Hodiernamente, sabe-

se que o NO tem uma participação importante na regulação do metabolismo ósseo, atuando diretamente sobre células osteoclásticas^(18,19).

A incidência global de periodontite tem aumentado nas últimas décadas⁽²⁰⁾. Formas mais avançadas desta doença, relacionada com uma resposta insatisfatória ao tratamento não-cirúrgico/cirúrgico convencional, podem afetar até 11,2% da população adulta⁽²¹⁾. O tratamento convencional da doença periodontal, não cirúrgico ou cirúrgico, comumente apresenta bons resultados⁽²²⁾. A capacidade de manter bons resultados depende basicamente do nível de higiene bucal do paciente^(22,23). Porém, mesmo com bons hábitos de higiene bucal, alguns pacientes não respondem adequadamente às terapias convencionais, indicando que seja necessária uma modulação da resposta imunoinflamatória local⁽²⁴⁾.

Doses subantimicrobianas de doxiciclina foram sugeridas como moduladoras da resposta do hospedeiro, mas não há nível suficiente de evidência para recomendar antimicrobianos como moduladores da resposta do hospedeiro na periodontite⁽²⁵⁾, seja devido à resistência bacteriana aos antibióticos ou pela eficácia parcial⁽²⁶⁾. Além disso, os antibióticos podem causar infecções oportunistas por fungos e complicações gastrointestinais⁽²⁷⁾. Portanto, considerando o aumento da resistência bacteriana aos antibióticos, é importante a busca de outras alternativas medicamentosas que possam ser utilizadas como terapia adjuvante⁽²⁸⁾.

Fármacos com atividade anti-inflamatória e capazes de reduzir a produção de mediadores inflamatórios/biomarcadores de doença periodontal são promissores no controle da reabsorção óssea em modelos experimentais^(29,30). Produtos naturais constituem uma fonte significativa de substâncias que podem ser benéficas no controle de doenças bucais, incluindo a periodontite^(31,32). Nesse sentido, o cinamaldeído, um óleo essencial extraído de plantas do gênero *Cinnamomum Cassia*,

Ordem *Magnoliales*, Família *Lauraceae*⁽³³⁾, destaca-se por apresentar propriedades anti-inflamatórias e imuno-reguladoras, incluindo modulação da produção de NO^(34–37). Além disso, é usado na indústria alimentícia devido à sua fragrância, que pode ser incorporada em diferentes variedades de alimentos, medicamentos e produtos⁽³⁸⁾.

Entre os diversos métodos empregados para simular a periodontite em animais, o modelo mais comumente usado é a indução por ligadura^(39,40). Este modelo, estimula um grande acúmulo de biofilme, resultando em sintomas de doença semelhantes aos observados em um quadro clínico de periodontite humana, como migração epitelial apical e perda óssea alveolar^(39,41). Com este modelo, é possível iniciar a doença em um momento conhecido com uma sequência previsível de eventos culminando em perda óssea alveolar em poucos dias^(42,43).

A ação do cinamaldeído, *in vivo*, sobre a reabsorção óssea alveolar em modelo de ligadura em ratos e seus efeitos nos mediadores locais em periodontite permanece desconhecida. Dessa forma, com o intuito de desvendar as ações anti-inflamatórias do cinamaldeído no contexto da doença periodontal, esta pesquisa buscou avaliar a influência do tratamento com cinamaldeído sobre a reabsorção óssea alveolar e sobre a produção do biomarcador NO na saliva de ratos, utilizando-se o modelo de periodontite induzida por ligadura.

2. MATERIAL E METÓDOS

2.1 Animais

Foram utilizados ratos machos, *Wistar (Rattus norvegicus albinus)*, provenientes do biotério da Universidade CEUMA, com idade de aproximadamente 8 semanas e peso entre 250g e 350g. Os animais receberam ração balanceada e água *ad libitum* durante todo o período em que estiveram acondicionados no biotério. A temperatura

da sala foi mantida a 22°C, sob ciclo de iluminação claro/escuro de 12/12 horas. A manipulação dos animais seguiu as recomendações do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal⁽⁴⁴⁾ e do ARRIVE (*Animals in Research: Reporting In Vivo Experiments*)⁽⁴⁵⁾, garantindo assim, os conceitos éticos e humanitários de utilização de animais. O presente estudo obteve aprovação pela Comissão de Ética No Uso de Animais da Universidade CEUMA, com o protocolo nº. 00136/14.

2.2 Indução da periodontite

Os animais foram anestesiados, por via intramuscular, utilizando soluções de cloridrato de ketamina e cloridrato de xilazina com dosagem de 90 mg/Kg e 10 mg/Kg⁽⁴⁶⁾, respectivamente. Para a indução da periodontite, ligadura com fio de algodão (Corrente 10, Brasil) foi posicionada na margem gengival em torno dos primeiros molares inferiores direitos⁽⁴⁷⁾.

2.3 Caracterização dos grupos experimentais e período experimental

Durante o período experimental, os animais foram randomizados em grupos (n= 6 /grupo) e tratados da seguinte forma:

- Grupo controle (GC): animais sem ligadura recebendo gavagem diária com veículo (Solução de dimetilsulfóxido 2%);
- Grupo ligadura (GL): animais com ligadura recebendo gavagem diária com veículo;
- Grupo ligadura + cinamaldeído (GLC): animais com ligadura recebendo gavagem diária com o cinamaldeído 50 mg/kg⁽⁴⁶⁾. O cinamaldeído foi obtido comercialmente da Sigma-Aldrich® (St. Louis, EUA).

Após 14 dias da indução da doença periodontal, coletou-se a saliva para avaliação de NO, em seguida, os animais foram eutanasiados. As hemimandíbulas

foram removidas e fixadas em formol a 10% para avaliação da reabsorção óssea alveolar pelo método morfométrico⁽⁴⁸⁾.

2.4 Coleta da saliva

A coleta da saliva dos animais foi realizada com auxílio de uma pipeta. Aplicou-se injeção de pilocarpina 0,6mg/kg⁽⁴⁹⁾ para induzir a salivação, por via intraperitoneal, com os animais previamente anestesiados por ketamina e xilazina, com dosagens de 90 mg/Kg e 10 mg/Kg, respectivamente, por via intramuscular⁽⁴⁶⁾.

Coletou-se 500 µl de fluido salivar. Em seguida, as amostras foram transferidas para tubos e centrifugadas (3000 rpm, 10 minutos), e os sobrenadantes foram armazenados a -80°C até a sua utilização nas avaliações subsequentes⁽⁴⁹⁾.

2.5 Avaliação da concentração de proteínas totais

Esta avaliação foi realizada conforme o método de Bradford⁽⁵⁰⁾, sendo todas as etapas do método feitas em duplicata. Realizou-se uma curva-padrão de albumina. Para o experimento, foi utilizada uma placa de 96 poços. Em cada poço, colocaram-se 25 microlitros de cada amostra (diluição 1:2) e 200 microlitros do reagente de Bradford (diluição 1:4). Incubou-se por 5 minutos, em temperatura ambiente. Em seguida, realizou-se a leitura de absorbância através de um leitor de placas (Microplate reader MB-580, Heales®) a 630 nm.

2.6 Mensuração da produção de NO

A concentração de NO na saliva foi mensurada a partir da produção de NO₂⁻ e NO₃⁻ utilizando-se o reagente de Griess. O reagente é uma mistura de 1:1 de 0,1% de n-1-naftildihidrocloridrato etilenodiamina em 5% de ácido fosfórico e 1% de

sulfanilamida⁽⁵¹⁾. Adicionou-se 50 µl do reagente a 50 µl do sobrenadante da saliva. Após incubação à temperatura ambiente, por 10 minutos, foi realizada a leitura da absorbância por meio de um espectrofotômetro a 550 nm⁽⁵¹⁾. Utilizou-se o Nitrito de sódio (NaNO₂) para curva-padrão⁽⁵¹⁾. Para confecção da placa, as amostras foram transferidas em duplicata, para uma placa de 96 poços⁽⁵¹⁾. Os resultados foram normalizados em relação à concentração de proteínas totais para cada amostra.

2.7 Mensuração da reabsorção óssea alveolar

As hemiarcadas foram mantidas com solução de hipoclorito de sódio 2,5% por 24 horas. Em seguida, todo o tecido remanescente foi retirado das mesmas. Para visualização da junção cimento-esmalte, foi necessário que todas as peças fossem coradas com azul de metileno (1g/100ml) por 1 minuto. Para a avaliação da perda óssea alveolar, foi levada em consideração a distância entre junção cimento-esmalte (JCE) e a Crista Óssea (CO), utilizando a inclinação radicular por lingual⁽⁵²⁾. As mensurações foram obtidas a partir das raízes dos três molares inferiores sendo realizada por apenas um avaliador calibrado e cego em relação aos grupos avaliados⁽⁵³⁾. As hemimandíbulas foram analisadas por meio de uma lupa estereoscópica (uEye®, Alemanha) acoplada a um computador com o *software Ueye Cockpit*. Foi utilizado aumento de 40 vezes em posição sem visualização da superfície oclusal, de forma que as cúspides vestibular e lingual se sobrepussem⁽⁵³⁾.

2.8 Análise Estatística

Para a análise dos dados, foi usado o teste ANOVA unidirecional, seguido pelo teste de Tukey, adotando-se nível de significância de 5%. Utilizou-se o Programa Graph Pad Prism®, versão 7.0.

3. RESULTADOS

3.1 Mensuração da reabsorção óssea alveolar

Quando a reabsorção óssea foi comparada entre os grupos (Figura 1), observou-se uma diferença estatística significativa entre o grupo ligadura (GL) e o grupo ligadura + cinamaldeído (GLC) ($p < 0,05$), mas não entre o grupo ligadura + cinamaldeído (GLC) e o grupo controle (GC) (sem doença) ($p > 0,05$). Assim, o cinamaldeído reduziu a reabsorção óssea alveolar na periodontite.

3.2 Quantificação das proteínas totais na saliva

A Figura 2 mostra a quantidade de proteínas totais nos três grupos, os quais se comportaram de forma semelhante estatisticamente ($P < 0,05$).

3.3 Quantificação de NO na saliva

Ao analisar, comparativamente, a presença de NO na saliva entre os grupos, observou-se uma maior concentração de NO no grupo ligadura. Os animais do grupo ligadura + cinamaldeído apresentaram menor concentração de NO em relação ao grupo ligadura ($P < 0,05$). Observou-se, ainda, que houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre o grupo com doença tratado com cinamaldeído (grupo ligadura + cinamaldeído) e o grupo sem doença (grupo controle) (Figura 3).

4. DISCUSSÃO

No presente estudo, o grupo de animais submetido à indução de periodontite e tratado com cinamaldeído apresentou perda óssea alveolar reduzida quando comparado com o grupo tratado com veículo. Ainda, o tratamento oral com cinamaldeído levou a uma redução significativa sobre a produção de NO na saliva. A

redução dos níveis de NO na saliva após tratamento sugere que o cinamaldeído administrado pode estar modulando a resposta inflamatória local do hospedeiro frente aos estímulos nocivos do biofilme bacteriano. Além disso, os níveis reduzidos de NO no grupo tratado com a substância parecem estar refletindo uma ação positiva do fármaco sobre a reabsorção óssea alveolar no modelo de periodontite induzida por ligadura.

O cinamaldeído tem sido utilizado na indústria alimentícia como revestimento antimicrobiano em frutas⁽⁵⁴⁾. Já foi relatado que este fármaco apresenta propriedades anti-inflamatória e antioxidante⁽⁵⁵⁾, bem como potencial ação no tratamento de isquemia miocárdica^(56,57) e diabetes⁽⁵⁵⁾. Neste estudo, procurou-se observar o efeito do cinamaldeído, *in vivo*, sobre a reabsorção óssea alveolar e a produção de NO local no biofluido salivar em periodontite.

Modelos de periodontite induzida por ligadura vêm sendo utilizados comumente para investigar os mecanismos da doença periodontal e o potencial de novos compostos terapêuticos^(42,43,58,59). Este modelo é uma ferramenta promissora para a pesquisa periodontal experimental⁽⁶⁰⁾. Do mesmo modo que outros experimentos anteriores, neste estudo a doença periodontal induzida e a administração do fármaco ocorreram durante 14 dias^(46,61). Nesse período de tempo, a perda óssea alveolar, o crescimento bacteriano e a inflamação local, que são características marcantes da doença periodontal em seres humanos⁽⁶²⁾, já são reproduzidas com fidelidade^(60,62-64).

No presente estudo, o cinamaldeído apresentou uma boa ação na reabsorção óssea alveolar em periodontite induzida por ligadura em ratos, sendo capaz de diminuir o grau de destruição do tecido ósseo alveolar na presença da doença. O grupo de ratos com a periodontite induzida que foi tratado com o fármaco não apresentou diferença estatística na distância entre junção cimento-esmalte (JCE) e a

Crista Óssea (CO) ao ser comparado com o grupo sem doença. Esses dados vão de encontro com os de Chung et al.⁽⁶⁵⁾, único trabalho que estudou a ação do cinamaldeído, *in vivo*, em modelo de doença periodontal (periodontite induzida por *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* em modelo de camundongo) até o momento. Ademais, Chung et al.⁽⁶⁵⁾, não avaliaram marcadores locais de doença periodontal, portanto os mecanismos *in vivo* em doença periodontal permaneceram desconhecidos no estudo. Assim, esta pesquisa é o primeiro estudo a avaliar a ação farmacológica do cinamaldeído sobre os marcadores locais da periodontite e sobre a reabsorção óssea alveolar no modelo de periodontite induzida por ligadura, o qual reproduz com maior fidelidade as condições ambientais e locais que promovem o desenvolvimento da doença^(9,30,46,52).

Este estudo administrou uma dose de 50mg/kg, enquanto o de Chung et al. (65) usou 400mg/kg. Apesar da dose administrada nesta pesquisa ser 4 vezes menor do que a de Chung et al.⁽⁶⁵⁾, conseguiu-se uma modulação da periodontite no contexto da reabsorção óssea bastante satisfatória. Com isso, é possível supor que os possíveis efeitos adversos que o fármaco pode desencadear será menor. Apesar de que em estudos animais, um estudo sugeriu que o cinamaldeído não apresentou nenhuma toxicidade aguda ou crônica, mutagenicidade, genotoxicidade ou carcinogenicidade⁽⁶⁶⁾, é necessário que novos ensaios de toxicologia e segurança farmacológica sejam realizados.

A concentração de proteína total não apresentou diferença estatística entre os três grupos neste experimento. O resultado demonstrou vantagens de boa seletividade e estabilidade do reagente. Este método é uma tecnologia simples que favorece o diagnóstico de certas doenças relacionadas à alteração do teor de proteínas em fluidos biológicos⁽⁵⁵⁾.

Os animais tratados com o cinamaldeído apresentaram redução no NO salivar, sugerindo um efeito positivo do fármaco. Ademais, vale ressaltar que a ação do cinamaldeído sobre a atividade do NO salivar em modelos *in vivo* de periodontite ainda não tinha sido investigada até o presente momento. A redução da produção de NO em saliva é um dado promissor, pois sugere uma ação local do cinamaldeído. Além disso, a mensuração de NO salivar pode ser utilizada como potencial biomarcador para diagnóstico precoce, monitoramento, prognóstico e progressão da periodontite ou a resposta ao tratamento em modelo animal, cuja validade diagnóstica está relacionada à sensibilidade e especificidade. Os biomarcadores devem, em suma, ser capazes de prever a presença de uma doença ou sua progressão, caso seja um marcador de doença, ou dar indicações sobre o tipo de medicamento e resposta mais adequados, caso seja um marcador de resposta ao tratamento⁽⁶⁷⁾.

Vários estudos têm investigado o NO na saliva como biomarcador da doença periodontal^(68–70). Nesta pesquisa, observou-se que concentrações salivares de NO foram maiores no grupo ligadura (grupo com a doença) do que no grupo controle (grupo sem a doença), o que está de acordo com os estudos de Kendall et al.⁽⁶⁸⁾, Han et al.⁽⁶⁹⁾ e de Poorsattar et al.⁽⁷⁰⁾. Estudos anteriores revelaram que a concentração de NO diminuiu após o tratamento periodontal⁽⁶¹⁾ e que a concentração de NO na saliva aumentava com a progressão da periodontite⁽⁷¹⁾.

O NO participa da modulação dos efeitos patológicos de lipopolissacarídeo (LPS), TNF, IL-1, bem como regula a adesão de leucócitos e células epiteliais, inibe a proliferação de células T e melhora a atividade de células *natural killers* (NK), entre outros processos relacionados ao sistema imunológico⁽⁷¹⁾. Estas citocinas pró-inflamatórias participam da destruição do tecido periodontal⁽⁷²⁾. Nesse contexto, o NO tem múltiplas funções ao ser produzido por neutrófilos, macrófagos e linfócitos,

atuando tanto na eliminação de patógenos presentes no biofilme subgengival quanto na regulação da manutenção e exacerbação da resposta imune e diferenciação de osteoclastos. Portanto, ele atua regulando o processo de reabsorção óssea inflamatória que ocorre na periodontite^(22,24,73-75).

A redução da perda óssea alveolar e a modulação da produção de NO salivar no grupo com ligadura tratado com cinamaldeído observada neste estudo, por si só, sugere que o cinamaldeído seja um potencial agente a ser utilizado como adjunto na terapia periodontal não cirúrgica, além da terapia periodontal de suporte. Portanto, a realização de estudos pré-clínicos toxicológicos e de segurança farmacológica que possam levar à realização de ensaios clínicos randomizados são necessários para testar seu efeito em humanos.

5. CONCLUSÃO

O tratamento com cinamaldeído reduziu a reabsorção óssea alveolar e o NO salivar em periodontite induzida por ligadura em ratos. Os resultados sugerem um efeito positivo do cinamaldeído sobre a resposta imunoinflamatória do hospedeiro, especialmente sobre a via do NO.

AGRADECIMENTOS

Universidade Federal do Maranhão (UFMA), Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC-UFMA), Programa de Pós-Graduação em Odontologia da UFMA (PPGO-UFMA), Universidade Ceuma.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol*. 2018;89(March):S173–82.
2. Papapanou PN, Susin C. Periodontitis epidemiology: is periodontitis under-recognized, over-diagnosed, or both? *Periodontol 2000*. 2017;75(1):45–51.
3. Lamont RJ, Koo H, Hajishengallis G. The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. *Nat Rev Microbiol*. 2018;16(12):745–59.
4. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol 2000*. 1997;14:9–11.
5. Ramadan DE, Hariyani N, Indrawati R, Ridwan RD, Diyatri I. Cytokines and Chemokines in Periodontitis. *Eur J Dent*. 2020;14(3):483–95.
6. Di Benedetto A, Gigante I, Colucci S, Grano M. Periodontal disease: Linking the primary inflammation to bone loss. *Clin Dev Immunol*. 2013;2013.
7. Kinney JS, Ramseier CA, Giannobile W V. Oral fluid-based biomarkers of alveolar bone loss in periodontitis. *Ann N Y Acad Sci*. 2007;1098:230–51.
8. Zhang CZ, Cheng XQ, Li JY, Zhang P, Yi P, Xu X, et al. Saliva in the diagnosis of diseases. *Int J Oral Sci*. 2016;8(3):133–7.
9. Lee A, Ghaname CB, Braun TM, Sugai J V., Teles RP, Loesche WJ, et al. Bacterial and Salivary Biomarkers Predict the Gingival Inflammatory Profile. *J Periodontol*. 2012;83(1):79–89.
10. Mandel ID. The diagnostic uses of saliva. *J Oral Pathol Med*. 1990;19(3):119–25.

11. Giannobile W V., Beikler T, Kinney JS, Ramseier CA, Morelli T, Wong DT. Saliva as a diagnostic tool for periodontal disease: Current state and future directions. *Periodontol 2000*. 2009;50(1):52–64.
12. Abe H, Ishikawa W, Kushima T, Nishimura T, Mori C, Onuki A, et al. Nitric oxide induces vascular endothelial growth factor expression in the rat placenta in vivo and in vitro. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2013;77(5):971–6.
13. Wang Y, Huang X, He F. Mechanism and role of nitric oxide signaling in periodontitis. *Exp Ther Med*. 2019;3929–35.
14. Parwani SR, Chitnis PJ, Parwani RN. Salivary nitric oxide levels in inflammatory periodontal disease - A case-control and interventional study. *Int J Dent Hyg*. 2012;10(1):67–73.
15. Kröncke KD, Fehsel K, Kolb-Bachofen V. Nitric oxide: Cytotoxicity versus cytoprotection - How, why, when, and where? *Nitric Oxide - Biol Chem*. 1997;1(2):107–20.
16. Uğar-Çankal D, Ozmeric N. A multifaceted molecule, nitric oxide in oral and periodontal diseases. *Clin Chim Acta*. 2006;366(1–2):90–100.
17. Toczewska J, Konopka T, Zalewska A, Maciejczyk M. Nitrosative stress biomarkers in the non-stimulated and stimulated saliva, as well as gingival crevicular fluid of patients with periodontitis: Review and clinical study. *Antioxidants*. 2020;9(3).
18. Chae HJ, Park RK, Chung HT, Kang JS, Kim MS, Choi DY, et al. Nitric oxide is a regulator of bone remodelling. *J Pharm Pharmacol*. 1997;49(9):897–902.
19. Ambe K, Watanabe H, Takahashi S, Nakagawa T, Sasaki J. Production and physiological role of NO in the oral cavity. *Jpn Dent Sci Rev*. 2016;52(1):14–21.

20. Dye BA. Global periodontal disease epidemiology. *Periodontol 2000*. 2012;58(1):10–25.
21. Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJL, Marcenes W. Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: A systematic review and meta-regression. *J Dent Res*. 2014;93(11):1045–53.
22. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nat Rev Dis Prim*. 2017;3:1–14.
23. Teughels W, Dhondt R, Dekeyser C, Quirynen M. Treatment of aggressive periodontitis. *Periodontol 2000*. 2014;65(1):107–33.
24. Mark Bartold P, Van Dyke TE. Host modulation: controlling the inflammation to control the infection. *Periodontol 2000*. 2017;75(1):317–29.
25. Manresa C, Sanz-miralles EC, Twigg J, Bravo M. Supportif Periodontal Therapy in adults treated for periodontitis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018;(1):1-.
26. Kim WJ, Soh Y, Heo S-M. Recent Advances of Therapeutic Targets for the Treatment of Periodontal Disease. *Biomol Ther (Seoul)*. 2021 May 1;29(3):263–7.
27. Guentsch A. Antibiotics against Periodontal Biofilms. *Monogr Oral Sci*. 2021;29:119–32.
28. Kanwar I, Sah AK, Suresh PK. Biofilm-mediated Antibiotic-resistant Oral Bacterial Infections: Mechanism and Combat Strategies. *Curr Pharm Des*. 2017;23(14):2084–95.
29. Kirkwood KL, Cirelli JA, Rogers JE, Giannobile W V. Novel host response therapeutic approaches to treat periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2007;43(1):294–315.

30. Freires IA, Santaella GM, de Cássia Orlandi Sardi J, Rosalen PL. The alveolar bone protective effects of natural products: A systematic review. *Arch Oral Biol*. 2018;87(January 2017):196–203.
31. Newman DJ, Cragg GM. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *J Nat Prod*. 2007;70(3):461–77.
32. Cragg M. G, Grothaus G. P, Newman j. D. Impact of Natural Products on Developing New Anti-Cancer Agents. *Chem Rev*. 2009;109:3012–43.
33. Di Stasi LC, Hiruma-Lima CA. Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica. 2nd ed. São Paulo: Editora UNESP; 2002. 1–604 p.
34. Mendes SJF, Sousa FIAB, Pereira DMS, Ferro TAF, Pereira ICP, Silva BLR, et al. Cinnamaldehyde modulates LPS-induced systemic inflammatory response syndrome through TRPA1-dependent and independent mechanisms. *Int Immunopharmacol*. 2016;34:60–70.
35. Koh WS, Yoon SY, Kwon BM, Jeong TC, Nam KS, Han MY. Cinnamaldehyde inhibits lymphocyte proliferation and modulates T-cell differentiation. *Int J Immunopharmacol*. 1998;20(11):643–60.
36. Liao JC, Deng JS, Chiu CS, Hou WC, Huang SS, Shie PH, et al. Anti-inflammatory activities of *Cinnamomum cassia* constituents in vitro and in vivo. *Evidence-based Complement Altern Med*. 2012;2012.
37. Chung J, Kim S, Lee HA, Park MH, Kim S, Song YR, et al. Trans-cinnamic aldehyde inhibits *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* -induced inflammation in THP-1-derived macrophages via autophagy activation. *J Periodontol*. 2018 Oct;89(10):1262–71.

38. Rao PV, Gan SH. Cinnamon: A Multifaceted Medicinal Plant. Evidence-Based Complement Altern Med. 2014;2014:1–12.
39. de Molon RS, Mascarenhas VI, de Avila ED, Finoti LS, Toffoli GB, Spolidorio DMP, et al. Long-term evaluation of oral gavage with periodontopathogens or ligature induction of experimental periodontal disease in mice. Clin Oral Investig. 2016;20(6):1203–16.
40. Hiyari S, Wong RL, Yaghsezian A, Naghibi A, Tetradis S, Camargo PM, et al. Ligature-induced peri-implantitis and periodontitis in mice. J Clin Periodontol. 2018 Jan;45(1):89–99.
41. Klausen B. Microbiological and Immunological Aspects of Experimental Periodontal Disease in Rats: A Review Article. J Periodontol. 1991;62(1):59–73.
42. Abe T, Hosur KB, Hajishengallis E, Reis ES, Ricklin D, Lambris JD, et al. Local Complement-Targeted Intervention in Periodontitis: Proof-of-Concept Using a C5a Receptor (CD88) Antagonist. J Immunol. 2012;189(11):5442–8.
43. Li CH, Amar S. Morphometric, Histomorphometric, and Microcomputed Tomographic Analysis of Periodontal Inflammatory Lesions in a Murine Model. J Periodontol. 2007;78(6):1120–8.
44. BRASIL. Normativas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Conselho Nacional De Controle De Experimentação Animal; 2015. 329 p.
45. Kilkenny C, Browne WJ, Cuthi I, Emerson M, Altman DG. Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. Vet Clin Pathol. 2012 Mar;41(1):27–31.

46. Branco-de-Almeida LS, Franco GC, Castro ML, dos Santos JG, Anbinder AL, Cortelli SC, et al. Fluoxetine Inhibits Inflammatory Response and Bone Loss in a Rat Model of Ligature-Induced Periodontitis. *J Periodontol*. 2012;83(5):664–71.
47. Irie K, Tomofuji T, Tamaki N, Sanbe T, Ekuni D, Azuma T, et al. Effects of ethanol consumption on periodontal inflammation in rats. *J Dent Res*. 2008;87(5):456–60.
48. Vargas-Sanchez PK, Moro MG, Santos FA dos, Anbinder AL, Kreich E, Moraes RM, et al. Agreement, correlation, and kinetics of the alveolar bone-loss measurement methodologies in a ligature-induced periodontitis animal model. *J Appl Oral Sci*. 2017 Oct;25(5):490–7.
49. Romero AC, Ibuki FK, Nogueira FN. Sialic acid reduction in the saliva of streptozotocin induced diabetic rats. *Arch Oral Biol*. 2012;57(9):1189–93.
50. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976 May 7;72(1–2):248–54.
51. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N]nitrate in biological fluids. *Anal Biochem*. 1982;126(1):131–8.
52. Foureaux R de C, Messori MR, de Oliveira LFF, Napimoga MH, Pereira ANJ, Ferreira MS, et al. Effects of Probiotic Therapy on Metabolic and Inflammatory Parameters of Rats With Ligature-Induced Periodontitis Associated With Restraint Stress. *J Periodontol*. 2014;85(7):975–83.
53. Vargas-Sanchez PK, Moro MG, dos Santos FA, Anbinder AL, Kreich E, Moraes RM, et al. Agreement, correlation, and kinetics of the alveolar bone-loss measurement

methodologies in a ligature-induced periodontitis animal model. *J Appl Oral Sci.* 2017;25(5):490–7.

54. Martiñon ME, Moreira RG, Castell-Perez ME, Gomes C. Development of a multilayered antimicrobial edible coating for shelf-life extension of fresh-cut cantaloupe (*Cucumis melo* L.) stored at 4 °C. *LWT - Food Sci Technol.* 2014 May;56(2):341–50.
55. Shan B, Cai Y-Z, Brooks JD, Corke H. Antibacterial properties and major bioactive components of cinnamon stick (*Cinnamomum burmannii*): activity against foodborne pathogenic bacteria. *J Agric Food Chem.* 2007 Jul 11;55(14):5484–90.
56. Dhara L, Tripathi A. Sub-acute toxicological and behavioural effects of two candidate therapeutics, cinnamaldehyde and eugenol, for treatment of ESBL producing-quinolone resistant pathogenic Enterobacteriaceae. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2020 Jun 4;47(6):977–88.
57. Song F, Li H, Sun J, Wang S. Protective effects of cinnamic acid and cinnamic aldehyde on isoproterenol-induced acute myocardial ischemia in rats. *J Ethnopharmacol.* 2013;150(1):125–30.
58. Gyurko R, Siqueira CC, Caldon N, Gao L, Kantarci A, Van Dyke TE. Chronic Hyperglycemia Predisposes to Exaggerated Inflammatory Response and Leukocyte Dysfunction in Akita Mice. *J Immunol.* 2006;177(10):7250–6.
59. Oz HS, Puleo DA. Animal models for periodontal disease. *J Biomed Biotechnol.* 2011;2011.
60. Abe T, Hajishengallis G. Optimization of the ligature-induced periodontitis model in mice. *J Immunol Methods.* 2013;394(1–2):49–54.

61. Chen M, Cai W, Zhao S, Shi L, Chen Y, Li X, et al. Oxidative stress-related biomarkers in saliva and gingival crevicular fluid associated with chronic periodontitis: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol*. 2019;46(6):608–22.
62. O'Boyle C, Haley MJ, Lemarchand E, Smith CJ, Allan SM, Konkell JE, et al. Ligature-induced periodontitis induces systemic inflammation but does not alter acute outcome after stroke in mice. *Int J Stroke*. 2020;15(2):175–87.
63. Matsuda Y, Kato T, Takahashi N, Nakajima M, Arimatsu K, Minagawa T, et al. Ligature-induced periodontitis in mice induces elevated levels of circulating interleukin-6 but shows only weak effects on adipose and liver tissues. *J Periodontal Res*. 2016;51(5):639–46.
64. Campi P, Herrera BS, De Jesus FN, Napolitano M, Teixeira SA, Maia-Dantas A, et al. Endothelial dysfunction in rats with ligature-induced periodontitis: Participation of nitric oxide and cyclooxygenase-2-derived products. *Arch Oral Biol*.
65. Chung J, Kim S, Lee HA, Park MH, Kim S, Song YR, et al. Trans-cinnamic aldehyde inhibits *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*-induced inflammation in THP-1–derived macrophages via autophagy activation. *J Periodontol*. 2018;89(10):1262–71.
66. Vasconcelos NG, Croda J, Simionatto S. Antibacterial mechanisms of cinnamon and its constituents: A review. *Microb Pathog*. 2018 Jul;120:198–203.
67. Cafiero C, Spagnuolo G, Marenzi G, Martuscelli R, Colamaio M, Leuci S. Predictive Periodontitis: The Most Promising Salivary Biomarkers for Early Diagnosis of Periodontitis. *J Clin Med*. 2021 Apr 3;10(7):1488.
68. Kendall H, Marshall R, Bartold P. Nitric oxide and tissue destruction. *Oral Dis*. 2001

Jan;7(1):2–10.

69. Han D-H, Kim M-S, Shin H-S, Park KP, Kim H-D. Association Between Periodontitis and Salivary Nitric Oxide Metabolites Among Community Elderly Koreans. *J Periodontol*. 2013 Jun;84(6):776–84.
70. Poorsattar Bejeh-Mir A, Parsian H, Akbari Khoram M, Ghasemi N, Bijani A, Khosravi-Samani M. Diagnostic Role of Salivary and GCF Nitrite, Nitrate and Nitric Oxide to Distinguish Healthy Periodontium from Gingivitis and Periodontitis. *Int J Mol Cell Med*. 2014;3(3):138–45.
71. Wang Y, Huang X, He F. Mechanism and role of nitric oxide signaling in periodontitis. *Exp Ther Med*. 2019 Sep 25;40(14):2825–9.
72. Nędzi-Góra M, Górski R, Górski B. Is the progression rate of periodontitis related to subgingival biofilm composition or gingival crevicular fluid IL-1 β and MMP-8 concentrations? *Cent J Immunol*. 2020;45(4):425–32.
73. Lappin DF, Kjeldsen M, Sander L, Kinane DF. Inducible nitric oxide synthase expression in periodontitis. *J Periodontal Res*. 2000;35(6):369–73.
74. Batista AC, Silva TA, Chun JH, Lara VS. Nitric oxide synthesis and severity of human periodontal disease. *Oral Dis*. 2002;8(5):254–60.
75. Thomas M V., Puleo DA. Infection, inflammation, and bone regeneration: A paradoxical relationship. *J Dent Res*. 2011;90(9):1052–61.

FIGURAS

Figura 1. Efeito do cinamaldeído sobre a reabsorção óssea alveolar em ratos com doença periodontal induzida por ligadura do grupo controle (GC), grupo ligadura (GL) e grupo ligadura+cinamaldeído (GLC). *** $P < 0,001$.

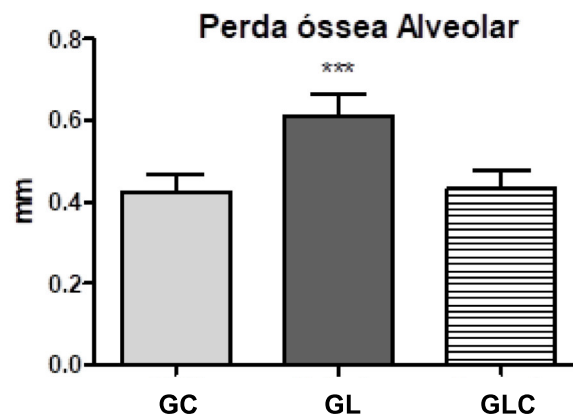


Figura 2. Concentração de proteínas totais ($\mu\text{g/mL}$) na saliva do grupo controle (GC), grupo ligadura (GL) e grupo ligadura+cinamaldeído (GLC).

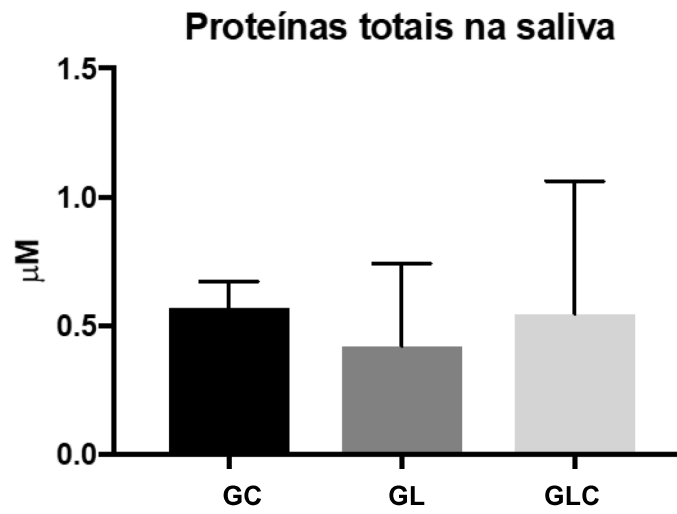
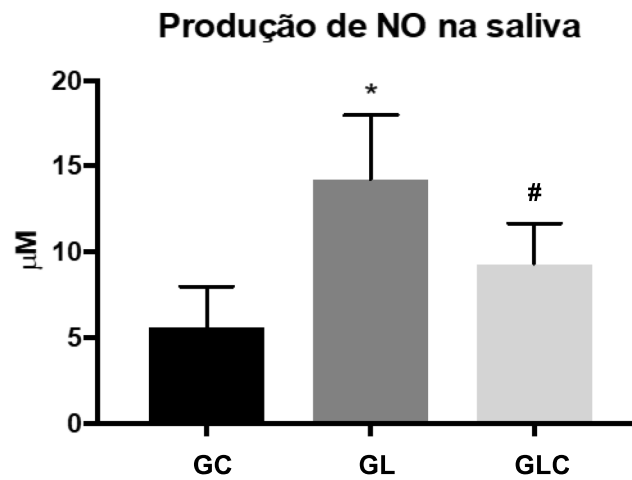


Figura 3. Concentração de NO (μM) na saliva dos animais dos grupos controle (GC), ligadura (GL) e ligadura + cinamaldeído (GLC). * indica que este grupo apresentou diferença estatística em relação ao GC e ao GLC. # indica que este grupo é diferente estatisticamente do GC e do GL.



3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A doença periodontal é desencadeada pela disbiose oral, que leva às respostas imunes do hospedeiro, podendo ocasionar a perda dental. Além disso, ela causa impacto negativo na qualidade de vida relacionada à saúde bucal, por causar prejuízo na função do sistema estomatognático e na estética do indivíduo. Assim, a busca de fármacos que possam modular a resposta imunoinflamatória do hospedeiro na doença periodontal são importantes.

O cinamaldeído reduziu a perda óssea alveolar em ratos com doença periodontal induzida por ligadura no presente estudo. Os dados em saliva sugerem que o NO pode ser um biomarcador de periodontite, o qual se mostrou reduzido com o tratamento com o cinamaldeído e está aumentado na presença da doença.

Os dados da pesquisa mostram que o fármaco estudado apresenta um potencial para ser testado clinicamente como coadjuvante no tratamento da doença periodontal no futuro. Entretanto, precisam-se de novos estudos para avaliar o seu potencial de toxicidade antes do uso clínico em humanos.

REFERÊNCIAS

- ABE, T. et al. Local complement-targeted intervention in periodontitis: proof-of-concept using a C5a receptor (CD88) antagonist. **Journal of immunology** (Baltimore, Md. : 1950), v. 189, n. 11, p. 5442–8, 1 dez. 2012.
- ABE, T.; HAJISHENGALLIS, G. Optimization of the ligature-induced periodontitis model in mice. **Journal of Immunological Methods**, v. 394, n. 1–2, p. 49–54, 2013.
- ABUSLEME, L. et al. The subgingival microbiome in health and periodontitis and its relationship with community biomass and inflammation. **The ISME journal**, v. 7, n. 5, p. 1016–25, maio 2013.
- ACHONG, R. et al. Membrane Type (MT)1-Matrix Metalloproteinase (MMP) and MMP-2 Expression in Ligature-Induced Periodontitis in the Rat. **Journal of Periodontology**, v. 74, n. 4, p. 494–500, abr. 2003.
- BARTOLD, P. M.; VAN DYKE, T. E. Host modulation: controlling the inflammation to control the infection. **Periodontology 2000**, v. 75, n. 1, p. 317–329, 2017.
- BATISTA, A. et al. Nitric oxide synthesis and severity of human periodontal disease. **Oral Diseases**, v. 8, n. 5, p. 254–260, set. 2002.
- BIOMARKERS DEFINITIONS WORKING GROUP. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. **Clinical pharmacology and therapeutics**, v. 69, n. 3, p. 89–95, mar. 2001.
- CAFIERO, C. et al. Predictive Periodontitis: The Most Promising Salivary Biomarkers for Early Diagnosis of Periodontitis. **Journal of clinical medicine**, v. 10, n. 7, 3 abr. 2021.
- CHAPPLE, I. L. C.; GENCO, R. Diabetes and periodontal diseases: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 40, p. S106–S112, abr. 2013.
- CHEN, M. et al. Oxidative stress-related biomarkers in saliva and gingival crevicular fluid associated with chronic periodontitis: A systematic review and meta-analysis. **Journal of clinical periodontology**, v. 46, n. 6, p. 608–622, 2019.
- CHUNG, J. et al. Trans-cinnamic aldehyde inhibits *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* -induced inflammation in THP-1-derived macrophages via autophagy activation. **Journal of Periodontology**, v. 89, n. 10, p. 1262–1271, out. 2018.
- CUEVAS-CÓRDOBA, B.; SANTIAGO-GARCÍA, J. Saliva: a fluid of study for OMICS. **Omics: a journal of integrative biology**, v. 18, n. 2, p. 87–97, fev. 2014.
- DARVEAU, R. P. Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. **Nature reviews. Microbiology**, v. 8, n. 7, p. 481–90, jul. 2010.

- DE MOLON, R. S. et al. Long-term evaluation of oral gavage with periodontopathogens or ligature induction of experimental periodontal disease in mice. **Clinical Oral Investigations**, v. 20, n. 6, p. 1203–1216, 2016.
- DI BENEDETTO, A. et al. Periodontal disease: linking the primary inflammation to bone loss. **Clinical & developmental immunology**, v. 2013, p. 503754, 2013.
- DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2. ed. São Paulo: Editora UNESP, 2002.
- DO, M.-J. et al. Development of animal experimental periodontitis models. **Journal of Periodontal & Implant Science**, v. 43, n. 4, p. 147, 2013.
- FREIRES, I. A. et al. The alveolar bone protective effects of natural products: A systematic review. **Archives of oral biology**, v. 87, p. 196–203, mar. 2018.
- GIANNOBILE, W. V et al. Saliva as a diagnostic tool for periodontal disease: current state and future directions. **Periodontology 2000**, v. 50, p. 52–64, 2009.
- GRAVES, D. T. et al. The use of rodent models to investigate host-bacteria interactions related to periodontal diseases. **Journal of clinical periodontology**, v. 35, n. 2, p. 89–105, fev. 2008.
- GUENTSCH, A. Antibiotics against Periodontal Biofilms. **Monographs in oral science**, v. 29, p. 119–132, 2021.
- HAJISHENGALLIS, G. Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response. **Trends in Immunology**, v. 35, n. 1, p. 3–11, jan. 2014.
- HOLMER, J. et al. Association between periodontitis and risk of Alzheimer's disease, mild cognitive impairment and subjective cognitive decline: A case-control study. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 45, n. 11, p. 1287–1298, nov. 2018.
- JI, S.; CHOI, Y. Point-of-care diagnosis of periodontitis using saliva: technically feasible but still a challenge. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 5, p. 65, 2015.
- KANWAR, I.; SAH, A. K.; SURESH, P. K. Biofilm-mediated Antibiotic-resistant Oral Bacterial Infections: Mechanism and Combat Strategies. **Current pharmaceutical design**, v. 23, n. 14, p. 2084–2095, 2017.
- KC, S.; WANG, X. Z.; GALLAGHER, J. E. Diagnostic sensitivity and specificity of host-derived salivary biomarkers in periodontal disease amongst adults: **Systematic review**. **Journal of clinical periodontology**, v. 47, n. 3, p. 289–308, 2020.
- KENDALL, H.; MARSHALL, R.; BARTOLD, P. Nitric oxide and tissue destruction. **Oral Diseases**, v. 7, n. 1, p. 2–10, jan. 2001.
- KHORSABI SAMANI, M. et al. Introducing cut-points for salivary nitric oxide to distinguish periodontitis from the normal periodontium. **Minerva stomatologica**, v. 61, n. 10, p. 443–8, out. 2012.

KIM, W. J.; SOH, Y.; HEO, S.-M. Recent Advances of Therapeutic Targets for the Treatment of Periodontal Disease. **Biomolecules & Therapeutics**, v. 29, n. 3, p. 263–267, 1 maio 2021.

KINANE, D. F.; STATHOPOULOU, P. G.; PAPAPANOU, P. N. Periodontal diseases. Nature reviews. **Disease primers**, v. 3, p. 17038, 22 jun. 2017.

KINNEY, J. S.; RAMSEIER, C. A.; GIANNOBILE, W. V. Oral fluid-based biomarkers of alveolar bone loss in periodontitis. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1098, p. 230–51, mar. 2007.

KLAUSEN, B. Microbiological and Immunological Aspects of Experimental Periodontal Disease in Rats: A Review Article. **Journal of Periodontology**, v. 62, n. 1, p. 59–73, 1991.

KNIGHT, E. T.; MURRAY THOMSON, W. A public health perspective on personalized periodontics. **Periodontology 2000**, v. 78, n. 1, p. 195–200, 2018.

KOH, W. S. et al. Cinnamaldehyde inhibits lymphocyte proliferation and modulates T-cell differentiation. **International Journal of Immunopharmacology**, v. 20, n. 11, p. 643–660, 1998.

LAMONT, R. J.; KOO, H.; HAJISHENGALLIS, G. The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, n. 12, p. 745–759, 2018.

LEE, A. et al. Bacterial and salivary biomarkers predict the gingival inflammatory profile. **Journal of periodontology**, v. 83, n. 1, p. 79–89, jan. 2012.

LI, C. H.; AMAR, S. Morphometric, histomorphometric, and microcomputed tomographic analysis of periodontal inflammatory lesions in a murine model. **Journal of periodontology**, v. 78, n. 6, p. 1120–8, jun. 2007.

LIAO, J. C. et al. Anti-inflammatory activities of Cinnamomum cassia constituents in vitro and in vivo. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, 2012.

MANRESA, C. et al. Interventions for the maintenance of the dentition in patients treated for periodontal disease. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, 5 out. 2011.

MENDES, S. J. F. et al. Cinnamaldehyde modulates LPS-induced systemic inflammatory response syndrome through TRPA1-dependent and independent mechanisms. **International Immunopharmacology**, v. 34, p. 60–70, 2016.

MILLER, C. S. et al. Current developments in salivary diagnostics. **Biomarkers in medicine**, v. 4, n. 1, p. 171–89, fev. 2010.

NEȢZI-GÓRA, M.; GÓRSKA, R.; GÓRSKI, B. Is the progression rate of periodontitis related to subgingival biofilm composition or gingival crevicular fluid IL-1 β and MMP-8

concentrations? **Central-European journal of immunology**, v. 45, n. 4, p. 425–432, 2020.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of natural products**, v. 83, n. 3, p. 770–803, 2020.

OZ, H. S.; PULEO, D. A. Animal models for periodontal disease. **Journal of biomedicine & biotechnology**, v. 2011, p. 754857, 2011.

OZER, L. et al. Arginine–Nitric Oxide–Polyamine Metabolism in Periodontal Disease. **Journal of Periodontology**, v. 82, n. 2, p. 320–328, fev. 2011.

PACHER, P.; BECKMAN, J. S.; LIAUDET, L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. **Physiological reviews**, v. 87, n. 1, p. 315–424, jan. 2007.

PAGE, R. C. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. **Journal of Periodontal Research**, v. 26, n. 3, p. 230–242, maio 1991.

PAGE, R. C.; KORNMAN, K. S. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. **Periodontology 2000**, v. 14, p. 9–11, 1997.

PAPAPANOU, P. N. et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 45, p. S162–S170, jun. 2018.

PAPAPANOU, P. N.; SUSIN, C. Periodontitis epidemiology: is periodontitis under-recognized, over-diagnosed, or both? **Periodontology 2000**, v. 75, n. 1, p. 45–51, out. 2017.

RAMADAN, D. E. et al. Cytokines and Chemokines in Periodontitis. **European Journal of Dentistry**, v. 14, n. 3, p. 483–495, 2020.

REHER, V. G. S. et al. Nitric oxide levels in saliva increase with severity of chronic periodontitis. **Journal of oral science**, v. 49, n. 4, p. 271–6, dez. 2007.

SANZ, M. et al. Scientific evidence on the links between periodontal diseases and diabetes: Consensus report and guidelines of the joint workshop on periodontal diseases and diabetes by the International diabetes Federation and the European Federation of Periodontology. **Diabetes research and clinical practice**, v. 137, p. 231–241, mar. 2018.

SCAREL-CAMINAGA, R. M. et al. Inducible Nitric Oxide Synthase Polymorphisms and Nitric Oxide Levels in Individuals with Chronic Periodontitis. **International journal of molecular sciences**, v. 18, n. 6, 15 jun. 2017.

SFAKIANAKIS, A.; BARR, C. E.; KREUTZER, D. L. Actinobacillus actinomycetemcomitans-induced expression of IL-1alpha and IL-1beta in human gingival epithelial cells: role in IL-8 expression. **European journal of oral sciences**, v. 109, n. 6, p. 393–401, dez. 2001.

SHEARER, D. M. et al. Periodontitis and multiple markers of cardiometabolic risk in the fourth decade: A cohort study. **Community dentistry and oral epidemiology**, v. 46, n. 6, p. 615–623, 2018.

SOCRANSKY, S. S. et al. Microbiological parameters associated with IL-1 gene polymorphisms in periodontitis patients. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 27, n. 11, p. 810–818, nov. 2000.

SUKUROGLU, E. et al. Using Salivary Nitrite and Nitrate Levels as a Biomarker for Drug-Induced Gingival Overgrowth. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 5, p. 87, 2015.

SUNDAR, N. M. et al. Comparison of the salivary and the serum nitric oxide levels in chronic and aggressive periodontitis: a biochemical study. **Journal of clinical and diagnostic research : JCDR**, v. 7, n. 6, p. 1223–7, jun. 2013.

TEUGHEL, W. et al. Treatment of aggressive periodontitis. **Periodontology 2000**, v. 65, n. 1, p. 107–33, jun. 2014.

TONETTI, M. S.; VAN DYKE, T. E. Periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 40, p. S24–S29, abr. 2013.

UĞAR-ÇANKAL, D.; OZMERIC, N. A multifaceted molecule, nitric oxide in oral and periodontal diseases. **Clinica Chimica Acta**, v. 366, n. 1–2, p. 90–100, 2006.

VASCONCELOS, N. G.; CRODA, J.; SIMIONATTO, S. Antibacterial mechanisms of cinnamon and its constituents: **A review. Microbial pathogenesis**, v. 120, p. 198–203, jul. 2018.

WANG, Y.; HUANG, X.; HE, F. Mechanism and role of nitric oxide signaling in periodontitis. **Experimental and therapeutic medicine**, v. 18, n. 5, p. 3929–3935, nov. 2019.

ZHANG, C.-Z. et al. Saliva in the diagnosis of diseases. **International journal of oral science**, v. 8, n. 3, p. 133–7, 2016.

ANEXO

ANEXO A – NORMAS DA REVISTA SOBRAPE

NORMAS GERAIS



Sociedade Brasileira de Periodontologia

Normas para preparação de artigos

Normas gerais

Os artigos para a publicação na **REVISTA PERIODONTIA** da SOBRAPE deverão ser inéditos e redigidos em português, inglês ou espanhol. Artigos originais de pesquisa terão prioridade para apreciação, mas, artigos de revisão e relatos de casos ou técnicas, de interesse na Periodontia, também poderão ser incluídos. A REVISTA PERIODONTIA reserva todos os direitos autorais do trabalho publicado. As informações contidas nos originais e publicadas na revista são de inteira responsabilidade do(s) autor(es), não refletindo necessariamente, a opinião do Corpo Editorial da revista ou a posição da SOBRAPE.

Envio do Material

Os arquivos abaixo indicados deverão ser submetidos para a Revista Periodontia pelo site www.sobrape.org.br.

- Artigo (Seguir o item ***“Apresentação do material”***)
- Declaração de conflito de interesses (Disponível no site – Formulários)
- Lista de conferência pré-submissão (Disponível no site – Formulários)

Apresentação do material

Os artigos deverão ser digitados em Word para Windows, com fonte Arial, tamanho 12, justificado, em folhas de papel A4 numeradas consecutivamente. Deve ser usado espaço duplo com margem de 2,5 centímetros de todos os lados. As laudas deverão ter em média 1.600 toques (26 linhas de toques), perfazendo no máximo 20 páginas (excluindo gráficos, figuras e tabelas).

Seleção de artigos

A seleção dos artigos enviados à REVISTA PERIODONTIA será realizada pelo Conselho Editorial, que dispõe de autoridade para decidir sobre sua aceitação. No processo de revisão e aprovação, que será realizado em pares, serão avaliados: originalidade, relevância, metodologia e adequação às normas de publicação.

Considerações Éticas

Estudos que envolvam seres humanos deverão estar de acordo com a RESOLUÇÃO 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, e terem sido aprovados pela Comissão de Ética da Unidade /Instituição em que foram realizados. As mesmas considerações são feitas para estudos em animais. ***O número de aprovação do comitê deverá estar presente no artigo.***

Estudos clínicos

A Revista Periodontia estimula que os pesquisadores responsáveis por estudos clínicos façam os registros dos mesmos (www.clinicaltrials.gov).

Relatos de estudos clínicos randomizados devem contemplar os critérios disponíveis em: <http://www.consort-statement.org/>

Estrutura do artigo

O trabalho deverá ser numerado (canto inferior direito) e dividido conforme os itens abaixo:

Primeira página (página 1):

Página de título (Português e Inglês – para artigos redigidos em português; Espanhol e Inglês – para artigos redigidos em espanhol; Inglês – para artigos redigidos em inglês): deverá conter o título do artigo em negrito, o nome dos autores numerados de acordo com a filiação (instituição de origem, cidade, país), a principal titulação dos autores de forma resumida (sem nota de rodapé) e endereço do autor correspondente (**contendo o endereço eletrônico – e-mail**). As demais páginas devem ser na forma de texto contínuo.

Exemplo:

Associação do PDGF e IGF na Regeneração Periodontal – Revisão de Literatura

Fernando Hayashi¹, Fernando Peixoto¹, Chistiane Watanabe Yorioka¹, Francisco Emílio Pustiglioni²

¹Mestrandos em Periodontia da FOU SP

²Professor titular de Periodontia da FOUSP

Segunda página (página 2):

Resumo: deve fornecer uma visão concisa e objetiva do trabalho, incluindo objetivos, material e métodos, resultados e as conclusões. Deve conter no máximo 250 palavras (incluindo pontos, vírgulas etc).

Palavras-chave: são palavras ou expressões que identificam o conteúdo do texto. Para sua escolha, deverá ser consultada a lista “Descritores em Ciências de Saúde – DECS”, da BIREME. Número de palavras-chave: máximo 6.

OBS: Para artigos redigidos em língua estrangeira, Espanhol ou Inglês, o item Resumo não configura item obrigatório.

Terceira página (página 3):

Abstract e Keywords: cópia precisa e adequada do resumo e palavras-chave em Inglês. Deverá ser consultada a lista “Medical subject headings”. Disponível em www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html. Número de Keywords: máximo 6.

Sugere-se para autores não-nativos que procurem assistência com a sua escrita utilizando instituições especializadas como American Journal Experts (<http://www.journalexerts.com>)

Quarta e demais páginas (página 4 e demais):

Introdução: é o sumário dos objetivos do estudo, de forma concisa, citando as referências mais pertinentes. Também deve apresentar as hipóteses em estudo e a justificativa do trabalho.

Material e Métodos: devem ser apresentados com suficientes detalhes que permitam confirmação das observações encontradas, indicando os testes estatísticos utilizados.

Resultados: as informações importantes do trabalho devem ser enfatizadas e apresentadas em sequência lógica no texto, nas figuras e tabelas, citando os testes estatísticos. As tabelas e figuras devem ser numeradas (algarismo arábico) e citadas durante a descrição do texto. Cada tabela deve conter sua respectiva legenda, citada acima, em espaço duplo, em página separada, no final do artigo depois das referências. As figuras também devem estar localizadas em páginas separadas, no final do texto, porém, as legendas devem estar localizadas a baixo.

Discussão: os resultados devem ser comparados com outros trabalhos descritos na literatura, onde também podem ser feitas as considerações finais do trabalho.

Conclusão: deve responder: objetivamente aos questionamentos propostos.

Agradecimentos (quando houver): a assistências técnicas, laboratórios, empresas e colegas participantes.

Referências Bibliográficas: Essa seção será elaborada de acordo com as Normas Vancouver (disponíveis em: www.icmje.org), devendo ser numeradas seqüencialmente conforme aparição no texto. E, as abreviações das revistas devem estar em conformidade com o Index Medicus/ MEDLINE.

Todos os autores da obra devem ser mencionados. Exemplos – Normas **Vancouver**:

Artigo de Revista:

1. Lima RC, Escobar M, Wanderley Neto J, Torres LD, Elias DO, Mendonça JT et al. Revascularização do miocárdio sem circulação extracorpórea: resultados imediatos. Rev Bras Cir Cardiovasc 1993; 8: 171-176.

Instituição como Autor:

1. The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guidelines. Med J Aust 1996; 116:41-42.

Sem indicação de autoria:

1. Cancer in South Africa. [editorial]. S Af Med J 1994; 84-85.

Capítulo de Livro:

1. Mylek WY. Endothelium and its properties. In: Clark BL Jr, editor. New frontiers in surgery. New York: McGraw-Hill; 1998. p.55-64.

Livro:

1. Nunes EJ, Gomes SC. Cirurgia das cardiopatias congênitas. 2a ed. São Paulo: Sarvier; 1961. p.701.

Tese:

1. Brasil LA. Uso da metilprednisolona como inibidor da resposta inflamatória sistêmica induzida pela circulação extracorpórea [Tese de doutorado]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina, 1999. 122p.

Eventos:

1. Silva JH. Preparo intestinal transoperatório. In: 45° Congresso Brasileiro de Atualização em Coloproctologia; 1995; São Paulo. Anais. São Paulo: Sociedade Brasileira de Coloproctologia; 1995. p.27-9.

1. Minna JD. Recent advances for potential clinical importance in the biology of lung cancer. In: Annual Meeting of the American Medical Association for Cancer Research; 1984 Sep 6-10. Proceedings. Toronto: AMA; 1984;25:293-4.

Material eletrônico:**Artigo de revista:**

1. Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. Emerg Infect Dis [serial online] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5]; 1(1):[24 screens]. Disponível em: URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>

Livros:

1. Tichenor WS. Sinusitis: treatment plan that works for asthma and allergies too [monograph online]. New York: Health On the Net Foundation; 1996. [cited 1999 May 27]. Disponível em : URL: <http://www.sinuses.com>

Capítulo de livro:

1. Tichenor WS. Persistent sinusitis after surgery. In: Tichenor WS. Sinusitis: treatment plan that works for asthma and allergies too [monograph online]. New York: Health On the Net Foundation; 1996. [cited 1999 May 27]. Disponível em: URL: <http://www.sinuses.com/postsurg.htm>

Tese:

1. Lourenço LG. Relação entre a contagem de microdensidade vascular tumoral e o prognóstico do adenocarcinoma gástrico operado [tese online]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo; 1999. [citado 1999 Jun 10]. Disponível em: URL:<http://www.epm.br/cirurgia/gastro/laercio>

Eventos:

1. Barata RB. Epidemiologia no século XXI: perspectivas para o Brasil. In: 4° Congresso Brasileiro de Epidemiologia [online].; 1998 Ago 1-5; Rio de Janeiro. Anais eletrônicos. Rio

de Janeiro: ABRASCO; 1998. [citado 1999 Jan 17]. Disponível em: URL: <http://www.abrasco.com.br/epirio98>

Informações adicionais podem ser obtidas no seguinte endereço eletrônico: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Citações no texto: Ao longo do texto, deve ser empregado o sistema autor-data. Segundo as normas **Vancouver**, apenas a primeira letra do sobrenome do autor é grafada em maiúscula, sendo o ano da publicação apresentado entre parênteses. Trabalhos com até dois autores, tem ambos os sobrenomes mencionados no texto, separados por "&". Trabalhos com três ou mais autores, terão ao longo do texto mencionado apenas o primeiro seguido da expressão "et al".

Se um determinado conceito for suportado por vários estudos, para a citação desses, deverá ser empregada a ordem cronológica das publicações. Nesse caso, o ano de publicação é separado do autor por vírgula (",") e as diferentes publicações separadas entre si por ponto e vírgula (";").

Declaração de conflitos de interesse e fomento: esse é um item obrigatório que deve ser conciso indicando: a) se houve apoio financeiro de qualquer natureza devendo-se nesse caso mencionar nominalmente a agência de fomento e b) se há qualquer tipo de conflito de interesse relacionado à pesquisa em questão. Em casos negativos sugere-se o uso da frase.

Os autores declaram a inexistência de conflito de interesse e apoio financeiro relacionados ao presente artigo

Figuras e Tabelas

As tabelas e figuras deverão ser apresentadas em folhas separadas após a seção:

Referências Bibliográficas (uma tabela/figura por folha com a sua respectiva legenda).

Figuras em formato digital (arquivo JPG ou TIFF): Resolução de 300 DPIs.

As imagens serão **publicadas em preto e branco**. Caso haja interesse dos autores há possibilidade de impressão colorida das imagens, havendo custo adicional de responsabilidade dos autores.

ANEXO B – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA E USO DE ANIMAIS



CEUMA – UNIVERSIDADE
Reitoria
Pró-Reitorias de Graduação e Pós-Graduação
Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA UNICEUMA
DECISÃO DA CEUA – UNICEUMA SOBRE PROTOCOLO SUBMETIDO

DATA DO RECEBIMENTO: 29/04/14

Nº DO PROTOCOLO: 00136 /14

Nº DO PARECER: 05 /14

DATA DO PARECER: 04/08/14

TÍTULO DO PROJETO/AULA: ATIVIDADE DO EXTRATO TOTAL DA SEMENTE DO CUPUAÇU E DO CINEMALDEÍDO SOBRE A RESPOSTA IMUNOINFLAMATÓRIA RELACIONADA À DOENÇA PERIODONTAL INDUZIDA EM RATOS.

CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA: O objetivo do trabalho é avaliar os efeitos *in vivo* de extratos totais (aquoso e etanólico) obtidos da semente do cupuaçu e do cinemaldeído sobre as principais vias de modulação da resposta imunoinflamatória relacionada à doença periodontal utilizando modelo animal de doença induzida por ligadura. Até o momento, somente um fármaco com efeito na modulação dessa resposta foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA).

Serão utilizados 160 ratos machos da espécie *Rattus norvegicus albinus* (Wistar), os quais serão anestesiados antes da indução da doença periodontal, por via intramuscular, utilizando-se soluções de cloridrato de ketamina (50mg/kg) e cloridrato de xilazina (25mg/kg). Esta espécie foi escolhida por ser de fácil manutenção e pela necessidade de mandíbulas maiores que a dos camundongos.

A indução da doença periodontal será feita por meio da colocação de um fio de algodão em torno dos primeiros molares inferiores. Este modelo de indução já é consolidado na literatura. A avaliação dos efeitos dos produtos naturais será realizada através de: (i) tratamento profilático, no qual os animais serão submetidos à indução de doença periodontal após 7 dias de tratamento com os extratos/compostos; (ii) tratamento curativo, no qual a utilização dos extratos/compostos ocorrerá após a indução da doença periodontal. Após ambos os tipos de tratamentos, que serão realizados por gavagem, uma parte dos animais será sacrificada, através de asfixia por CO₂, após 7 dias e a outra parte após 15 dias, a fim de se remover as hemiarcadas inferiores para as diferentes análises. Para cada tipo/periódodo de tratamento, os animais serão divididos em 5 grupos de 8. Os animais serão alojados em gaiolas e não serão submetidos à restrição hídrica ou jejum. Não haverá necessidade do uso de analgesia e o grau de invasividade foi classificado como 2.

PEQUISADOR/PROFESSOR RESPONSÁVEL: PROFª DRª ELIZABETH SOARES FERNANDES

COLABORADORES: PROFª DRª LUCIANA SALLES BRANCO DE ALMEIDA

DECISÃO: (x) APROVADO () PENDENTE () EXCLUÍDO () NÃO APROVADO

Considerações:

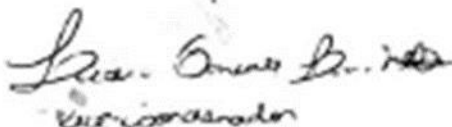
A CEUA-UNICEUMA, na sua função de examinar previamente os procedimentos de ensino e pesquisa a serem realizados na instituição, para determinar sua compatibilidade com a legislação aplicável (Lei 11794 e Resoluções do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA), reuniu-se no dia 05/06/2014, para análise da proposta de protocolo nº 00136/14, tendo chegado, por maioria absoluta dos membros presentes as seguintes considerações:

O projeto se encontra adequado e satisfatoriamente de acordo com as exigências das Resoluções que regem essa Comissão.

Conclusão:

O projeto atende aos Requisitos Fundamentais das Normas de Conduta para a Utilização de Animais no Ensino, Pesquisa e Extensão, sendo o parecer favorável à realização do mesmo.

São Luís, 04/08/2014



Elizabeth Soares Fernandes
Coordenador CEUA-UNICEUMA