



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

JONATHA MATHEUS MENDES MOREIRA

**EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL DA BERGAMOTA SOBRE A REABSORÇÃO ÓSSEA
ALVEOLAR EM RATOS COM PERIODONTITE INDUZIDA**

São Luís
2021

JONATHA MATHEUS MENDES MOREIRA

**EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL DA BERGAMOTA SOBRE A REABSORÇÃO ÓSSEA
ALVEOLAR EM RATOS COM PERIODONTITE INDUZIDA**

Trabalho de conclusão de curso (TCC) apresentado ao Curso de Odontologia da Universidade Federal do Maranhão, como pré-requisito para obtenção do grau de cirurgião-dentista.

Orientadora: Prof^{ta} Dr^a Maria Carmen Fontoura Nogueira da Cruz

São Luís
2021

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Moreira, Jonatha Matheus Mendes.

Efeito do óleo essencial da bergamota sobre a reabsorção óssea alveolar em ratos com periodontite induzida / Jonatha Matheus Mendes Moreira. - 2021.
42 f.

Orientador(a): Maria Carmen Fontoura Nogueira da Cruz.
Curso de Odontologia, Universidade Federal do Maranhão,
São Luís, 2021.

1. Bergamota. 2. Doença periodontal. 3. Reabsorção óssea. I. Cruz, Maria Carmen Fontoura Nogueira da. II. Título.

Jonatha, MMM. **Efeito do óleo essencial da bergamota sobre a reabsorção óssea alveolar em ratos com periodontite induzida.** Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado ao Curso de Odontologia da Universidade Federal do Maranhão como pré-requisito para obtenção do grau de cirurgião-dentista.

Trabalho de conclusão de curso apresentado em: 10/05/2021

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr^a Maria Carmen Fontoura Nogueira da Cruz
(Orientadora)

Prof. Dr. José Ribamar Sabino Bezerra Júnior
(Titular)

Prof. Dr^a Fernanda Ferreira Lopes
(Titular)

Prof. Dr^a Andreia Lago
(Suplente)

AGRADECIMENTOS

À minha família, em especial à minha mãe Eliuda Ferreira, por todo o apoio e esforço em garantir que nada me faltasse durante a graduação.

À minha professora e orientadora Dr^a Maria Carmen Nogueira pela oportunidade que me permitiu conhecer um pouco mais da área da pesquisa científica, pela paciência, por aceitar me orientar, pelo amor que demonstra ao ensinar e por ser uma pessoa sempre alegre, divertida e gentil, que contagia a todos ao redor.

A todos os amigos que conheci na turma 131, em especial minhas grandes amigas Myllena Jorge e Jessilene Ribeiro, por todas as coisas que passamos, pelos materiais emprestados, por ajudarem quando eu não entendia alguma aula, pelos trabalhos em grupo e pelo apoio toda vez que precisava, vou sempre lembrar de vocês.

À minha dupla e amigo, Hudson Guterres, pelo companheirismo ao longo desses anos, pelo esforço em me fazer ser um pouco mais extrovertido, por sempre tentar me levantar quando me sentia derrotado ou triste e por escutar quando eu precisava desabafar, obrigado por tudo.

A todos os alunos e professores que me ajudaram na pesquisa, em especial à professora Dr^a Luciana Salles e à Amanda Pereira, e também a Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA), pela chance de adquirir conhecimento na área da pesquisa.

A todos os profissionais da Universidade Federal do Maranhão – Campus Bacanga, que contribuíram mesmo que indiretamente para minha formação, desde as tias do refeitório, os zeladores da limpeza, os técnicos dos laboratórios, até meus queridos professores, meus mais sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

1 RESUMO	6
2 REFERENCIAL TEÓRICO	7
2.1 <i>A doença periodontal e seu tratamento convencional</i>	7
2.2 <i>Administração de fármacos para tratamento da doença periodontal</i>	8
2.3 <i>Propriedades farmacológicas do óleo essencial de bergamota</i>	9
3 ARTIGO CIENTÍFICO	11
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	26
REFERÊNCIAS	27
ANEXO A – Normas da Revista de Pesquisa em Saúde / <i>Journal of Health Research</i>	31
ANEXO B – Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Ceuma (UniCEUMA)	37
APÊNDICE A – LISTA DE SIGLAS	42

1 RESUMO

A periodontite é uma doença inflamatória crônica que leva à destruição dos tecidos de suporte dos dentes e posterior reabsorção óssea alveolar. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do óleo essencial da bergamota (BEO) sobre a reabsorção óssea alveolar em modelo animal de periodontite induzida por ligadura em ratos. Foram utilizados 24 ratos machos Wistar, que foram divididos em três grupos: 1) Grupo controle (sem ligadura) + veículo sulfóxido de dimetilo (DMSO 2%); Grupo ligadura + veículo (DMSO 2%); e grupo ligadura + BEO (0,1 ml/kg em veículo). A gavagem oral com veículo e/ou BEO foi realizada durante 14 dias. Após esse período de indução da doença periodontal e respectivos tratamentos, os animais foram eutanasiados, e as hemimandíbulas esquerdas foram coletadas e armazenadas. A avaliação da perda óssea alveolar foi realizada pelo método morfométrico, com mensuração da distância entre a junção cimento-esmalte (JCE) e a crista óssea (CO) na mesial do primeiro molar inferior, sendo seguida a inclinação radicular. Os dados foram analisados utilizando-se análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Tukey, com nível de significância de 5%. Observou-se uma maior perda óssea nos grupos que receberam ligadura em comparação ao grupo controle ($p < 0,05$). Houve redução na reabsorção óssea alveolar no grupo ligadura + BEO em relação ao grupo ligadura ($p < 0,05$). Concluiu-se que o BEO reduziu a reabsorção óssea alveolar, mensurada pelo método morfométrico, em modelo de periodontite induzida por ligadura em ratos.

Palavras-chaves: Doença periodontal; Bergamota; Reabsorção óssea.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A doença periodontal e seu tratamento convencional

Considerada uma das mais significativas ameaças à saúde oral e a condição bucal mais comum da população mundial, a periodontite é uma doença crônica inflamatória caracterizada pela progressiva destruição dos tecidos de suporte dental (tecido gengival, ligamento periodontal e osso alveolar). É tida como uma das principais causas da perda dentária (NAZIR, 2017). A doença periodontal é a evolução da gengivite associada ao biofilme, uma inflamação localizada da gengiva iniciada pela disbiose da microbiota presente no biofilme dental que, quando não tratada corretamente, progride para a destruição tecidual, formando as chamadas “bolsas” periodontais, característica marcante da periodontite crônica (KINANE et al., 2017).

A composição microbiana da placa subgengival em sítios comprometidos periodontalmente foram bastante estudados, mas não totalmente esclarecidos. Baseado em suas propriedades virulentas e forte associação com sítios infectados, o grupo de bactérias anaeróbicas que incluíam *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *Treponema denticola* e *Tannerella forsythia* era geralmente atribuída como agente causador da periodontite. Entretanto, recentes estudos metagenômico, metatranscriptômico e mecânico são consistentes e sugerem que uma microbiota mais diversificada está envolvida na patogênese da doença periodontal (HAJISHENGALLIS, 2015). Espécies compatíveis com a saúde incluem as pertencentes aos gêneros *Actinomyces*, *Streptococcus* e *Veillonella*. Bactérias gram-negativas, assim como espécies de *Eubacterium*, *Peptostreptococcus* e *Lactobacillus*, foram detectadas em proporção elevada em locais com a doença. Segundo XIMEÑEZ-FYVIE et al (2001), a principal diferença entre a saúde e a doença de um paciente está diretamente relacionada ao desequilíbrio de algumas espécies de *Actinomyces* na cavidade oral.

Alguns fatores de risco para a doença periodontal já foram estabelecidos na literatura, sendo a higiene oral precária o fator determinante. Além da má higiene, outras condições contribuem para o avanço da doença periodontal, tais como tabaco, consumo de álcool, pacientes do sexo masculino, baixa escolaridade, diabetes mellitus, obesidade e outras síndromes metabólicas, osteoporose, estresse e fatores genéticos (AVASTHY et al, 2015; GENCO; BORGNACKE, 2013; SAINI et al., 2013).

As características clínicas da gengivite são inchaço, vermelhidão e sangramento ao realizar a higiene oral, normalmente sem dor. a periodontite crônica é geralmente assintomática nos estágios iniciais, porém conforme a doença avança, é possível perceber vermelhidão, inchaço e alteração de textura da gengiva marginal; sangramento e aumento de profundidade da bolsa periodontal à sondagem; destruição das estruturas de suporte dos dentes, recessão da gengiva

marginal com exposição da raiz e aumento da mobilidade dental, podendo chegar à perda dentária. O diagnóstico precoce da doença periodontal é um desafio, visto que inicialmente não apresenta sintoma doloroso, fazendo com que o paciente raramente procure auxílio odontológico (KINANE et al., 2017; PIHLSTROM et al, 2005).

A maneira mais eficaz de prevenção da doença periodontal é através do diagnóstico precoce da gengivite, atentando aos sinais clássicos de inflamação e sangramento ao escovar os dentes. A prevenção da gengivite visa retardar a formação do biofilme e removê-lo a intervalos regulares. Os cuidados incluem remoção do biofilme dental através da escovação e raspagem supragengival, redução dos fatores de risco e acompanhamento odontológico periódico, além de uma boa orientação de higiene e educação alimentar (BARTOLD et al, 2017; NAZIR, 2017).

Em casos onde a doença periodontal já está instalada, o tratamento convencional consiste em desbridamento do cálculo dental através de raspagem supra e subgengival e alisamento radicular (limpeza profunda com anestesia local) utilizando instrumentais manuais específicos, além das instruções de higiene oral. Se a perda de inserção e a perda óssea são evidentes, o objetivo do tratamento é controlar a inflamação, impedir a progressão da doença e criar uma condição que ajude o paciente a manter a saúde, função e conforto. O sucesso do tratamento depende da habilidade do operador na remoção do cálculo dental, na motivação do paciente em realizar uma boa higiene e consulta de manutenção periódica assim que o tratamento inicial foi concluído (PIHLSTROM et al., 2005; GRAZIANI et al, 2017).

2.2 Administração de fármacos para tratamento da doença periodontal

Graças a sua efetividade em reduzir a dor, os anti-inflamatórios não-esteroidais (AINES) são muito utilizados na prática odontológica. Mas apesar de reduzir os sintomas, é muito comum o surgimento de efeitos colaterais, onde o mais frequente é a toxicidade gastrointestinal. Outros efeitos incluem problemas cardiovasculares, hepatotoxicidade, problemas renais, hipertensão, lesões cutâneas e sintomas sistêmicos (febre e linfadenopatia). Isso porque os AINES agem como inibidores não-seletivos das enzimas COX-1, que gera prostaglandinas a partir do ácido araquidônico para as funções de limpeza do corpo, como integridade da mucosa gastroduodenal, homeostase plaquetária e regulação do fluxo sanguíneo renal; e COX-2, que media a dor e inflamação de tecidos danificados, como pulpites, doença periodontal ou procedimentos cirúrgicos. Dessa forma, os efeitos terapêuticos anti-inflamatório dos AINES ocorrem pela inibição da COX-2, enquanto que os efeitos adversos são atribuídos a inibição da COX-1 (NAGI et al, 2015; SALVI et al, 2005).

O uso de corticosteroides na Odontologia é devido principalmente a capacidade anti-inflamatória e imunomodulação desses fármacos (SANGHAVI; ADITYA, 2015). A excelente

atividade anti-inflamatória dos corticoides se deve sobretudo a capacidade de estabilização da membrana do lisossomo, inibição da formação de cininas (que causam vasodilatação, aumento da permeabilidade capilar e dor), ao aumento da permeabilidade capilar, inibição da proliferação de fibroblastos e redução da produção de colágeno (VALENTE et al, 2001). Seu uso crônico pode ocasionar efeitos adversos como osteoporose, problemas metabólicos e endócrinos (obesidade, insuficiência da glândula adrenal), infecções oportunistas, problemas cardiovasculares, aumentar risco de problemas oftalmológicos e outros (YASIR et al, 2020). Tendo em vista a progressão de forma crônica e lenta, necessidade de longos períodos de acompanhamento e diferentes métodos de avaliação clínica da doença periodontal, a associação entre administração de corticoides e doença periodontal ainda é incerta na literatura (BRASIL-OLIVEIRA et al, 2020).

A administração sistêmica de antibióticos tem sido utilizada como coadjuvante no tratamento da doença periodontal em pacientes que não respondem de maneira eficaz à terapia convencional ou apresentam sintomas como febre e linfadenopatia (ARAÚJO et al, 2001; PIHLSTROM et al., 2005). A presença de patógenos, especificamente *A. actinomycetemcomitans* é tida como a causa dessa não-resposta da periodontite agressiva ao tratamento (PRAKASAM et al, 2012). Aliado a isso, o uso indiscriminado de tetraciclinas e outros antibióticos levaram a resistência das bactérias a essas drogas, fazendo com que a recidiva seja bastante frequente (VIEIRA et al, 2004). Ainda assim, considerando a resposta clínica e custo-benefício, KAPOOR et al (2012) propõe que a amoxicilina associada ao metronidazol como adjunto do tratamento convencional é a combinação mais eficaz na redução dos sítios de infecção.

2.3 Propriedades farmacológicas do óleo essencial de bergamota

Citrus bergamia Risso et Poiteau é uma planta pertencente à família Rutaceae (subfamília Esperidea), mais conhecida como bergamota. Acredita-se que sua origem deriva da região da Calabria, na Itália, mas pode também ter surgido nas Antilhas, Grécia e Ilhas Canárias (NAVARRA et al, 2015). Os produtos obtidos através da *Citrus bergamia* com propriedades farmacológicas são o óleo essencial de bergamota (BEO), extraído a partir da prensagem a frio da casca da fruta, e o suco de bergamota (BJ), obtido espremendo o endocarpo dos frutos (FERLAZZO et al, 2016). O BEO contém de 93 a 96% de componentes voláteis, como monoterpenos (25 a 53% de limoneno), pequenas quantidades de linalol (2 a 20%) e linalil acetato (15 a 40%) (MANNUCCI et al, 2017). Devido à intensa fragrância, o BEO tem sido utilizado principalmente na indústria de cosméticos na composição de fragrâncias, loções corporais, sabonetes e outros. É usado também na indústria alimentícia na produção de chás, bebidas e doces, na indústria farmacêutica (para mascarar o cheiro desagradável de alguns medicamentos, bem como por suas características antibióticas e antissépticas) e na prática de aromaterapia (CIRMI et al, 2016; MANDALARI et al, 2007).

A atividade antimicrobiana da *Citrus bergamia* também é descrita. Em estudos *in vitro*, o BJ foi efetivo contra cepas de *H. pylori*, bactéria responsável por distúrbios inflamatórios intestinais (FILOCAMO et al, 2015). Flavonoides extraídos da bergamota também foram capazes de agir em diversas bactérias gram-negativas (MANDALARI et al, 2007). O BEO também mostrou possuir atividade anticancerígena. CELIA et al (2013), em seus estudos, encapsulou o BEO em lipossomos, eliminando a necessidade de agentes solubilizantes tóxicos, aumentando a eficácia anticâncer em células neuroblastômicas *in vitro*.

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do tratamento oral com BEO sobre a reabsorção óssea alveolar em modelo animal de periodontite induzida por ligadura.

3 ARTIGO CIENTÍFICO

EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL DA BERGAMOTA SOBRE A REABSORÇÃO ÓSSEA ALVEOLAR EM RATOS COM PERIODONTITE INDUZIDA

EFFECT OF BERGAMOT ESSENTIAL OIL ON ALVEOLAR BONE RESORPTION IN RATS WITH INDUCED PERIODONTITIS

Jonatha Matheus Mendes Moreira¹ Maria Carmen Fontoura Nogueira da Cruz²

Resumo

Introdução: A periodontite é uma doença inflamatória crônica que leva à destruição dos tecidos de suporte dos dentes e posterior reabsorção óssea alveolar. **Objetivo:** avaliar o efeito do óleo essencial da bergamota (BEO) sobre a reabsorção óssea alveolar em modelo animal de periodontite induzida por ligadura em ratos. **Métodos:** Foram utilizados 24 ratos machos Wistar, que foram divididos em três grupos: 1) Grupo controle (sem ligadura) + veículo sulfóxido de dimetilo (DMSO 2%); 2) Grupo ligadura + veículo (DMSO 2%); e 3) grupo ligadura + BEO (0,1 ml/kg em veículo). A gavagem oral com veículo e/ou BEO foi realizada durante 14 dias. Após esse período de indução da doença periodontal e respectivos tratamentos, os animais foram eutanasiados, e as hemimandíbulas esquerdas foram coletadas e armazenadas. A avaliação da perda óssea alveolar foi realizada pelo método morfométrico, com mensuração da distância entre a junção cimento-esmalte (JCE) e a crista óssea (CO) na mesial do primeiro molar inferior, sendo seguida a inclinação radicular. Os dados foram analisados utilizando-se análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Tukey, com nível de significância de 5%. **Resultados:** Observou-se uma maior perda óssea nos grupos que receberam ligadura em comparação ao grupo controle ($p < 0,05$). Houve redução na reabsorção óssea alveolar no grupo ligadura + BEO em relação ao grupo ligadura ($p < 0,05$). **Conclusão:** o BEO reduziu a reabsorção óssea alveolar, mensurada pelo método morfométrico, em modelo de periodontite induzida por ligadura em ratos.

Palavras-chaves: Doença periodontal. Bergamota. Reabsorção óssea.

¹Graduando em Odontologia – Universidade Federal do Maranhão.

²Professora Doutora – Universidade Federal do Maranhão.

Abstract

Introduction: Periodontitis is a chronic inflammatory disease that leads to destruction of teeth supporting tissues and subsequent alveolar bone resorption. **Objective:** evaluate the effect of bergamot essential oil (BEO) on alveolar bone resorption in an animal model of ligature-induced periodontitis in rats. **Methods:** 24 Wistar male rats were used, which were divided in three groups: 1) Control group (without ligature) + vehicle dimethyl sulfoxide (DMSO 2%); 2) ligature group + vehicle (DMSO 2%); and 3) ligature group + BEO (0,1 ml/kg in vehicle). The oral gavage with vehicle and/or BEO was performed for 14 days. After this period of periodontal disease induction and respective treatments, the animals were euthanized, and the left hemimandibles were collected and stored. The evaluation of alveolar bone loss was performed using the morphometric method, with measurement of the distance between the cemento-enamel junction (CEJ) and the bone crest (BC) in the mesial of the lower first molar, followed by root tilt. The data were analyzed using analysis of variance (ANOVA), followed by Turkey test, with a significance level of 5%. **Results:** Greater bone loss was observed in the groups that received ligature compared to the control group ($p < 0.05$). There was a reduction in alveolar bone resorption in the ligature + BEO group in relation to ligature group ($p < 0.05$). **Conclusion:** BEO reduced alveolar bone resorption, measured by morphometric method, in a model of ligature-induced periodontitis in rats.

Keywords: Periodontal disease. Bergamot. Bone Resorption.

Introdução

A periodontite é uma doença inflamatória crônica que leva à destruição dos tecidos de suporte dos dentes, com perda progressiva de inserção, reabsorção óssea e migração apical do epitélio juncional¹. É desencadeada devido à infecção prolongada causada pelo biofilme subgengival, capaz de mediar cascatas imuno-inflamatórias locais e sistêmicas².

Várias classes de medicamentos, incluindo corticosteróides, anti-inflamatórios não-esteróides (AINEs) e biofármacos são usados para tratar os distúrbios inflamatórios. No entanto, eles possuem vários efeitos colaterais e os medicamentos biológicos possuem alto valor, o que dificulta sua ampla utilização³. Para limitar estas desvantagens, ao longo das últimas três décadas, o uso de medicamentos fitoterápicos, nutracêuticos e suplementos alimentares aumentaram muito como uma forma de medicina alternativa e / ou complementar para o tratamento de várias doenças, incluindo as inflamatórias⁴.

Nesse sentido, um produto natural promissor é o óleo essencial de bergamota (BEO), produzido através da prensagem a frio da casca da *Citrus bergamia Risso et Poiteau*, uma planta pertencente à família *Rutaceae* que cresce espontaneamente na costa sul da região da Calábria (Itália), onde o microclima específico é ideal para seu cultivo⁵. O óleo é composto por terpenos aromáticos voláteis e derivados oxigenados, tais como o linalol e o acetato de linalol⁶.

O BEO tem sido investigado por suas atividades anti-inflamatórias e analgésicas⁵ sendo demonstradas por KARACA⁷ em teste de edema de pata induzido por carragenina, onde encontraram redução na inflamação em 95,70% com indometacina (controle padrão), 27,56% com 0,025 mL / kg de BEO, 30,77% com 0,05 mL / kg de BEO e 63,39% com 0,10 mL / kg BEO.

Embora não existam estudos avaliando um potencial efeito do BEO em modelos de periodontite, as atividades descritas na literatura apontam para uma possível ação terapêutica sobre a doença, como no estudo de GUGLIANDOLO⁸ onde seus resultados demonstraram que o suco de bergamota (BJ) melhora a periodontite induzida (por lipopolissacarídeos) em ratos, reduzindo os marcadores típicos de inflamação e sugerindo assim seu potencial quando utilizado no tratamento de doenças periodontais.

Desse modo, há uma busca por fármacos que possibilitem novas modalidades de tratamento, atuando na modulação da resposta imuno-inflamatória e em particular, no contexto da doença periodontal. Sendo assim, este trabalho investigará o efeito do tratamento com BEO em modelo de doença periodontal induzida por ligadura em ratos, avaliando o potencial deste óleo essencial no contexto da doença periodontal e seus efeitos sobre a reabsorção óssea alveolar.

Materiais e métodos

Esse estudo in vivo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Ceuma (UniCEUMA) e teve início somente após a sua aprovação sob o protocolo (110/19).

Animais

Foram utilizados ratos machos (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar), provenientes do biotério da Universidade Ceuma (UNICEUMA), com idade de 8 semanas e peso entre 300g e 400g. Os animais receberam ração balanceada e água ad libitum durante todo o período em que estiverem acondicionados no biotério. A temperatura da sala foi mantida a 22 °C, sob ciclo de iluminação claro/escuro de 12/12 horas (figura 1). A manipulação dos animais seguiu as recomendações do COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal) e foi utilizado o ARRIVE como guia para as diretrizes de todo o experimento animal⁹.

Indução da doença periodontal, período experimental e tratamentos

Inicialmente, os animais foram anestesiados, utilizando-se as soluções de cloridrato de ketamina (90 mg/kg) e cloridrato de xilazina (10 mg/kg) por via intraperitoneal¹⁰ (figura 2).

Para indução da periodontite, foi utilizado fio de algodão (Corrente 10, Brasil) para confecção de ligaduras, passando pelo espaço interproximal, em torno dos primeiros molares inferiores (direito e esquerdo) em nível do sulco gengival^{11, 12} (figura 3). Animais sem ligadura foram utilizados como grupo controle.

Após colocação da ligadura, os animais foram submetidos à indução da periodontite, sendo divididos aleatoriamente em 3 grupos:

1) Grupo Controle (n=8 animais): Ratos sem ligadura que receberam gavagem diária com veículo sulfóxido de dimetilo (DMSO 2%);

2) Grupo Ligadura + veículo (n= 8 animais): Ratos com ligadura que receberam gavagem diária com veículo (DMSO 2%);

3) Grupo Ligadura + BEO (n=8 animais): Ratos com ligadura que receberam gavagem diária com o óleo essencial de bergamota a 0,1 ml/kg em veículo⁷. O BEO foi adquirido comercialmente (Sigma®) e sua concentração a ser testada foi definida com base em suas ações anti-inflamatórias descritas na literatura^{13, 14}.

Os animais receberam gavagem oral diária com veículo e/ou BEO no primeiro dia após a indução da doença periodontal e por um período de 14 dias.

Eutanásia dos animais e coleta de fluidos e tecidos

Os animais foram eutanasiados por indução de anestesia profunda após 14 dias de indução da doença periodontal e respectivos tratamentos^{11, 15} (BRANCO-DE-ALMEIDA et al., 2012, 2020; CASTRO et al., 2015), e as hemimandíbulas foram coletadas e armazenadas em solução de formaldeído 10%.

Mensuração macroscópica da reabsorção óssea alveolar

Inicialmente, as hemiarcadas foram imersas em solução de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) a 30% por 2 horas¹⁶. Em seguida, todo o tecido mole remanescente foi removido das hemiarcadas e as mesmas permaneceram em uma mistura de azul de metileno e água destilada (1g/100ml) por 30 minutos. Todas as peças foram coradas para melhor visualização da junção cimento-esmalte. As peças foram lavadas em água corrente para remoção do excesso do corante.

As hemimandíbulas foram observadas em lupa estereoscópica (uEye, Alemanha) em aumento de 40 vezes, sendo posicionadas de forma que ocorresse a sobreposição das cúspides vestibular e lingual, não havendo a possibilidade de visualização da superfície oclusal.

A avaliação da perda óssea alveolar foi feita pela mensuração da distância entre junção cimento-esmalte (JCE) e a crista óssea (CO) da região lingual das hemimandíbulas esquerdas, sendo seguida a inclinação radicular¹⁶. As mensurações foram obtidas na região mesial do primeiro molar pelo lado lingual destas hemimandíbulas. Além disso, as mensurações foram feitas por um único avaliador calibrado, sendo que o mesmo não tinha conhecimento dos grupos avaliados, pois foi realizada uma randomização prévia para caracterizar a avaliação como duplo-cego. Os dados foram analisados utilizando-se análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Tukey, com nível de significância de 5%.

Resultados

A avaliação morfométrica da reabsorção óssea alveolar mostrou que as hemimandíbulas apresentaram maior perda óssea nos grupos que receberam ligadura em comparação ao grupo controle ($p < 0,05$). Observou-se, ainda, uma redução expressiva na reabsorção óssea alveolar no grupo ligadura + BEO em relação ao grupo ligadura ($p < 0,05$) (figura 4).

Discussão

A periodontite é uma doença altamente prevalente, que está associada aos microrganismos orais que infectam o suco gengival, causando resposta imune que induz à inflamação gengival e reabsorção óssea alveolar, e possui um tratamento farmacológico ainda bem limitado^{17, 18}. Frente à necessidade de explorar novos medicamentos com possível efeito anti-inflamatório sobre os

tecidos periodontais, os óleos essenciais de origem natural têm sido estudados como uma importante fonte de agentes terapêuticos^{19, 20}. O presente estudo mostrou que o tratamento oral com BEO foi capaz de reduzir a reabsorção óssea alveolar nos animais que foram submetidos a um modelo de doença periodontal induzida por ligadura.

As diferentes espécies bacterianas presentes na cavidade oral são de suma importância para a progressão da doença periodontal. A microbiota da periodontite é complexa e compreende normalmente bactérias anaeróbicas gram-negativas, tais como *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* e *Agregatibacter actinomycetemcomitans*. A presença das bactérias no biofilme e seus metabólitos são os principais responsáveis pela resposta inflamatória, que acaba destruindo os tecidos de suporte periodontal e induzindo a reabsorção óssea alveolar à medida que mediadores são sintetizados e liberados^{21, 22}. Nesse contexto, a atividade antibacteriana da *Citrus bergamia* é bem descrita na literatura. Em seu estudo *in vitro* da atividade dos flavonoides extraídos da bergamota, MANDALARI²³ demonstrou que frações da casca da bergamota conseguiram inibir a atividade das bactérias gram-negativas analisadas, mostrando ainda que concentrações menores foram mais eficazes que frações ricas em flavonoides, concluindo que a bergamota é um antimicrobiano natural potente e efetivo contra bactérias gram-negativas. O BEO também demonstrou capacidade de inibir a atuação de bactérias gram-positivas, sendo o linalol o componente com maior capacidade antibacteriana²⁴. Dessa forma, a diminuição da reabsorção óssea alveolar do tratamento com BEO alcançada no presente estudo é possivelmente devido à capacidade da substância em inibir a ação das bactérias presentes no biofilme dental, em especial gram-negativas, porém pesquisas da ação do BEO sobre as bactérias específicas da doença periodontal são necessárias.

O BEO foi capaz de reduzir, com diferença estatisticamente expressiva, a reabsorção óssea alveolar das hemimandíbulas dos animais submetidos à gavagem oral da substância, indicando uma potencial ação anti-inflamatória sobre a doença periodontal. No seu estudo dos efeitos do BEO em edema de pata induzido por carragenina em ratos, KARACA⁷ igualmente chegou à conclusão de que o BEO possui tal efeito anti-inflamatório. Em um estudo semelhante, o BEO reduziu significativamente os mediadores interleucina (IL)-1 β , IL-6 e níveis de fatores de necrose tumoral (TNF)- α , bem como nitrito/nitrato e prostaglandina E₂ (PGE₂), concluindo que o BEO apresenta atividade anti-inflamatória e analgésica²⁵. Esses resultados reforçam o estudo de PEANA²⁶ que concluiu que os compostos linalol e linalil acetato (ambos monoterpênicos presente nos substratos da bergamota) foram capazes de reduzir a atividade anti-inflamatória do edema induzido em ratos, sugerindo que espécies de plantas capazes de produzir quantidades significativas desses compostos monoterpênicos são agentes potencialmente anti-inflamatórios. Portanto, a atividade alcançada do BEO

poderia ser atribuída a esses compostos, muito embora não seja possível averiguar com precisão qual substância isolada seja responsável por essa atividade, pois estavam diluídas em óleo.

Assim, é possível concluir que o uso oral do BEO reduz a perda óssea alveolar em modelo animal de periodontite induzida, aumentando as expectativas de um tratamento farmacológico eficaz, barato e com mínimo de efeitos colaterais como coadjuvante do tratamento mecânico da doença periodontal. Ainda assim, mais pesquisas devem ser realizadas com a finalidade de esclarecer quais substâncias e mecanismos de ação presentes no BEO foram capazes de alterar a resposta inflamatória.

Referências

1. KINANE DF, STATHOPOULOU PG, PAPAPANOU PN. Periodontal diseases. *Nature Reviews*. 2017; 3(17038):1–14.
2. HAJISHENGALLIS, GEORGE. Periodontitis: From microbial immune subversion to systemic inflammation. *Nature Reviews Immunology*. 2015; 15(1): 30–44.
3. FERLAZZO N, CIRMI S, RUSSO M, TRAPASSO E, URSINO MR, LOMBARDO GE, et al. NF- κ B mediates the antiproliferative and proapoptotic effects of bergamot juice in HepG2 cells. *Life Sci*. 2016; 146: 81–91.
4. MARINO A, PATERNITI I, CORDARO M, MORABITO R, CAMPOLO M, NAVARRA M, et al. Role of natural antioxidants and potential use of bergamot in treating rheumatoid arthritis. *Pharma Nutrition*. 2015; 3: 53–59.
5. NAVARRA M, MANNUCCI C, DELBO M, CALAPAI G. Citrus bergamia essential oil: From basic research to clinical application. *Front Pharmacol*. 2015; 6: 36-38.
6. KUWAHATA H, KOMATSU T, KATSUYAMA S, CORASANITI MT, BAGETTA G, SAKURADA S, et al. Peripherally injected linalool and bergamot essential oil attenuate mechanical allodynia via inhibiting spinal ERK phosphorylation. *Pharmacol Biochem Behav*. 2013; 103(4): 735-41.
7. KARACA M, ÖZBEK H, HIM A, TÛTÛNCÛ M, AKKAN HA, KAPLANOGLU V. Investigation of anti-inflammatory activity of bergamot oil. *Eur J Gen Med*. 2007; 4(4):176–179.
8. GUGLIANDOLO E, FUSCO R, D'AMICO R, PEDITTO M, OTERI G, DI PAOLA R, et al. Treatment with a flavonoid-rich fraction of bergamot juice improved lipopolysaccharide-induced periodontitis in rats. *Frontiers in Pharmacology*. 2019; 9:1563.
9. KILKENNY C, BROWNE WJ, CUTHILL IC, EMERSON M, ALTMAN DG. Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol*. 2010; 8(6): e1000412.
10. KIELING CO, BACKES AN, MAURER RL, CRUZ CU, OSVALDT AB, SILVEIRA, T. R, et al. The effects of anesthetic regimen in 90% hepatectomy in rats. *Acta Cirurgica Brasileira*. 2012; 27(10): 702-706.
11. BRANCO-DE-ALMEIDA LS, FRANCO GCN, CASTRO ML, SANTOS JG, ANBINDER, AL, CORTELLI SC, et al. Fluoxetine inhibits inflammatory response and bone loss in a rat model of ligature-induced periodontitis. *Journal of periodontology*. 2012; 85(5): 664-671.
12. GALVÃO MPA, CHAPPER A, RÖSING K, FERREIRA MBC, SOUZA MAL. Methodological considerations on descriptive studies of induced periodontal diseases in rats. *Pesquisa Odontológica Brasileira*. 2003; 17(1): 56-62.
13. BERLIOCCHI L, RUSSO R, LEVATO A, FRATTO V, BAGETTA G, SAKURADA S, et al. (–)-Linalool Attenuates Allodynia in Neuropathic Pain Induced by Spinal Nerve Ligation in C57/B16 Mice. *International review of neurobiology*. 2009; 85: 221-235.

14. BAGETTA G, MORRONE LA, ROMBOLÀ L, AMANTEA D, RUSSO R, BERLIOCCHI L, et al. Neuropharmacology of the essential oil of bergamot. *Fitoterapia*. 2010; 81(6): 453-461.
15. CASTRO ML, FRANCO GCN, BRANCO-DE-ALMEIDA LS, ANBINDER AL, MÜLLER KC, CORTELLI SC, et al. Down-Regulation of Protease Activated Receptor 2, Interleukin-17 and Other Pro-Inflammatory Genes by Subantimicrobial Doxycycline Dose in a Rat Periodontitis Model. *Journal of Periodontology*. 2015; 87: 203-210.
16. FOUREAUX RC, MESSORA MR, OLIVEIRA LFF, MARQUES LS, SILVIA VO, ZANGERÔNIMO MG, et al. Comparação de métodos para mensuração da perda óssea alveolar periodontal em ratos submetidos a estresse. *Arquivos em Odontologia*. 2014; 50(4).
17. PIHLSTROM BL, MICHALOWICZ BS, JOHNSON NW. Periodontal diseases. *The lancet*. 2005; 366(9499): 1809-1820.
18. TAUBMAN MA, VALVERDE P, HAN X, KAWAI T. Immune response: the key to bone resorption in periodontal disease. *Journal of periodontology*. 2005; 76: 2033-2041.
19. PÉREZ G, S.; ZAVALA S., M.; ARIAS G., L.; RAMOS L., M. Anti-inflammatory activity of some essential oils. *Journal of Essential Oil Research*. 2011; 23(5): 38-44.
20. SOARES GMS, FIGUEIREDO LC, FAVERI M, CORTELLI SC, DUARTE PM, FERES M. Mechanisms of action of systemic antibiotics used in periodontal treatment and mechanisms of bacterial resistance to these drugs. *Journal of applied oral Science*. 2012; 20(3): 295-309.
21. ROCHA LEON VH, LIMA EKNS, PIMENTEL ACM, MIRANDA PM, CARVALHO FILHO PC, TRINDADE SC, et al. PORPHYROMONAS GINGIVALIS AND CHRONIC PERIODONTITIS - RECENT ADVANCES. *Journal of Dentistry & Public Health*. 2016; 7(2).
22. PATINI R, STADERINI R, LAJOLO C, LOPETUSO L, MOHAMMED H, RIMONDINI L, et al. Relationship between oral microbiota and periodontal disease: A systematic review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2018; 22: 5775-5788.
23. MANDALARI G, BENNETT RN, BISIGNANO G, TROMBETTA D, SAIJA A, FAULDS CB, et al. Antimicrobial activity of flavonoids extracted from bergamot (*Citrus bergamia* Risso) peel, a byproduct of the essential oil industry. *Journal of applied microbiology*. 2007; 103(6): 2056-2064.
24. FISHER, K.; PHILLIPS, C. A. The effect of lemon, orange and bergamot essential oils and their components on the survival of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* in vitro and in food systems. *J Appl Microbiol*. 2006; 101(6): 1232-1240.
25. LOMBARDO GE, CIRMI S, MUSUMECI L, PERGOLIZZI S, MAUGERI A, RUSSO C, et al. Mechanisms underlying the anti-inflammatory activity of bergamot essential oil and its antinociceptive effects. *Plants*. 2020; 9(6): 704.

26. PEANA, A. T.; D'ÁQUILA, P. S.; PANIN, F.; SERRA, G.; PIPPIA, P.; MORETTI, M. D. L. Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. *Phytomedicine*. 2002; 9(8): 721-726.

Fontes de financiamento

Este projeto foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA), Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Conflitos de interesse

Não houve conflito de interesses.

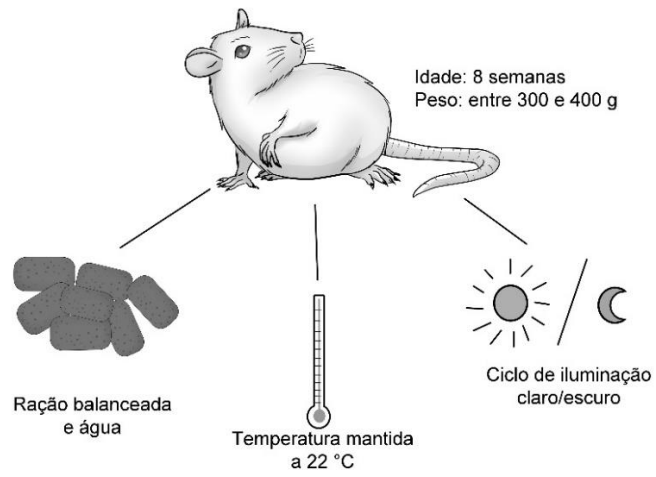


Figura 1. Esquema de experimento animal. O peso dos animais era medido periodicamente e as doses utilizadas na gavagem oral eram adaptadas proporcionalmente a esse peso.

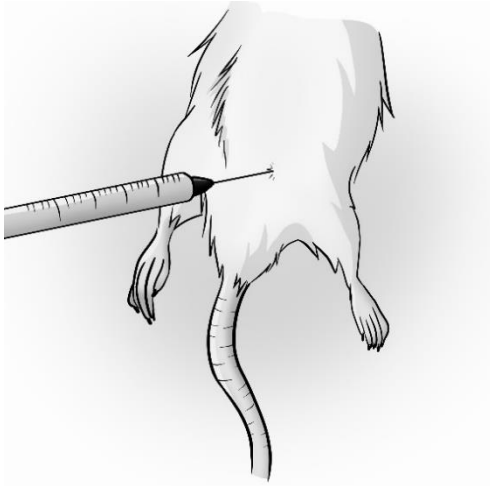


Figura 2. Aplicação da anestesia por via intraperitoneal nos animais. As soluções ketamina e xilazina apresentam vantagens técnicas e mais econômicas que outras substâncias anestésicas (KIELING et al, 2012).

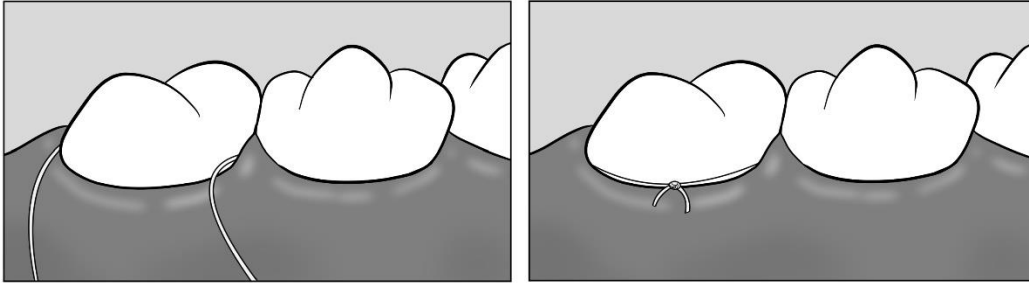


Figura 3. Esquema de inserção da ligadura nos animais. O fio de algodão na região subgingival dos molares dos ratos permite o acúmulo de biofilme, induzindo resposta inflamatória crônica semelhante à periodontite em humanos (GALVÃO et al, 2003).

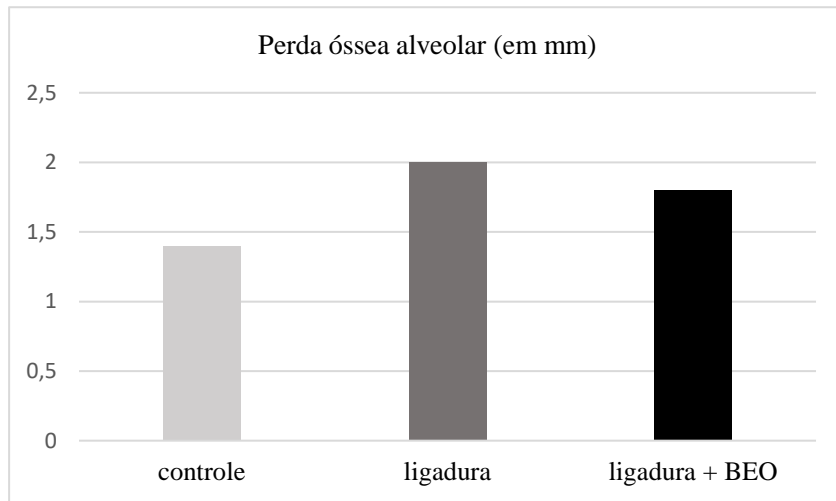


Figura 4. Resultado da avaliação morfométrica da perda óssea alveolar nos animais. Os dados foram apresentados através de médias \pm DP (8 animais por grupo). Houve diferença entre os grupos mostrados através do teste de ANOVA, seguido pelo teste de Tukey ($p < 0,05$ quando comparado os grupos que receberam ligadura e o grupo controle; $p < 0,05$ quando comparado o grupo ligadura + BEO e o grupo ligadura).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Frente à metodologia empregada e aos resultados obtidos, conclui-se que o tratamento oral com BEO modulou positivamente a reabsorção óssea alveolar em ratos que foram submetidos a um modelo de doença periodontal induzida por ligadura, reduzindo, dessa forma, a reabsorção óssea alveolar, mensurada pelo método morfométrico. Ainda assim, pesquisas posteriores devem ser realizadas com a finalidade de esclarecer quais substâncias e mecanismos de ação presentes no BEO foram capazes de alterar a resposta inflamatória e impedir o avanço da doença periodontal.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, M. A. R. et al. O uso dos antibióticos em periodontia. **Rev. paul. odontol**, p. 36-41, 2001.
- AVASTHY, P. et al. Risk factors for periodontal diseases. **J Applied Dent Medical Scien**, v. 1, n. 1, p. 44-54, 2015.
- BAGETTA, G. et al. Neuropharmacology of the essential oil of bergamot. **Fitoterapia**, v. 81, n. 6, p. 453-461, 2010.
- 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.
- BERLIOCCHI, L. et al. (-)-Linalool Attenuates Allodynia in Neuropathic Pain Induced by Spinal Nerve Ligation in C57/Bl6 Mice. **International review of neurobiology**, v. 85, p. 221-235, 2009.
- BRANCO-DE-ALMEIDA, L. S. et al. Fluoxetine inhibits inflammatory response and bone loss in a rat model of ligature-induced periodontitis. **Journal of periodontology**, v. 83, n. 5, p. 664-671, 2012.
- BRASIL-OLIVEIRA, R. et al. Corticosteroid Use and Periodontal Disease: A Systematic Review. **European Journal of Dentistry**, v. 14, n. 3, p. 496, 2020.
- CASTRO, M. L. et al. Down-Regulation of Protease Activated Receptor 2, Interleukin-17 and Other Pro-Inflammatory Genes by Subantimicrobial Doxycycline Dose in a Rat Periodontitis Model. **Journal of Periodontology**, v. 87, p. 203-210, 2015.
- CELIA, C. et al. Anticancer activity of liposomal bergamot essential oil (BEO) on human neuroblastoma cells. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 112, p. 548-553, 2013.
- CIRMI, S. et al. Anti-infective potential of Citrus bergamia Risso et Poiteau (bergamot) derivatives: a systematic review. **Phytotherapy Research**, v. 30, n. 9, p. 1404-1411, 2016.
- FERLAZZO, N. et al. Anti-inflammatory activity of Citrus bergamia derivatives: where do we stand?. **Molecules**, v. 21, n. 10, p. 1273, 2016.
- FERLAZZO, N. et al. NF-kB mediates the antiproliferative and proapoptotic effects of bergamot juice in HepG2 cells. **Life Sci.**, v. 146, p. 81-91, 2016.
- FILOCAMO, A. et al. In vitro effect of bergamot (Citrus bergamia) juice against cagA-positive and-negative clinical isolates of Helicobacter pylori. **BMC Complement Altern Med.**, 2015.
- FISHER, K.; PHILLIPS, C. A. The effect of lemon, orange and bergamot essential oils and their components on the survival of Campylobacter jejuni, Escherichia coli O157, Listeria monocytogenes, Bacillus cereus and Staphylococcus aureus in vitro and in food systems. **J Appl Microbiol.**, v. 101, n. 6, p. 1232-1240, 2006.
- FOUREAUX, R. C. et al. Comparação de métodos para mensuração da perda óssea alveolar periodontal em ratos submetidos a estresse. **Arquivos em Odontologia**, v. 50, n. 4, 2014.

- GALVÃO, M. P. A. et al. Methodological considerations on descriptive studies of induced periodontal diseases in rats. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, v. 17, n. 1, p. 56-62, 2003.
- GENCO, R. J.; BORGNACKE, W. S. Risk factors for periodontal disease. **Periodontology** 2000, v. 62, n. 1, p. 59-94, 2013.
- GRAZIANI, F. et al. Nonsurgical and surgical treatment of periodontitis: how many options for one disease?. **Periodontology** 2000, v. 75, n. 1, p. 152-188, 2017.
- GUGLIANDOLO, E. et al. Treatment with a flavonoid-rich fraction of bergamot juice improved lipopolysaccharide-induced periodontitis in rats. **Frontiers in Pharmacology**., v.9, Article 1563, 2019.
- HAIJSHENGALLIS, GEORGE. Periodontitis: From microbial immune subversion to systemic inflammation. **Nature Reviews Immunology**, v. 15, n. 1, p. 30–44, 2015.
- KAPOOR, A. et al. Systemic antibiotic therapy in periodontics. **Dental research journal**, v. 9, n. 5, p. 505, 2012.
- KARACA, M. et al. Investigation of anti-inflammatory activity of bergamot oil. **Eur. J. Gen. Med.**, v. 4, p.176–179, 2007.
- KIELING, C. O. et al. The effects of anesthetic regimen in 90% hepatectomy in rats. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 27, n. 10, p. 702-706, 2012.
- KILKENNY, C. et al. G Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. **PLoS biol**, v. 8, n. 6, p. e1000412, 2010.
- KINANE, D. F.; STATHOPOULOU, P. G.; PAPAPANOU, P. N. Periodontal diseases. **Nature Reviews**, v. 3, n. 17038, p. 1–14, 2017.
- KUWAHATA, H. et al. Peripherally injected linalool and bergamot essential oil attenuate mechanical allodynia via inhibiting spinal ERK phosphorylation. **Pharmacol Biochem Behav.**, p. 103, v.4, p.735-41, 2013.
- LOMBARDO, G. E. et al. Mechanisms underlying the anti-inflammatory activity of bergamot essential oil and its antinociceptive effects. **Plants**, v. 9, n. 6, p. 704, 2020.
- MANDALARI, G. et al. Antimicrobial activity of flavonoids extracted from bergamot (*Citrus bergamia* Risso) peel, a byproduct of the essential oil industry. **Journal of applied microbiology**, v. 103, n. 6, p. 2056-2064, 2007.
- MANNUCCI, C. et al. Clinical pharmacology of *Citrus bergamia*: a systematic review. **Phytotherapy Research**, v. 31, n. 1, p. 27-39, 2017.
- MARINO, A. et al. Role of natural antioxidants and potential use of bergamot in treating rheumatoid arthritis. **Pharma Nutrition**., v. 3, p. 53–59, 2015.
- NAGI, R. et al. Clinical implications of prescribing nonsteroidal anti-inflammatory drugs in oral health care—a review. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology**, v. 119, n. 3, p. 264-271, 2015.

NAVARRA, M. et al. Citrus bergamia essential oil: From basic research to clinical application. **Front. Pharmacol.**, v. 6, p.36-38, 2015.

NAZIR, M. A. Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention. **International journal of health sciences**, v. 11, n. 2, p. 72, 2017.

PATINI, R. et al. Relationship between oral microbiota and periodontal disease: A systematic review. **Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci**, v. 22, p. 5775-5788, 2018.

PEANA, A. T. et al. Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. **Phytomedicine**, v. 9, n. 8, p. 721-726, 2002.

PÉREZ G, S. et al. Anti-inflammatory activity of some essential oils. **Journal of Essential Oil Research**, v. 23, n. 5, p. 38-44, 2011.

PIHLSTROM, B. L.; MICHALOWICZ, B. S.; JOHNSON, N. W. Periodontal diseases. **The lancet**, v. 366, n. 9499, p. 1809-1820, 2005.

PRAKASAM, A.; ELAVARASU, S. S.; NATARAJAN, R. K. Antibiotics in the management of aggressive periodontitis. **Journal of pharmacy & bioallied sciences**, v. 4, n. Suppl 2, p. S252, 2012.

ROCHA LEON, V. H. et al. PORPHYROMONAS GINGIVALIS AND CHRONIC PERIODONTITIS - RECENT ADVANCES. **Journal of Dentistry & Public Health**, [S.l.], v. 7, n. 2, 2016.

SAINI, G. K.; GUPTA, N. D.; PRABHAT, K. C. Drug addiction and periodontal diseases. **Journal of Indian Society of Periodontology**, v. 17, n. 5, p. 587, 2013.

SALVI, G. E.; LANG, N. P. The effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (selective and non-selective) on the treatment of periodontal diseases. **Current pharmaceutical design**, v. 11, n. 14, p. 1757-1769, 2005.

SANGHAVI, J.; ADITYA, A. Applications of corticosteroids in dentistry. **Journal of Dental and Allied Sciences**, v. 4, n. 1, p. 19, 2015.

SOARES, G. M. S. et al. Mechanisms of action of systemic antibiotics used in periodontal treatment and mechanisms of bacterial resistance to these drugs. **Journal of applied oral science**, v. 20, n. 3, p. 295-309, 2012.

TAUBMAN, M. A. et al. Immune response: the key to bone resorption in periodontal disease. **Journal of periodontology**, v. 76, p. 2033-2041, 2005.

VALENTE, O.; ATALLAH, A. N.; SUSTOVICH, D. R. Efeitos metabólicos e manuseio clínico dos corticosteróides. **Atualização terapêutica: manual prático de diagnóstico e tratamento**. Prado FC, et al. 20ª ed. São Paulo: Artes Médicas, p. 1521-1523, 2001.

VIEIRA, A. R. et al. Tratamento com antibióticos de pacientes com periodontite agressiva localizada. **RGO**, v. 52, n. 2, p. 67-71, 2004.

XIMEÑEZ-FYVIE, L. A., HAFFAJEE, A. D., SOCRANSKY, S. S. Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 27, p. 648-657., 2001.

YASIR, M. et al. Corticosteroid Adverse Effects. **In: StatPearls [Internet]**. StatPearls Publishing, 2020.

ANEXO A – Normas da Revista de Pesquisa em Saúde / *Journal of Health Research*

Notas Redatoriais

A Revista de Pesquisa em Saúde / *Journal of Health Research*, órgão oficial do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) é publicada quadrimestralmente, com o objetivo de promover e disseminar a produção de conhecimentos e a socialização de experiências acadêmicas na área de saúde, assim como possibilitar o intercâmbio científico com programas de Pós-Graduação e Instituições de pesquisas nacionais e internacionais.

A Revista de Pesquisa em Saúde não cobra custos de processamento e nem de submissão de artigos.

Recomendamos aos autores a leitura atenta das instruções abaixo antes de submeterem seus artigos à Revista de Pesquisa em Saúde / *Journal of Health Research*:

- a.** Os trabalhos deverão vir acompanhados de carta de apresentação assinada por seu(s) autor(es), autorizando publicação do artigo e transferindo os direitos autorais à Revista de Pesquisa em Saúde/ *Journal of Health Research*.
- b.** Na seleção de artigos para publicação, avaliar-se-á o mérito científico do trabalho, sua adequação às normas e à política editorial adotada pela revista. Nos trabalhos de pesquisa envolvendo seres humanos deverá ser informado o nº do parecer de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da instituição onde o mesmo foi aprovado.
- c.** Os manuscritos, submetidos com vistas à publicação na Revista de Pesquisa em Saúde/*Journal of Health Research*, são avaliados inicialmente pela secretaria quanto à adequação das normas. Em seguida, serão encaminhados no mínimo para 02 (dois) revisores (membro do Conselho Editorial ou consultor ad hoc) para avaliação e emissão de parecer fundamentado, os quais serão utilizados pelos editores para decidir sobre a aceitação, ou não, do mesmo. Em caso de divergência de opinião entre os avaliadores, o manuscrito será enviado a um terceiro relator para fundamentar a decisão final. Será assegurado o anonimato do(s) autor (es) nesse processo. O Conselho Editorial se reserva o direito de recusar o texto recebido e/ou sugerir modificações na estrutura e conteúdo a fim de adequar aos padrões da revista. Os autores dos manuscritos não aceitos para publicação serão notificados por carta e/ou e-mail. Somente após aprovação final, os trabalhos serão encaminhados para publicação.
- d.** A Revista de Pesquisa em Saúde/ *Journal of Health Research* não remunera o(s) autor(es) que tenham seus artigos nela editados, porém lhes enviará 02 (dois) exemplares da edição onde seu(s) texto(s) for(em) publicado(s).
- e.** Não serão publicados artigos que atentem contra a ética profissional, que contenham termos ou idéias preconceituosas ou que expressem pontos de vista incompatíveis com a filosofia de trabalho do Conselho Editorial e da política da revista.
- f.** Os conceitos, opiniões e demais informações contidos nos textos, e publicados na Revista de Pesquisa em Saúde/ *Journal of Health Research*, são de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

1. Categorias das seções

Para fins de publicação, a Revista de Pesquisa em Saúde / *Journal of Health Research*, publica nas seguintes seções: editorial, artigos originais, artigos de revisão e atualização, relatos de caso, relatos de experiência, comunicações breves e relatórios técnicos elaborados por profissionais da área da

saúde e afins, redigidos em português ou inglês. Em cada número, se aceitará a submissão de, no máximo, dois manuscritos por autor.

1.1 Editorial: de responsabilidade do corpo editorial da revista, que poderá convidar autoridade para redigi-lo.

1.2 Artigos originais: devem relatar pesquisas originais que não tenham sido publicadas ou consideradas para publicação em outros periódicos. Produção resultante de pesquisa de natureza empírica, experimental, documental ou conceitual com resultados que agreguem valores ao campo científico e prático das diversas áreas da saúde. Deve conter na estrutura: resumo, abstract, introdução, métodos, resultados, discussão e referências (máximo de 6.000 palavras e cinco ilustrações).

1.3 Artigos de Revisão e Atualização: destinados a apresentação de conhecimentos disponíveis baseados numa avaliação crítica, científica, sistemática e pertinente de um determinado tema (resumo estruturado de até 250 palavras, máximo de 5.000 palavras, cinco ilustrações), e não apenas revisão de literatura, e até três autores. Mesma formatação do artigo original.

1.4 Relatos de Casos: devem ser relatos breves de casos relevantes para divulgação científica com extensão máxima de 1.500 palavras, com máximo de 3 ilustrações (tabelas e figuras), até quinze referências. Colocar no corpo do manuscrito os tópicos: introdução, relato de caso, discussão e referências. Permitido-se máximo três autores.

1.5 Comunicações Breves: devem ser relatos sobre novos resultados, interessante dentro da área de abrangência da revista. Observação clínica original, ou descrição de inovações técnicas, apresentadas de maneira breve, não excedendo a 1.700 palavras. Não colocar no corpo do manuscrito os tópicos: introdução, métodos, resultados, discussão e conclusões. Máximo três ilustrações e até quinze referências.

1.6 Relato de Experiência: descrição de experiências acadêmicas, assistenciais e de extensão. A relevância de um relato de experiência está na pertinência e importância dos problemas que nele se expõem, assim como o nível de generalização na aplicação de procedimentos ou de resultados da intervenção em outras situações similares, ou seja, serve como uma colaboração à práxis metodológica. Formato de artigos originais.

1.7 Relatórios Técnicos: devem ser precisos e relatar os resultados e recomendações de uma reunião de experts. Será considerado no formato de um editorial.

2. Forma e Estilo

2.1 Os artigos devem ser concisos e redigidos em português ou Inglês. As abreviações devem ser limitadas aos termos mencionados repetitivamente, desde que não alterem o entendimento do texto, e devem ser definidas a partir da sua primeira utilização. Cada parte do artigo deve ser impressa em páginas separadas na seguinte ordem: 1) Página de Títulos; 2) Resumo e Descritores; 3) Abstract e Keywords; 4) Texto; 5) Referências; 6) Email, para a correspondência; 7) Ilustrações e legendas; 8) Tabelas; 9) Outras informações.

2.2 Os manuscritos devem ter as referências elaboradas de acordo com as orientações do International Committee of Medical Journal Editors Vancouver Group (www.icmje.org), e do International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: sample references (http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html).

2.3 O manuscrito deve ser preparado usando software padrão de processamento de texto e deve ser impresso (fonte arial, tamanho 12) com espaço duplo em todo o texto, legendas para as figuras e referências, margens com pelo menos três cm. Abreviações devem ser usadas com moderação.

3. Organização dos manuscritos

3.1 Página de Título: página não numerada, contendo o título do artigo em português (digitada em caixa alta e em negrito com no máximo 15 palavras), inglês (somente em caixa alta). Nome completo dos autores digitados em espaço duplo na margem direita da página indicando em nota de rodapé a titulação do(s) autor (es) e instituição(es) de vínculo(s) e endereço para correspondência: nome do autor responsável e e-mail.

3.2 Resumo: deve conter no máximo 250 palavras, em caso de Artigo Original e Atualização, e 100 para Relatos de Casos, Comunicações Breves e Relato de Experiência. Devem ser estruturados, contendo introdução, objetivo(s), métodos, resultado(s) e conclusão (es).

3.3 As palavras-chave: e seus respectivos Keywords devem ser descritores existentes no DeCS-Bireme (<http://decs.bvs.br>).

3.4 Introdução: deve indicar o objetivo do trabalho e a hipótese formulada. Informações que situem o problema na literatura e suscitem o interesse do leitor podem ser mencionadas. Devem-se evitar extensas revisões bibliográficas, histórico, bases anatômicas e excesso de nomes de autores.

3.5 Ética: toda pesquisa que envolve seres humanos e animais deve ter aprovação prévia da Comissão de Ética em Pesquisa, de acordo com as recomendações da Declaração de Helsinki e as Normas Internacionais de Proteção aos Animais e a resolução nº 196/96 do Ministério da Saúde sobre pesquisa envolvendo seres humanos. O artigo deve ser encaminhado juntamente com o parecer do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP).

3.6 Métodos: o texto deve ser preciso, mas breve, evitando-se extensas descrições de procedimentos usuais. É necessário identificar precisamente todas as drogas, aparelhos, fios, substâncias químicas, métodos de dosagem, etc., mas não se deve utilizar nomes comerciais, nomes ou iniciais de pacientes, nem seus números de registro no Hospital. A descrição do método deve possibilitar a reprodução dos mesmos por outros autores. Técnicas-padrões precisam apenas ser citadas.

3.7 Resultados: devem ser apresentados em sequência lógica no texto, e exclusivamente neste item, de maneira concisa, fazendo, quando necessário, referências apropriadas a tabelas que sintetizem achados experimentais ou figuras que ilustrem pontos importantes. O relato da informação deve ser conciso e impessoal. Não fazer comentários nesta sessão, reservando-os para o capítulo Discussão.

3.8 Discussão: deve incluir os principais achados, a validade e o significado do trabalho, correlacionando-o com outras publicações sobre o assunto. Deve ser clara e sucinta evitando-se extensa revisão da literatura, bem como hipóteses e generalizações sem suporte nos dados obtidos no trabalho. Neste item devem ser incluída(s) a(s) conclusão(es) do trabalho.

3.9 Referências: devem ser numeradas consecutivamente, na medida em que aparecem no texto. Listar todos os autores quando houver até seis. Para sete ou mais, listar os seis primeiros, seguido por "et al." Digitar a lista de referência com espaçamento duplo em folha separada. Citações no texto devem ser feitas pelo respectivo número das referências, acima da palavra correspondente, separado por vírgula (Ex.: inteligência 2, 3, 4,.). As referências citadas deverão ser listadas ao final do artigo, em ordem numérica, seguindo as normas gerais dos Requisitos Uniformes para Manuscritos Apresentados a Periódicos Biomédicos (<http://www.nlm.nih.gov/citingmedicine/>). Os títulos dos

periódicos devem ser abreviados de acordo com o estilo usado no "Index medicus" (Consulte: <http://ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=journal&TabCmd=limits>).

- Todas as referências devem ser apresentadas de modo correto e completo. A veracidade das informações contidas na lista de referências é de responsabilidade do(s) autor(es).

- No caso de usar algum software de gerenciamento de referências bibliográficas (Ex. EndNote®), o(s) autor(es) deverá(ão) converter as referências para texto.

4. Fontes de financiamento

4.1 Os autores devem declarar todas as fontes de financiamento ou suporte, institucional ou privado, para a realização do estudo.

4.2 Fornecedores de materiais ou equipamentos, gratuitos ou com descontos também devem ser descritos como fontes de financiamento, incluindo a origem (cidade, estado e país).

4.3 No caso de estudos realizados sem recursos financeiros institucionais e/ou privados, os autores devem declarar que a pesquisa não recebeu financiamento para a sua realização.

5. Conflito de interesses

5.1 Os autores devem informar qualquer potencial conflito de interesse, incluindo interesses políticos e/ou financeiros associados a patentes ou propriedade, provisão de materiais e/ou insumos e equipamentos utilizados no estudo pelos fabricantes.

6. Colaboradores

6.1 Devem ser especificadas quais foram as contribuições individuais de cada autor na elaboração do artigo.

6.2 Lembramos que os critérios de autoria devem basear-se nas deliberações do Internacional Committee of Medical Journal Editors, que determina o seguinte: o reconhecimento da autoria deve estar baseado em contribuição substancial relacionada aos seguintes aspectos: 1. Concepção e projeto ou análise e interpretação dos dados; 2. Redação do artigo ou revisão crítica relevante do conteúdo intelectual; 3. Aprovação final da versão a ser publicada. Essas três condições devem ser integralmente atendidas.

7. Agradecimentos

7.1 Possíveis menções em agradecimentos incluem instituições que de alguma forma possibilitaram a realização da pesquisa e/ou pessoas que colaboraram com o estudo, mas que não preencheram os critérios para serem co-autores.

8. Envio e submissão

Os artigos deverão ser encaminhados por meio do e-mail: revista@huufma.br ou por via deste Portal.

9. Exemplos de formas de referências:

9.1 Em Revista: Autor. Título do artigo. Título da Revista (itálico). Ano; volume (número): páginas. Jordan PH, Thonrby J. Twenty years after parietal cell vagotomy antrectomy for treatment of duodenal ulcer. *Ann Surg*, 1994; 220(3): 283-296.

9.2 Em Livro: Autor. Título (itálico). Edição. Local de Publicação: Editora; ano da publicação. Bogossian L. Choque séptico: recentes avanços de fisiopatologia e do tratamento. 2 ed. Rio de Janeiro: Atheneu; 1992.

9.3 Em Capítulo de Livro: Autor do capítulo. Título do capítulo (Itálico). In: Autor do livro. Título do livro. Edição. Local de publicação: Editora; ano de publicação; páginas. Barroso FL, Souza JAG. Perfurações pépticas gástricas e duodenais. In Barroso FL, Vieira OM, editores. Abdome agudo não traumático: Novas propostas. 2. Ed. Rio de Janeiro: Robe; 1995. p. 201-220.

9.4 Em Monografia/Dissertação/Tese. Autor. Título (Itálico)[Dissertação]. Local (Estado): Universidade; Ano; Páginas. Chinelli A. Colecistectomia laparoscópica: estudo de 35 casos. [Dissertação]. Niterói (RJ):Universidade Federal Fluminense; 1992. 71 p.

9.5 Em Material eletrônico:

I. Artigo: Autor. Título do artigo. Título do periódico [Tipo de material] Ano Mês [capturado ano mês dia]; volume (número); [número de telas] Disponível em: endereço eletrônico. Morse SS. Factors in the emergence of Infectious Diseases. Emerg Infect diseases [serial online] 1995 Jan/mar [capturado 1996 jun 5]; 2 (2): [24 telas] Disponível em: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>.

II. Arquivo de Computador: Título [tipo de arquivo]. Versão. Local (Estado) Editora; ano. Descrição Física da mídia. Hemodynamics III: The ups and downs of hemodynamics [computer program]. Version 2.2 Orlando (FL): Computereid Educational Systems; 1993.

III. Monografia em formato eletrônico: Título [tipo de material], Responsável. Editor. Edição. Versão. Local: Editora; ano: CDI, Clinical dermatology illustrated [monograph on CD-ROM]. Reeves JTR, Mailbach H. CMEA Multimedia Group, producers. 2nd ed. Version 2.0. San Diego: CMEA; 1965. Notas: Todas as notas do título, dos autores ou do texto devem ser indicadas por algarismos arábicos, e ser impressas em páginas separadas, espaço simples.

IV. CD-Rom, DVD: Autor(es). Título[tipo do material]. Cidade de publicação: produtora; ano. Anderson SC, Poulsen KB. Anderson's electronic atlas of hematology [CD-ROM]. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002.

9.6 Em Anais de Congresso: Autor (es) do trabalho. Título do trabalho (itálico). Título do evento; data do evento; local e cidade do evento; editora; ano de publicação. Christensen S, Oppacher F. An analysis of Koza's computational effort statistic for genetic programming. In: Foster JA, Lutton E, Miller J, Ryan C, Tettamanzi AG, editores. Genetic programming. EuroGP 2002: Proceedings of the 5th European Conference on Genetic Programming; 2002 Apr 3-5; Kinsdale, Ireland. Berlin: Springer; 2002. p. 182-91.

9.7 Em Artigo de Jornal: Autor do artigo. Título do artigo(itálico). Nome do jornal. Data; Seção: página (coluna). Tynan T. Medical improvements lower homicide rate: study sees drop in assault rate. The Washington Post. 2002 Aug 12;Sect. A:2 (col. 4).

10 Tabelas

Devem ser numeradas com algarismos arábicos encabeçadas por suas legendas e explicações dos símbolos no rodapé e digitadas separadamente, uma por página. Cite as tabelas no texto em ordem numérica incluindo apenas dados necessários à compreensão de pontos importantes do texto. Os dados apresentados em tabelas não devem ser repetidos em gráficos. A montagem das tabelas deve seguir as Normas de Apresentação Tabular, estabelecidas pelo Conselho Nacional de Estatísticas (Rev. Bras. Est., 24: 42-60, 1963. As tabelas deverão ser elaboradas no programa Microsoft Word).

11 Ilustrações

São fotografias (boa resolução mínimo de 300 dpi, no formato TIFF), mapas e ilustrações (devem ser vetorizadas ou seja desenhada utilizando os softwares CorelDraw ou Illustrator em alta resolução, e suas dimensões não devem ter mais que 21,5x28,0cm) gráficos, desenhos, etc., que não devem ser escaneadas e de preferência em preto e branco, medindo 127mm x 178mm. As ilustrações, em branco e preto serão reproduzidas sem ônus para o(s) autor(es), mas lembramos que devido o seu alto custo para a Revista, devem ser limitadas a 5 (cinco) entre tabelas e figuras para artigos originais e 3(três) para relatos de casos, e utilizadas quando estritamente necessárias. Todas as figuras devem ser referidas no texto, sendo numeradas consecutivamente por algarismo arábico. Cada figura deve ser acompanhada de uma legenda que a torne inteligível sem referencia ao texto.

Deve ser identificada no verso, por meio de uma etiqueta, com o nome do autor e numeração para orientação. Os desenhos e gráficos podem ser feitos em papel vegetal com tinta nanquim, sendo as letras desenhadas com normógrafo ou sob forma de letra "set" montadas, ou ainda, utilizando impressora jato de tinta ou laser, com boa qualidade, e nunca manuscritas.

Obs: Todas as notas do título, dos autores ou do texto devem ser indicadas por algarismos arábicos, e ser impressa em páginas separadas.

ANEXO B – Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Ceuma (UniCEUMA)

O óleo essencial de bergamota (BEO) tem sido investigado por suas atividades anti-inflamatórias e analgésicas (Navarra et al, 2015; Impellizzeri et al., 2015) sendo demonstradas por Karaca et al. 2007 em teste de edema de pata induzido por carragenina, onde encontraram redução na inflamação em 95,70% com indometacina (controle padrão), 27,56% com 0,025 mL / kg de BEO, 30,77% com 0,05 mL / kg de BEO e 63,39% com 0,10 mL / kg de BEO.

Ainda não existem estudos avaliando um potencial efeito do extrato hidroalcoólico da *A. Brachypoda* ou do óleo essencial de bergamota em modelos de doença periodontal, entretanto, resultados de análises preliminares *in vitro* do nosso grupo de pesquisa revelaram tanto uma ação anti-inflamatória do extrato bruto das folhas da *A.brachypoda* quanto do óleo essencial de bergamota, com redução de IL1- β e óxido nítrico (NO) produzidos por macrófagos estimulados por lipopolissacarídeo (LPS) bacteriano (dados não publicados).

Para essa pesquisa serão selecionados 32 animais com idade de, aproximadamente, 3 meses e peso entre 250 e 350 g, os quais serão distribuídos, aleatoriamente, em 4 grupos (n= 8 animais/grupo):

Os animais serão, aleatoriamente, divididos em 4 grupos:

- 1) Grupo Controle (n=8 animais): Ratos sem ligadura que receberão gavagem diária com veículo (DMSO 2%);
- 2) Grupo ligadura (n= 8 animais): Ratos com ligadura que receberão gavagem diária com veículo;
- 3) Grupo ligadura + extrato hidroalcoólico de *A. brachypoda* (n= 8 animais): Ratos com ligadura que receberão gavagem diária com o extrato hidroalcoólico de *A. brachypoda* 50 mg/kg em veículo (dose baseada nos resultados preliminares *in vitro*).
- 4) Grupo ligadura + BEO (n=8 animais): ratos com ligadura que receberão gavagem diária com óleo essencial de bergamota (0,1 mL/kg). O BEO será adquirido comercialmente (Sigma®), e sua concentração a ser testada foi definida com base em suas ações anti-inflamatórias descritas, anteriormente, na literatura (Berliocchi et al., 2009; Bagetta et al., 2010).

O óleo essencial de bergamota (BEO) tem sido investigado por suas atividades anti-inflamatórias e analgésicas (Navarra et al., 2015; Impellizzeri et al., 2015) sendo demonstradas por Karaca et al. 2007 em teste de edema de pata induzido por carragenina, onde encontraram redução na inflamação em 95,70% com indometacina (controle padrão), 27,56% com 0,025 mL / kg de BEO, 30,77% com 0,05 mL / kg de BEO e 63,39% com 0,10 mL / kg de BEO.

Ainda não existem estudos avaliando um potencial efeito do extrato hidroalcoólico da *A. Brachypoda* ou do óleo essencial de bergamota em modelos de doença periodontal, entretanto, resultados de análises preliminares *in vitro* do nosso grupo de pesquisa revelaram tanto uma ação anti-inflamatória do extrato bruto das folhas da *A.brachypoda* quanto do óleo essencial de bergamota, com redução de IL1- β e óxido nítrico (NO) produzidos por macrófagos estimulados por lipopolissacarídeo (LPS) bacteriano (dados não publicados).

Para essa pesquisa serão selecionados 32 animais com idade de, aproximadamente, 3 meses e peso entre 250 e 350 g, os quais serão distribuídos, aleatoriamente, em 4 grupos (n= 8 animais/grupo):

Os animais serão, aleatoriamente, divididos em 4 grupos:

- 1) Grupo Controle (n=8 animais): Ratos sem ligadura que receberão gavagem diária com veículo (DMSO 2%);
- 2) Grupo ligadura (n= 8 animais): Ratos com ligadura que receberão gavagem diária com veículo;
- 3) Grupo ligadura + extrato hidroalcoólico de *A. brachypoda* (n= 8 animais): Ratos com ligadura que receberão gavagem diária com o extrato hidroalcoólico de *A. brachypoda* 50 mg/kg em veículo (dose baseada nos resultados preliminares *in vitro*).
- 4) Grupo ligadura + BEO (n=8 animais): ratos com ligadura que receberão gavagem diária com óleo essencial de bergamota (0,1 mL/kg). O BEO será adquirido comercialmente (Sigma®), e sua concentração a ser testada foi definida com base em suas ações anti-inflamatórias descritas, anteriormente, na literatura (Berliocchi et al., 2009; Bagetta et al., 2010).

REFERÊNCIAS

- BAGETTA, G.; MORRONE, L. A.; ROMBOLA, L.; AMANTEA, D.; RUSSO, R.; BERLIOCCHI, L. et al. Neuropharmacology of the essential oil of bergamot. *Fitoterapia*. 2010;81(6):453-61.
- BERLIOCCHI L.; RUSSO R.; LEVATO A.; FRATTO V.; BAGETTA G.; SAKURADA S. et al. (-)-Linalool attenuates allodynia in neuropathic pain induced by spinal nerve ligation in C57/BL6 mice. *Int Rev Neurobiol*. 2009; 85:221-35.
- 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, 2018.
- FREIRES, I. A.; ROSALEN, P. L. How Natural Product Research has Contributed to Oral Care Product Development? A Critical View. *Pharmaceutical Research*, v. 33, n. 6, p. 1311–1317, 2016.
- IMPELLIZZERI, D.; BRUSCHETTA, G.; DI PAOLA, R.; AHMAD, A.; CAMPOLO, M.; CUZZOCREA, S.; ESPOSITO, E.; NAVARRA, M. The anti-inflammatory and antioxidant effects of bergamot juice extract (BJe) in an experimental model of inflammatory bowel disease. *Clin. Nutr*. 2015. 34, 1146–1154.
- KARACA, M.; ÖZBEK, H.; HIM, A.; TÛTÛNCÛ, M.; AKKAN, H.A.; KAPLANOGLU, V. Investigation of anti-inflammatory activity of bergamot oil. *Eur. J. Gen. Med*. 2007, 4, 176–179.
- NAVARRA, M.; MANNUCCI, C.; DELBO, M.; CALAPAI, G. Citrus bergamia essential oil: From basic research to clinical application. *Front. Pharmacol*. 2015, 6, 36.

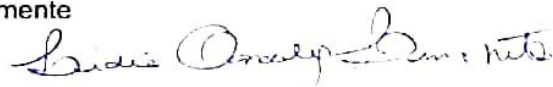
Pesquisador responsável:

Prof. Dr. Lídio Gonçalves Lima Neto

Colaboradores:

Luciana Salles Branco de Almeida, Luciana Maia Moura Naves, Cláudia Quintino da Rocha, Maria Carmen Fontoura Nogueira da Cruz, Amanda Pereira Moreira e Lucas Daylor Aguiar da Silva.

Atenciosamente



Aprouva-se,
Eduardo M de Jesus



CEUMA – UNIVERSIDADE Reitoria
Gerências de Graduação e Pós-Graduação
Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA UNICEUMA

DECISÃO DA CEUA – UNICEUMA SOBRE PROTOCOLO SUBMETIDO

DATA DO RECEBIMENTO: 21/06/2019

Nº DO PROTOCOLO: 110/19

Nº DO PARECER: 09/19

DATA DO PARECER: 19/09/19

Recibido
30/10/19
AL

TÍTULO DO PROJETO/AULA: Avaliação da atividade anti-inflamatória da *Arrabidaea brachypoda* em modelo animal de periodontite

CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA: 18 Ratos (*Rattus norvegicus albinus*), machos, linhagem Wistar, com 4 a 9 semanas de vida.

PESQUISADOR/PROFESSOR RESPONSÁVEL: Lídio Gonçalves Lima Neto

COLABORADORES: Luciana Salles Branco de Almeida, Luciana Maia Moura Naves, Cláudia Quintino da Rocha e Lucas Daylor Aguiar da Silva.

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

A CEUA-UNICEUMA, em 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 20/09/2019, para apreciar a análise do relator da proposta de protocolo nº 110/19, tendo chegado por votação da maioria dos membros presentes, as seguintes considerações:

Considerações: O projeto tem como objetivo avalia os efeitos da *Arrabidaea brachypoda* (DC) Bureau em modelo de doença periodontal (DP) induzida por ligaduras em ratos. O delineamento experimental do presente projeto consta de 18 ratos Ratos (*Rattus norvegicus albinus*), machos, linhagem Wistar, com 4-9 semanas de vida. 56 camundongos isogênicos (machos), linhagem C57BL/6, peso 20 – 25 g, adultos, 8-10 semanas de vida, oriundos do Biotério de Criação e Experimentação Animal do UNICEUMA. Os animais serão distribuídos em 3 grupos experimentais (Controle; ratos sem ligaduras que receberão gavagem diária com veículo DMSO 2%; Ligadura: ratos com ligaduras que receberão gavagem diária com o veículo; Ligadura + extrato hidroalcoólico *A. brachypoda*, ratos com ligadura que receberão gavagem com o extrato hidroalcoólico *A. brachypoda* 50 mg/kg em veículo), contendo em cada grupo 06 animais. O projeto foi delineado no período experimental de 14 dias para tratamentos, com subsequente avaliação dos animais e eutanásia. Os animais serão tratados por gavagem 1x ao dia durante 14 dias. Será realizado neste período coleta diária de fezes. Após os tempos de tratamento, os animais serão submetidos a eutanásia com uso prévio de anestésico (Ketamania 90 mg/Kg)

associado ao relaxante muscular (Xilanzina 10 mg/Kg). Em seguida, serão coletados: os tecidos gengivais, fígado e rins, com a amostra sendo utilizada para avaliação de expressão gênica de IL-1 β , IL-17 e iNOS nos tecidos gengivais, mensuração da produção de NO, mensuração da reabsorção óssea alveolar e avaliação histopatológica do fígado e dos rins.

Itens a serem revisados:

2- Item 9.4.2.7 Avaliação do fígado e dos rins: No referido projeto o tempo para fixação com a solução de formaldeído 10% dos determinados órgãos são de 7 dias. O tempo de acordo com o manual da Fiocruz é de 24 a 48 horas.

3- Item 9.6 Condições de alojamento e alimentação dos animais: São 6 animais por grupos. Serão colocados 4 animais por gaiola. Os demais animais, no caso 2, podem ficar em uma única gaiola, ao invés de gaiolas individuais.

4- Item 10.2 Uso de fármaco anestésicos: A via de administração do anestésico é intramuscular, porém no item 9.4.2.2.1 a via descrita é a intraperitoneal.

Conclusão: Aprovado

Com base nos dados fornecidos pelo proponente, a Comissão, autoriza o protocolo supracitado, devendo o presente documento ser apresentado a Coordenação do Biotério, para agendamento do início dos procedimentos.

* Cópia do protocolo segue anexa.

São Luís/MA, 20/09/2019

Lídio Gonçalves Lima Neto
Coordenador CEUA-UNICEUMA


Prof. Dr. Lidio Gonçalves Lima Neto
Coord. Comissão de Ética no Uso
de Animais - CEUA
Universidade Caema

APÊNDICE A – LISTA DE SIGLAS

AINES	Anti-inflamatórios não-esteroidais
ANOVA	Análise de Variância
BEO	Óleo Essencial de Bergamota
BJ	Suco de bergamota
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CO	Crista óssea
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
DMSO	Sulfóxido de dimetilo
DP	Desvio padrão
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio
JCE	Junção cimento-esmalte